

**Univerzita Karlova  
1. lékařská fakulta**

Studijní program: Biomedicína  
Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



UNIVERZITA KARLOVA  
1. lékařská fakulta

**MUDr. Hana Vítková**

Tyreopatie v graviditě – imunoendokrinnologické a metabolické aspekty

Thyroid disorders in pregnancy – immunoendocrinological and metabolic aspects

Disertační práce

Školitel: doc. MUDr. Jan Jiskra, PhD.  
Konzultant: doc. MUDr. Eliška Potluková, PhD.

Praha, 2021

## Obsah

1. Prohlášení o samostatném zpracování.....	4
2. Identifikační záznam .....	5
3. Poděkování .....	6
4. Abstrakt .....	7
5. Abstract .....	8
6. Úvod.....	9
6.1 Hypotézy .....	9
6.2 Cíle práce.....	10
7. Autoimunitní tyreoidální onemocnění .....	10
7.1 Prevalence, etiologie a patogeneze tyreoidální autoimunity .....	10
7.1.1 Genetické faktory .....	11
7.1.2 Zevní faktory .....	12
7.1.3 Regulační faktory .....	12
8. Hormonální, imunitní a metabolické změny v těhotenství .....	12
8.1 Hormonální změny v těhotenství .....	12
8.2 Změny v imunitním systému v těhotenství .....	13
8.2.1 C1q složka komplementu, protilátky anti-C1q .....	15
8.2.2 Anti-C1q protilátky v těhotenství.....	18
8.2.3 Manózu vázající lektin (MBL).....	19
8.3 Metabolické změny v těhotenství.....	21
8.3.1 Pregestační a gestační diabetes mellitus.....	21
9. Tyreopatie a pregestační a gestační diabetes mellitus.....	24
9.1 Pregestační a předchozí gestační diabetes mellitus a riziko tyreopatií v graviditě .....	24
9.2 Tyreopatie a riziko rozvoje gestačního diabetes mellitus .....	26
9.2.1 Potenciální patofyziologické mechanismy .....	29

10. Vlastní výsledky výzkumné práce.....	33
10.1 Vyšetření sérových koncentrací protilátek proti C1q složce komplementu u těhotných žen s autoimunitními tyreopatiemi. ....	33
10.1.1 Cíle práce.....	33
10.1.2 Soubor pacientů a použité metody .....	33
10.1.3 Výsledky.....	35
10.1.4 Diskuze.....	37
10.2 Vyšetření koncentrace manózy vázajícího lektinu (MBL) u těhotných žen .....	48
10.2.1 Cíle práce.....	48
10.2.2 Soubor pacientů a použité metody .....	48
10.2.3 Výsledky.....	50
10.2.4 Diskuze.....	51
10.3 Vyšetření stavu zásobení jódem a tyreoidální funkce u těhotných žen s gestačním diabetes mellitus.....	60
10.3.1 Cíle práce.....	60
10.3.2 Soubor pacientek a použité metody .....	60
10.3.3 Výsledky.....	61
10.3.4 Diskuze.....	68
11. Závěry.....	71
12. Seznam použité literatury.....	73
13. Seznam použitých zkratk.....	86
14. Seznam publikací autora .....	88
14.1 Publikace s IF, které se zabývají problematikou disertační práce.....	88
14.2 Publikace s IF, které se nezabývají problematikou disertační práce.....	88
14.3 Publikace bez IF, které se zabývají problematikou disertační práce.....	88
14.4 Publikace bez IF, které se nezabývají problematikou disertační práce.....	88

## **1. Prohlášení o samostatném zpracování**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu. Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 30.11.2021

HANA VÍTKOVÁ

Podpis



## **2. Identifikační záznam**

VÍTKOVÁ, Hana. Tyreopatie v graviditě – imunoendokrínologické a metabolické aspekty. [Thyroid disorders in pregnancy – immunoendocrinological and metabolic aspects]. Praha, 2021. 78 s., 0 příl. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, 3. interní klinika. Vedoucí práce Jiskra Jan

### **3. Poděkování**

Tato práce vznikla v rámci doktorského studijního programu na 3. interní klinice 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. Poděkování patří především mému školiteli doc. MUDr. Janu Jiskrovi, Ph.D. za jeho odborné vedení v průběhu celého studia a všestrannou pomoc a podporu při tvorbě této disertační práce. Dále bych ráda poděkovala svému školiteli – konzultantovi MUDr. Elišce Potlukové, PhD. za její pomoc při designu, analýze a sepsání prací zaměřených na vztah komplementu a autoimunitních tyreopatií v těhotenství. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat profesorům MUDr. Štěpánu Svačinovi, DrSc., MBA a MUDr. Michalu Krškovi, CSc., MBA, kteří mi jako přednostové III. interní kliniky 1. LF UK a VFN vytvořili optimální podmínky k postgraduálnímu studiu, a také všem ostatním kolegům ze 3. interní kliniky, kteří mi předávali své cenné zkušenosti v oblasti klinické medicíny a vědeckého výzkumu.

#### 4. Abstrakt

**Úvod:** V těhotenství dochází k řadě imunologických, hormonálních a metabolických změn, které zvyšují riziko rozvoje některých onemocnění. Základní cíle práce byly: porovnat sérové koncentrace protilátek proti C1q složce komplementu (anti-C1q) a manózy vázajícího lektinu (MBL) u těhotných žen s autoimunitním onemocněním štítné žlázy (AITD) a zdravých těhotných žen a porovnat koncentraci jodu ve vzorku moči (jodurie), novorozenecký tyreoidu stimulující hormon (TSH) a další tyreoidální laboratorní parametry u těhotných žen s gestačním diabetes mellitus (GDM) a zdravých těhotných žen.

**Pacientky a metody:** Do studie „anti-C1q“ bylo zařazeno 96 těhotných žen s AITD a kontrolní skupiny byly tři: 80 zdravých těhotných žen, 72 netěhotných žen s AITD a 72 zdravých dárců krve. Do studie „MBL“ bylo zahrnuto 212 těhotných žen s AITD a 80 zdravých těhotných žen a do studie „jodurie“ 195 těhotných žen s GDM a 88 zdravých těhotných žen. Koncentrace anti-C1q a MBL byly měřeny metodou ELISA, jodurie metodou absorpční spektrofotometrie po předchozí alkalické demineralizaci a ostatní parametry běžnou imunoanalýzou.

**Výsledky:** Anti-C1q a MBL v séru byly vyšší u těhotných žen s AITD oproti kontrolám. Anti-C1q pozitivně korelovaly s koncentracemi TSH a po porodu klesaly u žen s negativními TPOAb. Sérové koncentrace MBL klesaly po porodu. Medián jodurie, signalizující jodový deficit, byl nižší u žen s GDM oproti kontrolám. Většina těhotných diabetiček (78,97 %) a téměř polovina kontrol (43,18 %) měla mírný jodový deficit. Ženy s GDM měly oproti kontrolám vyšší prevalenci izolované hypotyroxinémie (12,31 % vs. 3,41 %,  $P=0,032$ ). Prevalence novorozeneckého TSH  $> 5$  IU/l u dětí žen s GDM byla 5,22 % a také signalizuje jodový deficit.

**Závěr:** Ve srovnání se zdravými těhotnými ženami měly těhotné s AITD vyšší sérové koncentrace anti-C1q a MBL a těhotné s GDM měly častější jodový deficit a izolovanou hypotyroxinémii.

**Klíčová slova:** štítná žláza, autoimunitní onemocnění štítné žlázy, těhotenství, jodurie, gestační diabetes mellitus, imunitní systém

## 5. Abstract

**Background:** The immunological, hormonal and metabolic changes occur during pregnancy and increase the risk of developing some diseases. The aims of this study were: to compare serum concentrations of antibodies against C1q component of complement (anti-C1q) and mannose-binding lectin (MBL) in pregnant women with autoimmune thyroid disease (AITD) and healthy pregnant women and to compare urinary iodine concentration (UIC), neonatal thyroid stimulating hormone (TSH) and other thyroid laboratory parameters in pregnant women with gestational diabetes mellitus (GDM) and healthy pregnant women.

**Patients and methods:** The “anti-C1q” study included 96 pregnant women with AITD and three control groups: 80 healthy pregnant women, 72 non-pregnant women with AITD and 72 healthy blood donors. The "MBL" study included 212 pregnant women with AITD and 80 healthy pregnant women, and the "urinary iodine concentration" study included 195 pregnant women with GDM and 88 healthy pregnant women. Anti-C1q and MBL concentrations were measured by ELISA, UIC by absorption spectrophotometry after previous alkaline demineralization, and other parameters by standard immunoassay.

**Results:** The anti-C1q and MBL serum concentrations were higher in pregnant women with AITD compared to controls. The anti-C1q concentrations were positively correlated with TSH concentrations and decreased after delivery in women with negative TPOAb. The serum concentrations of MBL decreased after delivery. UIC was lower in women with GDM than in the control group and corresponded with the iodine deficiency. The majority of pregnant women with GDM (78.97%) and almost half of controls (43.18%) had a mild iodine deficiency. Women with GDM had a higher prevalence of isolated hypothyroxinemia compared to controls (12.31% vs. 3.41%,  $P = 0.032$ ). Also, the prevalence of neonatal TSH  $> 5$  IU/l was 5.22% in newborns of women with GDM, it was signalling the iodine deficiency.

**Conclusion:** The pregnant women with AITD had higher serum concentrations of anti-C1q and MBL than the healthy pregnant women. Also, the pregnant women with GDM had more often iodine deficiency and isolated hypothyroxinemia.

**Keywords:** thyroid gland, autoimmune thyroid disease, pregnancy, urinary iodine concentration, gestational diabetes mellitus, immune system

## 6. Úvod

V těhotenství dochází v mateřském organismu k celé řadě imunologických, hormonálních a metabolických změn. Jedná se sice převážně o fyziologické děje zajišťující správný průběh těhotenství, avšak některé z nich mohou přispívat k manifestaci některých onemocnění během gravidity.

Produkcí řady cytokinů, hormonů a imunomodulačních molekul placentárními trofoblastovými buňkami je indukována zvýšená regulační funkce T buněk a je navozena tolerance mateřského imunitního systému vůči plodu (Guerin, L. R. et al., 2009). Mimo jiné mohou při tomto fyziologickém „imunotolerantním“ stavu procházet buňky plodu placentární bariérou do mateřských tkání a to může mít význam pro případný vznik autoimunitního onemocnění.

S hormonálními a imunitními změnami, ke kterým v těhotenství dochází, souvisí například exacerbace a změna aktivity autoimunitních zánětů štítné žlázy nebo vznik gestačního diabetu. Důležitou změnou v graviditě je totiž i prohloubení inzulinové rezistence působením hormonů fetoplacentární jednotky (lidský choriogonadotropin, progesteron, estrogen, choriový somatomotropin, kortikoliberin) (Sorenson, R. L. et al., 1993). Tento mechanismus umožňuje zvýhodněný přísun glukózy pro plod a pokrytí energetických požadavků, které jsou potřebné pro vývoj plodu a přípravu organismu matky na porod a laktaci (Butte, N. F., 2000).

Některé práce zkoumaly, zda neexistuje společný patogenetický mechanismus tyreoidální dysfunkce a autoimunitního onemocnění štítné žlázy a gestačního diabetes mellitus, avšak příčinná souvislost prozatím potvrzena nebyla.

### 6.1 Hypotézy

Stanovila jsem si tři hypotézy, které jsem se následně snažila ověřit.

1. Protilátky proti C1q složce komplementu se vyskytují častěji u gravidních žen s autoimunitními tyreopatiemi (AITD) než u zdravých těhotných žen.
2. Sérové koncentrace manózy vázajícího lektinu (MBL) v graviditě jsou ovlivněny přítomností autoimunitního tyreoidálního onemocnění.
3. Deficit jódu se vyskytuje častěji u těhotných diabetiček než u zdravých těhotných žen.

## 6.2 Cíle práce

Cílem práce bylo:

1. porovnávat sérové koncentrace protilátek proti C1q složce komplementu u gravidních žen s autoimunitními tyreopatiemi (AITD) a u zdravých těhotných žen;
2. měřit sérové koncentrace manózy vázajícího lektinu (MBL) a sérové koncentrace hormonů štítné žlázy a antityreoidálních protilátek u těhotných žen a zjistit, zda spolu tyto hodnoty korelují;
3. u těhotných diabetiček a zdravých těhotných žen měřit koncentraci jodu v moči (jodurii) a doplnit koncentrace novorozeneckého TSH u jejich dětí a zjistit tak, zda se u těhotných diabetiček vyskytuje častěji jodový deficit než u zdravých těhotných žen.

## 7. Autoimunitní tyreoidální onemocnění

### 7.1 Prevalence, etiologie a patogeneze tyreoidální autoimunity

Autoimunitní onemocnění postihují štítnou žlázu mnohem častěji než jiné orgány. Jedná se o typické orgánově specifické autoimunitní onemocnění. Obecně se onemocnění štítné žlázy vyskytují 8-10 krát častěji u žen než u mužů (Limanova, Z., Jiskra, J., 2010). Hypertyreóza se vyskytuje nejčastěji v podobě Gravesovy-Basedowovy (GB) choroby. Toto onemocnění se během života objeví až u 3 % žen a 0,5 % mužů s maximem mezi 40. – 60. rokem věku (Pokhrel, B., Bhusal, K., 2019). Prevalence manifestní hypotyreózy se pohybuje okolo 0,1 – 2 %, v případě subklinické hypotyreózy je to až 4 – 10 % (Canaris, G. J. et al., 2000; Aoki, Y. et al., 2007; Vanderpump, M. P. et al., 1995). Nejčastěji se přitom jedná o chronickou lymfocytární tyreoiditidu (Hashimotovu tyreoiditidu, HT), která je přítomná u 5–10 % populace (Bothra, N. et al., 2017). Výskyt pouze pozitivní tyreoidálních autoprotilátek (TPOAb – protilátky proti tyreoperoxidáze a/nebo TgAb – protilátky proti tyreoglobulinu) bez tyreoidální dysfunkce se pohybuje okolo 8-10 % (Limanova, Z., Jiskra, J., 2010; Antonelli, A. et al., 2015).

Etiologie a patogeneze autoimunitních tyreopatií (AITD) zůstává stále nejasná, ale podle dosud získaných epidemiologických a experimentálních dat dochází k interakci mezi genetickou predispozicí a faktory zevního prostředí (Huber, A. et al., 2008). Důležitým patogenetickým mechanismem je selhání regulačních mechanismů, které mohou být imunologické či hormonální. Rovněž tyto regulační mechanismy jsou však naprogramovány geneticky a mohou být také ovlivněny vnějšími faktory.

### 7.1.1 Genetické faktory

Podíl genetické zátěže se u AITD uvádí asi 40-50 %, podle některých autorů se např. u GB choroby podílí genetická predispozice až v 80 % (Prummel, M. F. et al., 2004). V souvislosti s AITD jsou studovány především geny kódující jednotlivé složky imunitního systému. Například u některých genů pro HLA-DR a HLA-DQ haplotypy (human leukocyte antigens – lidské leukocytární antigeny) byla popsána asociace s AITD, a to zvyšující nebo naopak snižující riziko vzniku onemocnění (Boehm, B. O. et al., 1992; Tamai, H. et al., 1994). Mechanismus, kterým HLA antigeny ovlivňují rozvoj autoimunity, není přesně znám. Jedním z možných vysvětlení je abnormální exprese HLA II. třídy pod vlivem IFN gama na buňkách, kde se za fyziologických okolností nevyskytují, a proti kterým je pak namířena autoimunitní reakce (Hanafusa, T. et al., 1983). Celý tento proces by mohl být spuštěn zevními vlivy.

Některé studie prokázaly změny v sérové koncentraci cytokinů u AITD (Al-Humaidi, M. A., 2000; Phenekos, C. et al., 2004). Expresí některých genů kódujících cytokiny nebo jejich receptory zřejmě dochází k nerovnováze cytokinového prostředí ve štítné žláze, včetně poměru Th1, Th2 a regulačních (Treg) lymfocytů a jejich cytokinů (Al-Humaidi, M. A., 2000; Phenekos, C. et al., 2004; Celik, I. et al., 1995; Diez, J. J. et al., 2002).

Ve štítné žláze pacientů s AITD byla detekována i patologicky zvýšená exprese různých chemokinů (např. IFN-gamma inducible protein 10) (Romagnani, P. et al., 2002).

Ke vzniku autoimunity mohou přispívat také mutace genů pro apoptózu a její efektorové mechanismy (kaspázy, Fas, FasL). Apoptóza může být spouštěčem autoimunitní reakce, ale podílí se také na regulaci imunitního systému (např. na odstraňování autoreaktivních T lymfocytů a NK buněk) (Kapas, J., Kohoutova, M., 1999). V přítomnosti IFN-gamma a TNF-alfa (Th1 cytokiny) dochází mechanismem Fas/FasL i k apoptóze tyreocytů (Wang, S. H. et al., 2002), což může být mechanismem vzniku atrofie štítné žlázy u chronické lymfocytární tyreoiditidy (LT).

Kromě toho byly u pacientů s AITD popsány také mutace genů pro kostimulační molekuly. Jedná se zejména o polymorfismy genu CTLA-4, který váže molekuly CD80 a CD 86 exprimované na povrchu antigen prezentujících buněk a dochází tak k inhibici Th lymfocytu (Saverino, D. et al., 2007). Dalším může být i polymorfismus CD40 na povrchu B lymfocytů, jehož vazba na CD40 ligand na povrchu aktivovaných Th lymfocytů je nutná ke klonální proliferaci B lymfocytů (Dittmar, M., Kahaly, G. J., 2005).

Do jiné skupiny genů patří gen AIRE, který je autoimunitním regulátorem a jeho mutace jsou důležité z hlediska patogeneze autoimunitního polyglandulárního syndromu 1. typu a alopecie

areata. Je ale možné, že některé polymorfismy tohoto genu mohou hrát roli v rozvoji orgánově specifických autoimunitních chorob včetně AITD (Čiháková, D., 2004).

### 7.1.2 Zevní faktory

Zevní etiologické faktory jsou fyzikální a chemické, biologické a stres. Mezi prokázané faktory patří zevní ozáření, ozáření radioaktivním jodem, kouření, nadměrný přísun jódu, stav po porodu a některé léky (Prummel, M. F. et al., 2004). Z nich nejdůležitější jsou amiodaron, cytokiny, růstové faktory, jodové kontrastní látky a check-point inhibitory (anti-CTLA-4, anti-protein disulfid izomeráza = anti-PDI). S vyšším rizikem vzniku AITD bylo také spojeno neužívání hormonální substituční terapie (Prummel, M. F. et al., 2004).

V případě biologických faktorů se jedná o infekce, kde jsou potenciálním mechanismem molekulární mimikry (podobnost povrchových molekul infekčních agens s antigeny hostitelských buněk) – např. podobnost povrchových struktur *Yersinia enterocolitica* s TSH receptorem (Corapcioglu, D. et al., 2002).

### 7.1.3 Regulační faktory

Mezi regulační faktory patří imunologické mechanismy (centrální a periferní imunologická tolerance, antiidiotypové a přirozené autoprotilátky) a faktory hormonální. Obě tyto složky mohou být rovněž geneticky naprogramovány. V těhotenství navíc dochází ke změnám hormonálním a změnám v imunitním systému, které mohou rozvoj AITD ovlivnit.

## **8. Hormonální, imunitní a metabolické změny v těhotenství**

### 8.1 Hormonální změny v těhotenství

Zejména v počátku těhotenství je důležité zajistit u ženy dostatečný přísun jódu pro syntézu tyroxinu (T4) matkou, neboť k rozvoji vlastní tvorby tyreoidálních hormonů ve štítné žláze plodu dochází až ve 14.-16. gestačním týdnu a do té doby je embryo závislé na dodávce tyroxinu od matky (De Escobar, G. M. et al., 2004). V těhotenství tedy stoupají nároky na syntézu T4 mateřskou štítnou žlázou. Dalším důvodem je zvýšení cirkulujícího objemu krve, urychlená deaktivace T4 na T3 dejodázou 3 a zvýšená vazba T4 na vazebné bílkoviny v plazmě, jejichž koncentrace stoupá vlivem estrogenů (Burrow, G. N. et al., 1994).



Zvýšenou syntézu tyreoidálních hormonů v těhotenství zajišťuje lidský choriogonadotropin (hCG), který má podobnou strukturu jako TSH (tyreoidální stimulační hormon). Zvýšený hCG (vrchol koncentrace okolo 11. gestačního týdne) může suprimovat hodnoty TSH a způsobovat mírné zvýšení koncentrací fT4 a fT3 v séru v první polovině gravidity (tzv. tranzitní gestační hypertyreóza). Jedná se o fyziologický stav, který nemá negativní vliv na průběh na těhotenství (Casey, B. M. et al., 2006).

Mnoho studií prokázalo, že nedostatek tyreoidálních hormonů matky způsobuje (Potlukova, E., 2013; Alexander, E. K. et al., 2004; Davis, L. E. et al., 1988; Stagnaro-Green, A. et al., 2005; Leung, A. S. et al., 1993; Mannisto, T. et al., 2013):

1. komplikace těhotenství (potraty, předčasné porody, preeklampsii a gestační hypertenzi, abrupci placenty, nízkou porodní váhu, vyšší incidenci císařského řezu);
2. poruchy vývoje plodu, zejména horší psychomotorický vývoj, různý stupeň mentální retardace a ložiskové neurologické deficity.

Také autoimunitní tyreoidální onemocnění bez poruchy funkce mohou být spojené s reprodukčními poruchami a komplikacemi (infertilita, spontánní potraty a předčasné porody) (Shinohara, D. R. et al., 2018; Prummel, M. F., Wiersinga, W. M., 2004).

## 8.2 Změny v imunitním systému v těhotenství

V těhotenství dochází k fyziologickým imunologickým změnám, jejichž výsledkem je navození imunotolerance plodu jako semi-allograftu, což je nezbytné pro správný průběh celého těhotenství. Důležitou úlohu hraje placenta, neboť 40 % deciduální tkáně tvoří buňky imunitního systému a trofoblastické buňky produkují řadu imunomodulačních molekul a cytokinů (Somerset, D. A. et al., 2004). Jejich prostřednictvím klesá počet CD4<sup>+</sup> T lymfocytů a stoupá počet CD8<sup>+</sup> T buněk a aktivita regulačních T lymfocytů, které mají velký význam pro vznik autoimunitních chorob (Somerset, D. A. et al., 2004; Aluvihare, V. R. et al., 2004).

K navození imunologické tolerance vůči plodu vedou především tyto mechanismy (Aluvihare, V. R. et al., 2004; Glinioer, D., 2008; Mold, J. E. et al., 2008):

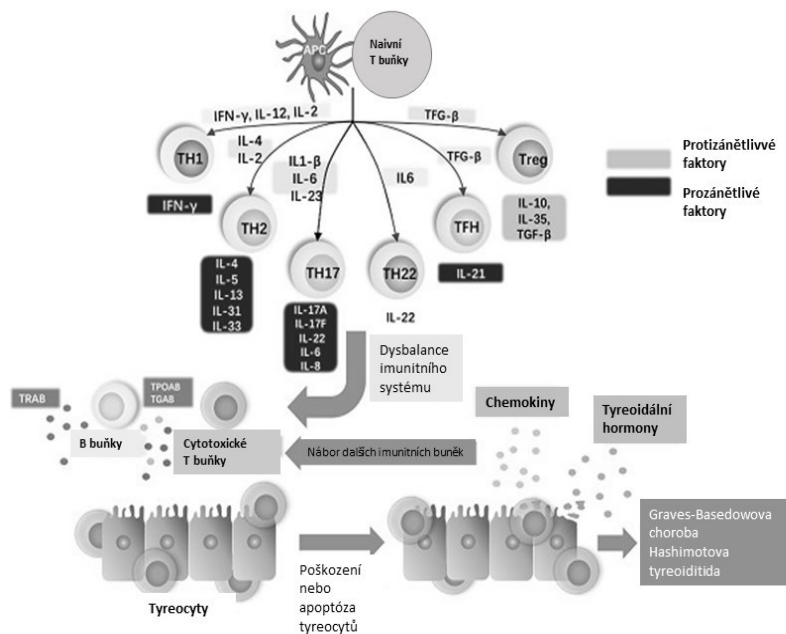
- 1) mechanická bariéra (brání stimulaci imunitního systému matky antigeny plodu);
- 2) změna exprese HLA (buňky trofoblastu exprimují jen některé MHC antigeny);
- 3) inhibice aktivace komplementu;
- 4) indukce apoptózy (trofoblast může indukovat apoptózu aktivovaných imunitních buněk prostřednictvím exprese apoptózu indukujících ligandů);

- 5) přesmyk z Th1 imunitní odpovědi na Th2 odpověď (přesmyk vlivem estrogenů a progesteronu, zvýšená koncentrace Th2 cytokinů v krvi);
- 6) vývoj T regulačních lymfocytů (zajišťují toleranci imunitního systému matky vůči antigenům plodu a naopak).

Působení těchto mechanismů může být podkladem pro rozvoj autoimunitního onemocnění v graviditě (*Obrázek 1*) (Li, Q. et al., 2019).

### Obrázek 1. Potenciální patogenetický mechanismus vzniku tyreoidálních autoimunitních onemocnění

(upraveno podle: Li, Q. et al., 2019)



APC: antigen prezentující buňka

IFN: interferon (IFN- $\gamma$ )

IL: interleukin (IL1- $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-21, IL-22, IL-23, IL-31, IL-33, IL-35)

TGF-beta: transformující růstový faktor beta

TH: pomocné T lymfocyty (TH1, TH2, TH17, TH22)

TFH: folikulární pomocné T lymfocyty

Treg: regulační T lymfocyty

TPOAB: protilátky proti tyreoperoxidáze

TGAB: protilátky proti tyreoglobulinu

TRAB: protilátky proti TSH receptoru

### 8.2.1 C1q složka komplementu, protilátky anti-C1q

Komplementový systém je soubor sérových a membránových glykoproteinů, které slouží jako humorální složka nespecifické imunity. Hlavními fyziologickými funkcemi komplementového systému jsou:

1. opsonizace (zvyšuje fagocytózu vazbou opsoninů C4b a C3b na cizí organismus);
2. fagocytóza;
3. chemotaxe (přitahuje makrofágy a neutrofile prostřednictvím mediátorů zánětu – C5a a v menší míře C3a a C4a);
4. lýza buněk (ruptura membrány díky vytvoření membránu atakujícího komplexu – MAC);
5. aglutinace (způsobuje shlukování a vazbu patogenů).

Komplement je soubor sérových a membránových glykoproteinů, které slouží jako humorální složka nespecifické imunity a může být aktivován několika způsoby (*Obrázek 2*) (Murray, R. K., Granner, D. K., 1993; Mathern, D. R., Heeger, P. S., 2015). Složka C1 stojí na počátku klasické cesty aktivace komplementu. Tvoří ji tři části - C1q, C1r a C1s. Složka C1q se naváže na Fc fragment imunoglobulinu vázaného na antigen, tím se změní konformace C1 a složky C1r a C1s jsou aktivovány na serinové proteázy (*Obrázek 3*) (Racaniello, V., 2009). Prostřednictvím proteolytické aktivity dochází ke štěpení dalších faktorů komplementové kaskády (Hořejší, V., Bartůňková, J., 2009). Opsonizovaný komplex je transportován do buněk stromatu kostní dřeně, kde C1q negativně ovlivňuje selekci autoreaktivních B lymfocytů (Ferenčík, M. et al., 2005). Kromě toho má C1q imunopresivní/tolerogenní účinky na clearance imunokomplexů a apoptotických tělísek (Potlukova, E., Kralikova, E., 2008).

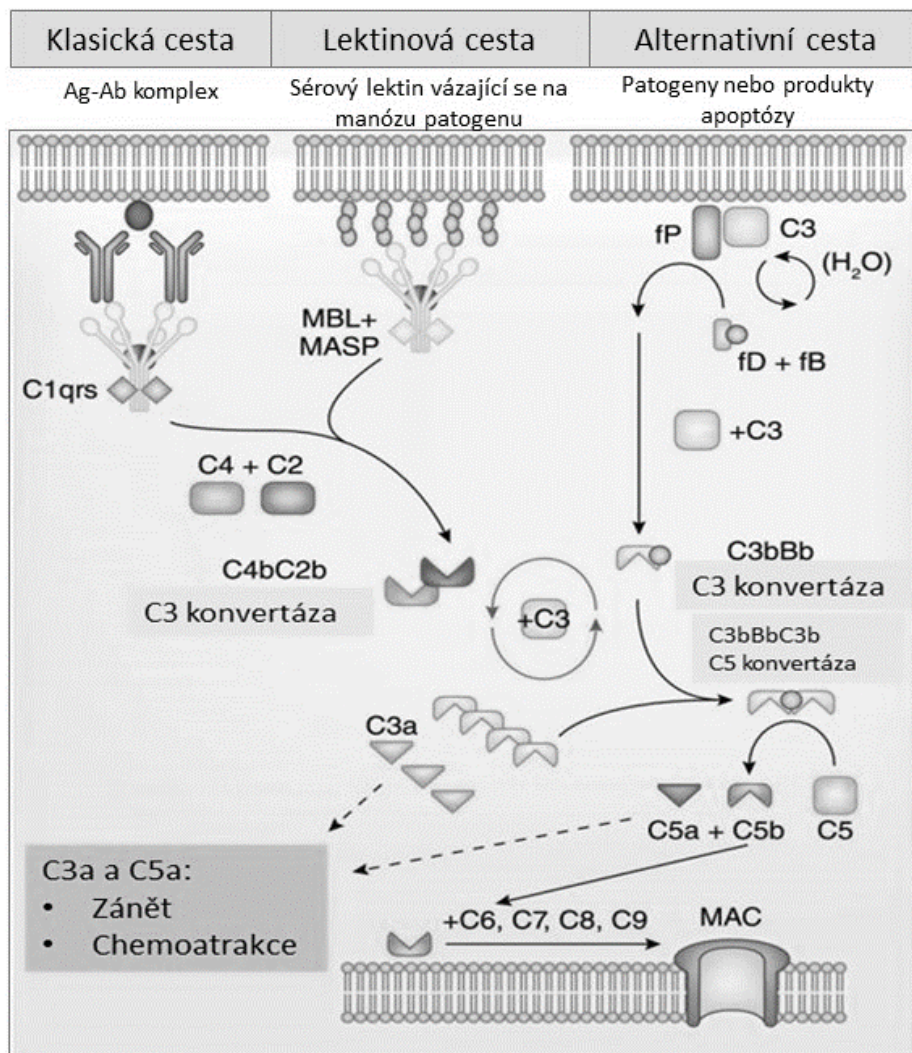
C1q přispívá k poškození tkáně, které může být samo o sobě cílem protilátkové reakce. Navíc se zdá, že hraje klíčovou roli při invazi deciduální tkáně trofoblastem, což je klíčový krok pro normální vývoj placenty. Experimentální studie využívající C1q-deficientní myši ukázaly, že nedostatek C1q se vyznačuje poruchou invaze trofoblastu a průběhu těhotenství (Potlukova, E., Kralikova, E., 2008). V případě deficience C1q tedy narůstá počet autoreaktivních B buněk a produkce patologických protilátek.

Autoprotilátky proti C1q (anti-C1q) byly popsány u řady autoimunitních a infekčních onemocnění (*Tabulka 1*) (Potlukova, E., 2005; Potlukova, E., Limanova, Z., 2007). Vyskytují se také u 2-8 % zdravé populace, jejich prevalence se liší u různých onemocnění a zdá se, že narůstá s věkem (Potlukova, E., Kralikova, E., 2008). U pacientů se systémovým lupus erythematosus slouží jako spolehlivý marker proliferace u lupusové nefritidy (Trendelenburg, M. et al., 2006).

Jejich role u orgánově specifických autoimunitních chorob je méně jasná, ale již dříve bylo uvedeno, že u pacientů s AITD se vyskytují častěji a jejich koncentrace koreluje s dysfunkcí štítné žlázy (u Hashimotovy tyreoiditidy i u Graves-Basedowovy choroby) (Potlukova, E. et al., 2008).

## Obrázek 2. Cesty aktivace komplementu

(upraveno podle: Mathern, D. R., Heeger, P. S., 2015)



Ag-Ab komplex: komplex antigen-protilátka

fB: faktor B

fD: faktor D

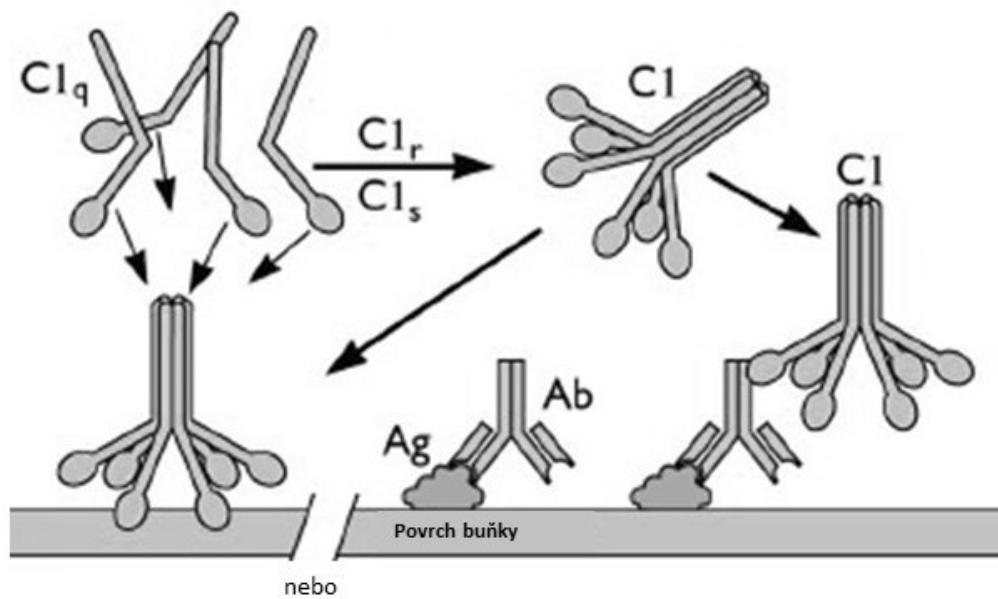
fP: faktor P

MBL: manózu vázající lektin (mannose binding lectin)

MASP: serinová proteáza asociovaná s MBL (MBL-associated serine protease)

MAC: membránu atakující komplex (membrane attack complex)

**Obrázek 3. C1 složka komplementu**  
(upraveno podle: Racaniello, V., 2009)



Ag: antigen  
Ab: protilátka

**Tabulka 1. Prevalence anti-C1q u autoimunitních a infekčních onemocnění**

(upraveno podle: Potlukova, E., 2005; Potlukova, E., Limanova, Z., 2007)

Hypokomplementemická urtikariální vaskulitida	100%
Smíšené onemocnění pojiva	94%
Systémový lupus erythematosus (SLE) – v závislosti na přítomnosti nefritidy	20 - 98%
SLE nefritida	83-98%
Feltyho syndrom	76%
Polyarteriitis nodosa	27%
Temporální arteriitis	0%
Revmatoidní artritida	0-4%
Revmatoidní vaskulitida	32%
Sjögrenův syndrom	13%
Bechtěrevova choroba	8%
Systémová skleróza	0-13%
Dna	10%
Hepatitida C	26%
HIV/AIDS	13%
Chronická lymfocytární tyreoiditida	21%
Gravesova-Basedowova tyreotoxikóza	30%

**8.2.2 Anti-C1q protilátky v těhotenství**

Doposud se pozitivitou anti-C1q v těhotenství zabývalo pouze několik studií a prevalence není jasně stanovena. V jedné z prací se pozitivní protilátky anti-C1q vyskytovaly u 19 % (6/31) zdravých těhotných žen (Trendelenburg, M. et al., 1999). Jejich koncentrace stoupá během prvního trimestru gravidity (Bulla, R. et al., 2018). Jiná studie ukázala, že u žen po spontánním potratu či extrauterinním těhotenství byly naměřeny signifikantně vyšší hladiny anti-C1q než u žen s intrauterinní graviditou, u kterých byly pozitivní ve 42 % (Daponte, A. et al., 2013). Autoři nedávno publikované studie zjistili, že prevalence i titer protilátek anti-C1q byly signifikantně

vyšší u žen s anamnézou opakujících se spontánních potratů než u zdravých žen (Ohmura, K. et al., 2019). V roce 2011 byla publikována práce, která u gravidních myší s deficitem C1q potvrdila výskyt projevů preeklampsie: hypertenze, albuminurie, endoteliózy a snížených hladin placentárního vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) a zvýšených hladin rozpustného receptoru pro VEGF. Ty korelují se zvýšenou úmrtností plodu (Singh, J. et al., 2011). Kromě toho v placentách myší s deficitem C1q byl pozorován snížený průtok krve a zvýšený oxidační stres (Singh, J. et al., 2011).

### 8.2.3 Manózu vázající lektin (MBL)

Manózu vázající lektin (MBL) či protein (MBP) je hlavní složkou lektinové aktivační cesty komplementu a jednou z hlavních rozpoznávacích molekul vrozeného imunitního systému. Jedná se o plazmatický kollektin (tzn. C-typ lektinu s doménou podobnou kolagenu), který specificky váže karbohydráty na povrchu řady bakterií a mikrobů a může je tedy neutralizovat a/nebo opsonizovat prostřednictvím aktivace lektinové cesty komplementu (*Obrázek 4*) (Kilpatrick, D. C., 2002, Agarwal, S. et al., 2011). Hraje klíčovou roli v clearance cirkulujících apoptotických buněčných materiálů (Nauta, A. J. et al., 2004; Ogden, C. A. et al., 2001).

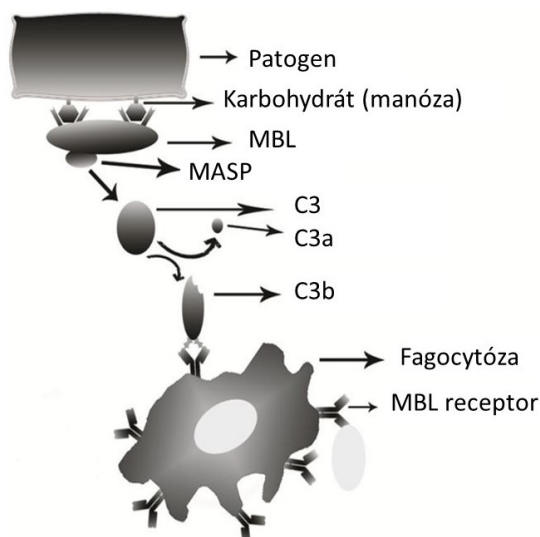
MBL je u člověka kódován jedním genem, *MBL2*, lokalizovaném na dlouhém raménku chromozomu 10 (Darton, T. C. et al., 2014). Bodové mutace *MBL2* genu způsobují deficienci funkčního MBL, jejich prevalence je vysoká a jedná se tedy o nejčastěji se vyskytující imunodeficit u lidí. V české populaci má 36,2 % jedinců variantu *MBL2* genu spojenou se sníženými hladinami MBL v krvi. (Skalnikova, H. et al., 2004). Snížená koncentrace MBL může vést v dětství k recidivujícím respiračním infektům. Deficit funkčního MBL může být spojen s výskytem autoimunitních chorob, jako je systémový lupus erythematosus (Kirwan, J. P. et al., 2002) nebo zánětlivá střevní onemocnění (Heitzeneder, S., 2012), ale také s produkcí antifosfolipidových protilátek (Seelen, M. A. et al., 2005; Font, J. et al., 2007). V reprodukci není role MBL zcela jasná, deficiencie MBL u matek či jejich potomků bývá spojována s komplikacemi během těhotenství a při porodu, jako jsou opakované potraty, nízký gestační věk, nízká porodní váha, zvýšené riziko chorioamniitidy a preeklampsie (Van de Geijn, G. E. et al., 2007; Van de Geijn, G. E. et al., 2008; Christiansen, O. B. et al., 2009; Vianna, P. et al., 2010; Rossner, P. et al., 2011; Cedzynski, M. et al., 2012; Kilpatrick, D. C. et al., 1995).

Zdá se, že těhotenství má specifický stimulační efekt na tvorbu MBL. Několik studií se zaměřilo na měření koncentrací MBL v těhotenství a například Kilpatrick et al. ukázali, že koncentrace MBL stoupají mírně v prvním trimestru a peak koncentrací se poté objevuje během třetího

trimestru (Kilpatrick, D. C., 2000). Podle jiné studie ale stoupá koncentrace MBL již v prvním trimestru těhotenství na 140 % základní hodnoty a je následována prudkým poklesem po porodu (Van de Geijn, G. E. et al., 2007). V této studii byla také zmíněna hypotéza, zda vyšší koncentrace MBL během těhotenství nemohou být jedním z faktorů odpovědných za zlepšení klinických projevů některých autoimunitních onemocnění během těhotenství, např. revmatoidní artritidy či systémového lupusu (Van de Geijn, G. E. et al., 2007). V těhotenství jsou koncentrace MBL ovlivněny přítomností tyreoidálního onemocnění a u žen s diagnózou choroby štítné žlázy byly koncentrace MBL signifikantně nižší než u těhotných zdravých žen (Potlukova, E. et al., 2013). Dokonce i u žen s prokázanou pouze izolovanou pozitivitou protilátek proti tyreoperoxidáze s pouze malým posunem koncentrací TSH v referenčním rozmezí byly koncentrace MBL signifikantně nižší než u těhotných eutyreózních žen s negativními TPOAb (Potlukova, E. et al., 2013). Sérové koncentrace MBL korelují s tyreoidálními hormony a prudce stoupají u hypertyreózy a naopak klesají u hypotyreózy, podobně korelují s funkcí štítné žlázy u pacientů v sepsi (Koenig, K. F. et al., 2012; Potlukova, E. et al., 2010).

#### Obrázek 4. MBL a lektinová cesta aktivace komplementu

(upraveno podle: Agarwal, S. et al., 2011)



MBL: manózu vázající lektin (mannose binding lectin)

MASP: serinová proteáza asociovaná s MBL (MBL-associated serine protease)



### 8.3 Metabolické změny v těhotenství

Metabolické změny probíhající během těhotenství jsou nezbytné pro splnění energetických požadavků na vývoj plodu a pro přípravu organismu matky na porod a laktaci. Příkladem je karbohydrátový metabolismus, který v graviditě umožňuje zvýhodněný přísun glukózy k plodu. V 1. trimestru gravidity dochází vlivem stoupajících hladin estrogenů a progesteronu k ukládání glykogenu, snižuje se produkce glukózy v játrech a zvyšuje se periferní utilizace glukózy. Častěji se tak mohou vyskytnout hypoglykémie (Bartaskova, D., 2016). V 2. a 3. trimestru se vyvíjí fetoplacentární jednotka, která produkuje kromě estrogenu a progesteronu také kortizol, lidský choriový gonadotropin, placentární laktogen, prolaktin a růstový hormon, tedy hormony, které indukují inzulinovou rezistenci (Sorenson, R. L. et al., 1993; Bartaskova, D., 2016). Inzulinová rezistence narůstá, snižuje se ukládání jaterního glykogenu a zvyšuje se hepatální produkce glukózy. V tomto období je tedy naopak patrný sklon k hyperglykemiím. Potřeba inzulinu stoupá a dosahuje maxima mezi 24.-36. týdnem těhotenství, hladiny inzulinu jsou ve třetím trimestru téměř dvakrát vyšší než u netěhotných žen (Butte, N. F., 2000; Bartaskova, D., 2016).

Základním patogenetickým mechanismem vzniku metabolických změn v průběhu gravidity je rostoucí inzulinová rezistence (Andelova, K., 2016). Její vývoj v těhotenství má podobný mechanismus jako v případě diabetes mellitus (DM) 2. typu – jedná se o poruchu působení inzulinu v důsledku postreceptorových změn na úrovni transportu glukózy a intracelulárního metabolismu v insulin-senzitivních tkáních, při normálním počtu inzulinových receptorů (Shao, J. et al., 2000).

Jako významný mediátor inzulinové rezistence je také uváděn zánětlivý marker TNF- $\alpha$ , k jehož zvýšení dochází v graviditě (Kirwan, J. P. et al., 2002). Sníženou citlivost vůči inzulinu může v pozdní fázi těhotenství potencovat hormonální stimulace lipolýzy vedoucí k hyperlipidémii (Andelova, K., 2016).

Důležitým rizikovým faktorem je nadváha či obezita matky, neboť u obézních těhotných žen jsou změny v inzulinové rezistenci výraznější (Buchanan, T. A., 2001).

#### 8.3.1 Pregestační a gestační diabetes mellitus

Gestační diabetes mellitus (GDM) je definován jako porucha glukózové tolerance různého stupně, která je poprvé diagnostikována během gravidity (American Diabetes Association, 2011). Pokud je diabetes mellitus diagnostikován již před graviditou, označuje se jako pregestační. GDM obvykle po porodu odeznívá, ale může se jednat i o prvozáchyt pregestačního

diabetu, hlavně v případě včasného záchytu (před 20. týdnem gravidity). S narůstajícím věkem rodiček, stoupající prevalencí obezity a dalších rizikových faktorů metabolického syndromu počet těhotných žen s GDM výrazně narůstá. Častěji se vyskytuje u žen starších 35 let ve druhém trimestru těhotenství (Lapolla, A. et al., 2004). Odhaduje se, že prevalence GDM se celosvětově pohybuje v rozmezí od 6 % do 13 % v závislosti na rizikovosti a diagnostických kritériích v dané populaci (Zhu, Y., Zhang, C., 2016). Diagnostická kritéria porovnávali v r. 2014 také čeští autoři Anderlová a kol. a zjistili, že záchyt GDM při použití mezinárodních kritérií podle IAPDSG (International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups) byl vyšší ve srovnání se stávajícími českými kritérii (31,89% vs. 22,26%, resp.) (Anderlova, K. et al., 2014).

Gestační diabetes zvyšuje riziko potratu v prvním trimestru, kongenitálních malformací, intrauterinní růstové retardace, makrosomie a porodního traumatu, porodu mrtvého dítěte a předčasného porodu, narůstá také mortalita a morbidita plodu a novorozence zejména z důvodu kongenitálních malformací a předčasného porodu (Buchanan, T. A., Xiang, A. H., 2005; Xiang, A. H. et al., 1999; Kalhan, S. C. et al., 1979; Wakwoya, E. B., Fita, F. U., 2018). U novorozenců se může po porodu vyskytnout hypoglykemie, hypokalcemie, hyperbilirubinemie, polycytemie (*Tabulka 2*) (Buchanan, T. A., Xiang, A. H., 2005; Xiang, A. H. et al., 1999). Během života jsou tyto děti více ohroženy obezitou, glukózovou intolerancí a kardiovaskulárními chorobami (Magon, N., Chauhan, M., 2012). Onemocnění samozřejmě přináší i komplikace pro matku a téměř u 70 % žen s gestačním diabetem se během následujících deseti let rozvine diabetes mellitus 2. typu (Buchanan, T. A., Xiang, A. H., 2005).

Vznik GDM souvisí s rostoucí inzulínovou rezistencí, která je kompenzována vyšší inzulínovou sekrecí z beta buněk pankreatu (Buchanan, T. A., Xiang, A. H., 2005; Catalano, P. M. et al., 1992; Kalhan, S. C. et al., 1979). Proto může mít na rozvoji onemocnění podíl také porucha nedostatečná rezerva beta buněk (Kalhan, S. C. et al., 1979; Buchanan, T. A., Xiang, A. H., 2005). U obézních žen jsou změny v inzulínové rezistenci výraznější, proto se u nich GDM vyskytuje 1,4 – 20krát častěji než u těhotných žen s normální tělesnou hmotností (Buchanan, T. A., 2001; Galtier-Dereure, F. et al., 2000). Navíc to, že je GDM většinou diagnostikován ve druhé polovině těhotenství, souvisí s maximální produkcí placentárních hormonů a cytokinů zvyšujících inzulínovou rezistenci v tomto období (Anderlova, K., 2016).

**Tabulka 2. Možné komplikace diabetes mellitus, tyreopatií a deficitu MBL a C1q v těhotenství**

(upraveno podle: Buchanan, T. A., Xiang, A. H., 2005; Xiang, A. H. et al., 1999; Kalhan, S. C. et al., 1979; Van de Geijn, F. E., Dolhain, R. J., 2007; Van de Geijn, F. E. et al., 2008; Christiansen, O. B. et al., 2009; Vianna, P. et al., 2010; Rossner, P. et al., 2011; Cedzynski, M. et al., 2012; Killpatrick, D. C. et al., 1995; Koenig, K. F. et al., 2012; Potlukova, E., 2010; Ohmura, K., 2019; Singh, J. et al., 2011; Wakwoya, E. B., Fita, F. U., 2018)

	<i>Komplikace</i>	<i>Diabetes mellitus</i>	<i>Tyreopatie</i>	<i>Deficit C1q</i>	<i>Deficit MBL</i>
Matka	Gestační art. hypertenze	•		•	•
	Preeklampsie	•	•	•	•
	Císařský řez	•	•	•	•
	Předčasný porod	•	•	•	•
	Potrat	•	•	•	•
	Choroba v pozdějším věku	•	•	-	-
	Placenta previa		•	-	-
	PROM, PPRM	•	•	•	•
	Infekce	•	•	•	•
Dítě	Nízká porodní váha			•	•
	Makrosomie, porodní poranění	•			
	Hypoglykemie	•			
	Plicní nezralost až RDS	•	•	•	•
	Hyperbilirubinemie, iontová dysbalance	•			
	Mozková dysfunkce	•	•		
	Choroba u dítěte	•	•	-	-

PROM: předčasný odtok plodové vody (premature rupture of membranes)

PPROM: předčasný odtok plodové vody před termínem porodu (preterm premature rupture of membranes)

RDS: syndrom dechové tísně (respiratory distress syndrome)

-: nelze určit

•: ano

prázdné pole: ne

## 9. Tyreopatie a pregestační a gestační diabetes mellitus

Již v 90. letech 20. století byly publikovány práce, které poukazyvaly na možnou souvislost tyreoidální dysfunkce a tyreoidální autoimunity s GDM. Doposud ale nebyla tato problematika objasněna. Komplikace gestačního diabetes mellitus (GDM) a tyreopatií v těhotenství a při porodu se do značné míry překrývají (*Tabulka 2*). V posledních letech se zabývalo několik studií vztahem mezi onemocněním štítné žlázy a pregestačním a gestačním diabetes mellitus. I když jsou data limitovaná, svědčí pro možnou souvislost mezi těmito chorobami.

Studie se snaží zodpovědět dvě základní otázky:

- 1) zdali jsou pregestační diabetes mellitus (PGDM) a GDM spojeny s vyšším rizikem rozvoje tyreopatií v graviditě;
- 2) zdali tyreopatie v prvním trimestru gravidity přináší riziko rozvoje GDM v dalších fázích gravidity.

Důležitost spočívá zejména v možnosti včasného zachycení těchto chorob v graviditě a tedy i ve včasné léčbě a předcházení komplikacím, které hrozí matce i plodu a novorozenci.

### 9.1 Pregestační a předchozí gestační diabetes mellitus a riziko tyreopatií v graviditě

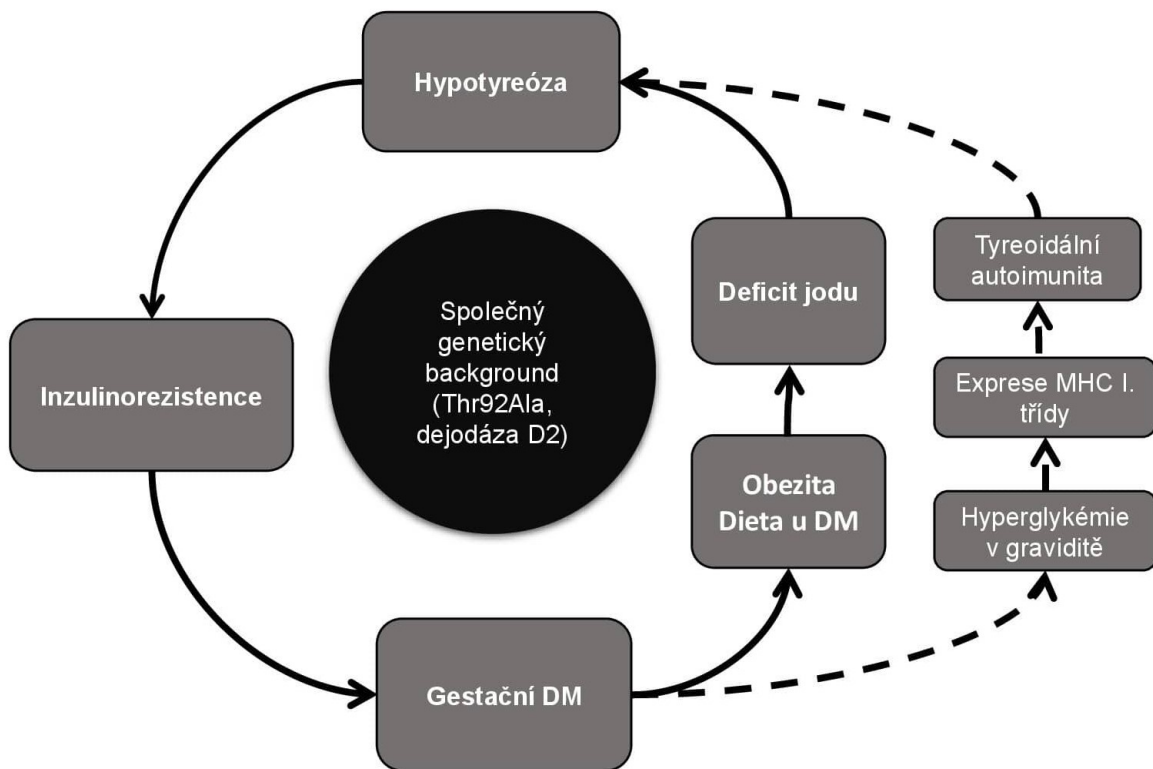
Shahbazian et al. ve své práci zjistili, že prevalence tyreoidální dysfunkce v graviditě byla vyšší ve skupině žen s pregestačním diabetes mellitus (10/39, tj. 25,6 %) oproti kontrolní skupině zdravých žen (3/35, tj. 8,6 %) (Shahbazian, H. et al., 2013). Jiná práce ukázala vyšší prevalenci tyreopatií v graviditě u žen s GDM v předchozí graviditě oproti kontrolám (abnormální tyreoidální stimulační hormon - TSH: 23,7 % vs. 9,7 %,  $P < 0,05$ ; pozitivní protilátky proti tyreoidální peroxidáze - TPOAb a/nebo proti tyreoglobulinu - TgAb: 31,6 % vs. 9,7 %,  $P < 0,001$ ; abnormální TSH a pozitivní protilátky: 18,4 % vs. 3,2 %,  $P < 0,05$ ) (Vitacolonna, E. et al., 2012). Olivieri et al. pozorovali, že prevalence pozitivních tyreoidálních protilátek byla v graviditě téměř 2x vyšší u žen s diabetes mellitus v rodinné anamnéze než u žen s autoimunitními tyreopatiemi v rodinné anamnéze (20 % vs. 9 %), i když rozdíl nebyl signifikantní (Olivieri, A. et al., 2000). Nejvyšší prevalence pozitivních tyreoidálních protilátek se vyskytovala ve skupině žen, které měly v rodinné anamnéze DM i autoimunitní tyreopatie (35 % vs. 13 % u kontrolní skupiny,  $P < 0,01$ ) (Olivieri, A. et al., 2000).

Z těchto dat lze soudit, že GDM v předchozí graviditě a pregestační diabetes mellitus (PGDM) mohou být spojeny se zvýšeným rizikem tyreopatií v těhotenství. V případě PGDM to není až tak překvapivé, protože většinou se v případě PGDM jedná o diabetes mellitus 1. typu, kde je

souvislost s AITD dobře prokázána. Méně jasná je souvislost mezi GDM v předchozí graviditě a rozvojem tyreopatie v těhotenství. Dostupných dat je málo a patofyziologické mechanismy jsou pouze na úrovni hypotéz (Obrázek 5) (Dora, J. M. et al., 2010).

**Obrázek 5. Model potenciálního mechanismu spojení hypotyreózy s gestačním diabetes mellitus.**

(upraveno podle: Dora, J. M. et al., 2010)



DM: diabetes mellitus

MHC: hlavní histokompatibilní komplex (major histocompatibility complex)

## 9.2 Tyreopatie a riziko rozvoje gestačního diabetes mellitus

Studie, které zkoumaly prevalenci GDM u těhotných žen s tyreopatiemi, přinesly rozporuplné výsledky. Byly limitovány například tím, že některé z nich hodnotily tyreoidální parametry v 1. trimestru a jiné ve 2. trimestru gravidity, přičemž je známo, že normy pro TSH a volný tyroxin (FT4) v krvi se liší v jednotlivých trimestrech a jsou také odlišné v různých laboratořích. Světová doporučení uvádí, že trimestr specifické referenční intervaly by měly být stanoveny v každém diagnostickém centru (Springer, D., Zima, T., 2018). Springer et al. stanovili v roce 2014 referenční intervaly pro TSH a FT4 v prvním trimestru těhotenství a cut-off pozitivní koncentraci TPOAb protilátek v séru u 216 těhotných žen v 9. – 13. týdnu těhotenství současně na sedmi odlišných imunoanalyzátořech, které reprezentují celosvětově nejužívanější systémy, přehled výsledků je uveden v *Tabulce 3* (Springer, D. et al., 2014).

*Obrázek 6* zobrazuje prevalenci GDM u těhotných žen se zjevnou tyreoidální dysfunkcí a tranzientní gestační hypertyreózou v prvním trimestru a u kontrolní skupiny. V první studii Stohl et al. byla prevalence signifikantně vyšší u hypotyreózy oproti hypertyreóze a v druhé uvádí Oguz et al. vyšší prevalenci u tranzientní gestační hypertyreózy oproti kontrolní skupině (Oguz, A. et al., 2013; Stohl, H. E. et al., 2013). Výsledky jsou rozporuplné, kromě jiného i proto, že v kontrolní skupině byla prevalence GDM relativně nízká (4 %), i když je uváděna prevalence GDM v rozmezí 7-10 % v rámci celosvětové populace bez ohledu na faktory jako je věk nebo etnicita (Oguz, A. et al., 2013; Ferrara, A., 2007).

Ve studii Tudela et al. riziko GDM mírně stoupalo s hodnotou TSH v prvním trimestru (*Obrázek 7*) (Tudela, C. M. et al., 2012). Podobně několik dalších studií ukázalo, že riziko GDM může být významně vyšší u žen s hypotyreózou v prvním trimestru gravidity, ačkoliv byly publikovány i studie, které to nepotvrdily (*Obrázek 8*). Leung et al. ve své práci dokonce ukázali, že zvýšený TSH v pupečnickové krvi byl u GDM lepším prediktorem novorozeneckých komplikací než glykémie a/nebo glykovaný hemoglobin (Leung, W. C. et al., 2004).

U žen s GDM byla také pozorována vyšší prevalence hypotyroxinemie (bez ohledu na koncentraci TSH) (Oguz, A. et al., 2015). Jednou z příčin izolované hypotyroxinemie u těhotných diabetiček by mohl být jodový deficit. Ve studii FaSTER (First and Second Trimester Evaluation of Risk) z roku 2016 byla zjištěna hypotyroxinemie v druhém trimestru jako rizikový faktor GDM (odds ratio 1,89, 95% CI 1.26-2.84) i po adjustaci na další rizikové faktory, na rozdíl od elevace TSH a hypotyroxinemie v druhém trimestru (Haddow, J. E. et al., 2016). Nízký FT4 u žen s GDM byl ale také jako závislá proměnná asociován s vyšší hmotností a vyšším věkem těhotných žen, což naznačuje, že by nemuselo jít o kauzální souvislost, nýbrž o vedlejší jev, kdy

obezita a vyšší věk jsou spojeny jak s nízkým FT4, tak s GDM. Kromě toho není vyšetření FT4 standardizované pro běžné imunoanalýzy a jak bylo uvedeno, výsledky tak mohou být zkresleny. V graviditě tedy vyšetření FT4 není příliš spolehlivé a vyžaduje, aby každá použitá metoda měla vlastní specifické normy pro daný trimestr. Více informací mohou přinést studie, které budou stanovovat FT4 metodou kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrofotometrií (LC/MS-MS).

Na rozdíl od tyreoidální dysfunkce nebyly pozitivní tyreoidální protilátky v prvním trimestru ani v jedné ze sedmi velkých studií zpracovaných během posledních osmi let signifikantním rizikovým faktorem GDM (Cleary-Goldman, J. et al., 2008; Mannisto, T. et al., 2013; Mannisto, T. et al., 2010; Karakosta, P. et al., 2012; Nelson, D. B. et al., 2014; Ong G. S. et al., 2014; Kumru, P. et al., 2015).

**Tabulka 3. Referenční intervaly pro TSH, FT4 a cut-off pro TPOAb stanovené současně na sedmi rozdílných celosvětově nejužívanějších analytických systémech**

(upraveno podle: Springer, D. et al., 2014)

Analytický systém	FT4 (pmol/l)		TSH (mU/l)		TPOAb (kIU/l)	
	Medián	Referenční interval	Medián	Referenční interval	Medián	Cut-off
Architect i2000SR, Abbott	14,41	11,76 – 17,7	1,37	0,22 – 3,27	9	11,2
UniCel DxI 800 Beckman Coulter	10,43	8,13 – 13,2	1,33	0,20 – 3,23	0,7	7,6
Immulin 2500 Siemens	12,95	10,44 – 16,39	1,16	0,17 – 2,83	5	16,7
Advia Centaur Siemens	14,59	11,83 – 18,37	1,39	0,22 – 3,34	7	54
Modular E170 Roche	14,66	11,49 – 18,62	1,56	0,25 – 3,81	33	20,1
AIA 2000 Tosoh Bioscience	13,4	9,97 – 17,25	1,09	0,18 – 2,78	5,7	7
RIA/IRMA Immunotech Beckman Coulter	15,18	12,31 – 18,67	1,53	0,25 – 3,91	0,26	14

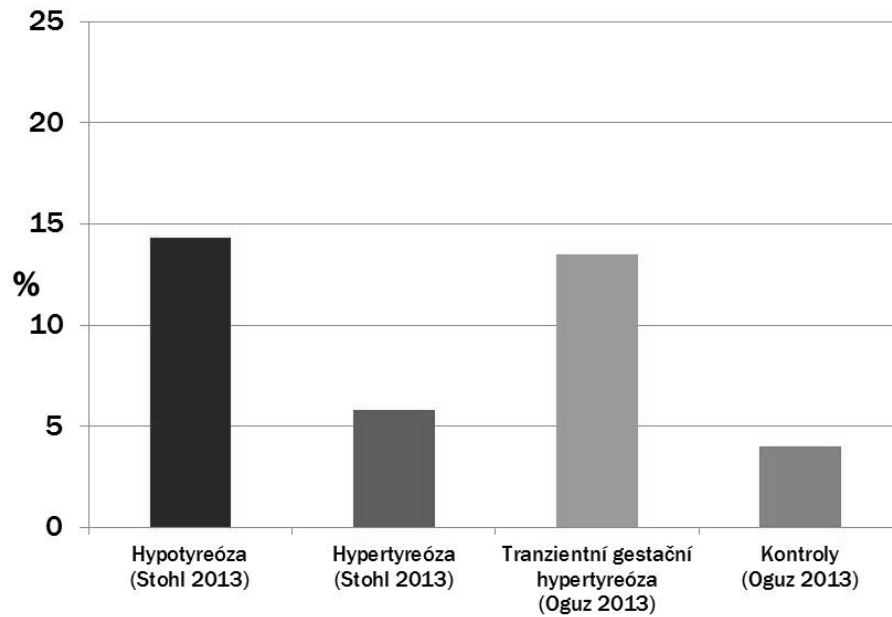
FT4: volný tyroxin

TSH: tyreoidu stimulující hormon

TPOAb: protilátky proti tyreoperoxidáze

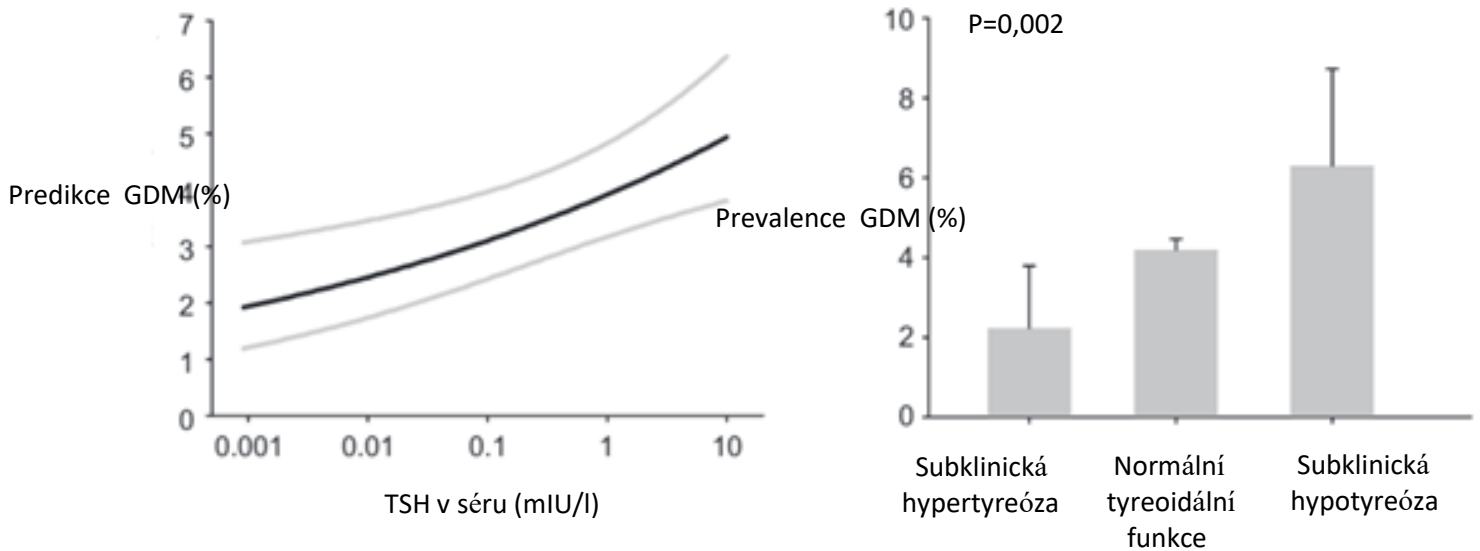
### Obrázek 6. Prevalence gestačního diabetes mellitus u tyreoidální dysfunkce

(upraveno podle: Stohl, H. E. et al., 2013; Oguz, A. et al., 2013)



### Obrázek 7. Riziko gestačního diabetes mellitus (GDM) v závislosti na tyreoidální funkci

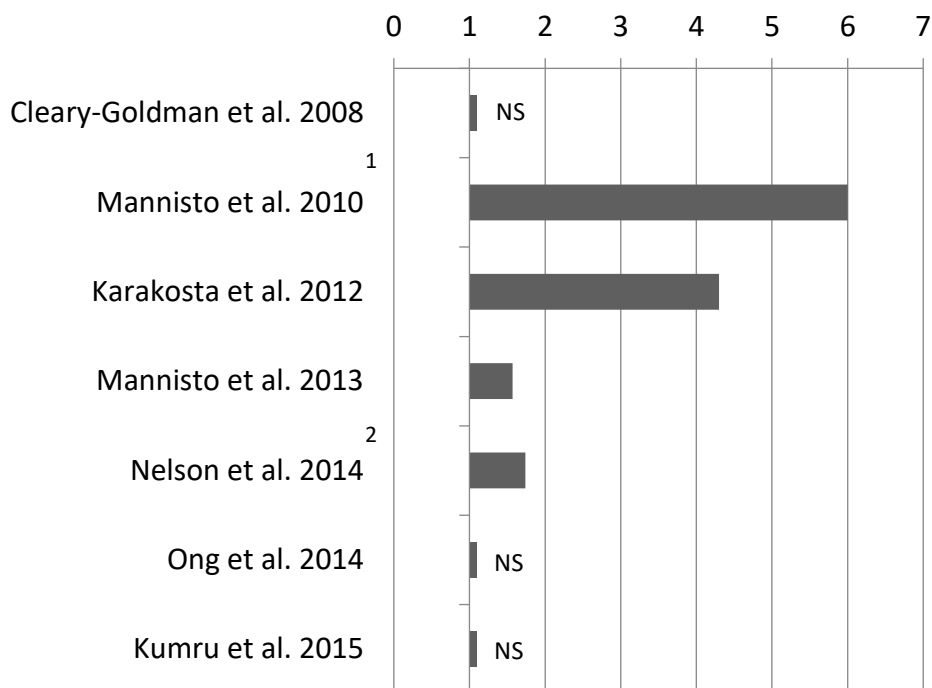
(upraveno podle: Tudela, C. M. et al., 2012)



GDM: gestační diabetes mellitus  
TSH: tyreoidu stimulující hormon  
P: míra významnosti



**Obrázek 8. Relativní riziko rozvoje gestačního diabetes mellitus u hypotyreózy v prvním trimestru v různých studiích.**



<sup>1</sup> pouze u manifestní hypotyreózy (pokud byla elevace TSH spojena s poklesem FT4)

<sup>2</sup> riziko u subklinické hypotyreózy v předchozí graviditě

NS: nesignifikantní

TSH: tyreoidu stimulující hormon

FT4: volný tyroxin

### 9.2.1 Potenciální patofyziologické mechanismy

Tyreopatie a diabetes mellitus jsou dvě nejběžnější endokrinologická onemocnění a zdá se, že mohou být propojena. Známa je souvislost mezi diabetes mellitus 1. typu a autoimunitní tyreoiditidou, kde hraje roli genetická predispozice a mutace řady genů (např. CTLA4, IFIH1, CD25, PTPN22, TSH receptor a jiné), ale kromě toho byl také dobře popsán přímý efekt tyreoidálních hormonů na metabolismus glukózy a lipidů (Duntas, L. H. et al., 2011; Pearce, S. H., Merriman, T. R., 2009).

U pacientů s diabetes mellitus 1. typu dosahuje prevalence autoimunitní tyreoiditidy a/nebo pozitivita tyreoidálních protilátek až 48 %, v ostatní běžné populaci je to 3-10 % (Duntas, L. H. et al., 2011).

Naopak spojení mezi DM 2. typu (většina případů GDM) a tyreopatiemi je mnohem méně jasné. Pokud bychom považovali asociaci elevace TSH v prvním trimestru (a nízkého FT4 v druhém

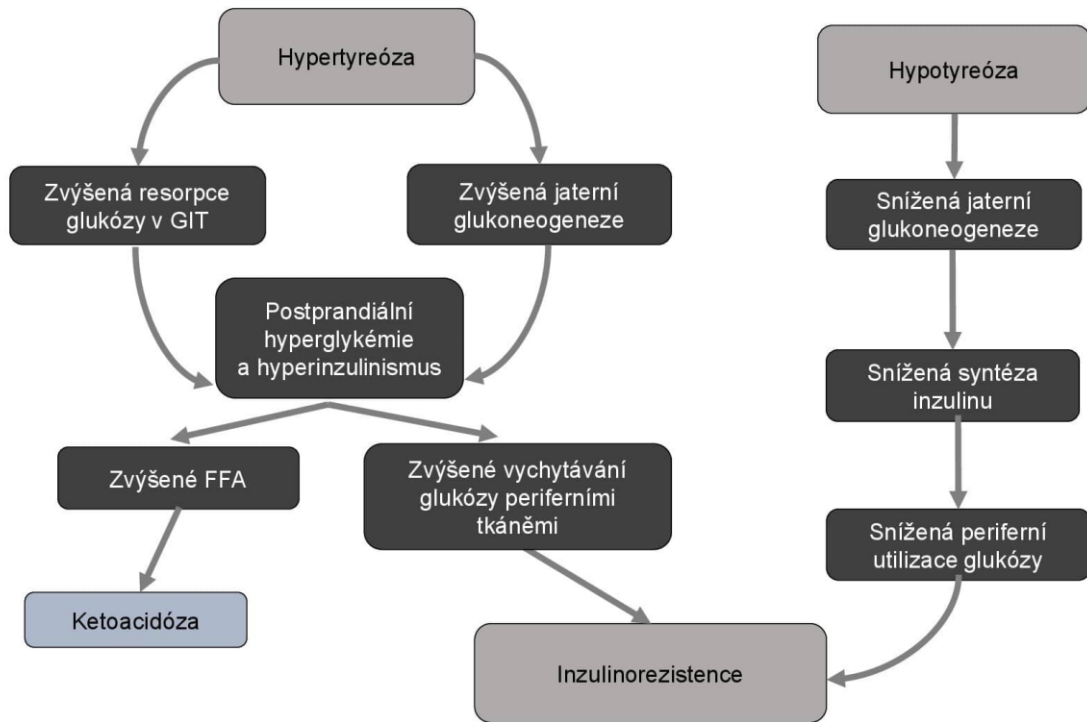
trimestru) s vyšší incidencí GDM za kauzální, zajímá nás, o jaký patofyziologický mechanismus se jedná. Jednou z hypotéz je, že hypotyreóza zvyšuje inzulinovou rezistenci. Tu ovšem způsobuje i hypertyreóza (*Obrázek 9*) a korelace mezi nízkým TSH a rozvojem GDM prokázána nebyla (Duntas, L. H. et al., 2011). Navíc v případě, že by vlivem hypotyreózy docházelo k rozvoji inzulinorezistence, měla by léčba levotyroxinem bránit rozvoji GDM, což doposud nebylo prospektivně studováno. V jediné retrospektivní studii přetrvávalo riziko GDM, i když byla hypotyreóza léčena (Mannisto, T. et al., 2010), což svědčí spíše proti kauzální souvislosti. Společným jmenovatelem by mohl být i polymorfismus Thr92Ala dekodázy D2, popsáný u DM 2. typu v práci Yalakanti et. al, ale ani tato hypotéza nebyla zatím potvrzena (Yalakanti, D., Dolia, P. B., 2016). Obezita jako významný rizikový faktor GDM může sama o sobě prostřednictvím adipokinů způsobit na úrovni hypotalamu a hypofýzy mírnou elevaci TSH a nejde při tom o hypotyreózu (*Obrázek 10*) (Bandurska-Stankiewicz, E., 2013; Pujanek, M. et al., 2013).

Dieta s vyšším obsahem kalorií zvyšuje aktivitu periferních dekodáz a vede tak k poklesu FT4, což může vysvětlovat asociaci nízkého FT4 s vyšší hmotností v graviditě (Haddow, J. E. et al., 2016). Na druhou stranu souvislost může být i opačná a dietní opatření u GDM mohou způsobit nedostatečný přísun jodu potravou, prohloubit jodový deficit, rozvoj hypotyreoxinémie. Těhotné ženy jsou k deficitu jodu zvláště citlivé z následujících důvodů:

- narůstající požadavky na syntézu tyroxinu (T4) v zájmu zachování normálního metabolismu matky,
- transportu T4 a jodidu od matky k plodu,
- předpokládané větší ztráty jodidu ledvinami v důsledku vzestupu glomerulární filtrace (o 40-50%) (Stilwell, G. et al., 2008),
- akcelerované metabolické inaktivace T4 a T3 dekodázou 3, která je zvýšeně exprimována v placentě (Horacek, J., 2011).

**Obrázek 9. Mechanismus vzniku inzulinorezistence u hypotyreózy a hypertyreózy.**

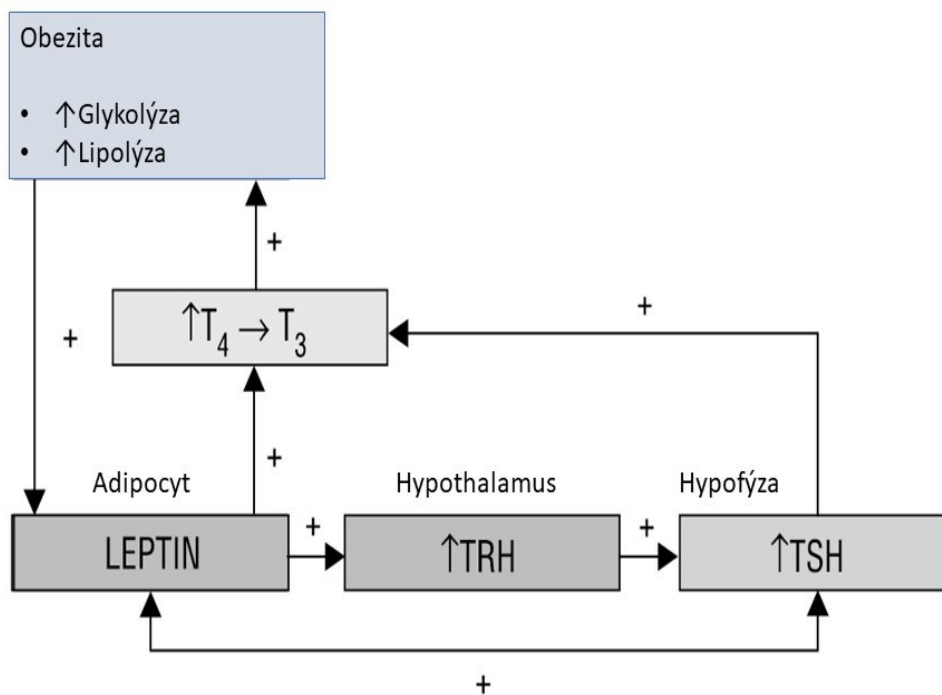
(upraveno podle: Duntas L.H. et al., 2011)



FFA: volné mastné kyseliny

**Obrázek 10. Patofyziologický mechanismus zvýšení hladin TSH u obezity a zpětná vazba mezi leptinem a osou hypothalamus-hypofýza-štítná žláza**

(upraveno podle: Pujanek, M. et al., 2013)



TRH: tyrotropin uvolňující hormon (thyrotropin releasing hormone)

TSH: tyreoidu stimulující hormon (thyroid-stimulating hormone)

T4: tyroxin

T3: trijodtyronin

## 10. Vlastní výsledky výzkumné práce

### 10.1 Vyšetření sérových koncentrací protilátek proti C1q složce komplementu u těhotných žen s autoimunitními tyreopatiemi.

#### *Výsledky této práce jsou součástí následující publikace:*

*Vitkova H, Jiskra J, Springer D, Limanova Z, Telicka Z, Bartakova J, Trendelenburg M, Potlukova E. Anti-C1q autoantibodies are linked to autoimmune thyroid disorders in pregnant women. Clin Exp Immunol. 2016 Oct;186(Surková):10-7. doi: 10.1111/cei.12813. Epub 2016 Aug 12. PMID: 27198614; PMCID: PMC5011361.*

#### 10.1.1 Cíle práce

Porovnat sérové koncentrace protilátek proti C1q složce komplementu u gravidních žen s autoimunitními tyreopatiemi (AITD) a u zdravých těhotných žen a také u žen negravidních s AITD a u zdravých dárců krve.

Zjistit, jak se koncentrace anti-C1q protilátek mění po porodu a zda by mohly sloužit jako marker identifikace žen s tyreoidální dysfunkcí po porodu.

#### 10.1.2 Soubor pacientů a použité metody

Během všeobecného screeningu autoimunitních tyreoidálních onemocnění v graviditě (v 9. – 11. gestačním týdnu) byly stanovovány protilátky proti tyreoperoxidáze (TPOAb), koncentrace tyreoidu stimulujícího hormonu (TSH), volného tyroxinu (FT4) a protilátek proti C1q složce komplementu (anti-C1q). Screening byl považován za pozitivní, pokud jakákoliv z hodnot tyreoidálních parametrů (TPOAb, TSH, FT4) byla patologická. Po odběru byla všechna séra zmrazena na teplotu -220°C. Následně byly ženy pozvány k dalšímu odběru po porodu (follow-up). Podařilo se tak získat 96 párových vzorků séra (jeden z časného těhotenství z období screeningu a jeden z období po porodu), ze kterých byly laboratorně stanoveny stejné parametry (TPOAb, TSH, FT4, anti-C1q).

Následně byly vytvořeny dvě skupiny. Ženy s pozitivními TPOAb bez ohledu na jejich tyreoidální funkci byly označeny jako skupina „screening+/TPOAb+“. Do druhé skupiny „screening+/TPOAb-“ byly zahrnuty ženy s negativními TPOAb, ale s tyreoidální dysfunkcí (patologické hodnoty TSH a/nebo FT4). Prostřednictvím dotazníku byla u těchto dvou skupin doplněna anamnestická data týkající se osobní a rodinné anamnézy, zejména

pak výskytu tyreoidálních onemocnění, diabetes mellitus a poruch imunitního systému (autoimunitních onemocnění, astmatu, atopického ekzému, alergií). Dále byl dotazník zaměřen na gynekologickou anamnézu, průběh současného těhotenství a medikaci užívanou v těhotenství.

Kontrolní skupiny byly celkem tři. První skupina zahrnovala 80 těhotných žen s negativním výsledkem ve screeningu AITD v 9. – 10. gestačním týdnu (skupina „pregnant screening -“). U těchto žen byl získán vzorek séra pouze z období těhotenství, follow-up již proveden nebyl. Druhou skupinu tvořilo 72 negravidních žen s AITD (skupina „non-pregnant AITD“) a tentokrát byl vzorek séra odebrán i po porodu a časový odstup od prvního odběru se pohyboval v rozmezí 4 – 62 měsíců, s mediánem 17 měsíců. U 44 pacientek v této skupině byla diagnostikována Hashimotova tyreoiditida a u 28 žen Graves-Basedowova choroba. Byla u nich potvrzena tyreoidální dysfunkce a byly léčeny buď levotyroxinem či tyreostatiky na základě jejich diagnózy. I když 6 z těchto žen s AITD mělo negativní TPOAb, sonografický nálezn byl typický pro Hashimotovu tyreoiditidu (4 případy) nebo měly pozitivní protilátky proti tyreoglobulinu (1 případ) nebo proti TSH receptorům (1 případ).

Jako zdraví dárce byli vybráni (anonymně) dospělí obou pohlaví bez klinických příznaků či anamnézy AITD. Celkem jich bylo 72 a byly od nich získány pouze hodnoty koncentrací anti-C1q.

Tyreoidální parametry (TPOAb, TSH, FT4) byly stanovovány chemiluminiscenční metodou. K měření TSH byla použita sendvičová analýza a přímou chemiluminiscencí a TPOAb a FT4 byly stanoveny kompetitivní imunoanalýzou. Referenční rozmezí pro koncentrace TSH v prvním trimestru bylo 0,06 – 3,67 mIU/l (23), pro FT4 to bylo 9,8 – 23,1 pmol/l a horní limit pro TPOAb v prvním trimestru byl 143 kU/l (Springer, D. et al., 2009). To znamená, že screening byl považován za pozitivní v případě, že koncentrace TSH byla nižší než 0,06 mIU/l nebo vyšší než 3,67 mIU/l a/nebo koncentrace TPOAb vyšší než 143 kU/l. U negravidních žen bylo referenční rozmezí koncentrací TSH 0,5 – 4,9 mIU/l a TPOAb pozitivita byla definována jako koncentrace TPOAb vyšší než 60 kU/l. Pokud bylo provedeno automatické ředění vzorků, horní limit pro pozitivitu TPOAb byl poté 10 000 kU/l.

Protilátky anti-C1q byly měřeny v séru za použití ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Cut-off koncentrace byla stanovena výrobcem (15 U/ml), specifické hodnoty pro těhotné ženy nebyly určeny.

Ke statistickým analýzám byl využit program GraphPad Prism version 5 (Graphpad

Software, San Diego, CA, USA). Aplikovány byly jak nonparametrické testy (Kruskal-Wallisův test, Mann-Whitneyův test, Spearmanův pořadový korelační test, Wilcoxonův test), tak i Fisherův exaktní test a kontingenční tabulky. Za signifikantní byla považována hodnota  $P < 0,05$ .

### 10.1.3 Výsledky

Ze skupiny 96 žen s pozitivním screeningem tyreoidálního onemocnění mělo 79 žen pozitivní protilátky TPOAb (skupina „screening+/TPOAb+”). Z těchto 79 žen byla u osmi z nich diagnostikována subklinická hypotyreóza, 4 ženy měly manifestní hypotyreózu, pět žen mělo subklinickou hypertyreózu, jedna žena manifestní hypertyreózu a ostatní byly eutyreózní.

Zbývajících 17 žen z 96 pozitivně screenovaných mělo TPOAb protilátky negativní (skupina „screening+/TPOAb-“) a u 17 z nich byla zjištěna subklinická hypotyreóza, u čtyř žen subklinická hypertyreóza a u tří manifestní hypertyreóza. Všechny ženy se subklinickou či manifestní hypotyreózou byly během těhotenství léčeny levotyroxinem. Mezi ženami se subklinickou či manifestní hypertyreózou byla u šesti z nich diagnostikována Graves-Basedowova choroba a byly léčeny tyreostatiky. U ostatních žen s hypertyreózou se jednalo o tranzientní gestační hypertyreózu a léčeny tedy nebyly.

#### 10.1.3.1 Výskyt anti-C1q protilátek

Obě podskupiny těhotných žen pozitivních ve screeningu tyreoidálních onemocnění, tj. skupina „screening+/TPOAb+” a „screening+/TPOAb-“, měly signifikantně vyšší koncentrace anti-C1q ve srovnání s těhotnými ženami, které byly ve screeningu negativní (12,7 *versus* 6,5 mU/l;  $P < 0,0001$  a 8,8 *versus* 6,5 mU/l;  $P = 0,008$ ), a s negavidními ženami s AITD (12,8 *versus* 6,7 mU/l;  $P < 0,001$  a 8,75 *versus* 6,7 mU/l;  $P < 0,05$ ).

Kromě toho všechny těhotné ženy bez ohledu na tyreoidální funkci nebo TPOAb pozitivitu měly signifikantně vyšší koncentrace anti-C1q než zdraví dárce krve. Také u negavidních žen s AITD byly koncentrace anti-C1q vyšší ve srovnání s dárce krve. Mezi skupinami „screening+/TPOAb+” a „screening+/TPOAb-“ se nevyskytly signifikantní rozdíly v koncentracích anti-C1q protilátek.

Nejen sérové koncentrace anti-C1q, ale také prevalence anti-C1q positivity (definována jako koncentrace anti-C1q  $> 15$  U/ml) byla signifikantně vyšší u skupiny „screening+/TPOAb+” než u těhotných žen „screening-“: 29 ze 79 žen (36,7 %) *versus* 14 z 80 žen (17,5 %);  $P = 0,008$ .

Oproti tomu mezi skupinami „screening+/TPOAb-“ a těhotnými „screening-“ nebyl rozdíl v prevalenci anti-C1q pozitivitu signifikantní.

#### *10.1.3.2 Změny koncentrací anti-C1q po porodu*

Sérové koncentrace anti-C1q klesaly signifikantně po porodu u všech těhotných žen s pozitivním screeningem (tj. „screening+/TPOAb+“ a „screening+/TPOAb-“), medián koncentrací během těhotenství byl 12,6 U/ml a po porodu 9,4 U/ml ( $P = 0,026$ ). Koncentrace TPOAb se neměnily. Nicméně při analýze podskupin se ukázalo, že u žen „screening+/TPOAb+“ nebyl pokles koncentrací anti-C1q signifikantní (12,8 *versus* 12,2 U/ml;  $P = 0,19$ ) a koncentrace anti-C1q klesaly po porodu signifikantně pouze u žen „screening+/TPOAb-“ (8,8 U/ml *versus* 5,9 U/ml,  $P = 0,002$ ).

Pokles sérových koncentrací anti-C1q byl také pozorován u negavidních žen s AITD, přitom koncentrace TPOAb neklesaly.

#### *10.1.3.3 Anti-C1q a tyreoidální parametry*

Ve skupině těhotných žen s pozitivním screeningem tyreoidálního onemocnění byly naměřeny vyšší koncentrace TSH u žen s anti-C1q pozitivitou než u anti-C1q negativních. Rozdíly v FT4 nebyly signifikantní. S využitím regresní analýzy nebylo detekováno žádné signifikantní spojení mezi anti-C1q pozitivitou v těhotenství a koncentrací TSH po porodu. V podskupině 84 těhotných žen s vysoce pozitivními TPOAb ( $> 200$  kU/l) bylo pozorováno, že u těch s anti-C1q pozitivitou (tj.  $> 20$  U/ml,  $N = 21$ ) byly koncentrace TSH po porodu vyšší než u anti-C1q negativních žen (3,32 *versus* 2,02 mU/l;  $P = 0,035$ ).

Ve skupině „screening+/TPOAb+“ také korelovaly koncentrace TSH pozitivně s koncentracemi anti-C1q ( $r = 0,026$ ;  $P = 0,045$ ;  $N = 79$ ), ve skupině „screening+/TPOAb-“ nikoliv. Mezi koncentracemi anti-C1q a TPOAb nebyla nalezena korelace.

#### *10.1.3.4 Anti-C1q pozitivita a anamnestická data*

V analýze anti-C1q pozitivních a anti-C1q negativních žen nebyl detekován signifikantní rozdíl v prevalenci onemocnění štítné žlázy nebo jiných imunitních onemocnění (včetně autoimunitních onemocnění a alergií), ve způsobu otěhotnění (přirozené otěhotnění *versus* metody asistované reprodukce), porodu (přirozený porod *versus* císařský řez) a nebyl patrný ani rozdíl v porodní váze. Ani při hodnocení prevalence relapsu Graves-Basedovovy choroby a poporodní tyreoiditidy u žen anti-C1q pozitivních a anti-C1q negativních nebyl



nalezen rozdíl.

#### 10.1.4 Diskuze

V této práci bylo zjištěno, že koncentrace anti-C1q stoupaly podstatně během těhotenství ve srovnání s ženami negravidními. Navíc byly koncentrace anti-C1q signifikantně vyšší u těhotných žen s AITD než u kontrolních skupin a byly spojeny s pozitivitou TPOAb a vyšší koncentrací TSH. Po porodu klesaly koncentrace anti-C1q u žen s tyreoidální dysfunkcí a s negativními TPOAb protilátkami, ale neklesaly u žen TPOAb-pozitivních. Pokles koncentrace anti-C1q byl zaznamenán také u léčených netěhotných žen s AITD. To naznačuje, že koncentrace anti-C1q odrážejí aktivitu autoimunitního onemocnění.

Doposud sledovalo výskyt anti-C1q protilátek v těhotenství pouze několik studií. Stoyanova et al. zjistili, že koncentrace anti-C1q byly vyšší u 6 ze 31 (19 %) zdravých těhotných žen (Stoyanova, V. et al., 2011). V jiné studii byly anti-C1q pozitivní 4 z 19 (19 %) těhotných žen se systémovým lupus erythematosus (Mosca, M. et al., 2007). A Daponte et al. uvedli ve své práci, že u žen s nezdařeným těhotenstvím (30 žen s extrauterinní graviditou a 30 abortů) byly naměřeny signifikantně nižší anti-C1q koncentrace než u 33 žen s intrauterinní graviditou a téměř polovina žen s intrauterinní graviditou měla pozitivní anti-C1q protilátky (14 ze 33, tj. 42%) (Daponte, A. et al., 2013).

V této práci byla zjištěna pozitivita anti-C1q u 36,7 % těhotných žen s pozitivními TPOAb a oproti tomu u pouhých 17,5 % těhotných žen z kontrolní skupiny (bez AITD). Ale stále byla prevalence positivity anti-C1q vyšší u těhotných žen bez AITD (8 %) a u negravidních žen s AITD (21 %) než u dárců krve.

Těhotenství má zřejmě samo o sobě velký vliv na koncentrace anti-C1q protilátek, ať už ženy mají AITD či nikoliv. Zjištění, že koncentrace anti-C1q klesly signifikantně po porodu pouze u pozitivně screenovaných žen, které měly negativní TPOAb, může odrážet dva mechanismy vedoucí k produkci anti-C1q protilátek v těhotenství. Prvním by mohlo být těhotenství samotné a druhým mechanismy spojené s autoimunitním onemocněním štítné žlázy.

Zdá se, že vzestup anti-C1q protilátek v těhotenství odráží změny ve vrozeném i získaném imunitním systému. Těhotenství je období, kdy se vyvíjí immunotolerance a dochází k mnoha změnám v imunitních pochodech, které mohou potlačovat či spouštět různé typy AITD (Weetman, A. P., 2010). Mění se tím způsob rozvoje systémového autoimunitního onemocnění (Perricone, C. et al., 2012). Zvažovali jsme tedy, zda by těhotenství mohlo být spouštěčem nárůstu koncentrací anti-C1q, který může mít na jedné straně dokonce protektivní vliv na průběh těhotenství, jak naznačuje Daponte, ale na druhou stranu může mít efekt patogenní (rozvoj AITD) (Daponte, A. et al., 2013). Bylo již

publikováno, že existuje spojení mezi anti-C1q a tyreoidální autoimunitou a dysfunkcí, ale prozatím toto nebylo zkoumáno v graviditě. Nyní se ukázalo, že koncentrace anti-C1q v těhotenství korelovaly pozitivně s koncentracemi TSH a anti-C1q pozitivní těhotné ženy měly signifikantně vyšší sérové koncentrace TSH než anti-C1q negativní ženy. Zapojení komplementu a anti-C1q v patogenezi AITD je tedy v těhotenství nejspíše podobné jako u žen negravidních.

Různé efekty anti-C1q v těhotenství (protektivní *versus* „pro-autoimunitní“) by mohly být spojeny s existencí dvou různých typů anti-C1q protilátek. Za prvé jsou to protilátky zaměřené na globulární hlavy C1q (anti-gC1q) a za druhé protilátky vázané ke kolagenu podobné části C1q molekuly [anti-C1q (CLR)]. Zatímco anti-C1q (CLR) byly dobře popsány u pacientů se SLE, působení anti-gC1q je méně dobře prozkoumáno (Wisnieski, J. J., Jones, S. M., 1992). Stoyanova *et al.* popsali, že se anti-gC1q zvyšují u zdravých těhotných žen (Stoyanova, V. *et al.*, 2011). Komerčně dostupné imunoeseje detekující anti-C1q, včetně té, co byla použita v této práci, používají intaktní C1q molekuly a tudíž nemohou rozlišovat mezi anti-gC1q a anti-C1q (CLR).

Pokles koncentrací anti-C1q byl pozorován po porodu pouze u TPOAb negativních žen, zatímco u žen s pozitivitou TPOAb zůstaly koncentrace anti-C1q zvýšené. Spekulovali jsme, zda anti-gC1q protilátky s více protektivními charakteristikami stoupají dočasně během těhotenství u žen bez dalšího autoimunitního onemocnění, zatímco u žen s tyreoidální autoimunitní chorobou dochází k vzestupu anti-C1q (CLR) protilátek. K potvrzení této hypotézy jsou ale zapotřebí další studie, které by rozlišovaly anti-gC1q a anti-C1q (CLR) protilátky.

U těhotných žen s AITD by mohla být anti-C1q pozitivita pomíjivý jev související s aktivitou autoimunitního onemocnění, počínající během těhotenství a postupně mizející. Tento pohled je v souladu s hypotézou, že tvorba autoprottilátek proti C1q předchází klinické manifestaci autoimunitního onemocnění a může tedy interferovat s funkcí C1q jako jednoho z „čisticích“ mechanismů imunitního systému (Kravitz, M. S., Shoenfeld, Y., 2006).

Chtěla jsem také vysvětlit potenciální využití anti-C1q jako markeru poporodní tyreoiditidy, k tomu doposud sloužily protilátky TPOAb. Zvýšené koncentrace TPOAb protilátek aktivujících komplement byly nalezeny u žen s poporodní tyreoiditidou (Parkes, A. B. *et al.*, 1996; Okosieme, O. E. *et al.*, 2002). Nicméně, přibližně pouze polovina TPOAb pozitivních žen rozvinula poporodní tyreoiditidu a mechanismy, které by mohly být zapojeny, jsou nejasné.

V naší práci se ukázalo, že zvýšené koncentrace anti-C1q byly spojeny se zvýšenou

koncentrací TSH v těhotenství, ale nebylo nalezeno spojení koncentracemi anti-C1q v těhotenství a koncentracemi TSH po porodu. Pozorován byl pouze trend vyšších koncentrací TSH po porodu u žen, které měly vysoce pozitivní TPOAb i anti-C1q. Nemohl být ale ověřen v regresní analýze kvůli příliš malému počtu subjektů a různým faktorům jako byla například terapie levotyroxinem. I když jsou tedy nejspíše anti-C1q blízce spojeny s AITD, nemohou být užívány jako marker poporodní tyreoiditidy.

Práce měla ovšem i své limity, jako nedostatečný počet subjektů a krevních vzorků po porodu. Dále chyběly hodnoty pro follow-up u žen, které byly negativně screenovány v těhotenství. Kromě toho nebyla získána klinická data od zdravých dárců krve a negravidní ženy s AITD byly starší a byla u nich častěji diagnostikována Graves-Basedowova choroba než u žen těhotných s AITD.

V této práci se ukázalo, že mezi těhotenstvím a koncentracemi anti-C1q existuje silný vztah, jak u žen s AITD, tak i bez tohoto onemocnění. I když u žen s AITD je vyjádřen více a to potvrzuje i pokles koncentrací anti-C1q po porodu u žen TPOAb-negativních, zatímco u žen TPOAb-pozitivních zůstávají koncentrace anti-C1q zvýšené. Výsledky práce by mohly vnést nový pohled na komplexní změny probíhající v imunitním systému během těhotenství a mohly by představovat část patogenetického mechanismu vzniku AITD.

## Anti-C1q autoantibodies are linked to autoimmune thyroid disorders in pregnant women

H. Vitkova,\* J. Jiskra,\* D. Springer,<sup>†</sup>  
Z. Limanova,\* Z. Telicka,\*  
J. Bartakova,<sup>‡</sup> M. Trendelenburg<sup>‡</sup>  
and E. Potlukova<sup>§</sup>

<sup>\*</sup>Third Department of Medicine, General University Hospital and First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic, <sup>†</sup>Institute of Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine, General University Hospital in Prague, Czech Republic, <sup>‡</sup>Institute of Biophysics and Informatics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic, <sup>§</sup>Division of Internal Medicine, University Hospital Basel, and <sup>‡</sup>Division of Internal Medicine and Laboratory of Clinical Immunology, University Hospital Basel

Accepted for publication 15 March 2016  
Correspondence: E. Potlukova, Division of Medicine, University Hospital Basel  
Petersgraben 4, 4031 Basel, Switzerland.  
E-mail: eliska.potlukova@usb.ch

### Introduction

During pregnancy, complex changes in the immune system occur, enabling immunotolerance of the foetus as a semi-allograft [1,2] and leading to changes in the course of pre-existing autoimmune diseases or the development of new diseases after delivery [3]. Autoimmune thyroid disorders (AITD) in pregnancy are common, with approximately 10% of pregnant women being positive for antibodies against thyroperoxidase (TPOAb) in iodine-sufficient areas [4,5]. AITD may lead to serious adverse pregnancy outcomes [6], including a high risk for the development of postpartum thyroiditis in TPOAb-positive women and chronic hypothyroidism after delivery [7]. Until now, markers to identify which

### Summary

Anti-C1q antibodies (anti-C1q) have been implicated in the pathogenesis of autoimmune diseases, including autoimmune thyroid disorders (AITD). The aim of this study was to evaluate the association between anti-C1q and thyroid function in pregnancy-associated AITD. In 96 pregnant women screened positive for AITD (thyroid dysfunction and/or antibodies against thyroperoxidase – TPOAb), anti-C1q were measured during the 9–11th gestational week and after delivery (median 16 months after delivery), and compared to the corresponding serum levels of thyroid hormones. As controls, 80 healthy pregnant women, 72 non-pregnant AITD patients and 72 blood donors were included. In the non-pregnant AITD group, two serum samples  $\geq 6$  months apart were analysed. Compared to blood donors, anti-C1q levels were substantially higher in all pregnant women analysed. In pregnancy, anti-C1q levels were higher in the TPOAb-positive women than in controls (37 versus 17.5%,  $P < 0.0001$ ). Anti-C1q-positive pregnant women screened positive for AITD had higher thyroid-stimulating hormone (TSH) levels than anti-C1q-negative women (2.41 versus 1.94 mU/l,  $P = 0.01$ ), and TSH correlated positively with anti-C1q ( $r = 0.226$ ,  $P = 0.045$ ) in the TPOAb-positive women. After delivery, serum levels of anti-C1q decreased in the positively screened TPOAb-negative women (8.8 versus 5.9 U/l,  $P = 0.002$ ), but not in the TPOAb-positive ones, and they no longer correlated with TSH. Anti-C1q antibody levels increase during pregnancy in general and even more in the context of AITD, where they correlate with thyroid stimulating hormone levels.

**Keywords:** anti-C1q antibodies, autoimmune thyroid disease, complement, postpartum thyroiditis, pregnancy

of the TPOAb-positive women will develop postpartum thyroiditis are lacking.

The pathogenic mechanisms leading to AITD are believed to be based on a combination of genetic susceptibility and environmental factors leading to changes in adaptive as well as innate immunity, including an aberrant interaction between thyrocytes, antigen-presenting cells and abnormal T cells [8]. Innate immune responses are associated with thyroid dysfunction, tissue destruction and probable development and perpetuation of AITD [9]. In this context, the complement system has also been linked to the development AITD, including postpartum thyroiditis [10,11].

Among the various complement components, C1q, a recognition molecule of the classical pathway, is



particularly interesting with regard to autoimmunity because of its immunosuppressive/tolerogenic effects in the context of the clearance of immune complexes and apoptotic bodies as well as in the participation in negative selection of autoreactive B lymphocytes in the bone marrow [12–14]. At the same time, C1q is a complement factor that contributes to tissue damage and that itself can be the target of an antibody response [15,16]. Moreover, C1q seems to play a pivotal role in promoting trophoblast invasion of deciduas, a crucial step in normal placental development. Experimental studies using C1q-deficient mice have shown that the lack of C1q is characterized by poor trophoblast invasion and pregnancy failure [17].

Autoantibodies against C1q (anti-C1q) have been described in a number of autoimmune and infectious diseases [18]. Their prevalence in the general population ranges from 2 to 8% and seems to increase with age [19]. In patients with systemic lupus erythematosus they serve as a reliable marker of proliferative lupus nephritis [20]. However, their role in organ-specific autoimmune diseases is less clear. Previously, we have shown that patients with autoimmune thyroid diseases (AITD) are more frequently positive for anti-C1q, and that anti-C1q levels correlate with thyroid dysfunction both in Hashimoto's thyroiditis (HT) and Graves' disease (GD) [21]. Although it seems that alterations in C1q and/or anti-C1q levels during pregnancy might be associated with adverse pregnancy outcome (spontaneous abortions and extrauterine gravidity) [22], the prevalence and clinical value of anti-C1q in pregnancy-associated AITD remain unknown.

Therefore, the aims of our study were to (i) evaluate the prevalence of anti-C1q in pregnant women screened positively for AITD and to compare them to the negatively screened women, as well as to non-pregnant patients with AITD and normal blood donors, and (ii) to assess whether anti-C1q could be used as an additive predictive marker for the identification of women with thyroid dysfunction after delivery.

## Patients and methods

### Patients

The study was designed as a retrospective cohort study. It was performed in co-operation between the Third Department of Medicine and the Institute of Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine of the General University Hospital in Prague.

The study was part of an experimental universal screening programme for AITD performed in 2006–08 [4,5] in 5520 consecutive pregnant women in the 9–11th gestational weeks who were examined at the Clinic of Obstetrics and Gynaecology of the General University Hospital in Prague. The screening consisted of the measurement of serum autoantibodies against thyroperoxidase (TPOAb),

thyroid stimulating hormone (TSH), and free thyroxine (FT4). Women with a pathological result in any of these parameters were considered to be positive in screening. At the time of the screening, a serum sample was frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Via letters, we invited 822 women screened positively for AITD for a follow-up blood test after delivery. Of the 212 women who joined the study (answer rate 25.8%), we were able to obtain 96 pairs of serum samples from early pregnancy (stored frozen samples) and after delivery (follow-up; fresh blood sample was drawn and stored in a freezer up to analysis). In all samples, we assessed serum levels of TSH, FT4, TPOAb and anti-C1q (in the samples from pregnancy, we used the already measured values and added only the measurement of anti-C1q). The positively screened pregnant women who were TPOAb-positive regardless of their thyroid function will be further described as the 'screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>+</sup>' group. Those who were screened positively due to thyroid dysfunction but negative for TPOAb will be described further as the 'screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>-</sup>' group.

Moreover, we asked the women to complete a history-orientated questionnaire. It consisted of questions targeted at the personal and family history of thyroid disease, diabetes and immune-mediated disorders (autoimmune diseases, asthma, atopic eczema, allergy), gynaecological history and the course of the current pregnancy, including questions on the medication during pregnancy.

As controls, we used two groups of women, plus a group of normal blood donors. The first group consisted of 80 pregnant women screened negative for AITD in the 9–10th gestational weeks (group 'pregnant screening<sup>-</sup>'). In these women, only serum samples from the time of pregnancy were available, as the women were not invited for follow-up. The second control group consisted of 72 non-pregnant women with AITD (group 'non-pregnant AITD'), in whom we gained a second serum sample (median time between samples: 17 months, range = 4–62). Forty-four patients had HT and 28 had GD. All these women with AITD had thyroid dysfunction at diagnosis and were treated by either levothyroxine or anti-thyroid drugs according to their diagnosis. Six of the women with AITD were negative for TPOAb. However, they either had a finding on thyroid ultrasound being typical for HT (four cases), were positive for antibodies against thyroglobulin (one case) or were positive for antibodies against TSH-receptor (one case).

Normal blood donors comprised 72 apparently healthy anonymous adults of both sexes without clinical evidence or history of AITD. In these individuals, only anti-C1q values were available.

The study was approved by the Ethical Committee of the General University Hospital. All included women were adult and signed a written informed consent form.

### Laboratory assessment

Upon inclusion into the study, serum samples were analysed directly for the thyroid parameters and part of the serum was aliquotted and frozen at  $-70^{\circ}\text{C}$  until further use. TPOAb, TSH and FT4 were assayed by the ADVIA Centaur Analyser (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, NY, USA) with chemiluminometric detection. TSH was determined by sandwich immunoanalysis with direct chemiluminometric technology; for anti-TPO and FT4, competitive immunoanalysis was used.

The reference interval for TSH in the first trimester of pregnancy was set at 0.06–3.67 mIU/l [23]. The upper limit for TPOAb in the first trimester of pregnancy was set at 143 kU/l [23] and the reference interval for FT4 was 9.8–23.1 pmol/l. A positive screening result was thus defined as TSH below 0.06 or above 3.67 mIU/l and/or TPOAb above 143 kU/l. In the non-pregnant patients, the reference range for TSH was 0.5–4.9 mIU/l and TPOAb-positivity was defined as values above 60 kU/l. When automatic dilution of the samples was performed the upper limit of detection of TPOAb was at 10000 kU/l. Beginning in 2010, a new ADVIA Centaur anti-TPO method also led to applicability of the producer cut-off for adults in pregnancy, in contrast to our previously reported cut-off at 143 kU/l [24].

Anti-C1q were measured in serum using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay kit (Bühlmann Laboratories, Schönenbuch, Switzerland), as described previously [25]. The technical cut-off for a positive test result as determined by the manufacturer (15 U/ml) was obtained by testing samples from 220 normal blood donors. However, there was no specific cut-off described for pregnant women.

### Statistics

Statistical analyses were conducted using GraphPad Prism version 5 (Graphpad Software, San Diego, CA, USA). Unless stated otherwise, all values described in the text and figures are expressed as median and range. Non-parametric

tests (Kruskal–Wallis test, one-tailed Mann–Whitney *U*-test and Spearman's rank correlation test, Wilcoxon's signed-rank test), as well as Fisher's exact test for contingency tables were applied, with differences considered significant for  $P < 0.05$ .

### Results

Of the 96 women screened positively for thyroid disorders with paired values of thyroid parameters in pregnancy and after delivery, 79 were TPOAb-positive (screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>+</sup> group). Eight of the 79 women had subclinical hypothyroidism, four overt hypothyroidism, five subclinical hyperthyroidism, one manifest hyperthyroidism, and the rest were euthyroid. The remaining 17 of the 96 women screened positive for AITD were the TPOAb-negative (screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>-</sup> group). Of these 17 women, 10 had subclinical hypothyroidism, four had subclinical hyperthyroidism and three manifest hyperthyroidism. All women with subclinical or manifest hypothyroidism were treated with levothyroxine during pregnancy. Among the women with subclinical or manifest hyperthyroidism, six were diagnosed as having GD and were treated with anti-thyroid drugs. The remaining hyperthyroid women were diagnosed as having transient gestational hyperthyroidism and were only observed.

The second sample after delivery was taken at a median interval of 17 months (range = 3–78) after delivery.

The basic characteristics of the women included and their follow-up values are shown in Table 1.

### Occurrence of anti-C1q antibodies

Both subgroups of the pregnant women screened positively for thyroid disorders, i.e. the screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>+</sup> and screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>-</sup> groups, had significantly higher anti-C1q levels than the pregnant screening negative control group (12.7 versus 6.5 mU/l;  $P < 0.0001$  and 8.8 versus 6.5 mU/l,  $P = 0.008$ , respectively).

**Table 1.** Basic characteristics of women at study inclusion

	Pregnant women positive in screening	Pregnant women negative in screening	Non-pregnant women with AITD	<i>P</i> -value
<i>n</i>	96	80	72	
Age (years)	32 (21–41)	32 (20–41)	53 (24–86)	< 0.0001
TSH (mIU/l)	2.205 (0.002–88.31)	1.425 (0.184–3.16)	2.322 (0.0–87.60)	0.0005
FT4 (pmol/l)	13.7 (8.0–44.5)	15.0 (12.31–19.5)	16.0 (3.9–146.0)	0.0003
TPOAb (kU/l)	834 (9.9–10000)	34 (9.0–68.0)	720 (15.0–10000)	< 0.0001
Anti-C1q (kU/ml)	12.6 (1.9–351.0)	6.5 (3.66–90.6)	6.7 (0.1–192.0)	< 0.0001
Prevalence of anti-C1q positivity (%)	34.4	17.5	20.8	0.022

Values are expressed as range and median, unless stated otherwise. The prevalence of anti-C1q positivity in the blood donors was 8%. The donors were anonymous and thyroid parameters were not tested. The statistical comparison was performed using the Kruskal–Wallis and  $\chi^2$  tests. The subgroup analysis according to antibodies against thyroperoxidase (TPOAb)-positivity in pregnancy is stated in the text. AITD = autoimmune thyroid disorders (AITD); FT4 = free thyroxine; anti-C1q = anti-C1q antibodies; TSH = thyroid stimulating hormone.



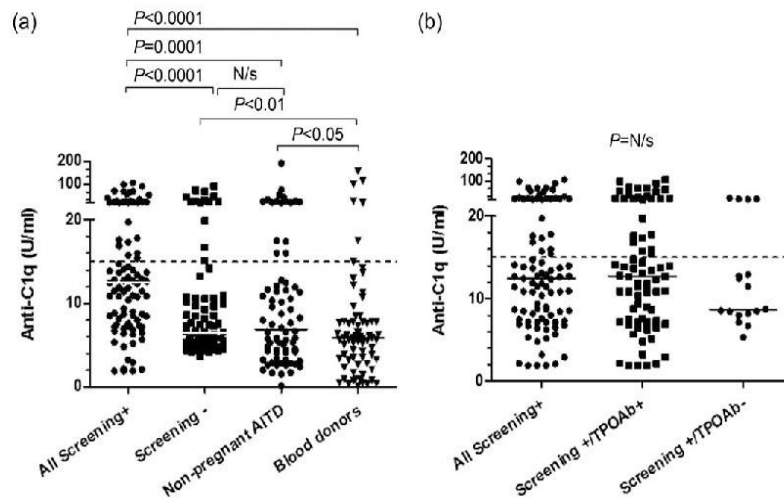


Fig. 1. Comparison of serum anti-C1q levels in all groups analysed. (a) Comparison of pregnant women screened positively for thyroid disorders with negatively screened pregnant women, non-pregnant autoimmune thyroid disorder (AITD) patients and blood donors. The differences between the groups as analysed by the Kruskal–Wallis test were highly significant ( $P = 0.0001$ ). When analysed separately using the Mann–Whitney  $U$ -test, the only two groups without statistically significant difference were the pregnant controls and non-pregnant AITD women. (b) Comparison of anti-C1q levels in pregnant women screened positively for thyroid disorders according to antibodies against thyroperoxidase (TPOAb) status. Horizontal lines represent the medians.

Moreover, both screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>+</sup> and screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>-</sup> groups had significantly higher anti-C1q levels than the control group of non-pregnant AITD women (12.8 versus 6.7 mU/l,  $P < 0.001$  and 8.75 versus 6.7 mU/l,  $P < 0.05$ , respectively).

Furthermore, pregnant women irrespective of the thyroid function and TPOAb-status (i.e. both the screening<sup>+</sup> as well as the screening<sup>-</sup> groups) had significantly higher anti-C1q levels than the blood donors (Fig. 1a). Similarly, the non-pregnant AITD group also had higher anti-C1q levels than the blood donors (Fig. 1a). There were no significant differences in anti-C1q levels between the screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>+</sup> and screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>-</sup> groups (Fig. 1b).

Not only the serum levels of anti-C1q, but also the prevalence of anti-C1q-positivity (defined as  $> 15$  mU/l), was significantly higher in the screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>+</sup> than in the pregnant screening<sup>-</sup> women: 29 of 79 (36.7%) versus 14 of 80 (17.5%),  $P = 0.008$ . In contrast, the difference in prevalence of anti-C1q positivity between the screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>-</sup> group and the pregnant screening<sup>-</sup> group was not significant.

#### Changes in anti-C1q antibodies at follow-up

Serum anti-C1q levels decreased significantly after delivery in all positively screened pregnant women (i.e. screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>+</sup> and screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>-</sup> groups together) with median values of 12.6 U/ml during pregnancy versus 9.4 U/ml after delivery,  $P = 0.026$  (Fig. 2a), while levels of TPOAb did not change. However, in the subgroup analysis,

the drop in anti-C1q levels in the screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>+</sup> group was not significant (12.8 versus 12.2 U/ml,  $P = 0.19$ , Fig. 2b). Only the screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>-</sup> subgroup showed a significant decrease in anti-C1q levels after delivery (8.8 versus 5.9 U/ml,  $P = 0.002$ , Fig. 2c).

Interestingly, we also observed a decrease in serum anti-C1q levels over time in the control non-pregnant AITD women (Fig. 2d), without an accompanying decrease in TPOAb.

#### Interaction of anti-C1q with thyroid parameters

Among the pregnant women screened positive for thyroid disorders, the anti-C1q-positive ones had higher TSH levels than the anti-C1q-negative ones (Fig. 3), while the differences in FT4 were not significant (not shown). In contrast, using regression analysis, we could not detect any significant association of anti-C1q positivity in pregnancy with postpartum TSH. We noted, however, that in the subgroup of 84 pregnant women who were highly positive for TPOAb ( $> 200$  kU/l), those who were also clearly positive for anti-C1q (i.e.  $> 20$  U/ml,  $n = 21$ ) had higher postpartum TSH than those with anti-C1q levels below this threshold (3.32 versus 2.02 mU/l,  $P = 0.035$ ).

Furthermore, in the screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>+</sup> group, the TSH levels correlated positively with anti-C1q levels ( $r = 0.226$ ,  $P = 0.045$ ,  $n = 79$ ), but not in the screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>-</sup> group. There was no correlation between anti-C1q and TPOAb levels.

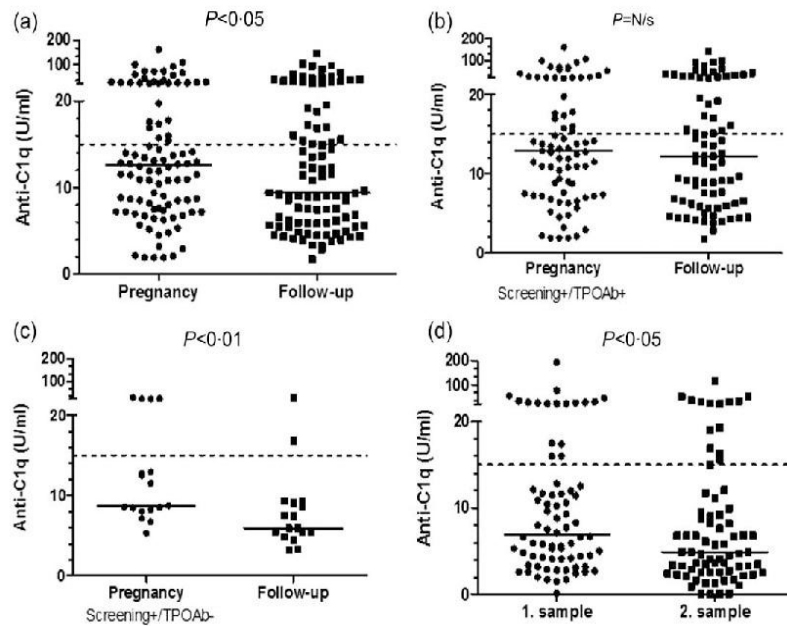


Fig. 2. Follow-up of serum anti-C1q levels in pregnancy and after delivery (median 17 months). (a) All women screened positively for thyroid disorders in pregnancy. (b) Women screened positively for thyroid disorders in pregnancy who were antibodies against thyroperoxidase (TPOAb)-positive (group screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>+</sup>). (c) Women screened positively for thyroid disorders in pregnancy who were TPOAb-negative (group screening<sup>+</sup>/TPOAb<sup>-</sup>). (d) Follow-up of anti-C1q levels in non-pregnant women with autoimmune thyroid disorder (AITD) (group non-pregnant AITD, median interval between samples 17 months). The dotted line represents the cut-off value for anti-C1q-positivity.

**Anti-C1q positivity and data from patient history**

Historical data were obtained from an internet-based encrypted questionnaire, which was completed by 168 women screened positively for AITD in pregnancy.

In an explorative analysis, no significant differences could be detected between the anti-C1q-positive and anti-

C1q-negative women in terms of prevalence of thyroid disorders before pregnancy or other immune-mediated disorders, including autoimmune diseases and allergies. Similarly, there were no differences in terms of mode of conception (natural *versus* methods of assisted reproduction), the outcome of the delivery including the mode of

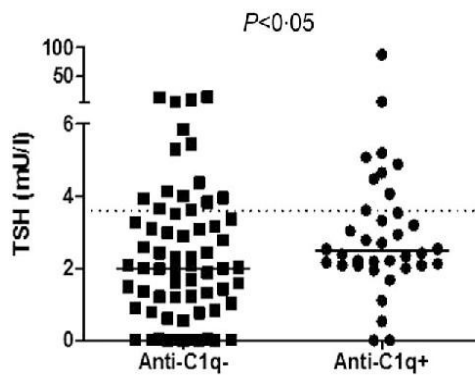


Fig. 3. Thyroid-stimulating hormone (TSH) levels in all pregnant women screened positively for thyroid disorders (group pregnant screening<sup>+</sup>) according to anti-C1q positivity. The horizontal lines represent median values, the dotted line represents the upper cut-off for TSH in the first trimester of pregnancy.



delivery (caesarean section *versus* natural) and birth weight between the anti-C1q-positive and anti-C1q-negative women. The self-reported prevalence of GD relapse or postpartum thyroiditis was similar in both groups.

## Discussion

To our knowledge, our study is the first to focus on the prevalence of anti-C1q antibodies in pregnancy and the first study to show a link between thyroid disorders and anti-C1q in pregnancy. We can show that anti-C1q levels are increased substantially during pregnancy when compared to a non-pregnant state. Moreover, anti-C1q levels are significantly higher in pregnant women with AITD when compared to controls, and they are associated with positivity for TPOAb and higher TSH levels. Furthermore, we can show that anti-C1q levels decrease after delivery in women with thyroid dysfunction without concomitant TPOAb positivity, but not in the TPOAb-positive women. Interestingly, we could also observe a similar drop in anti-C1q levels in a group of treated non-pregnant women with AITD, suggesting that anti-C1q levels follow the activity of the autoimmune disease.

Until now, only few studies addressed the occurrence of anti-C1q in pregnancy. Stoyanova *et al.* found increased anti-C1q antibody levels in six of 31 (19%) healthy pregnant women [26]. Mosca *et al.* found four of 19 (19%) pregnant women with systemic lupus erythematosus (SLE) to be anti-C1q positive [27]. Lastly, in the study by Daponte *et al.*, women with failed pregnancies (30 extrauterine and 30 abortions) had significantly lower anti-C1q levels than 33 women with intrauterine pregnancies [22], and women with intrauterine pregnancies were positive for anti-C1q in almost half the cases [14 of 33 (42%)].

In our study we could show that 36.7% of pregnant TPOAb-positive women were also positive for anti-C1q, in contrast to only 17.5% of pregnant controls without AITD. However, anti-C1q positivity in AITD-negative pregnant women were still significantly higher than in the group of blood donors (8%), and similar to the 21% anti-C1q positivity in non-pregnant women with AITD [21]. Thus, it seems that pregnancy *per se* has a strong effect on anti-C1q levels both in women with and without AITD. The observation that anti-C1q levels only decreased significantly after delivery in the positively screened women who were negative for TPOAb might reflect two different mechanisms leading to anti-C1q production during pregnancy, i.e. on one hand, pregnancy *per se* and on the other hand, mechanisms related to thyroid autoimmunity.

The observed increase in anti-C1q in pregnancy seems to reflect the profound changes in both the innate and adaptive immune systems. Pregnancy is a period of evolving immunotolerance leading to changes in many immune mechanisms which influence (suppress or trigger) different types of AITD [28], and the course of systemic auto-

immune diseases is also altered [3]. We therefore speculate that pregnancy might be a trigger for increased anti-C1q production, which may, on one hand, even be protective on the course of pregnancy as suggested by the data of Daponte [22], but on the other hand may be pathogenic with regard to the development of AITD.

The link of anti-C1q to thyroid autoimmunity and dysfunction has been shown in a previous study [21]. In the study presented here, we now confirm these findings in the context of pregnancy. Anti-C1q levels in pregnancy correlate positively with TSH, and anti-C1q-positive pregnant women had significantly higher TSH levels than anti-C1q negative women. Therefore, it seems that the involvement of complement and anti-C1q in the pathogenesis of pregnancy-associated AITD is similar to non-pregnant AITD.

The possibly diverging effects of anti-C1q in pregnancy (protecting *versus* proautoimmune) might be linked to the formation of two different types of anti-C1q antibodies: antibodies targeting the globular heads of C1q (anti-gC1q) *versus* those binding to the collagen-like parts of the C1q molecule [anti-C1q (CLR)]. Whereas anti-C1q (CLR) has been well described in patients with active SLE [29], the actions of anti-gC1q are less well understood. Stoyanova *et al.* described anti-gC1q to be increased in healthy pregnant women [26]. Commercially available anti-C1q assays, including the one used in our study, use intact C1q-molecules and therefore cannot discriminate between anti-gC1q and anti-C1q (CLR). We observed a decrease of anti-C1q after delivery only in the TPOAb-negative women, whereas anti-C1q levels remained elevated in TPOAb-positive women. Therefore, we speculate that anti-gC1q antibodies with more protective characteristics increase temporarily during pregnancy in women without additional autoimmunity, whereas women with thyroid autoimmunity develop an additional increase in anti-C1q (CLR) antibodies, as observed in systemic autoimmunity, which are associated with the deterioration of the thyroid function. However, further studies distinguishing between anti-gC1q and anti-C1q (CLR) will be needed to address this hypothesis.

With regard to pregnancy-associated AITD, we think that anti-C1q positivity is a passing phenomenon expressing the activity of the autoimmune disease, starting in pregnancy and fading during the years of the autoimmune process. This view would be in line with the hypothesis that the formation of autoantibodies against C1q precedes the clinical manifestation of autoimmunity, and their binding might interfere with the function of C1q as one of the waste clearance mechanisms [30].

Lastly, we also wanted to explore the potential usefulness of anti-C1q as a marker of postpartum thyroiditis. Until now, only TPOAb serve as a predictor of postpartum thyroiditis (PPT), apart from thyroid ultrasound [7]. Complement-activating TPOAb were found to be increased

in women with PPT [31,32]. However, only approximately half the TPOAb-positive women developed PPT after delivery, and the mechanisms that might be involved remain unclear. In our study, increased levels of anti-C1q were associated with increased TSH in pregnancy. However, we could not define any consistent relationship between anti-C1q levels in pregnancy and TSH after delivery. We could only observe a trend towards increased postpartum TSH levels in women who were highly positive for both TPOAb and anti-C1q. However, due most probably to too-small numbers and confounders such as treatment with levothyroxine, this trend could not be verified in a regression analysis. Thus, although anti-C1q seem to be linked closely to AITD, they might not be useful as a marker for increased risk of postpartum thyroiditis.

There are several limitations to our study. In order to analyse more effectively the effect of anti-C1q positivity on postpartum thyroid function, we would have needed a larger cohort and more frequent postpartum blood samples. Moreover, we lack follow-up in women who were screened negative during pregnancy. In addition, we have no clinical data on the group of apparently healthy blood donors, and finally the non-pregnant patients with AITD were older and had GD more frequently than the women with pregnancy-associated AITD.

In conclusion, pregnancy *per se* has a strong effect on anti-C1q levels both in women with and without AITD. However, in women with AITD this effect is even more pronounced. Anti-C1q levels correlate positively with TSH during pregnancy and decrease significantly after delivery in the TPOAb-negative women, whereas they remain increased in the TPOAb-positive women. These observations might reflect the complex changes in the interplay of the innate and adaptive immune system occurring during pregnancy, and might represent a part of the pathogenic mosaic leading to AITD.

### Acknowledgements

M. T. is supported by a project grant from the Swiss National Science Foundation (grant no. 32003B\_152674/1).

### Disclosures

None of the authors has any potential financial conflict of interest related to this paper.

### References

- Guleria I, Sayegh MH. Maternal acceptance of the fetus: true human tolerance. *J Immunol* 2007; **178**:3345–51.
- Borchers AT, Naguwa SM, Keen CL, Gershwin ME. The implications of autoimmunity and pregnancy. *J Autoimmun* 2010; **34**: J287–99.
- Perricone C, de Carolis C, Perricone R. Pregnancy and autoimmunity: a common problem. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2012; **26**:47–60.
- Potlukova E, Potluka O, Jiskra J *et al.* Is age a risk factor for hypothyroidism in pregnancy? An analysis of 5223 pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; **97**:1945–52.
- Limanova Z, Springer D. Thyreopathy examination during pregnancy – results of pilot project. *Cas Lek Cesk* 2011; **150**:389–93.
- Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E *et al.* Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid* 2011; **21**:1081–125.
- Stagnaro-Green A, Schwartz A, Gismondi R, Tinelli A, Mangieri T, Negro R. High rate of persistent hypothyroidism in a large-scale prospective study of postpartum thyroiditis in southern Italy. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; **96**:652–7.
- Klecha AJ, Barreiro Arcos ML, Frick L, Genaro AM, Cremaschi G. Immune–endocrine interactions in autoimmune thyroid diseases. *Neuroimmunomodulation* 2008; **15**:68–75.
- Kawashima A, Tanigawa K, Akama T, Yoshihara A, Ishii N, Suzuki K. Innate immune activation and thyroid autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; **96**:3661–71.
- Weetman A, Cohen SB, Olesky DA, Morgan BP. Terminal complement complexes and C1/C1 inhibitor complexes in autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol* 1989; **77**:25–30.
- Weetman A, Tandon N, Morgan BP. Antithyroid drugs and release of inflammatory mediators by complement-attacked thyroid cells. *Lancet* 1992; **340**:633–6.
- Nauta AJ, Castellano G, Xu W *et al.* Opsonization with C1q and mannose-binding lectin targets apoptotic cells to dendritic cells. *J Immunol* 2004; **173**:3044–50.
- Ogden CA, deCathelineau A, Hoffmann PR *et al.* C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calcitriecin and CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic bodies. *J Exp Med* 2001; **194**:781–96.
- Carroll M. Innate immunity in the etiopathology of autoimmunity. *Nat Immunol* 2001; **2**:1089–90.
- Beurskens FJ, van Schaarenburg RA, Trouw LA. C1q, antibodies and anti-C1q autoantibodies. *Mol Immunol* 2015; **68**:6–13.
- Lu J, Teh BK, Wang L *et al.* The classical and regulatory functions of C1q in immunity and autoimmunity. *Cell Mol Immunol* 2008; **5**:9–21.
- Singh J, Ahmed A, Girardi G. Role of complement component C1q in the onset of preeclampsia in mice. *Hypertension* 2011; **58**:716–24.
- Mahler M, van Schaarenburg RA, Trouw LA. Anti-C1q autoantibodies, novel tests, and clinical consequences. *Front Immunol* 2013; **4**:117.
- Potlukova E, Kralikova P. Complement component c1q and anti-c1q antibodies in theory and in clinical practice. *Scand J Immunol* 2008; **67**:423–30.
- Trendelenburg M, Lopez-Trascasa M, Potlukova E *et al.* High prevalence of anti-C1q antibodies in biopsy-proven active lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2006; **21**:3115–21.
- Potlukova E, Jiskra J, Limanova Z *et al.* Autoantibodies against complement C1q correlate with the thyroid function in patients with autoimmune thyroid disease. *ClinExp Immunol* 2008; **153**: 96–101.
- Daponte A, Deligeorgiou E, Pourmaras S *et al.* Interleukin-15 (IL-15) and anti-C1q antibodies as serum biomarkers for

- ectopic pregnancy and missed abortion. *Clin Dev Immunol* 2013; **2013**:637513.
- 23 Springer D, Zima T, Limanova Z. Reference intervals in evaluation of maternal thyroid function during the first trimester of pregnancy. *Eur J Endocrinol* 2009; **160**:791–7.
  - 24 Springer D, Bartos V, Zima T. Reference intervals for thyroid markers in early pregnancy determined by 7 different analytical systems. *Scand J Clin Lab Invest* 2014; **74**:95–101.
  - 25 Trendelenburg M, Marfurt J, Gerber I, Tyndall A, Schifferli JA. Lack of occurrence of severe lupus nephritis among anti-C1q autoantibody-negative patients. *Arthritis Rheum* 1999; **42**:187–8.
  - 26 Stoyanova V, Petrova S, Tchordadjieva M, Deliyaska B, Vasilev V, Tsacheva I. New insight into the autoimmunogenicity of the complement protein C1q. *Mol Immunol* 2011; **48**:678–82.
  - 27 Mosca M, Strigini F, Doria A *et al.* Anti-C1q antibodies in pregnant patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 2007; **25**:449–52.
  - 28 Weetman AP. Immunity, thyroid function and pregnancy: molecular mechanisms. *Nat Rev Endocrinol* 2010; **6**:311–8.
  - 29 Wisnieski JJ, Jones SM. Comparison of autoantibodies to the collagen-like region of C1q in hypocomplementemic urticarial vasculitis syndrome and systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 1992; **148**:1396–403.
  - 30 Kravitz MS, Shoenfeld Y. Autoimmunity to protective molecules: is it the *perpetuum mobile* (vicious cycle) of autoimmune rheumatic disease? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006; **2**:481–90.
  - 31 Parkes AB, Adams H, Othman S, Hall R, John R, Lazarus JH. The role of complement in the pathogenesis of postpartum thyroiditis: ultrasound echogenicity and the degree of complement-induced thyroid damage. *Thyroid* 1996; **6**:177–82.
  - 32 Okosieme OE, Parkes AB, McCullough B *et al.* Complement activation in postpartum thyroiditis. *Q J Med* 2002; **95**:173–9.

## 10.2 Vyšetření koncentrace manózy vázajícího lektinu (MBL) u těhotných žen

### ***Výsledky této práce jsou součástí následující publikace:***

*Potlukova E, Freiburger T, Limanova Z, Jiskra J, Telicka Z, Bartakova J, Springer D, Vitkova H, Trendelenburg M. Association between low levels of Mannan-binding lectin and markers of autoimmune thyroid disease in pregnancy. PLoS One. 2013 Dec 10;8(12):e81755. doi: 10.1371/journal.pone.0081755. PMID: 24339961; PMCID: PMC3858249.*

### 10.2.1 Cíle práce

Zjistit, zda spolu souvisí sérové koncentrace manózu vázajícího lektinu (MBL) a sérové koncentrace hormonů štítné žlázy u těhotných žen a zda vyšší sérové koncentrace manózy vázajícího lektinu (MBL) souvisí se vznikem autoimunitního tyreoidálního onemocnění v graviditě.

### 10.2.2 Soubor pacientů a použité metody

Do studie bylo pozváno 822 žen, u nichž byl pozitivní screening tyreoidálních onemocnění v graviditě (9. - 12. gestační týden). Screening sestával z měření koncentrací tyreoidu stimulujícího hormonu (TSH) a protilátek proti tyreoperoxidáze (TPOAb). U žen s hodnotou TSH a/nebo TPOAb mimo referenční rozmezí specifické pro graviditu (viz. níže) byl screening považován za pozitivní a u těchto žen byl analyzován také volný tyroxin (FT4).

Kromě screeningu tyreoidálních onemocnění podstupovaly těhotné ženy screening chromozomálních aberací. Ve stejném séru byl tedy měřen i plazmatický protein A spojený s těhotenstvím (PAPP A) a volná podjednotka beta lidského choriového gonadotropinu (FbhCG). Navíc byl v séru stanovován manózu vázající lektin (MBL) a analyzován *MBL-2* genotyp. Po porodu (medián 17 měsíců od porodu) byla u žen měřena koncentrace TSH, FT4, TPOAb, MBL a určován *MBL-2* genotyp. Prostřednictvím dotazníku byla u těchto žen doplněna osobní a rodinná anamnéza se zaměřením na výskyt onemocnění štítné žlázy, diabetes mellitus, systémového autoimunitního onemocnění (diabetes mellitus 1. typu, psoriáza, vitiligo, perniciózní anémie, Crohnova choroba, ulcerózní kolitida, coeliakie, revmatoidní artritida, SLE, sklerodermie a vaskulitida), astmatu, atopického ekzému, alergie. Dále pak gynekologická anamnéza zahrnující způsob otěhotnění, průběh současného těhotenství, způsob porodu, předchozí potraty a komplikace při porodu a zdravotní stav novorozence.

Vzorky séra 80 těhotných žen negativních ve screeningu (tj. TPOAb negativní a normální TSH) byly použity jako kontrolní. U těchto žen již nebylo doplněno měření po porodu.

Vzorky séra byly uschovány a zmrazeny na  $-220^{\circ}\text{C}$ .

Genomická DNA byla izolována ze vzorků celé krve (EDTA), stanovení koncentrace MBL probíhalo metodou ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay; MBL Oligomer ELISA Kit, BioPorto). Ta využívá vrstvu mannanu a reakci s protilátkou proti MBL. Jako spodní limit pro detekci MBL v séru byla stanovena koncentrace 5 ng/ml a horní limit byl 5000 ng/ml. Sérové koncentrace MBL pod 100 ng/ml byly klasifikovány jako „nízké“, hodnoty mezi 100 a 1000 ng/ml jako „střední“ a více než 1000 ng/ml jako „normální/vysoké“ (Gadjeva, M. et al., 2004).

Koncentrace protilátek TPOAb byly měřeny chemiluminiscencí. Horní limit detekce TPOAb byl 10 000 kU/l. Podobně byly měřeny koncentrace TSH, a to sendvičovou imunoanalýzou s přímou chemiluminiscenční technologií. Pro stanovení koncentrace FT4 byla využita kompetitivní imunoanalýza s přímou chemiluminiscenční technologií. Referenční rozmezí pro TSH a TPOAb se lišily mezi těhotnými a negravidními ženami. Vycházelo se z práce od Springer et al. a v prvním trimestru bylo tedy referenční rozmezí koncentrací TSH 0,06 až 3,67 mIU/l a horní limit pro TPOAb 143 kU/l (Springer, D. et al., 2009). U žen, které nebyly těhotné, byly použity následující referenční meze: TSH 0,37 – 4,0 mIU/l; TPOAb < 60 kU/l a FT4 9,8 – 23,1 pmol/l.

Genotypy *MBL2* byly určovány prostřednictvím multiplexní polymerázové řetězové reakce (multiplex PCR). Rozlišování haplotypů bylo založeno na silném spojení mezi variantou promotoru a první exonovou alelou a existencí častých haplotypů HYA, LYA, HYD, LYB, LYC a LXA. Byly určeny všechny haplotypy LYD a předpokladem bylo, že genotypy HYA/HYA, HYA/LYA, HYA/LXA, LYA/LYA a LYA/LXA jsou spojené s „normálními/vysokými“ koncentracemi MBL v séru, zatímco genotypy HYA/HYD, HYA/LYC, HYA/LYB, LYA/HYD, HYA/LYD, LYA/LYB, LYA/LYC, LYA/LYD a LXA/LXA by mohly být spojeny se „středními“ koncentracemi a genotypy HYD/HYD, HYD/LYB, HYD/LYC, HYD/LYD, LYB/LYB, LYB/LYC, LYB/LYD, LYC/LYD, LYD/LYD, LXA/HYD, LXA/LYC, LXA/LYB a LXA/LYD s „nízkými“ sérovými koncentracemi MBL.

Statistická analýza byla zpracována v programu GraphPad Prism 4 (GraphPad Software, San Diego, CA). Byly použity nonparametrické testy (Mann-Whitneyův test, Wilcoxonův test, Kruskal-Wallisův test, Spearmanův pořadový korelační test). Za signifikantní byla považována hodnota  $P < 0,05$ . Pro srovnání *MBL2* genotypu mezi skupinami byly použity kontingenci tabulky a Fisherův exaktní test.



### 10.2.3 Výsledky

Sérové koncentrace MBL po porodu byly změřeny u 212 žen a *MBL2* genotyp zjištěn u 206 žen. Koncentrace MBL z doby těhotenství byly získány ze 103 zmražených vzorků od žen pozitivních ve screeningu na tyreoidální onemocnění. Z těchto 103 žen mělo 86 žen pozitivní TPOAb (u 12 z nich bylo TSH zvýšené, u šesti snižené a 68 bylo eutyreózních). Ze zbývajících 17 žen s negativními protilátkami TPOAb mělo deset z nich zvýšené TSH a sedm žen ho mělo snižené. Ke kontrole byla použita séra 80 těhotných žen, u nichž byl screening tyreoidálního onemocnění v graviditě negativní. Sérové koncentrace MBL u nich byly získány pouze z období těhotenství.

#### 10.2.3.1 MBL koncentrace v těhotenství a po porodu

Ženy s koncentracemi TPOAb a/nebo TSH mimo referenční mez v prvním trimestru těhotenství měly signifikantně nižší sérovou koncentraci MBL (medián 3 275 ng/ml) než kontrolní skupina (5 000 ng/ml;  $P < 0,05$ ). Ženy s hypotyreózou a stejně tak s TPOAb pozitivitou měly signifikantně nižší koncentrace MBL než kontrolní skupina. Distribuce *MBL2* genotypu se nelišila mezi podskupinami a nelišila se ani od všeobecné populace (Surková).

Při rozdělení na skupiny s „nízkými“, „středními“ a „vysokými“ koncentracemi MBL patřilo nejvíce žen do skupiny se „středními“ koncentracemi.

Byla zjištěna slabá pozitivní korelace mezi sérovými koncentracemi MBL a FbhCG u těhotných žen v kontrolní skupině ( $r = 0,232$ ,  $P = 0,038$ ).

Koncentrace MBL v séru výrazně klesly po porodu a pokles nebyl spojen s žádnou signifikantní změnou sérových koncentrací TSH nebo FT4.

#### 10.2.3.2 MBL a anamnestická data

Ženy se subnormálními hladinami MBL (poporodní MBL koncentrace  $< 1000$  ng/ml a/nebo *MBL2* genotypy spojené s „nízkou“ a „střední“ koncentrací MBL) neměly žádné porodní komplikace (předčasný porod, spontánní abort, císařský řez, preeklampsie), ani porodní váha se nelišila od žen s dostatečnými koncentracemi MBL (MBL po porodu  $> 100$  ng/ml a/nebo ženy s *MBL2* genotypy spojenými s normálním/vysokým MBL koncentrací).

U žen s deficitem MBL nebyla zaznamenána vyšší incidence těžkých infekcí vedoucích k hospitalizaci před a/nebo během těhotenství oproti ženám s dostatečnými koncentracemi MBL. Nebylo zjištěno ani spojení mezi koncentracemi MBL v séru a *MBL2* genotypy na jedné straně a prevalence positivity TPOAb nebo anamnézy autoimunitních onemocnění na straně druhé.

Ženy s MBL deficitem (podle sérových koncentrací MBL po porodu a/nebo podle MBL<sub>2</sub> genotypů) neměly v anamnéze zaznamenán prakticky vůbec výskyt atopického ekzému nebo astmatu. Na rozdíl od toho, u žen se „středními“ koncentracemi MBL v séru se vyskytovaly atopie/asthma ve více než 20 % případů.

#### 10.2.4 Diskuze

Podobně jako ve studii od van de Geijn se v naší práci zjistilo, že sérové koncentrace MBL jsou výrazně zvýšené v prvním trimestru gravidity ve srovnání s koncentracemi po porodu (Van de Geijn, F. E. et al., 2007). Ženy pozitivní ve screeningu tyreoidálního onemocnění měly signifikantně nižší sérové koncentrace MBL v prvním trimestru těhotenství než ženy s negativním výsledkem screeningu. Na rozdíl od nálezů u populace netěhotných žen ve středním věku byl v této práci ukázán vliv tyreoidálního onemocnění na koncentrace MBL, kdy dokonce izolovaná pozitivita TPOAb u eutyreózních žen spojena s nepatrným posunem TSH (ale v rámci referenčního rozmezí) vedla k signifikantnímu poklesu sérových koncentrací MBL ve srovnání s TPOAb negativními eutyreózními těhotnými ženami (Potlukova, E. et al., 2010). Tento efekt byl nezávislý na distribuci MBL<sub>2</sub> genotypu. Nicméně, korelace mezi tyreoidálními hormony a koncentracemi MBL v těhotenství potvrzena nebyla. Je tedy možné, že sérové koncentrace MBL v těhotenství jsou ovlivněny komplexními hormonálními změnami. Jedním vysvětlením by mohla být nalezená pozitivní korelace mezi sérovými koncentracemi MBL a beta podjednotkou lidského choriového gonadotropinu (hCG) u žen bez onemocnění štítné žlázy. Beta podjednotka hCG je specifická pro hCG a odráží jeho celkové hladiny. Alfa podjednotka hCG je velmi podobná alfa podjednotce TSH a hCG má podobný efekt jako TSH v těhotenství vedoucí k tranzitorní gestační hypertyreóze (Fiddes, J. C., Goodman, H. M., 1981; Glinoe, D. et al., 1990). Produkce MBL je stimulována růstovým hormonem, ale i tyreoidálními hormony (Sorensen, C. M. et al., 2006; Hansen, T. K. et al., 2001; Potlukova, E. et al., 2010). Bylo tedy zvažováno, že hladina lidského placentárního laktogenu, který má růstovému hormonu podobnou aktivitu (growth-hormone like), by mohla být také ovlivněna sérovými koncentracemi MBL v těhotenství.

V naší práci nebyl prokázán negativní dopad MBL deficit na průběh porodu, ani anamnézu abortů. Nicméně, do studie byly pozvány ženy až po porodu a anamnéza abortů byla hodnocena pouze na základě dat z dotazníků. Výsledky mohly být také ovlivněny onemocněním štítné žlázy, které samo o sobě přináší vyšší riziko gynekologických a porodních komplikací (Stagnaro-Green, A. et al., 2011). K dispozici nebyla také data o dalších faktorech potenciálně ovlivňujících

koncentrace MBL, jako je protrombotická mutace, virová infekce a jiné autoimunitní onemocnění.

Žádná žena s MBL deficitem (sérová koncentrace MBL < 100 ng/ml a MBL2 genotypy asociované s „nízkou“ hladinou MBL) neměla v anamnéze atopický ekzém či asthma, oproti tomu ve skupině žen se „středními“ koncentracemi MBL byla prevalence 20 %. Tento náález je v souladu se studiemi, které uvedly vyšší sérové koncentrace MBL u dětí i dospělých s asthmatem a/nebo alergickou rýmou ve srovnání se zdravými kontrolami (Thorarinsdottir, H. K. et al., 2005; Uguz, A. et al., 2005; Kaur, S. et al., 2005; Kaur, S. et al., 2006). Zvýšené koncentrace MBL v séru také korelovaly s eosinofilií v periferní krvi u těchto pacientů (Uguz, A. et al., 2005; Kaur, S. et al., 2005). Staley et al. našli dokonce pozitivní korelaci mezi koncentracemi MBL v séru a závažností astmatických symptomů u malých dětí (Staley, K. G. et al., 2007). Dalo by se zvažovat, že vysoké sérové koncentrace MBL by mohly přispívat ke zvýšené aktivitě komplementu cestou lektinové cesty a komplementem aktivované produkty C3a a C5a by mohly vést k zánětlivým následkům (Kaur, S. et al., 2006). Kromě toho je deficit MBL spojen se zvýšeným výskytem infekcí v dětství, které mohou hrát protektivní roli v rozvoji atopie/astmatu v dospělosti (Cedzynski, M. et al., 2012; Cedzynski, M. et al., 2004). Nicméně, výsledky jsou rozporuplné a některé studie neuvádějí žádné nebo dokonce opačné spojení mezi koncentracemi MBL a atopií a/nebo asthmatem (Wang, X. et al., 2007; Aittoniemi, J. et al., 2005; Nagy, A. et al., 2003; Carrera, M. C. et al., 2010).

Naše práce ukázala, že sérové koncentrace MBL v prvním trimestru těhotenství jsou ovlivněny autoimunitním tyreoidálním onemocněním, a to i jeho subklinickou formou. Zdá se, že se jedná o komplexní hormonální změny, které způsobují vzestup koncentrací MBL v séru v prvním trimestru.



# Association between Low Levels of Mannan-Binding Lectin and Markers of Autoimmune Thyroid Disease in Pregnancy

Eliska Potlukova<sup>1</sup>, Tomas Freiburger<sup>2</sup>, Zdenka Limanova<sup>1</sup>, Jan Jiskra<sup>1</sup>, Zdenek Telicka<sup>1</sup>, Jana Bartakova<sup>1</sup>, Drahomira Springer<sup>3</sup>, Hana Vitkova<sup>1</sup>, Marten Trendelenburg<sup>4\*</sup>

**1** Third Department of Medicine, General University Hospital and First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic, **2** Centre for Cardiovascular Surgery and Transplantation, Molecular Genetics Laboratory, Brno, Czech Republic, and Ceitec and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic, **3** Institute of Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine, General University Hospital and First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic, **4** Laboratory of Clinical Immunology, Department of Biomedicine, University Hospital Basel, Switzerland

## Abstract

Functional deficiency of mannan-binding lectin (MBL) has been associated with adverse pregnancy outcome. Adverse events during pregnancy have also been described in women with autoimmune thyroid diseases (AITD), and thyroid hormones have been shown to influence serum levels of MBL. Therefore, the aim of this study was to analyse the impact of MBL-deficiency on the outcome of pregnancy in relation to the presence of AITD. Almost one year after delivery, we assessed serum MBL levels and *MBL2*-genotypes in 212 women positively screened for AITD in pregnancy. In 103 of these women, we could also measure MBL levels in frozen serum samples from the 9–12<sup>th</sup> gestational week, obtaining 96 pairs of MBL values (pregnancy vs. follow-up). As controls, 80 sera of pregnant women screened negatively for AITD were used. *MBL2*-genotyping was performed using multiplex PCR. Women with thyroid dysfunction and/or thyroid peroxidase antibodies (TPOAb) had lower MBL levels during pregnancy than controls, (3275 vs. 5000 ng/ml,  $p < 0.05$ ). The lowest levels were found in women with elevated thyroid-stimulating hormone (TSH) levels in the absence of TPOAb (2207 ng/ml;  $p < 0.01$  as compared to controls). *MBL2* genotype distribution did not differ between subgroups. At a median follow-up period of 17 months (range: 3–78 months) after delivery, median MBL level had decreased further to 1923 ng/ml ( $p < 0.0001$ ) without significant changes in TSH. In an explorative survey, functional MBL-deficiency was neither linked to a history of spontaneous abortion, nor other obstetric complications, severe infections throughout life/pregnancy or antibiotics use in pregnancy. In conclusion, hypothyroidism during pregnancy is associated with decreased MBL levels, and the levels decreased further after delivery.

**Citation:** Potlukova E, Freiburger T, Limanova Z, Jiskra J, Telicka Z, et al. (2013) Association between Low Levels of Mannan-Binding Lectin and Markers of Autoimmune Thyroid Disease in Pregnancy. PLoS ONE 8(12): e81755. doi:10.1371/journal.pone.0081755

**Editor:** Cees Oudejans, VU University Medical Center, The Netherlands

**Received:** July 17, 2013; **Accepted:** October 16, 2013; **Published:** December 10, 2013

**Copyright:** © 2013 Potlukova et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Funding:** The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. EP was supported by the Research Programme Prouk 25 of Charles University, Prague, CZ. MT is supported by a grant from the Swiss National foundation (310030\_134900). TF was supported by the project "CEITEC - Central European Institute of Technology" (CZ.1.05/1.1.00/02.0068) and SuPreMMe (CZ.1.07/2.3.00/20.0045).

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

\* E-mail: marten.trendelenburg@usb.ch

## Introduction

Functional deficiency of mannan-binding lectin (MBL) has been associated with adverse pregnancy outcome. Mannan-binding lectin (MBL) is a central component of the lectin pathway of complement, which contributes to the defense against microbial organisms. The high prevalence of point mutations in the *MBL2* gene, the gene encoding for MBL, makes functional MBL deficiency the most common immunodeficiency in humans. In the Czech population, 36.2% of individuals have variant *MBL2* genotypes associated with decreased blood levels of MBL [1]. In childhood, decreased MBL levels may lead to recurrent respiratory tract infections [3]. In adults, however, MBL deficiency seems to be clinically relevant only in immunocompromized or severely ill patients [2]. Independently, functional MBL deficiency has been associated with the occurrence of a number of non-infectious disorders, especially autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE) or inflammatory bowel disease. Furthermore,

functional MBL deficiency seems to be protective in ischemia-reperfusion injury [3].

The role of MBL in human reproduction remains unclear, and results of previous studies are controversial. MBL deficiency of mothers or their offspring has been linked to adverse pregnancy outcomes, such as low gestational age, low birth weight, recurrent miscarriages, increased risk of chorioamnionitis and preeclampsia [4–10]. Functional MBL deficiency has also been found to be associated with the production of antiphospholipid antibodies [11,12] and to predispose to thrombotic events [13], thus increasing the risk of late pregnancy loss [6]. Moreover, MBL takes part in the clearance of circulating apoptotic cell material [14,15], and it has been proposed that women with low MBL levels may be at risk for excessive inflammatory responses, including the production of autoantibodies due to an altered clearance of apoptotic cell material [4,6].

Pregnancy seems to have a specific stimulatory effect on the MBL pathway. Previously, several studies have focused on the analysis of serum MBL levels in pregnancy. Kilpatrick et al. found that MBL levels increase only modestly in the first trimester, and that the peak MBL concentrations occur during the third trimester [16]. According to van de Geijn, MBL increases already in the first trimester of pregnancy up to 140% of the baseline level with a sharp decrease after delivery [17]. It was hypothesised that the rise in MBL contributes to normal placentation and ongoing pregnancy, and that it might reflect a shift from adaptive to innate immunity in a state of reduced T-cell function and thus increased susceptibility to infections during pregnancy. They also suggested that higher levels of MBL during pregnancy could be one of the factors responsible for the pregnancy-induced amelioration of certain autoimmune diseases, e.g. rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus (SLE).

As we have previously shown, serum MBL levels are also linked to thyroid hormones in patients with autoimmune thyroid diseases (AITD) [18] and they correlate with thyroid function in patients with sepsis [19]. AITD are common in pregnancy with about 5.6% of pregnant women suffering from hypothyroidism and 10% being positive for antibodies against thyroperoxidase (TPOAb). Women with AITD encounter adverse pregnancy outcomes similar to those of MBL-deficient women [20]. Therefore, an analysis of MBL levels in pregnancy with regard to the thyroid function seemed to be warranted.

The primary aim for the current study was to assess the relationship between MBL and markers of AITD (TPOAb and increased TSH levels) during and after pregnancy. The secondary explorative aims included evaluation of a possible link between MBL and selected clinical data including occurrence of infections and autoimmunity in pregnancy and the history of obstetric complications.

## Patients and Methods

The study was designed as a retrospective follow-up cohort study and was performed in 2009–2010 in the outpatient section of the Third Department of Medicine of the General University Hospital and the First Faculty of Medicine, Charles University in Prague.

All 822 women that screen positive for thyroid disorders during an experimental universal screening program of a total of 5523 consecutive women in the first trimester of pregnancy (9th–12th gestational weeks) performed in Prague and surroundings between 2006 and 2009 were included [21,22]. Ninety-nine percent of the women were of Caucasian origin. The screening consisted of measurements of thyroid-stimulating hormone (TSH) and TPOAb. In women with pathological values of either TSH or TPOAb, free thyroxine (FT4) was also analyzed. The definition of positivity in screening was based on the reference intervals for TSH and TPOAb in the first trimester pregnancy (see below), i.e. all women with these parameters outside of normal range were regarded as positive for thyroid disorder. Moreover, all pregnant women in the Czech Republic undergo screening for chromosomal aberrations by measurement of Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) and Free Beta Human Chorionic Gonadotropin (FhCG). These parameters were assessed in the same serum sample as thyroid parameters. The laboratory assessment was performed in a single centre (The Institute for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine, General University Hospital in Prague).

At follow-up after delivery we performed a blood test including measurement of TSH, FT4, TPOAb, serum MBL and an analysis

of *MBL-2* genotypes. Moreover, the women were asked to fill in a detailed questionnaire. It consisted of 55 questions targeted at the following areas: education, personal and family history of thyroid disease, diabetes, systemic autoimmune disorders (diabetes type 1, psoriasis, vitiligo, pernicious anemia, Crohns disease, ulcerative colitis, celiac disease, rheumatoid arthritis, SLE, scleroderma, and vasculitis were specified); asthma, atopic eczema, allergies (including specific types of allergy); gynecological history including mode of conception of the current pregnancy; course of the current pregnancy including questions on the occurrence of and hospitalization for infectious diseases and number of prescribed antibiotics during pregnancy; mode of delivery, previous abortions and obstetric complications; and the health of the offspring. Women without access to internet had a possibility to fill a printed form of the questionnaire. Whenever possible (women treated in our department), we also extracted data from the hospital computer database. However, we were not able to validate the adequacy of answers by checking all hospital databases in individual cases, as many women were not followed at our hospital during pregnancy.

Serum samples of 80 pregnant women who tested negative in the screening program (TPOAb negative, normal TSH) were used as controls for serum MBL measurements. These women were not invited for a follow-up and did not fill in the questionnaire.

## Ethics statement

The study was approved by the local ethical committee (General University Hospital, Prague, CZ). All participating women gave written informed consent to the study.

## Biological material

At follow-up after delivery, serum samples were obtained after an overnight fast, and frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$  until further use. Moreover, we also used frozen serum samples from the time of pregnancy (taken at the same time as serum for screening for thyroid disorders in the first trimester of pregnancy). These samples had been frozen at  $-70^{\circ}\text{C}$  until further use. Genomic DNA was isolated from whole blood (EDTA) samples that were drawn at the time of follow-up.

## Serological analysis and reference intervals

MBL was measured using a commercially available Mannan-binding enzyme-linked immunosorbent assay (MBL Oligomer ELISA Kit, BioPorto). This assay uses a mannan coat and development with an anti-MBL antibody, thus measuring MBL as lectin in a functional manner. The lower limit of detection of the test was at 5 ng/ml MBL in serum, the upper cut-off was at 5000 ng/ml. In the statistical analysis, we regarded values  $>5000$  ng/ml as equal to 5000 ng/ml.

Serum MBL levels below 100 ng/ml were classified as “low”, between 100 and 1000 ng/ml as “intermediate”, and over 1000 ng/ml as “normal/high” [23]. All serum MBL measurements were performed in duplicates.

TPOAb were measured using chemiluminescence on the ADVIA<sup>®</sup> Centaur<sup>™</sup> Analyzer (Siemens). The upper limit of detection of TPOAb was at 10,000 kU/l. Similarly, TSH and FT4 were assayed by ADVIA<sup>®</sup> Centaur<sup>™</sup> Analyzer (Siemens) with chemiluminometry. TSH was determined by sandwich immunoanalysis with direct chemiluminometric technology; for FT4, competitive immunoanalysis with direct chemiluminometric technology was used.

The reference intervals for TSH and TPOAb differed between pregnant and non-pregnant women. As determined by Springer et al., the reference interval for TSH in the first trimester of pregnancy was 0.06 to 3.67 mIU/l and for TPOAb  $<143$  kU/l

**Table 1.** Serum levels of MBL and thyroid parameters in pregnant women screened for autoimmune thyroid disorders in the 9-12<sup>th</sup> gestational wks.

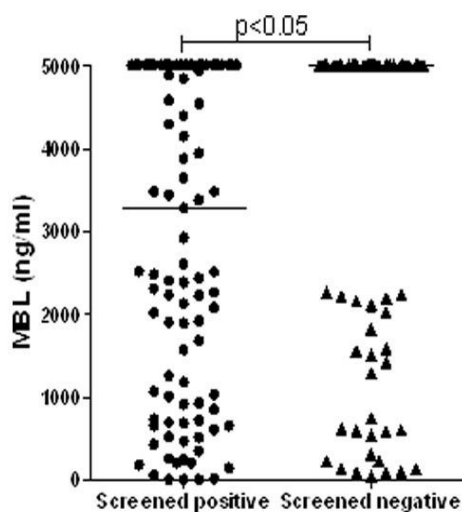
	Positive in screening			Negative in screening
	Total	TPOAb neg.	TPOAb pos.	Total
MBL (ng/ml)	3275 <sup>**</sup> (1.2 -5000) (n=103)	2339 <sup>**</sup> (1.2-5000) (n=17)	3425 <sup>**</sup> (2.5-5000) (n=86)	5000 (44 - 5000) (n= 80)
TSH (mIU/l)	2.68 <sup>***</sup> (0.0-88.3) (n=212)	4.08 <sup>***</sup> (0.00-11.53) (n=54)	2.41 <sup>***</sup> (0.0 -88.3) (n=158)	1.43 (0.18-3.16) (n=80)
FT4 (pmol/l)	13.66 <sup>**</sup> (8.0-44.6) (n=190)	14.11 <sup>*</sup> (9.82-44.46) (n=49)	13.49 <sup>*</sup> (8.0-38.64) (n=141)	14.98 (12.31-19.52) (n=80)
TPOAb (kU/l)	808 <sup>***</sup> (9.9-15000) (n=212)	38.55 (9.9-126) (n=54)	1415 <sup>***</sup> (184-15000) (n=158)	34 (9-68) (n=80)

All 212 women included provided a blood sample for MBL analysis after delivery. In 103 women, MBL could also be measured in a sample frozen at screening in pregnancy, which summed up to 96 pairs (pregnancy vs. follow-up). Statistical significances of comparison between values in positively vs. negatively screened women are marked by <sup>\*</sup>(p<0.05), <sup>\*\*</sup>(p<0.01), <sup>\*\*\*</sup>(p<0.001) (Mann Whitney test). Positivity in screening: TSH<0.06 or >3.67 mIU/l and/or TPOAb>143 kU/l. TSH: thyroid stimulating hormone; FT4: free thyroxine; TPOAb: antibodies against thyroperoxidase.  
doi:10.1371/journal.pone.0081755.t001

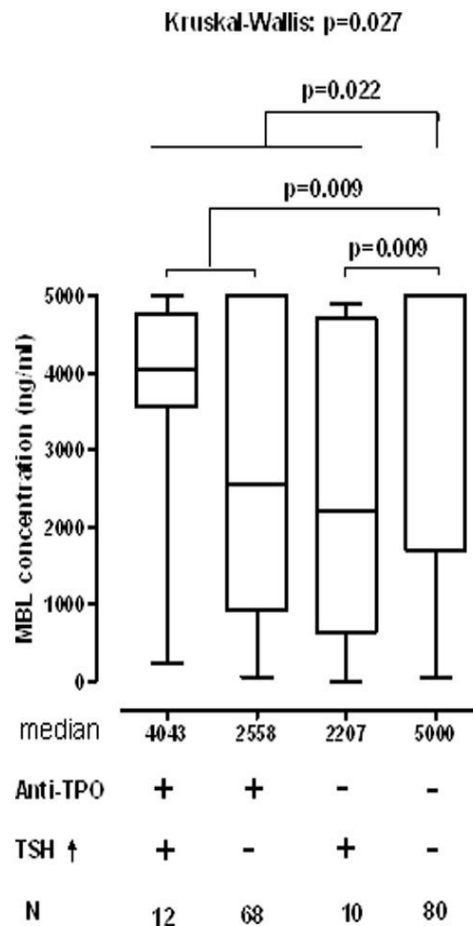
[22]. The reference intervals for non-pregnant population (women at follow-up) were the following: TSH 0.37-4.0 mIU/l; TPOAb <60 kU/l and FT4: 9.8 to 23.1 pmol/l.

### Genetical analyses

MBL2 genotypes were determined using multiplex PCR as described previously [1]. The assignment of the haplotypes was based on the strong linkage disequilibrium between the promoter variants and the first exon alleles, and the existence of the frequent haplotypes HYA, LYA, HYD, LYB, LYC, and LXA. We confirmed all LYD haplotypes by a separate long-chain PCR reaction with sequence-specific primers. We considered the following genotypes to be associated with normal/high levels of serum MBL: HYA/HYA, HYA/LYA, HYA/LXA, LYA/LYA



**Figure 1.** MBL levels in pregnant women with and without autoimmune thyroid disorders. Overall, 103 women tested positively in a screening for AITD performed between the 9<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> gestational weeks (grouped together in the left column). They were found to be positive for TPOAb in 86 cases (of these, 12 had TSH elevation, 6 had TSH suppression; the rest was euthyroid). Of the 17 TPOAb-negative ones, 10 had TSH elevation and 7 had TSH suppression. Eighty women were negative for both parameters (right column). Horizontal bars represent median values of serum MBL.  
doi:10.1371/journal.pone.0081755.g001



**Figure 2.** Serum MBL levels in pregnant women according to positivity for TPOAb and the presence of hypothyroidism. The box plots show median, interquartile range and total ranges.  
doi:10.1371/journal.pone.0081755.g002



**Table 2.** Serum MBL levels in pregnant women screened for AITD.

	MBL serum levels		
	Low	Intermediate	High
Euthyroid TPOAb neg. (= controls)	3/80 (3.8%)	12/80 (15%)	65/80 (81.3%)
Euthyroid TPOAb pos.	1/68 (0.1%)	17/68 (25%)	50/68 (73.5%)
All TPOAb pos.	2/86 (2.3%)	21/86 (24.4%)	63/86 (73.3%)
Positive in screening total	5/103 (4.9%)	22/103 (21.4%)	76/103 (73.8%)

Low serum MBL levels: <100 ng/ml; intermediate: 100–1000 ng/ml and high: >1000 ng/ml.

doi:10.1371/journal.pone.0081755.t002

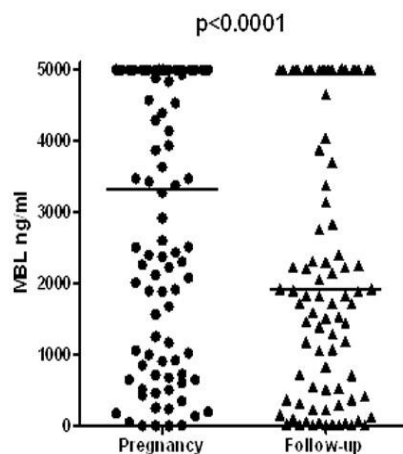
and LYA/LXA; while genotypes HYA/HYD, HYA/LYC, HYA/LYB, LYA/HYD, HYA/LYD, LYA/LYB, LYA/LYC, LYA/LYD, and LXA/LXA were considered to have intermediate serum MBL levels. Finally, HYD/HYD, HYD/LYB, HYD/LYC, HYD/LYD, LYB/LYB, LYB/LYC, LYB/LYD, LYC/LYD, LYD/LYD, LXA/HYD, LXA/LYC, LXA/LYB, and LXA/LYD genotype holders were considered to have low MBL levels.

### Statistics

Statistical analysis was conducted using GraphPad Prism 4 (GraphPad Software, San Diego, CA). All values are expressed as median and range, unless otherwise stated. Nonparametric tests (two-tailed Mann Whitney U test, two-tailed Wilcoxon signed rank test, two-tailed Kruskal-Wallis test and Spearman rank correlation test) were applied throughout with differences being considered significant for  $p < 0.05$ . For the comparison of the *MBL2* genotypes between the groups, Chi square test and two-tailed Fisher tests were used where appropriate.

### Results

From the 822 women invited after delivery, 239 (29.1%) joined the study. The median interval between delivery and follow-up



**Figure 3.** Comparison of serum MBL levels in the first trimester of pregnancy and after delivery in 96 women positive screened for TPOAb and/or thyroid dysfunction in pregnancy. Median interval between delivery and follow-up was 17 months, range 3–78. Wilcoxon signed rank test. doi:10.1371/journal.pone.0081755.g003

reached 17 months (range 3–78). Of these 239 women, we obtained serum MBL levels in 212 and *MBL2* genotypes in 206 women that were considered as the study population. A questionnaire regarding the family, personal and gynecological history was filled by 192 women. In this group of women, we were able to measure additional MBL serum levels in 103 frozen serum samples from the time of pregnancy, which summed up to 96 pairs of samples (MBL levels in pregnancy vs. follow-up).

Of the 103 women positively screened for thyroid disorders in whom we could measure MBL levels after delivery and during early pregnancy, 86 were positive for TPOAb (12 had TSH elevation, 6 had TSH suppression; 68 were euthyroid). Of the 17 TPOAb-negative ones, 10 had TSH elevation and 7 had TSH suppression. As controls for the MBL measurement in pregnancy, sera of 80 pregnant women who screened negatively for thyroid disorders were used.

Baseline laboratory characteristics of the women included are shown in Table 1 (values obtained during pregnancy).

### MBL levels in pregnancy and at follow-up

Women, who had abnormal values of the thyroid parameters TPOAb and/or TSH in the first trimester of pregnancy, had significantly lower serum MBL levels (median: 3275 ng/ml), than a control group consisting of women without thyroid disease in pregnancy (5000 ng/ml;  $p < 0.05$ ), as shown in Fig. 1 and Table 1.

The subgroup analyses showed that there were differences in serum MBL levels in pregnant women screened positively for thyroid disorders according to the presence of hypothyroidism and TPOAb-positivity (Fig. 2). The hypothyroid as well as the TPOAb-positive pregnant women had significantly lower serum MBL levels than the controls. *MBL2* genotype distribution did not differ between subgroups and did not differ from the general population, as assessed by Skalnikova et al.[1].

Although differences in serum MBL levels between the subgroups of women with thyroid disorders were significant when the absolute values were compared; differences between screening positive versus negative patients that were grouped into low, intermediate and high MBL levels were not significant but there was a trend for more patients in the intermediate range group (Table 2). Independently, we found a weak positive correlation between serum MBL levels and FbhCG levels in the pregnant control women ( $r = 0.232$ ,  $p = 0.038$ ).

Serum MBL levels markedly decreased after delivery, in comparison to levels measured in the first trimester of pregnancy (Fig. 3). This decrease in MBL was not linked to any significant change in serum levels of TSH or FT4.

**Table 3.** Clinical characteristics of the study group.

Characteristics	Proportion n= 192
<b>Mean age at pregnancy (years) (median, range)</b>	31 (21–41)
<b>University education</b>	42.2%
<b>Family history :</b>	
Thyroid disease	44.0%
Autoimmune diseases (apart from AITD)	11.1%
Asthma	4.9%
<b>Personal history:</b>	
AITD (+ TPOAb levels in pregnancy)	74.4%
Autoimmune diseases (apart from AITD)	8.9%
Asthma	4.1%
Atopic eczema	7.4%
Atopic eczema/Asthma	10.7%
Allergy	35.7%
Severe infections requiring hospitalisation	24.2%
<b>Current pregnancy:</b>	
Conception with assistant reproduction techniques	12.6%
Conception after > than one and < than two years	46%
Conception after more than two years	10%
Current delivery by caesarean section	35.2%
Premature delivery (<38 <sup>th</sup> gestational week)	17.1%
Min. one hospitalisation in pregnancy (except delivery)	18.2%
Adverse pregnancy outcome (late spont. abortion, medical abortion due to genetic causes, neonatal death at delivery)	1.6%
Mean birthweight (g) (median, range)	3270 (600–4630)
<b>Infectious complications in the current pregnancy:</b>	
Min. one treatment with antibiotics	19.2%
Min. one hospitalisation for infectious disease	6.0%
<b>Previous gynaecological history:</b>	
Total number of pregnancies (mean) (n)	2 (1–5)
Number of previous spont. abortions (mean) (n)	0.27 (0–3)

AITD: autoimmune thyroid disorders. TPOAb: antibodies against thyroperoxidase. The data were obtained from questionnaires filled by the participating women. doi:10.1371/journal.pone.0081755.t003

**Table 4.** Prevalence of atopy, asthma and allergy with regard to MBL status.

	Assessment of MBL status	Low	MBL Intermediate	High	p – value
<b>Atopic eczema</b>	Serum MBL levels	0/18	7/43 (16.2%)	7/107 (6.5%)	0.0596
	MBL2 genotype	0/26	8/47 (17.0%)	5/90 (5.6%)	0.0165
<b>Atopic eczema and/or</b>	Serum MBL levels	0/18	9/43 (20.9%)	9/107 (8.4%)	0.0242
	MBL2 genotype	0/26	11/47 (23.4%)	7/90 (7.7%)	0.0320
<b>Asthma</b>	Serum MBL levels	0/18	2/43 (4.6%)	5/107 (4.7%)	n/s
	MBL2 genotype	0/26	4/47 (8.5%)	3/90 (3.3%)	n/s
<b>Allergy</b>	Serum MBL levels	3/18 (16.6%)	16/43 (37.2%)	40/107 (37.3%)	n/s
	MBL2 genotype	5/26 (19.2%)	18/46 (39.1%)	35/91 (38.4%)	n/s

Statistical analysis was performed using the Chi-square test. Serum MBL levels are regarded as low if they are <100 ng/ml; intermediate: 100–1000 ng/ml; high: >1000 ng/ml. MBL2 genotypes represent the allelic variations associated with low, intermediate or high MBL levels. doi:10.1371/journal.pone.0081755.t004

### MBL and pregnancy outcome

On the basis of the questionnaires, in an explorative analysis we tried to establish associations between MBL levels and the personal and family history of diseases (Table 3).

We did not observe any link between MBL levels or *MBL2* genotypes, on the one hand, and the outcome of pregnancy, on the other. Women with subnormal MBL levels (post-delivery MBL levels <1000 ng/ml, and/or *MBL2* genotypes associated with low and intermediate MBL levels) did not have more obstetric complications (premature delivery, spontaneous abortion, caesarean section, preeclampsia) than MBL sufficient women (women with MBL after delivery >1000 ng/ml and/or women with *MBL2* genotypes associated with normal/high MBL levels); similarly, the birth weight of the infants did not significantly differ between the subgroups.

### MBL and history of immune-mediated diseases

In the same explorative analysis MBL-deficient women did not have a higher incidence of severe infections leading to hospitalization before and/or during pregnancy than MBL-sufficient women. Similarly, there were no significant associations between serum MBL levels or *MBL2* genotypes, on the one hand, and prevalence of TPOAb-positivity or personal history of other autoimmune diseases, on the other.

MBL-deficient women (according to both serum MBL levels after delivery and according to the *MBL2* genotypes) had virtually no history of atopic eczema and asthma. On the contrary, women with intermediate levels of MBL had atopy/asthma in more than 20% of cases (Table 4).

### Discussion

We present an analysis of the relationship between serum MBL levels/*MBL2* genotypes and a number of clinical characteristics in a well-described cohort of pregnant women screened positive for thyroid disorders in the first trimester of pregnancy.

In accordance with van de Gein [17], we have found that MBL is strongly increased in the first trimester of pregnancy, as compared to follow-up more than one year after delivery. However, we are the first to show that serum MBL levels in pregnancy are influenced by the presence of thyroid disease. Women screened positive for thyroid disorders had significantly lower MBL levels in the first trimester of pregnancy than women screened normal. In contrast to our previous findings in non-pregnant middle-aged population [18], the influence of thyroid disease on MBL levels in pregnancy was present in its most subtle form: even the isolated TPOAb-positivity in euthyroid pregnant women associated with only a minor TSH shift within the reference range led to a significant decrease in serum MBL levels, as compared to TPOAb-negative, euthyroid pregnant women. This effect was independent on the *MBL2* genotype distribution. However, the previously reported correlations between thyroid hormones and MBL levels were lost in pregnancy. It thus appears that serum MBL levels in pregnancy are influenced by a more complex hormonal background. One example could be our finding of a positive correlation between serum MBL and the beta subunit of human chorionic gonadotropin (HCG) in women without thyroid disease. The beta subunit of HCG is specific for HCG and reflects the total HCG levels. The alpha subunit of HCG is nearly identical to the alpha subunit of TSH [24], and HCG is known to have a TSH-like effect in pregnancy leading to transitory gestational hyperthyroidism [25]. Moreover, it is known that MBL production is stimulated by the growth hormone [26,27]. Thus, we speculate that human placental lactogen, which

has a growth-hormone-like activity, could also influence serum MBL levels in pregnancy.

In our explorative study, we cannot confirm the previously reported negative impact of MBL deficiency on the course and outcome of pregnancy. Similarly, we could not unmask a link between MBL deficiency and the history of spontaneous abortions. However, our study was not specifically designed to assess this issue, as women who actually gave birth were invited to participate and we could evaluate their history of spontaneous abortions based on data from questionnaires only. Moreover, our study was underpowered for this evaluation and the results also might have been influenced by the presence of thyroid disease, which per se carries a higher risk for gynecological and obstetric complications [20]. Finally, we did not examine other potential confounding factors, such as prothrombotic mutations, viral infections, and the presence of other autoimmune diseases.

However, when exploring the impact of MBL deficiency on further anamnestic data, we noted that none of the MBL-deficient women (as assessed both by serum MBL <100 ng/ml and *MBL2* genotypes associated with low MBL) had a history of atopic eczema or asthma compared to a 20% prevalence in the group with intermediate MBL levels. This observation is in concordance with studies reporting higher MBL levels in both children and adult patients with asthma and/or allergic rhinitis compared to healthy controls [28–31]. The increased MBL levels and activity also correlated with peripheral blood eosinophilia in these patients [29,30]. Interestingly, Staley et al. found even a positive correlation between MBL levels and the severity of asthmatic symptoms in young children [32]. One can speculate that high MBL levels may contribute to increased complement activation via the lectin pathway, and the complement-activated products C3a and C5a may lead to inflammatory sequelae [31]. In addition, MBL deficiency is associated with an increased number of infections in childhood [9,33]; which in turn might play a protective role against development of atopy/asthma in adulthood. However, the results are conflicting and some studies reported no or even an opposite association of MBL levels with atopy and/or asthma [34–37]. Further research is needed to better elucidate the role of MBL in allergic disease development.

In conclusion, our study is the first to show that serum MBL levels in the first trimester of pregnancy are influenced by autoimmune thyroid disease, even in its subclinical form. In addition, we confirmed in a relatively large number of women that serum MBL levels are markedly increased in the first trimester of pregnancy and decline after delivery. This increase in MBL production during pregnancy seems to be influenced by a complex hormonal background, including human chorionic gonadotropin. Finally, we observed in an explorative analysis that MBL-deficient women might have a lower prevalence of atopy/asthma than MBL-sufficient women warranting further studies. In contrast, our data do not support functional MBL-deficiency being associated with obstetric complications, nor with a history of infections before or during pregnancy.

### Acknowledgments

We thank Mrs. D. Živorová for her help with laboratory measurements and Mrs. H. Frýdlová for handling the biological samples. Furthermore, we thank Dr. C. H. Nielsen from Copenhagen University Hospital, Rigshospitalet, for revision of the manuscript.

### Author Contributions

Conceived and designed the experiments: MT EP. Performed the experiments: EP. Analyzed the data: EP MT TF DS HV ZL JJ ZT JB.

Contributed reagents/materials/analysis tools: TF DS. Wrote the paper: EP MT TF DS HV ZL JJ ZT JB.

## References

- Skahnikova H, Freiberger T, Chumchalova J, Grombirikova H, Sedva A (2004) Cost-effective genotyping of human MBL2 gene mutations using multiplex PCR. *JIM* 295: 139–147.
- Thiel S, Frederiksen PD, Jensenius JC (2006) Clinical manifestations of mannan-binding lectin deficiency. *Mol Immunol* 43: 86–96.
- Heitzmeider S, Seidel M, Forster-Waldl E, Heitger A (2012) Mannan-binding lectin deficiency - Good news, bad news, doesn't matter? *Clin Immunol* 143: 22–38.
- van de Geijn FE, Dolhain RJ, van Rijs W, Hazes JM, de Groot CJ (2007) Mannose-binding lectin genotypes and pre-eclampsia: a case-control study. *Hum Immunol* 68: 888–893.
- van de Geijn FE, Dolhain RJ, van Rijs W, Wilenssen SP, Hazes JM, et al. (2008) Mannose-binding lectin genotypes are associated with shorter gestational age. An evolutionary advantage of low MBL production genotypes? *Mol Immunol* 45: 1514–1518.
- Christiansen OB, Nielsen HS, Lund M, Steffensen R, Varming K (2009) Mannose-binding lectin-2 genotypes and recurrent late pregnancy losses. *Hum Reprod* 24: 291–299.
- Vianna P, Da Silva GK, Dos Santos BP, Bauer ME, Dalmaz CA, et al. (2010) Association between mannose-binding lectin gene polymorphisms and pre-eclampsia in Brazilian women. *Am J Reprod Immunol* 64: 359–374.
- Rosner P, Tabashidze N, Dostal M, Novakova Z, Chvatalova I, et al. (2011) Genetic, Biochemical, and Environmental Factors Associated with Pregnancy Outcomes in Newborns from the Czech Republic. *Environ Health Perspect* 119: 265–271.
- Cedzynski M, Swierczko AS, Kilpatrick DC (2012) Factors of the Lectin Pathway of Complement Activation and Their Clinical Associations in Neonates. *J Biomed Biotechnol* 2012.
- Kilpatrick DC, Bevan BH, Liston WA (1995) Association between mannan-binding protein deficiency and recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 10: 2501–2505.
- Seelen MA, van der Bijl EA, Trouw LA, Zuiverloon TC, Munoz JR, et al. (2005) A role for mannose-binding lectin dysfunction in generation of autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 44: 111–119.
- Font J, Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Narfi N, Ibanez A, et al. (2007) Association of mannose-binding lectin gene polymorphisms with antiphospholipid syndrome, cardiovascular disease and chronic damage in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 46: 76–80.
- Linnell V, Aittoniemi J, Vaarala O, Lehtimäki T, Laine S, et al. (2002) Association of mannan-binding lectin deficiency with venous bypass graft occlusions in patients with coronary heart disease. *Cardiology* 98: 123–126.
- Nauta AJ, Castellano G, Xu W, Woltman AM, Borrias MC, et al. (2004) Opsonization with C1q and mannose-binding lectin targets apoptotic cells to dendritic cells. *Journal of Immunology* 173: 3044–3050.
- Ogden CA, deCathelineau A, Hoffmann PR, Bratton D, Ghebrehiwet B, et al. (2001) C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calreticulin and CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic bodies. *J Exp Med* 194: 781–796.
- Kilpatrick DC (2000) Mannan-binding lectin concentration during normal human pregnancy. *Human Reproduction* 15: 941–943.
- van de Geijn FE, Roos A, de Man YA, Iaman JD, de Groot CJ, et al. (2007) Mannose-binding lectin levels during pregnancy: a longitudinal study. *Hum Reprod* 22: 362–371.
- Potlukova E, Jiskra J, Freiberger T, Limanova Z, Zivorova D, et al. (2010) The production of mannan-binding lectin is dependent upon thyroid hormones regardless of the genotype: a cohort study of 95 patients with autoimmune thyroid disorders. *Clin Immunol* 136: 123–129.
- Koenig KF, Potlukova E, Mueller B, Christ-Crain M, Trendelenburg M (2012) MBL serum levels in patients with sepsis correlate with thyroid function but not with outcome. *Clin Immunol* 144: 80–82.
- Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, Azizi F, Mestman J, et al. (2011) Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid* 21: 1081–1125.
- Potlukova E, Potluka O, Jiskra J, Limanova Z, Telicka Z, et al. (2012) Is age a risk factor for hypothyroidism in pregnancy? An analysis of 5223 pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab* 97: 1945–1952.
- Springer D, Zima T, Limanova Z (2009) Reference intervals in evaluation of maternal thyroid function during the first trimester of pregnancy. *Eur J Endocrinol* 160: 791–797.
- Gadjeva M, Takahashi K, Thiel S (2004) Mannan-binding lectin—a soluble pattern recognition molecule. *Mol Immunol* 41: 113–121.
- Fiddes JC, Goodman HM (1981) The gene encoding the common alpha subunit of the four human glycoprotein hormones. *J Mol Appl Genet* 1: 3–18.
- Glinoe D, de Nayer P, Bourdoux P, Lemoine M, Robyn C, et al. (1990) Regulation of maternal thyroid during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 71: 276–287.
- Sorensen GM, Hausen TK, Steffensen R, Jensenius JC, Thiel S (2006) Hormonal regulation of mannan-binding lectin synthesis in hepatocytes. *Clin Exp Immunol* 145: 173–182.
- Hansen TK, Thiel S, Dall R, Rosenfalk AK, Trainer P, et al. (2001) GH strongly affects serum concentrations of mannan-binding lectin: evidence for a new IGF-I independent immunomodulatory effect of GH. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5383–5388.
- Thorarinsdottir HK, Ludviksson BR, Vikingsdottir T, Leopoldsdottir MO, Ardal B, et al. (2005) Childhood levels of immunoglobulins and mannan-binding lectin in relation to infections and allergy. *Scand J Immunol* 61: 466–474.
- Uguz A, Berber Z, Coskun M, Halide Akbas S, Yegin O (2005) Mannose-binding lectin levels in children with asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 16: 231–235.
- Kaur S, Gupta VK, Shah A, Thiel S, Sarma PU, et al. (2005) Plasma mannan-binding lectin levels and activity are increased in allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 116: 1381–1383.
- Kaur S, Thiel S, Sarma PU, Madan T (2006) Mannan-binding lectin in asthma and allergy. *Curr Allergy Asthma Rep* 6: 377–383.
- Staley KG, Stover C, Strippoli MP, Spycher BD, Silverman M, et al. (2007) Mannan-binding lectin in young children with asthma differs by level of severity. *J Allergy Clin Immunol* 119: 503–505.
- Cedzynski M, Szymraj J, Swierczko AS, Bak-Romaniszyn L, Banasik M, et al. (2004) Mannan-binding lectin insufficiency in children with recurrent infections of the respiratory system. *Clin Exp Immunol* 136: 304–311.
- Wang X, Saito J, Tanino Y, Ishida T, Fujita T, et al. (2007) Mannose binding lectin gene polymorphisms and asthma. *Clin Exp Allergy* 37: 1334–1339.
- Aittoniemi J, Soranummi H, Rovio AT, Hurme M, Pessi T, et al. (2005) Mannose-binding lectin 2 (MBL2) gene polymorphism in asthma and atopy among adults. *Clin Exp Immunol* 142: 120–124.
- Nagy A, Kozma GT, Keszei M, Treszl A, Falus A, et al. (2003) The development of asthma in children infected with Chlamydia pneumoniae is dependent on the modifying effect of mannose-binding lectin. *J Allergy Clin Immunol* 112: 729–734.
- Carrera MC, Moura P, Crovella S, de Souza PR, de Alencar LC, et al. (2010) High polymorphism of the MBL2 gene in patients with atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 105: 39–42.

### **10.3 Vyšetření stavu zásobení jódem a tyreoidální funkce u těhotných žen s gestačním diabetes mellitus**

*Výsledky této práce budou součástí publikace, která je připravována k tisku:*

*Vitkova H, Anderlova K, Kratky J, Bilek R, Springer D, Radimerska V., Votava F., Brutvan T, Potlukova E, Palecek J, Jiskra J. Iodine supply and thyroid status of women with gestational diabetes mellitus and their impact on birth outcomes.*

#### 10.3.1 Cíle práce

- 1) Posoudit stav zásobení jódem u žen s GDM a zdravých těhotných žen měřením koncentrace jodu v moči (jodurie);
- 2) Posoudit, zda u těchto žen jodurie souvisí s laboratorními parametry tyreoidální funkce;
- 3) Posoudit, zda se liší neonatální TSH v novorozeneckém screeningu u dětí žen s GDM a kontrol a zda souvisí s jodurií a funkčními tyreoidálními parametry matky.

#### 10.3.2 Soubor pacientek a použité metody

##### *Pacientky a kontroly*

V letech 2016 až 2017 byly od 227 náhodně vybraných těhotných žen s GDM a 98 těhotných žen bez GDM jako kontrolní skupiny získány vzorky séra v 15. – 39. týdnu gravidity. Pro potřeby této studie byl gestační diabetes definován jako pozitivní a kontroly jako negativní výsledek oGTT v druhém trimestru gravidity. Ze vzorků séra byl stanoven tyreoidální stimulační hormon (TSH), volný tyroxin (FT4), protilátky proti tyreoperoxidáze (TPOAb) a protilátky proti tyreoglobulinu (TgAb) a ve vzorku ranní moči byla změřena koncentrace jodu (jodurie).

Všechny ženy vyplnily dotazník zaměřený na osobní anamnézu tyreopatií, autoimunitních a jiných onemocnění, medikaci a užívání přípravků s jódem během těhotenství.

Z analýzy bylo vyloučeno 42 žen léčených levotyroxinem, takže dále bylo analyzováno 195 žen s GDM a 88 kontrol.

Ženy s GDM byly dále sledovány a byly zaznamenány údaje o porodu a novorozenci a případných komplikacích během těhotenství a při porodu.

Po porodu byly u dětí žen zařazených do studie zaznamenány koncentrace neonatálního TSH, měřeného 72 hodin po porodu u všech novorozenců v rámci screeningu kongenitální hypothyreózy.



### *Laboratorní metody*

Tyreoidální parametry (TSH, FT4, TPOAb, TgAb) byly měřeny chemiluminiscenční imunoanalýzou na analyzátoru ADVIA Centaur Analyser (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, NY, USA). Referenční interval pro TSH v druhém trimestru gravidity byl na základě předchozích studií určen v pásmu 0,5 – 4,0 IU/l (Springer, D. et al., 2014; Alexander, E. K. et al., 2017).

Z důvodu změny analytické metody pro FT4 v průběhu studie byl pro ženy s GDM referenční interval 11,5 – 22,7 pmol/l a u kontrolní skupiny zdravých těhotných žen 10,0 – 22,7 pmol/l.

U protilátek TPOAb a TgAb byly za pozitivní považovány koncentrace vyšší než 60 kU/l, jak udává výrobce.

Neonatální TSH bylo stanoveno imunofluorescenční metodou ze suché kapky krve odebrané na screeningovou kartu. Pro jodový deficit svědčí prevalence zvýšeného neonatálního TSH >5 IU/L větší než 3 % (Hnikova, O., 2003; Rysava, L., 2012).

Koncentrace jodu v moči (jodurie) byla měřena metodou absorpční spektrofotometrie po alkalizační mineralizaci. U těhotných žen odpovídá optimálnímu jodovému zásobení jodurie v pásmu 150 – 249 ug/l (World Health Organization, 2013).

### *Statistické metody*

Ke statistickému zpracování byl použit program GraphPad Prism version 8 (Graphpad Software, San Diego, CA, USA) a SigmaStat statistic software (Jandel Corporation, San Jose, California, USA). K porovnání pacientek a kontrol byly použity t-test, Mann-Whitneyův test, Wilcoxonův test, Kruskal-Wallisův test, Chí-kvadrát test a Fisherův přesný test. K hodnocení významnosti korelací byl použit Spearmanův pořadový korelační koeficient. K hodnocení vlivu jodurie na funkční tyreoidální parametry, vlivu jodurie a funkčních tyreoidálních parametrů na HbA1c matky, komplikace porodu a parametry novorozence a vlivu, jodurie, funkčních tyreoidálních parametrů a HbA1c na komplikace porodu a parametry novorozence byl vytvořen mnohočetný lineární a logistický regresní model. Za signifikantní byla považována hodnota  $P < 0,05$ .

#### 10.3.3 Výsledky

Základní parametry a charakteristika skupin jsou uvedeny v *Tabulce 4*.

**Tabulka 4. Jodurie a tyreoidální laboratorní parametry u žen s gestačním diabetes mellitus a kontrol**

	<b>Gestační DM</b>	<b>Kontroly</b>	<b>P</b>
<i>Počet</i>	195	88	
<i>Věk</i>	33 (28-37)	33 (30-36)	0,796
<i>Ženy užívající doplňky s jodem</i>	39 (20,00 %)	36 (40,91 %)	<0,001
<i>Jodurie<sup>1</sup></i>	89,50 (68,30-111,80)	150,05 (103,35-211,90)	<0,001
<i>Jodurie<sup>1</sup> u žen, které neužívaly doplňky s jodem</i>	89,10 (68,35-112,00) N=156	145,45 (82,95-194,65) N=52	<0,001
<i>Jodurie 150-249 (optimální)</i>	9 (4,62 %)	33 (37,5 %)	<0,001
<i>Jodurie<sup>1</sup> &lt;150 ug/L<sup>2</sup></i>	173 (88,72 %)	44 (50,0 %)	<0,001
<i>Jodurie<sup>1</sup> 50-149 ug/L</i>	154 (78,97 %)	38 (43,18 %)	<0,001
<i>Jodurie<sup>1</sup> 20-49 ug/L</i>	19 (9,74 %)	6 (9,89 %)	0,861
<i>Jodurie<sup>1</sup> &lt;20 ug/L</i>	0	0	-
<i>Jodurie<sup>1</sup> 250-499 ug/L</i>	13 (6,67 %)	9 (10,23 %)	0,075
<i>Jodurie<sup>1</sup> ≥500 ug/L</i>	0	2 (2,23%)	-
<i>TSH<sup>1</sup></i>	1,94 (1,41-2,66)	2,19 (1,57-2,69)	0,124
<i>FT4<sup>1</sup></i>	13,03±1,75	12,60±1,65	0,102
<i>FT3<sup>1</sup></i>	4,1 (3,90-4,40)	4,1 (3,9-4,37)	0,786
<i>TPOAb<sup>1</sup></i>	44,0 (36,00-52,18)	33,0 (28,00-43,50)	<0,001
<i>Pozitivní TPOAb<sup>2</sup></i>	23 (11,80 %)	8 (9,09 %)	0,639
<i>TgAb<sup>1</sup></i>	15,10 (15,00-22,40)	18,60 (15,00-27,98)	0,435
<i>Pozitivní TgAb<sup>2</sup></i>	13 (6,67 %)	3 (3,41 %)	0,433
<i>Hypotyroxinemie<sup>2</sup> (&lt;11,5 pmol/L u žen s GDM a &lt;10,0 u kontrolní skupiny)</i>	24 (12,31 %)	3 (3,41 %)	0,032
<i>TSH &gt;4.0 IU/L<sup>2</sup></i>	14 (7,18 %)	5 (5,68 %)	0,834
<i>Neonatální TSH &gt;5 IU/L</i>	6 (5,22 %) N=115	0 N=39	0,329

<sup>1</sup> uveden medián (horní kvartil – dolní kvartil)

<sup>2</sup> uvedeno číslo (%)

P: míra významnosti

DM: diabetes mellitus;

TSH: tyreoidu stimulující hormon (IU/L);

FT4: volný tyroxin (pmol/L);

FT3: volný trijodtyronin;

TPOAb: protilátky proti tyreoperoxidáze (IU/L);

TgAb: protilátky proti tyreoglobulinu (IU/L)

### 10.3.3.1 Jodurie

Mediány jodurie byly signifikantně nižší u žen s GDM oproti kontrolám (89,50 ug/l vs. 150,05 ug/l ( $P < 0,001$ )). V pásmu optimálního zásobení jodem v graviditě (tj. jodurie 150 – 249 ug/l) bylo pouze 9 žen s GDM (4,62 %) a 33 kontrol (37,5 %) ( $P < 0,001$ ). Jod-deficitních bylo v druhém trimestru gravidity 173/195 (88,72 %) žen s GDM a 44/88 (50,00 %) kontrol ( $P < 0,001$ ). Středně těžký jodový deficit byl zjištěn u necelých 10 % těhotných žen v obou skupinách a těžký jodový deficit se naštěstí mezi vyšetřenými ženami nevyskytl vůbec. Naopak lehce nadměrná saturace jodem (jodurie 250-499 ug/L) byla prokázána u 13 žen s GDM (6,67 %) a u 9 žen v kontrolní skupině (10,23 %) ( $P = 0,075$ ) a excesivně zvýšená (jodurie  $\geq 500$  ug/L) byla zjištěna pouze u dvou kontrol (2,23 %) (*Tabulka 4*).

### 10.3.3.2 Sérové tyreoidální laboratorní parametry

Sérové koncentrace TSH ani prevalence elevace TSH  $>4$  IU/L se nelišily u žen s GDM a kontrol (*Tabulka 4*). Prevalence hypotyroxinemie u byla u žen s GDM signifikantně vyšší než u kontrol (12,31 % vs. 3,41 %,  $P = 0,032$ ) (*Tabulka 4*), současná elevace TSH byla prokázána u 2 žen s GDM a u žádné ženy z kontrolní skupiny. Sérové koncentrace FT3 ani prevalence pozitivních TPOAb a TgAb se u žen s GDM a kontrol signifikantně nelišily. Sérové koncentrace TSH a FT4 se u vyšetřených žen významně nelišily v závislosti na jodurii (*Tabulka 5*) (pro tuto analýzu byly obě skupiny žen hodnoceny dohromady).

**Tabulka 5. Koncentrace TSH a FT4 u těhotných žen (GDM i zdravé kontroly) v závislosti na jodurii**

	Počet	TSH	FT4
Jodurie $<50$ ug/L	27	1,90	13,07
Jodurie 50-149 ug/L	69	2,31	12,65
Jodurie 150-249 ug/L	44	2,20	12,36
Jodurie 250-499 ug/L	24	2,41	13,06
Jodurie $\geq 500$ ug/L	4	3,43	14,75
<i>P (ANOVA)</i>	-	<i>0,142</i>	<i>0,141</i>

TSH: tyreoidu stimulující hormon (IU/L);

FT4: volný tyroxin (pmol/L)

P: míra významnosti

### 10.3.3.3 Vliv potravinových doplňků na jodurii

V celém souboru měly těhotné ženy, které užívaly potravinové doplňky s jódem (N=75), signifikantně vyšší medián jodurie oproti ženám, které je neužívaly (N=208) (115,2 vs. 94,85 ug/l, P=0,026). Tento rozdíl byl patrný pouze v kontrolní skupině, zatímco u těhotných diabetiček nemělo užívání doplňků s jódem na mediány jodurie žádný vliv („uživatelky“ doplňků s jódem měly stejný medián jodurie jako „neuživatelky“) (Tabulka 6).

**Tabulka 6. Mediány jodurie v závislosti na užívání potravinových doplňků s jódem**

	„Uživatelky“ doplňků s jódem (N=75)	„Neuživatelky“ doplňků s jódem (N=208)	P
<b>GDM (N=195)</b>	89,9 (69,55-110,15) <sup>1</sup>	89,1 (68,35-112,0) <sup>1</sup>	0,802
<b>Kontroly (N=88)</b>	183,95 (124,65-215,95) <sup>1</sup>	145,45 (82,95-194,65) <sup>1</sup>	0,071
<b>Celý soubor</b>	115,2 (80,743-193,83) <sup>1</sup>	94,85 (71,6-124,05) <sup>1</sup>	0,026

<sup>1</sup> uveden medián (horní kvartil – dolní kvartil)

P: míra významnosti

GDM: gestační diabetes mellitus

### 10.3.3.4 Neonatální TSH

Hodnoty neonatálního TSH byly k dispozici od 115 dětí matek s GDM a 39 dětí matek v kontrolní skupině.

U 6 dětí žen s GDM byl neonatální TSH >5 IU/L, což odpovídá prevalenci 5,22 % a signalizuje jodový deficit. U dětí žen z kontrolní skupiny (N=39) se neonatální TSH >5IU/L nevyskytl ani jednou, skupina však byla k příliš malá na to, aby se rozdíl oproti skupině GDM dal statisticky zhodnotit.

V mnohočetném lineárním a logistickém regresním modelu nebyl prokázán žádný významný prediktivní vliv jodurie, funkčních tyreoidálních parametrů ani dalších faktorů na hodnotu neonatálního TSH (Tabulky 7 a 8).

### *10.3.3.5 Vztah jodurie a sérových tyreoidálních parametrů k HbA1c, těhotenským a porodnickým komplikacím a parametrům novorozence*

Prevalence porodních komplikací (akutní hypoxie plodu, patologický kardiogram, dystokie, makrosomie plodu, polyhydramnion, zkalená plodová voda, placenta praevia, nepostupující porod, PPRM, nutnost epiziotomie) byla signifikantně nižší u těhotných diabetiček, které užívaly potravinové doplňky s jódem oproti těm, které je užívaly [3/39 (7.69 %) vs. 46/156 (28.85 %),  $P < 0,001$ ]. U užívání doplňků s jódem bylo spojeno s nižším rizikem porodních komplikací i v mnohočetném logistickém regresním modelu (výsledek na hranici statistické významnosti) (*Tabulka 8*). Kromě toho byly v mnohočetném logistickém regresním modelu u těhotných diabetiček koncentrace FT4  $< 11,5$  pmol/l asociovány s předčasným porodem (*Tabulka 8*). V souladu s tím byl pozorován nesignifikantní trend vyššího prevalence předčasného porodu u těhotných diabetiček s hypotyroxinemií ( $< 11,5$  pmol/L) ve srovnání s těmi, které měly tyroxin nesnížený [4/24 (16.67 %) vs. 16/171 (9.36 %),  $P = 0.456$ ].

V mnohočetném lineárním regresním modelu (*Tabulka 5*) byla u žen s GDM nalezena pozitivní asociace FT4 s HbA1c ( $P = 0,007$ ), FT3 s porodní hmotností ( $P = 0,026$ ) i porodní délkou ( $P = 0,017$ ) a HbA1c s porodní hmotností ( $P = 0,02$ ) (*Obrázek 13*).

**Tabulka 7. Lineární regresní analýza u žen s gestačním diabetes mellitus (N=195, 42 žen léčených levotyroxinem bylo vyloučeno)**

		Závislé proměnné							
		<i>FT4 u matky</i>	<i>HbA1c u matky (N=79)</i>	<i>Neonatální TSH (N=115)</i>	<i>Apgar skóre u novorozence (N=159)</i>	<i>Porodní váha (N=159)</i>	<i>Porodní délka (N=159)</i>	<i>Obvod hlavy (N=159)</i>	<i>Obvod trupu (N=159)</i>
Nezávislé proměnné	<i>Věk matky</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	<i>Hmotnost matky (ve 2. trimestru)</i>	NS	NS	NS	NS	25.063 (6.91) P=0.02	NS	NS	NS
	<i>Jodurie matky</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	<i>TSH u matky</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	<i>FT4 u matky</i>	-	-1.491 (0.517) P=0.007	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	<i>FT3 u matky</i>	1.525 (0.673) P=0.030	NS	NS	NS	602.263 (243.25) P=0.026	4.165 (1.546) P=0.017	NS	NS
	<i>TPOAb u matky</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	<i>HbA1c u matky (N=79)</i>	-	-	NS	NS	58.072 (22.22) P=0.02	NS	NS	NS

Výsledky jsou vyjádřeny jako koeficient (standardní chyba).

P: míra významnosti

N: počet

TSH: tyreoidální stimulační hormon

FT4: volný thyroxin

FT3: volný trijodtyronin

TPOAb: protilátky proti tyreoperoxidáze

HbA1c: glykovaný hemoglobin

**Tabulka 8. Logistická regresní analýza u žen s gestačním diabetes mellitus (N=237)**

		Závislé proměnné					
		Novorozenecké TSH >5.0 IU/L	Předčasný porod	Nízká porodní váha	Hypotrofie plodu	Hypertrofie plodu	Porodní komplikace
Nezávislé proměnné	Léčba LT4	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Užívání doplňků s jodem	NS	NS	NS	NS	NS	-0,242 (0.058- 1.011) P=0.052
	UIC <150 ug/L	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	TSH >3.67 IU/L	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	FT4 <11.5 pmol/L	NS	12.498 (1.126- 138.761) P=0.040)	NS	NS	NS	NS
	Pozitivita TPOAb	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	HbA1c u matky >48 mmol/mol	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Multipara	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Potrat v anamnéze	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	IVF	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Výsledky jsou vyjádřeny jako odds ratio (míra relativního rizika s intervalem spolehlivosti 95%).

LT4: levotyroxin

UIC: urinary iodine concentration; jodurie

TSH: tyreoidu stimulující hormon

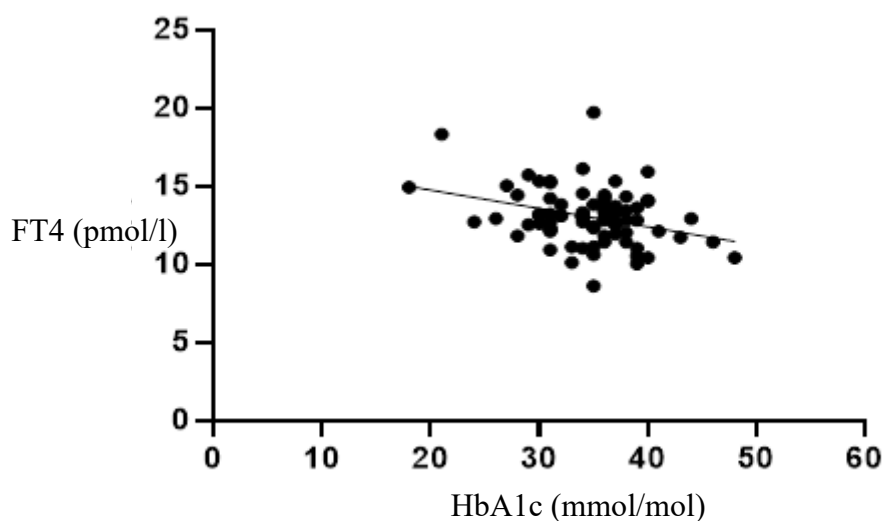
TPOAb: protilátky proti tyreoperoxidáze

HbA1c: glykovaný hemoglobin

IVF: in vitro fertilizace

P: míra významnosti

**Obrázek 13. Pozitivní asociace FT4 s HbA1c u žen s GDM (N=237) v lineárním regresním modelu**



FT4: volný tyroxin  
HbA1c: glykovaný hemoglobin

#### 10.3.4 Diskuze

Stanovením jodurie a novorozeneckého TSH jsme se snažili zmapovat stav zásobení jodem u těhotných žen v České republice a zjistit, zda může souviset s gestačním diabetes mellitus. Jodový deficit se může manifestovat především v těhotenství a během kojení a způsobit nevratné změny v psychomotorickém a neurologickém vývoji plodu a novorozence. V roce 1952 doporučila WHO jodizovat sůl v jod-deficientních oblastech a počet zemí s jodovým deficitem tak poklesl ze 113 na 20 v letech 1993 až 2017 (Gizak, M., 2016; Iodine Global Network, 2017). Několik studií ale prokázalo, že zásobení jodem u těhotných a kojících žen zůstává stále neadekvátní i v zemích, kde běžná populace dosáhla jodové dostatečnosti. Například v roce 1998 Hollowell et al. publikovali, že se v USA vyskytuje mírný až středně těžký deficit jodu u 6,7 % těhotných žen, i když ve všeobecné populaci bylo zásobení jodem adekvátní (Hollowell, J. G. et al., 1998). Studie NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) z let 2005 – 2010 ukázala, že těhotné ženy ve třetím trimestru měly adekvátní medián jodurie, zatímco jodurie u těhotných žen v prvním nebo druhém trimestru byla v pásmu jodového deficitu (Caldwell, K. L. et al., 2013). Dvě třetiny evropských zemí zahrnutých do studie od Zimmermanna et al.



uváděly nedostatečný příjem jodu během těhotenství (Zimmermann, M. B. et al., 2015). Wong et. al. toto potvrdili ve své srovnávací studii z Číny, ve které přibližně polovina těhotných žen vykazovala neadekvátní příjem jódu (Wong, E. M. et al., 2011). Česká republika má dlouhou historii řešení jodové problematiky a plošná jodizace soli byla zavedena již od 50. let 20. století. V roce 2017 byla zpracována data z populační studie, která na základě hodnot jodurie ukazuje, že se těhotné ženy v České republice nachází v pásmu dostatečného zásobení (Iodine Global Network, 2017). V naší práci se však ukázalo, že mírným jodovým deficitem trpí většina těhotných diabetiček (78,97 %) a téměř polovina žen z kontrolní skupiny (43,18 %). Ženy s GDM měly oproti zdravým těhotným ženám signifikantně nižší mediány jodurie i při vyřazení žen, které užívaly doplňky s jodem.

Částečnou limitací jodurie jako parametru jodového deficitu v graviditě je, že by ke spolehlivějšímu zhodnocení bylo vhodné zohlednit i renální funkce a změny glomerulární filtrace v graviditě. Z důvodu materiální náročnosti se však rutinně s těmito parametry ani v jiných obdobných výzkumech neworkuje. V budoucnosti by se markerem jodového deficitu v graviditě, u kterého odpadá tato limitace, mohl stát sérový tyreoglobulin (Du, Y. et al., 2017; Ma, Z. F., Skeaff, S. A., 2014). V naší práci byly navíc porovnávány těhotné diabetičky s kontrolní skupinou těhotných žen, takže lze předpokládat, že se glomerulární filtrace v obou skupinách významně nelišila.

Jako druhý marker k hodnocení zásobení jodem jsme zvolili novorozenecké TSH. Novorozenecký screening využívající TSH k diagnostice kongenitální hypotyreózy může odhalit jodový deficit (Delange, F., 1998). Pro jodový deficit svědčí prevalence zvýšeného neonatálního TSH  $>5$  IU/L u více než 3 % novorozenců (Rysava, L., 2012; Hnikova, O., 2003). V ČR již v roce 2019 dosáhl podíl novorozenců s TSH v pásmu jodového deficitu čísla 3,8 % a v roce 2020 dále vystoupal na 4,8 %, jak vyplývá z výsledků monitoringu, který z vlastní iniciativy pravidelně vypracovávají zástupci Kliniky dětí a dorostu FNKV a 3. LF UK (Nejedlá, M., Selinger, E., 2021). V naší práci signalizuje prevalence 5,22 % neonatálního TSH  $>5$  IU/L jodový deficit u těhotných diabetiček, zatímco u dětí žen z kontrolní skupiny se neonatální TSH  $>5$  IU/L nevyskytl ani jednou.

Jodový deficit nebo autoimunitní tyreoiditida jsou nejčastější příčinou izolované hypotyreoxinemie v graviditě (Lopez-Munoz, E. et al., 2019). Prevalence izolované hypotyreoxinemie se ve studiích liší a je uváděna v průměru okolo 1,3 % těhotných žen, nicméně může to být až 25,4 % (Lopez-Munoz, E. et al., 2019). Vyšší prevalence hypotyreoxinemie (bez ohledu na koncentrace TSH) byla pozorována u žen s gestačním diabetes mellitus (Oguz, A. et al., 2015). Ve studii FaSTER (First and Second Trimester Evaluation of Risk) se ukázalo, že

hypotyroxinemie korelovala s častějším výskytem GDM v druhém trimestru (odds ratio 1,89, 95% CI 1.26-2.84) (Haddow, J. E. et al., 2016). Nemuselo se ale jednat o kauzalitu, podobně totiž s FT4 korelovaly váha a věk matky (Haddow, J. E. et al., 2016). I v naší studii byla prevalence hypotyroxinemie signifikantně vyšší u žen s GDM oproti zdravým těhotným ženám (12,31 % vs. 3,41 %) a mnohočetná lineární regresní analýza ukázala u žen s GDM asociaci mezi FT4 a HbA1c. Zda má izolovaná hypotyroxinemie nepříznivý efekt na průběh těhotenství a porodu a perinatální období však zůstává nejisté (Lopez-Munoz, E. et al., 2019). Například Casey et al. nenašli signifikantní rozdíl v incidenci abrupce placenty, předčasného porodu, neonatální asfyxie a těhotenstvím indukované hypertenze mezi ženami s izolovanou hypotyroxinemií a kontrolní skupinou (Casey, B. M. et al., 2007). Podobně také Hamm et al. publikovali, že hypotyroxinémie, vyskytující se v prvním trimestru, nespojuje se s komplikacemi v těhotenství a při porodu a neměla nepříznivý vliv na vývoj plodu (Hamm, M. P. et al., 2009). Na druhou stranu Su et al. zjistili, že v čínské populaci byla hypotyroxinemie spojena s fetálním neprospíváním, předčasným porodem, spontánním abortem a malformacemi motorického systému (Su, P. Y. et al., 2011). V mnohočetném logistickém regresním modelu byla hypotyroxinemie  $<11,5$  pmol/l u žen s GDM asociována s předčasným porodem, ačkoliv výsledky byly na hranici statistické významnosti a budou vyžadovat další studie.

Je však nutné poznamenat, že studie hodnotící význam izolované hypotyroxinemie na průběh a komplikace gravidity mají četné limitace (různé stádium gestace v době vyšetření, rozdílné metody a normy, nespolehlivost imunoanalýzy FT4 v graviditě z důvodu změn distribučního objemu a vazebných bílkovin apod.) a jsou proto nutné další studie, včetně event. využití sofistikovanějších analytických metod jako je LC/MS-MS.

Rozporuplné výsledky přinesly i další studie, zkoumající vztah tyreoidální dysfunkce v graviditě a GDM. Stohl et al. například zjistili, že prevalence GDM byla signifikantně vyšší u hypothyreózy než u hypertyreózy (Stohl, H. E. et al., 2013). V další studii se GDM vyskytoval častěji u žen s transienční gestační hypertyreózou, avšak v prevalence GDM byla v kontrolní skupině od dost nižší (4 %) než je v běžné populaci (7 – 10 %) (Oguz, A. et al., 2013). V rozsáhlé práci (24 883 žen) Tudela et al. ukázali možnou souvislost mezi subklinickou hypothyreózou v prvním trimestru a vznikem GDM v druhém trimestru gravidity, kdy riziko rozvoje gestačního diabetes mellitus stoupalo s koncentracemi tyreotropinu (Tudela, C. M. et al., 2012). Podobně některé další studie ukázaly, že riziko GDM by mohlo být signifikantně vyšší u žen s hypothyreózou v prvním trimestru. Na druhou stranu ale sedm jiných studií toto nepotvrdilo (Cleary-Goldman, J. et al., 2008; Mannisto, T. et al., 2010; Karakosta, P. et al., 2012; Mannisto, T. et al., 2013; Nelson, D. B. et al., 2014; Ong, G. S. et al., 2014; Kumru, P. et al., 2015). V případě, že by se jednalo o

kauzální souvislost, měla by léčba levotyroxinem rozvoji GDM předcházet, což doposud nebylo studováno a navíc v retrospektivní studii od Männisto et al. přetrvávalo riziko GDM, i když byla hypotyreóza léčena (Mannisto, T. et al., 2010).

Potenciálním patofyziologickým podkladem pro spojení obou chorob by mohly být polymorfismy Thr92Ala dejdázy D2 nebo obezita, která je významným rizikovým faktorem GDM (Yalakanti, D., Dolia, P. B., 2016) a současně způsobuje elevaci TSH. Navíc vyšší kalorický příjem zvyšuje aktivitu periferních dejdáz, což vede k poklesu FT4 (Haddow, J. E. et al., 2016). Ačkoliv v naší práci měly těhotné diabetičky signifikantně vyšší prevalenci hypotyreoxinémie oproti kontrolám, sérové koncentrace TSH a FT4 se u GDM a kontrol významně nelišily, a to ani v jednotlivých skupinách podle stupně jodového zásobení (na základě jodurie). Podobné výsledky získali také Fuse et al. od japonských těhotných žen (v jod-suficientní oblasti) (Fuse, Y. et al., 2011).

Žádná ze studií dosud neprokázala vztah mezi pozitivitou tyreoidálních protilátek a rizikem rozvoje gestačního diabetes mellitus (Kumru, P. et al., 2015; Mannisto, T. et al., 2010; Cleary-Goldman, J. et al., 2008; Karakosta, P. et al., 2012). Ani v naší práci jsme žádné rozdíly v pozitivitě protilátek TPOAb a TgAb u GDM a kontrol neprokázali.

Naše data také ukázala, že pouze 20 % žen s GDM a 40,9 % zdravých těhotných žen užívalo potravinové doplňky s jodem. Při hodnocení obou skupin žen dohromady měly ženy, které neužívaly doplňky s jodem, signifikantně nižší jodurii (v pásmu středně závažného jodového deficitu) oproti ženám, které doplňky užívaly (v pásmu mírného jodového deficitu). V mnohočetné logistické regresní analýze bylo užívání potravinových doplňků spojeno s nižším rizikem porodních komplikací. Důvodem nízkého užívání doplňků s jodem u těhotných diabetiček mohou být i určité neoprávněné obavy týkající se možných porodnických komplikací specifických pro GDM (makrosomie plodu).

## 11. Závěry

Zdá se, že imunitní a metabolické změny v těhotenství zvyšují riziko vzniku některých onemocnění a ta spolu mohou souviset. S hormonálními a imunitními změnami souvisí například exacerbace a změna aktivity autoimunitních zánětů štítné žlázy nebo vznik gestačního diabetes mellitus. Nasvědčuje tomu i fakt, že komplikace během těhotenství a při porodu se překrývají u žen s AITD, u žen s deficitem MBL a pozitivními anti-C1q protilátkami a žen s GDM. V této

práci byl u těhotných žen studován vztah některých parametrů imunitního systému (anti-C1q a MBL) k AITD a spojitost deficitu jodu a tyreoidálních laboratorních parametrů s GDM.

1) V první studii jsme prokázali, že těhotenství má vliv na imunitní systém a že koncentrace anti-C1q jsou v těhotenství vyšší, ať už u žen s autoimunitním onemocněním štítné žlázy nebo bez něj. U žen s AITD navíc koncentrace anti-C1q korelovaly s koncentrací TSH v séru. Ukázalo se, že po porodu koncentrace anti-C1q klesají u žen s prokázanou pozitivitou TPOAb, ale nikoliv u žen, u kterých TPOAb pozitivní nebyly.

2) Druhá studie ukázala, že sérové koncentrace MBL byly v prvním trimestru těhotenství ovlivněny tyreoidálním onemocněním, dokonce i v jeho subklinické formě. Ženy s hypotyreózou a/nebo TPOAb pozitivní (tedy i s normálním TSH) měly signifikantně nižší koncentrace MBL než kontrolní skupina. V relativně rozsáhlém počtu žen jsme potvrdili, že sérové koncentrace MBL byly výrazně zvýšené v prvním trimestru těhotenství a klesaly po porodu. Tento vzestup produkce MBL může být způsoben komplexními hormonálními změnami včetně působení lidského choriového gonadotropinu. V explorativní analýze jsme pozorovali, že MBL deficientní ženy měly nižší prevalenci atopie/astmatu než MBL suficientní ženy.

3) Třetí studie ukázala, že jodurie byly signifikantně nižší u žen s GDM než u zdravých těhotných žen, a to i při vyřazení žen, které užívaly doplňky s jodem. Mírný jodový deficit měla většina těhotných diabetiček a téměř polovina kontrol. Také prevalence 5,22 % novorozeneckého TSH >5 IU/l svědčí u těhotných diabetiček pro jodový deficit. I když se sérové koncentrace funkčních tyreoidálních parametrů u obou skupin nelišily, tak prevalence hypotyroxinémie byla signifikantně vyšší u žen s GDM oproti zdravým kontrolám. V regresním modelu byla u žen s GDM také nalezena pozitivní asociace mezi FT4 a HbA1c a hypotyroxinémie <11,5 pmol/L byla spojena s vyšším rizikem předčasného porodu.

## 12. Seznam použité literatury

- Agarwal, S., N. K. Mishra, H. Singh, and G. P. Raghava. 2011. 'Identification of mannose interacting residues using local composition', *PLoS One*, 6: e24039.
- Aittoniemi, J., H. Soranummi, A. T. Rovio, M. Hurme, T. Pessi, M. Nieminen, and J. Karjalainen. 2005. 'Mannose-binding lectin 2 (MBL2) gene polymorphism in asthma and atopy among adults', *Clin Exp Immunol*, 142: 120-4.
- Al-Humaidi, M. A. 2000. 'Serum cytokines levels in Graves' disease', *Saudi Med J*, 21: 639-44.
- Alexander, E. K., E. Marqusee, J. Lawrence, P. Jarolim, G. A. Fischer, and P. R. Larsen. 2004. 'Timing and magnitude of increases in levothyroxine requirements during pregnancy in women with hypothyroidism', *N Engl J Med*, 351: 241-9.
- Alexander, E. K., E. N. Pearce, G. A. Brent, R. S. Brown, H. Chen, C. Dosiou, W. A. Grobman, P. Laurberg, J. H. Lazarus, S. J. Mandel, R. P. Peeters, and S. Sullivan. 2017. '2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum', *Thyroid*, 27: 315-89.
- Aluvihare, V. R., M. Kallikourdis, and A. G. Betz. 2004. 'Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus', *Nat Immunol*, 5: 266-71.
- American Diabetes Association. 2011. 'Diagnosis and classification of diabetes mellitus', *Diabetes Care*, 34 Suppl 1: S62-9.
- Andelova, K. 2016. 'Gestační diabetes (GDM)', *Neonatologické listy*, 22: 16-17.
- Anderlova, K., H. Krejci, P. Klusackova, M. Moravcova, H. Benakova, V. Krejci, A. Pazizek, and M. Haluzik. 2014. '[The alarming incidence of gestational diabetes mellitus using currently used and new international diagnostic criteria]', *Ceska Gynekol*, 79: 213-8.
- Antonelli, A., S. M. Ferrari, A. Corrado, A. Di Domenicantonio, and P. Fallahi. 2015. 'Autoimmune thyroid disorders', *Autoimmun Rev*, 14: 174-80.
- Aoki, Y., R. M. Belin, R. Clickner, R. Jeffries, L. Phillips, and K. R. Mahaffey. 2007. 'Serum TSH and total T4 in the United States population and their association with participant characteristics: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 1999-2002)', *Thyroid*, 17: 1211-23.
- Bandurska-Stankiewicz, E. 2013. 'Thyroid hormones – obesity and metabolic syndrome.', *Thyroid Res.*, 6(Suppl 2): A5.
- Bartaskova, D. 2016. 'Pregestačně přítomný diabetes u matky', *Neonatologické listy*, 22: 13-15.
- Boehm, B. O., P. Kuhl, B. J. Manfras, M. Chen, J. C. Lee, G. Holzberger, S. Seidl, E. Schifferdecker, P. M. Schumm-Draeger, and K. H. Usadel. 1992. 'HLA-DRB3 gene alleles in Caucasian patients with Graves' disease', *Clin Investig*, 70: 956-60.

- Bothra, N., N. Shah, M. Goroshi, S. Jadhav, S. Padalkar, H. Thakkar, G. S. Toteja, V. Shivane, A. Lila, and T. Bandgar. 2017. 'Hashimoto's thyroiditis: relative recurrence risk ratio and implications for screening of first-degree relatives', *Clin Endocrinol (Oxf)*, 87: 201-06.
- Buchanan, T. A. 2001. 'Pancreatic B-cell defects in gestational diabetes: implications for the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes', *J Clin Endocrinol Metab*, 86: 989-93.
- Buchanan, T. A., and A. H. Xiang. 2005. 'Gestational diabetes mellitus', *J Clin Invest*, 115: 485-91.
- Bulla, R., C. Agostinis, A. Mangogna, O. Radillo, and G. Ricci. 2018. 'Analysis of anti-C1q antibodies in normal and pathological pregnancies', *JOURNAL OF REPRODUCTIVE IMMUNOLOGY*, 128: 52-52.
- Burrow, G. N., D. A. Fisher, and P. R. Larsen. 1994. 'Maternal and fetal thyroid function', *N Engl J Med*, 331: 1072-8.
- Butte, N. F. 2000. 'Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus', *Am J Clin Nutr*, 71: 1256S-61S.
- Caldwell, K. L., Y. Pan, M. E. Mortensen, A. Makhmudov, L. Merrill, and J. Moye. 2013. 'Iodine status in pregnant women in the National Children's Study and in U.S. women (15-44 years), National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2010', *Thyroid*, 23: 927-37.
- Canaris, G. J., N. R. Manowitz, G. Mayor, and E. C. Ridgway. 2000. 'The Colorado thyroid disease prevalence study', *Arch Intern Med*, 160: 526-34.
- Carrera, M. C., P. Moura, S. Crovella, P. R. de Souza, L. C. de Alencar, and E. Sarinho. 2010. 'High polymorphism of the MBL2 gene in patients with atopic dermatitis', *Ann Allergy Asthma Immunol*, 105: 39-42.
- Casey, B. M. 2006. 'Subclinical hypothyroidism and pregnancy', *Obstet Gynecol Surv*, 61: 415-20; quiz 23.
- Casey, B. M., J. S. Dashe, C. Y. Spong, D. D. McIntire, K. J. Leveno, and G. F. Cunningham. 2007. 'Perinatal significance of isolated maternal hypothyroxinemia identified in the first half of pregnancy', *Obstet Gynecol*, 109: 1129-35.
- Catalano, P. M., E. D. Tyzbit, R. R. Wolfe, N. M. Roman, S. B. Amini, and E. A. Sims. 1992. 'Longitudinal changes in basal hepatic glucose production and suppression during insulin infusion in normal pregnant women', *Am J Obstet Gynecol*, 167: 913-9.
- Cedzynski, M., A. S. Swierzko, and D. C. Kilpatrick. 2012. 'Factors of the lectin pathway of complement activation and their clinical associations in neonates', *J Biomed Biotechnol*, 2012: 363246.
- Cedzynski, M., J. Szemraj, A. S. Swierzko, L. Bak-Romaniszyn, M. Banasik, K. Zeman, and D. C. Kilpatrick. 2004. 'Mannan-binding lectin insufficiency in children with recurrent infections of the respiratory system', *Clin Exp Immunol*, 136: 304-11.

- Celik, I., S. Akalin, and T. Erbas. 1995. 'Serum levels of interleukin 6 and tumor necrosis factor-alpha in hyperthyroid patients before and after propylthiouracil treatment', *Eur J Endocrinol*, 132: 668-72.
- Cleary-Goldman, J., F. D. Malone, G. Lambert-Messerlian, L. Sullivan, J. Canick, T. F. Porter, D. Luthy, S. Gross, D. W. Bianchi, and M. E. D'Alton. 2008. 'Maternal thyroid hypofunction and pregnancy outcome', *Obstet Gynecol*, 112: 85-92.
- Corapcioglu, D., V. Tonyukuk, M. Kiyan, A. E. Yilmaz, R. Emral, N. Kamel, and G. Erdogan. 2002. 'Relationship between thyroid autoimmunity and Yersinia enterocolitica antibodies', *Thyroid*, 12: 613-7.
- Čiháková, D. 2004. *Autoimunitní polyglandulární syndrom typu 1* (Galén: Praha).
- Daponte, A., E. Deligeoroglou, S. Pournaras, C. Hadjichristodoulou, A. Garas, F. Anastasiadou, and I. E. Messinis. 2013. 'Interleukin-15 (IL-15) and anti-C1q antibodies as serum biomarkers for ectopic pregnancy and missed abortion', *Clin Dev Immunol*, 2013: 637513.
- Darton, T. C., D. L. Jack, M. Johnson, R. Borrow, M. Guiver, E. B. Kaczmarek, M. W. Turner, N. J. Klein, and R. C. Read. 2014. 'MBL2 deficiency is associated with higher genomic bacterial loads during meningococemia in young children', *Clin Microbiol Infect*, 20: 1337-42.
- Davis, L. E., K. J. Leveno, and F. G. Cunningham. 1988. 'Hypothyroidism complicating pregnancy', *Obstet Gynecol*, 72: 108-12.
- De Escobar, G. M., M. J. Obregon, and F. E. del Rey. 2004. 'Maternal thyroid hormones early in pregnancy and fetal brain development', *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 18: 225-48.
- Delange, F. 1998. 'Screening for congenital hypothyroidism used as an indicator of the degree of iodine deficiency and of its control', *Thyroid*, 8: 1185-92.
- Diez, J. J., A. Hernanz, S. Medina, C. Bayon, and P. Iglesias. 2002. 'Serum concentrations of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and soluble TNF-alpha receptor p55 in patients with hypothyroidism and hyperthyroidism before and after normalization of thyroid function', *Clin Endocrinol (Oxf)*, 57: 515-21.
- Dittmar, M., and G. J. Kahaly. 2005. 'Immunoregulatory and susceptibility genes in thyroid and polyglandular autoimmunity', *Thyroid*, 15: 239-50.
- Dora, J. M., W. E. Machado, J. Rheinheimer, D. Crispim, and A. L. Maia. 2010. 'Association of the type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism with type 2 diabetes: case-control study and meta-analysis', *Eur J Endocrinol*, 163: 427-34.
- Du, Y., Y. H. Gao, Z. Y. Feng, F. G. Meng, L. J. Fan, and D. J. Sun. 2017. 'Serum Thyroglobulin-A Sensitive Biomarker of Iodine Nutrition Status and Affected by Thyroid Abnormalities and Disease in Adult Populations', *Biomed Environ Sci*, 30: 508-16.
- Duntas, L. H., J. Orgiazzi, and G. Brabant. 2011. 'The interface between thyroid and diabetes mellitus', *Clin Endocrinol (Oxf)*, 75: 1-9.

- Ferenčík, M., J. Rovenský, Y. Shoenfeld, and V. Matha. 2005. *Imunitní systém* (Avicenum: Praha).
- Ferrara, A. 2007. 'Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus: a public health perspective', *Diabetes Care*, 30 Suppl 2: S141-6.
- Fiddes, J. C., and H. M. Goodman. 1981. 'The gene encoding the common alpha subunit of the four human glycoprotein hormones', *J Mol Appl Genet*, 1: 3-18.
- Font, J., M. Ramos-Casals, P. Brito-Zeron, N. Nardi, A. Ibanez, B. Suarez, S. Jimenez, D. Tassies, A. Garcia-Criado, E. Ros, J. Sentis, J. C. Reverter, and F. Lozano. 2007. 'Association of mannose-binding lectin gene polymorphisms with antiphospholipid syndrome, cardiovascular disease and chronic damage in patients with systemic lupus erythematosus', *Rheumatology (Oxford)*, 46: 76-80.
- Fuse, Y., T. Ohashi, S. Yamaguchi, M. Yamaguchi, Y. Shishiba, and M. Irie. 2011. 'Iodine status of pregnant and postpartum Japanese women: effect of iodine intake on maternal and neonatal thyroid function in an iodine-sufficient area', *J Clin Endocrinol Metab*, 96: 3846-54.
- Gadjeva, M., K. Takahashi, and S. Thiel. 2004. 'Mannan-binding lectin--a soluble pattern recognition molecule', *Mol Immunol*, 41: 113-21.
- Galtier-Dereure, F., C. Boegner, and J. Bringer. 2000. 'Obesity and pregnancy: complications and cost', *Am J Clin Nutr*, 71: 1242S-8S.
- Gizak, M. 2016. 'Global scorecard 2016: moving toward optimal global iodine status', IDD Newsletter. [https://www.ign.org/newsletter/idd\\_nov16\\_global\\_scorecard\\_2016.pdf](https://www.ign.org/newsletter/idd_nov16_global_scorecard_2016.pdf).
- Glinoe, D. 2008. *Thyroidal and immune adaptation to Pregnancy: focus o maternal hypo- and hyperthyroidism*. (George Thieme Verlag: Stuttgart-New York).
- Glinoe, D., P. de Nayer, P. Bourdoux, M. Lemone, C. Robyn, A. van Steirteghem, J. Kinthaert, and B. Lejeune. 1990. 'Regulation of maternal thyroid during pregnancy', *J Clin Endocrinol Metab*, 71: 276-87.
- Guerin, L. R., J. R. Prins, and S. A. Robertson. 2009. 'Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment?', *Hum Reprod Update*, 15: 517-35.
- Haddow, J. E., W. Y. Craig, L. M. Neveux, G. E. Palomaki, G. Lambert-Messerlian, F. D. Malone, M. E. D'Alton, First, and Consortium Second Trimester Risk of Aneuploidy Research. 2016. 'Free Thyroxine During Early Pregnancy and Risk for Gestational Diabetes', *PLoS One*, 11: e0149065.
- Hamm, M. P., N. M. Cherry, J. W. Martin, F. Bamforth, and I. Burstyn. 2009. 'The impact of isolated maternal hypothyroxinemia on perinatal morbidity', *J Obstet Gynaecol Can*, 31: 1015-21.
- Hanafusa, T., R. Pujol-Borrell, L. Chiovato, R. C. Russell, D. Doniach, and G. F. Bottazzo. 1983. 'Aberrant expression of HLA-DR antigen on thyrocytes in Graves' disease: relevance for autoimmunity', *Lancet*, 2: 1111-5.



- Hansen, T. K., S. Thiel, R. Dall, A. M. Rosenfalck, P. Trainer, A. Flyvbjerg, J. O. Jorgensen, and J. S. Christiansen. 2001. 'GH strongly affects serum concentrations of mannan-binding lectin: evidence for a new IGF-I independent immunomodulatory effect of GH', *J Clin Endocrinol Metab*, 86: 5383-8.
- Heitzeneder, S., Seidel, M., Forster-Waldl, E., Heitger, A. 2012. 'Mannan-binding lectin deficiency - Good news, bad news, doesn't matter?', *Clin Immunol*, 143: 22-38.
- Hnikova, O. 2003. 'Význam neonatálního TSH', *Čes-slov Pediat*, 5: 252-54.
- Hollowell, J. G., N. W. Staehling, W. H. Hannon, D. W. Flanders, E. W. Gunter, G. F. Maberly, L. E. Braverman, S. Pino, D. T. Miller, P. L. Garbe, D. M. DeLozier, and R. J. Jackson. 1998. 'Iodine nutrition in the United States. Trends and public health implications: iodine excretion data from National Health and Nutrition Examination Surveys I and III (1971-1974 and 1988-1994)', *J Clin Endocrinol Metab*, 83: 3401-8.
- Horacek, J. 2011. 'Tyreopatie v graviditě', *Interní Med.* , 13: 388-90.
- Hořejší, V., and J. Bartůňková. 2009. *Základy imunologie* (Triton: Praha).
- Huber, A., F. Menconi, S. Corathers, E. M. Jacobson, and Y. Tomer. 2008. 'Joint genetic susceptibility to type 1 diabetes and autoimmune thyroiditis: from epidemiology to mechanisms', *Endocr Rev*, 29: 697-725.
- Christiansen, O. B., H. S. Nielsen, M. Lund, R. Steffensen, and K. Varming. 2009. 'Mannose-binding lectin-2 genotypes and recurrent late pregnancy losses', *Hum Reprod*, 24: 291-9.
- IGN (Iodine Global Network). 2017. 'Global Scorecard of Iodine Nutrition in 2017 in the general population and in pregnant women (PW).'
- [http://www.ign.org/cm\\_data/IGN\\_Global\\_Scorecard\\_AllPop\\_and\\_PW\\_May2017.pdf](http://www.ign.org/cm_data/IGN_Global_Scorecard_AllPop_and_PW_May2017.pdf).
- Kalhan, S. C., L. J. D'Angelo, S. M. Savin, and P. A. Adam. 1979. 'Glucose production in pregnant women at term gestation. Sources of glucose for human fetus', *J Clin Invest*, 63: 388-94.
- Kapras J, Kohoutová M. 1999. *Apoptóza* (Karolinum: Praha).
- Karakosta, P., D. Alegakis, V. Georgiou, T. Roumeliotaki, E. Fthenou, M. Vassilaki, D. Boumpas, E. Castanas, M. Kogevinas, and L. Chatzi. 2012. 'Thyroid dysfunction and autoantibodies in early pregnancy are associated with increased risk of gestational diabetes and adverse birth outcomes', *J Clin Endocrinol Metab*, 97: 4464-72.
- Kaur, S., V. K. Gupta, A. Shah, S. Thiel, P. U. Sarma, and T. Madan. 2005. 'Plasma mannan-binding lectin levels and activity are increased in allergic patients', *J Allergy Clin Immunol*, 116: 1381-3.
- Kaur, S., S. Thiel, P. U. Sarma, and T. Madan. 2006. 'Mannan-binding lectin in asthma and allergy', *Curr Allergy Asthma Rep*, 6: 377-83.
- Kilpatrick, D. C. 2000. 'Mannan-binding lectin concentration during normal human pregnancy', *Hum Reprod*, 15: 941-3.

- Kilpatrick, D.C. 2002. 'Mannan-binding lectin and its role in innate immunity', *Transfus Med*, 12: 335-52.
- Kilpatrick, D. C., B. H. Bevan, and W. A. Liston. 1995. 'Association between mannan binding protein deficiency and recurrent miscarriage', *Hum Reprod*, 10: 2501-5.
- Kirwan, J. P., S. Hauguel-De Mouzon, J. Lepercq, J. C. Challier, L. Huston-Presley, J. E. Friedman, S. C. Kalhan, and P. M. Catalano. 2002. 'TNF-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy', *Diabetes*, 51: 2207-13.
- Koenig, K. F., E. Potlukova, B. Mueller, M. Christ-Crain, and M. Trendelenburg. 2012. 'MBL serum levels in patients with sepsis correlate with thyroid function but not with outcome', *Clin Immunol*, 144: 80-2.
- Kravitz, M. S., and Y. Shoenfeld. 2006. 'Autoimmunity to protective molecules: is it the perpetuum mobile (vicious cycle) of autoimmune rheumatic diseases?', *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2: 481-90.
- Kumru, P., E. Erdogan, R. Arisoy, O. Demirci, A. Ozkoral, C. Ardic, A. A. Ertekin, S. Erdogan, and N. N. Ozdemir. 2015. 'Effect of thyroid dysfunction and autoimmunity on pregnancy outcomes in low risk population', *Arch Gynecol Obstet*, 291: 1047-54.
- Lapolla, A., M. G. Dalfrà, C. Lencioni, and G. Di Cianni. 2004. 'Epidemiology of diabetes in pregnancy: a review of Italian data', *Diabetes Nutr Metab*, 17: 358-67.
- Leung, A. S., L. K. Millar, P. P. Koonings, M. Montoro, and J. H. Mestman. 1993. 'Perinatal outcome in hypothyroid pregnancies', *Obstet Gynecol*, 81: 349-53.
- Leung, W. C., K. K. Chan, and T. T. Lao. 2004. 'Neonatal hyperthyrotropinemia in gestational diabetes mellitus and perinatal complications', *Neuroendocrinology*, 80: 124-8.
- Li, Q., B. Wang, K. Mu, and J. A. Zhang. 2019. 'The pathogenesis of thyroid autoimmune diseases: New T lymphocytes - Cytokines circuits beyond the Th1-Th2 paradigm', *J Cell Physiol*, 234: 2204-16.
- Limanova, Z., and J. Jiskra. 2010. 'Thyroid gland and pregnancy.', *Postgraduální medicína*, 12: 627-33.
- Lopez-Munoz, E., L. Mateos-Sanchez, G. E. Mejia-Terrazas, and S. E. Bedwell-Cordero. 2019. 'Hypothyroidism and isolated hypothyroxinemia in pregnancy, from physiology to the clinic', *Taiwan J Obstet Gynecol*, 58: 757-63.
- Ma, Z. F., and S. A. Skeaff. 2014. 'Thyroglobulin as a biomarker of iodine deficiency: a review', *Thyroid*, 24: 1195-209.
- Magon, N., and M. Chauhan. 2012. 'Pregnancy in Type 1 Diabetes Mellitus: How Special are Special Issues?', *N Am J Med Sci*, 4: 250-6.

- Mannisto, T., P. Mendola, J. Grewal, Y. Xie, Z. Chen, and S. K. Laughon. 2013. 'Thyroid diseases and adverse pregnancy outcomes in a contemporary US cohort', *J Clin Endocrinol Metab*, 98: 2725-33.
- Mannisto, T., M. Vaarasmaki, A. Pouta, A. L. Hartikainen, A. Ruokonen, H. M. Surcel, A. Bloigu, M. R. Jarvelin, and E. Suvanto. 2010. 'Thyroid dysfunction and autoantibodies during pregnancy as predictive factors of pregnancy complications and maternal morbidity in later life', *J Clin Endocrinol Metab*, 95: 1084-94.
- Mathern, D. R., and P. S. Heeger. 2015. 'Molecules Great and Small: The Complement System', *Clin J Am Soc Nephrol*, 10: 1636-50.
- Mold, J. E., J. Michaelsson, T. D. Burt, M. O. Muench, K. P. Beckerman, M. P. Busch, T. H. Lee, D. F. Nixon, and J. M. McCune. 2008. 'Maternal alloantigens promote the development of tolerogenic fetal regulatory T cells in utero', *Science*, 322: 1562-5.
- Mosca, M., F. Strigini, A. Doria, F. Pratesi, C. Tani, L. Iaccarino, D. Chimenti, A. Carmignani, M. Cecchi, S. Zampieri, A. Ghirardello, P. Migliorini, and S. Bombardieri. 2007. 'Anti-C1q antibodies in pregnant patients with systemic lupus erythematosus', *Clin Exp Rheumatol*, 25: 449-52.
- Murray, R.K., and D.K. Granner. 1993. *Harperova biochemie LANGE medical book*.
- Nagy, A., G. T. Kozma, M. Keszei, A. Treszl, A. Falus, and C. Szalai. 2003. 'The development of asthma in children infected with Chlamydia pneumoniae is dependent on the modifying effect of mannose-binding lectin', *J Allergy Clin Immunol*, 112: 729-34.
- Nauta, A. J., G. Castellano, W. Xu, A. M. Woltman, M. C. Borrias, M. R. Daha, C. van Kooten, and A. Roos. 2004. 'Opsonization with C1q and mannose-binding lectin targets apoptotic cells to dendritic cells', *J Immunol*, 173: 3044-50.
- Nejedlá, M., Selinger, E. 2021. "Jodový deficit v ČR stále aktuální." In *Konference JÓD 21*, edited by Státní zdravotní ústav. Praha.
- Nelson, D. B., B. M. Casey, D. D. McIntire, and F. G. Cunningham. 2014. 'Subsequent pregnancy outcomes in women previously diagnosed with subclinical hypothyroidism', *Am J Perinatol*, 31: 77-84.
- Ogden, C. A., A. deCathelineau, P. R. Hoffmann, D. Bratton, B. Ghebrehiwet, V. A. Fadok, and P. M. Henson. 2001. 'C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calreticulin and CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic cells', *J Exp Med*, 194: 781-95.
- Oguz, A., D. Tuzun, D. Ozdemir, Y. Baci, R. Ersoy, A. F. Avsar, and B. Cakir. 2013. 'Prevalance of gestational diabetes mellitus in patients with gestational transient thyrotoxicosis', *Gynecol Endocrinol*, 29: 336-9.
- Oguz, A., D. Tuzun, M. Sahin, A. C. Usluogullari, B. Usluogullari, A. Celik, and K. Gul. 2015. 'Frequency of isolated maternal hypothyroxinemia in women with gestational diabetes mellitus in a moderately iodine-deficient area', *Gynecol Endocrinol*, 31: 792-5.

- Ohmura, K., K. Oku, T. Kitaori, O. Amengual, R. Hisada, M. Kanda, Y. Shimizu, Y. Fujieda, M. Kato, T. Bohgaki, T. Horita, S. Yasuda, M. Sugiura-Ogasawara, and T. Atsumi. 2019. 'Pathogenic roles of anti-C1q antibodies in recurrent pregnancy loss', *Clin Immunol*, 203: 37-44.
- Okosieme, O. E., A. B. Parkes, B. McCullough, D. Doukidis, B. P. Morgan, C. J. Richards, and J. H. Lazarus. 2002. 'Complement activation in postpartum thyroiditis', *QJM*, 95: 173-9.
- Olivieri, A., H. Valensise, F. Magnani, E. Medda, S. De Angelis, M. D'Archivio, M. Sorcini, S. Carta, S. Baccarini, and C. Romanini. 2000. 'High frequency of antithyroid autoantibodies in pregnant women at increased risk of gestational diabetes mellitus', *Eur J Endocrinol*, 143: 741-7.
- Ong, G. S., N. C. Hadlow, S. J. Brown, E. M. Lim, and J. P. Walsh. 2014. 'Does the thyroid-stimulating hormone measured concurrently with first trimester biochemical screening tests predict adverse pregnancy outcomes occurring after 20 weeks gestation?', *J Clin Endocrinol Metab*, 99: E2668-72.
- Parkes, A. B., H. Adams, S. Othman, R. Hall, R. John, and J. H. Lazarus. 1996. 'The role of complement in the pathogenesis of postpartum thyroiditis: ultrasound echogenicity and the degree of complement-induced thyroid damage', *Thyroid*, 6: 177-82.
- Pearce, S. H., and T. R. Merriman. 2009. 'Genetics of type 1 diabetes and autoimmune thyroid disease', *Endocrinol Metab Clin North Am*, 38: 289-301.
- Perricone, C., C. de Carolis, and R. Perricone. 2012. 'Pregnancy and autoimmunity: a common problem', *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 26: 47-60.
- Phenekos, C., A. Vryonidou, A. D. Gritzapis, C. N. Baxevanis, M. Goula, and M. Papamichail. 2004. 'Th1 and Th2 serum cytokine profiles characterize patients with Hashimoto's thyroiditis (Th1) and Graves' disease (Th2)', *Neuroimmunomodulation*, 11: 209-13.
- Pokhrel, B., Bhusal, K. 2019. 'Graves Disease.' in, *StatPearls* (Treasure Island (FL)).
- Potlukova, E. 2005. 'Klinický význam protilátek proti C1q složce komplementu'. <https://docplayer.cz/16087904-Klinicky-vyznam-proti-latek-proti-clq-slozce-komplementu-eliska-potlukova-3-interni-klinika-vfn-a-1-lf-uk.html>.
- Potlukova, E. 2013. 'Onemocnění štítné žlázy a těhotenství', *Med. Praxi*, 10: 195-98.
- Potlukova, E., T. Freiberger, Z. Limanova, J. Jiskra, Z. Telicka, J. Bartakova, D. Springer, H. Vitkova, and M. Trendelenburg. 2013. 'Association between low levels of Mannan-binding lectin and markers of autoimmune thyroid disease in pregnancy', *PLoS One*, 8: e81755.
- Potlukova, E., J. Jiskra, T. Freiberger, Z. Limanova, D. Zivorova, K. Malickova, D. Springer, L. Grodecka, M. Antosova, Z. Telicka, S. S. Pesickova, and M. Trendelenburg. 2010. 'The production of mannan-binding lectin is dependent upon thyroid hormones regardless of the genotype: a cohort study of 95 patients with autoimmune thyroid disorders', *Clin Immunol*, 136: 123-9.

- Potlukova, E., J. Jiskra, Z. Limanova, P. Kralikova, D. Smutek, H. Mareckova, M. Antosova, and M. Trendelenburg. 2008. 'Autoantibodies against complement C1q correlate with the thyroid function in patients with autoimmune thyroid disease', *Clin Exp Immunol*, 153: 96-101.
- Potlukova, E., and P. Kralikova. 2008. 'Complement component c1q and anti-c1q antibodies in theory and in clinical practice', *Scand J Immunol*, 67: 423-30.
- Potlukova, E., and Z. Limanova. 2007. '[The role of complement in autoimmune thyroid disorders]', *Cas Lek Cesk*, 146: 210-4.
- Prummel, M. F., T. Strieder, and W. M. Wiersinga. 2004. 'The environment and autoimmune thyroid diseases', *Eur J Endocrinol*, 150: 605-18.
- Prummel, M. F., and W. M. Wiersinga. 2004. 'Thyroid autoimmunity and miscarriage', *Eur J Endocrinol*, 150: 751-5.
- Pujanek, M., A. Bronisz, P. Malecki, and R. Junik. 2013. 'Pathomechanisms of the development of obesity in some endocrinopathies — an overview. Patomechanizm rozwoju otyłości w wybranych endokrynopatiach — przegląd', *Endokrynol Pol*, 64(2): 150-55.
- Racaniello, V. 2009. "C1q and the collectins." In *virology blog*, About viruses and viral diseases.
- Romagnani, P., M. Rotondi, E. Lazzeri, L. Lasagni, M. Francalanci, A. Buonamano, S. Milani, P. Vitti, L. Chiovato, M. Tonacchera, A. Bellastella, and M. Serio. 2002. 'Expression of IP-10/CXCL10 and MIG/CXCL9 in the thyroid and increased levels of IP-10/CXCL10 in the serum of patients with recent-onset Graves' disease', *Am J Pathol*, 161: 195-206.
- Rossner, P., Jr., N. Tabashidze, M. Dostal, Z. Novakova, I. Chvatalova, M. Spatova, and R. J. Sram. 2011. 'Genetic, biochemical, and environmental factors associated with pregnancy outcomes in newborns from the Czech Republic', *Environ Health Perspect*, 119: 265-71.
- Rysava, L. 2012. "Screening TSH novorozenců a prevence jodového deficitu u novorozenců, kojenců, gravidních a kojících žen." In *Konference ke dni jódu*, edited by Státní zdravotní ústav. Praha 2012.
- Saverino, D., R. Brizzolara, R. Simone, A. Chiappori, F. Milintenda-Floriani, G. Pesce, and M. Bagnasco. 2007. 'Soluble CTLA-4 in autoimmune thyroid diseases: relationship with clinical status and possible role in the immune response dysregulation', *Clin Immunol*, 123: 190-8.
- Seelen, M. A., E. A. van der Bijl, L. A. Trouw, T. C. Zuiverloon, J. R. Munoz, F. C. Fallaux-van den Houten, N. Schlagwein, M. R. Daha, T. W. Huizinga, and A. Roos. 2005. 'A role for mannose-binding lectin dysfunction in generation of autoantibodies in systemic lupus erythematosus', *Rheumatology (Oxford)*, 44: 111-9.
- Shahbazian, H., N. Shahbazian, M. Rahimi Baniyani, L. Yazdanpanah, and S. M. Latifi. 2013. 'Evaluation of thyroid dysfunction in pregnant women with gestational and pre-gestational diabetes', *Pak J Med Sci*, 29: 638-41.

- Shao, J., P. M. Catalano, H. Yamashita, I. Ruyter, S. Smith, J. Youngren, and J. E. Friedman. 2000. 'Decreased insulin receptor tyrosine kinase activity and plasma cell membrane glycoprotein-1 overexpression in skeletal muscle from obese women with gestational diabetes mellitus (GDM): evidence for increased serine/threonine phosphorylation in pregnancy and GDM', *Diabetes*, 49: 603-10.
- Shinohara, D. R., T. D. S. Santos, H. C. de Carvalho, L. C. B. Lopes, L. S. A. Gunther, S. M. A. Aristides, J. J. V. Teixeira, and I. G. Demarchi. 2018. 'Pregnancy Complications Associated With Maternal Hypothyroidism: A Systematic Review', *Obstet Gynecol Surv*, 73: 219-30.
- Singh, J., A. Ahmed, and G. Girardi. 2011. 'Role of complement component C1q in the onset of preeclampsia in mice', *Hypertension*, 58: 716-24.
- Skalnikova, H., T. Freiberger, J. Chumchalova, H. Grombirikova, and A. Sediva. 2004. 'Cost-effective genotyping of human MBL2 gene mutations using multiplex PCR', *J Immunol Methods*, 295: 139-47.
- Somerset, D. A., Y. Zheng, M. D. Kilby, D. M. Sansom, and M. T. Drayson. 2004. 'Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+ CD4+ regulatory T-cell subset', *Immunology*, 112: 38-43.
- Sorensen, C. M., T. K. Hansen, R. Steffensen, J. C. Jensenius, and S. Thiel. 2006. 'Hormonal regulation of mannan-binding lectin synthesis in hepatocytes', *Clin Exp Immunol*, 145: 173-82.
- Sorenson, R. L., T. C. Brelje, and C. Roth. 1993. 'Effects of steroid and lactogenic hormones on islets of Langerhans: a new hypothesis for the role of pregnancy steroids in the adaptation of islets to pregnancy', *Endocrinology*, 133: 2227-34.
- Springer, D., V. Bartos, and T. Zima. 2014. 'Reference intervals for thyroid markers in early pregnancy determined by 7 different analytical systems', *Scand J Clin Lab Invest*, 74: 95-101.
- Springer, D., and T. Zima. 2018. 'Štítná žláza v těhotenství', *Newslab*, 9(2): 113-19.
- Springer, D., T. Zima, and Z. Limanova. 2009. 'Reference intervals in evaluation of maternal thyroid function during the first trimester of pregnancy', *Eur J Endocrinol*, 160: 791-7.
- Stagnaro-Green, A., M. Abalovich, E. Alexander, F. Azizi, J. Mestman, R. Negro, A. Nixon, E. N. Pearce, O. P. Soldin, S. Sullivan, W. Wiersinga, Pregnancy American Thyroid Association Taskforce on Thyroid Disease During, and Postpartum. 2011. 'Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum', *Thyroid*, 21: 1081-125.
- Stagnaro-Green, A., X. Chen, J. D. Bogden, T. F. Davies, and T. O. Scholl. 2005. 'The thyroid and pregnancy: a novel risk factor for very preterm delivery', *Thyroid*, 15: 351-7.
- Staley, K. G., C. Stover, M. P. Strippoli, B. D. Spycher, M. Silverman, and C. E. Kuehni. 2007. 'Mannan-binding lectin in young children with asthma differs by level of severity', *J Allergy Clin Immunol*, 119: 503-5.

- Stilwell, G., P. J. Reynolds, V. Parameswaran, L. Blizzard, T. M. Greenaway, and J. R. Burgess. 2008. 'The influence of gestational stage on urinary iodine excretion in pregnancy', *J Clin Endocrinol Metab*, 93: 1737-42.
- Stohl, H. E., J. Ouzounian, A. M. Rick, N. A. Hueppchen, and J. L. Bienstock. 2013. 'Thyroid disease and gestational diabetes mellitus (GDM): is there a connection?', *J Matern Fetal Neonatal Med*, 26: 1139-42.
- Stoyanova, V., S. Petrova, M. Tchorbadjieva, B. Deliyska, V. Vasilev, and I. Tsacheva. 2011. 'New insight into the autoimmunogenicity of the complement protein C1q', *Mol Immunol*, 48: 678-82.
- Su, P. Y., K. Huang, J. H. Hao, Y. Q. Xu, S. Q. Yan, T. Li, Y. H. Xu, and F. B. Tao. 2011. 'Maternal thyroid function in the first twenty weeks of pregnancy and subsequent fetal and infant development: a prospective population-based cohort study in China', *J Clin Endocrinol Metab*, 96: 3234-41.
- Surková, S., Matějovská Kubešová, H., *Kardiol Rev Int Med* 2018; 20(1): 33– 35. 2018. 'Tyreopatie ve stáří a kardiovaskulární postižení', *Kardiol Rev Int Med*, 20(1): 33– 35.
- Tamai, H., A. Kimura, R. P. Dong, S. Matsubayashi, K. Kuma, S. Nagataki, and T. Sasazuki. 1994. 'Resistance to autoimmune thyroid disease is associated with HLA-DQ', *J Clin Endocrinol Metab*, 78: 94-7.
- Thorarinsdottir, H. K., B. R. Ludviksson, T. Vikingsdottir, M. O. Leopoldsdottir, B. Ardal, T. Jonsson, H. Valdimarsson, and G. J. Arason. 2005. 'Childhood levels of immunoglobulins and mannan-binding lectin in relation to infections and allergy', *Scand J Immunol*, 61: 466-74.
- Trendelenburg, M., M. Lopez-Trascasa, E. Potlukova, S. Moll, S. Regenass, V. Fremeaux-Bacchi, J. Martinez-Ara, E. Jancova, M. L. Picazo, E. Honsova, V. Tesar, S. Sadallah, and J. Schifferli. 2006. 'High prevalence of anti-C1q antibodies in biopsy-proven active lupus nephritis', *Nephrol Dial Transplant*, 21: 3115-21.
- Trendelenburg, M., J. Marfurt, I. Gerber, A. Tyndall, and J. A. Schifferli. 1999. 'Lack of occurrence of severe lupus nephritis among anti-C1q autoantibody-negative patients', *Arthritis Rheum*, 42: 187-8.
- Tudela, C. M., B. M. Casey, D. D. McIntire, and F. G. Cunningham. 2012. 'Relationship of subclinical thyroid disease to the incidence of gestational diabetes', *Obstet Gynecol*, 119: 983-8.
- Uguz, A., Z. Berber, M. Coskun, S. Halide Akbas, and O. Yegin. 2005. 'Mannose-binding lectin levels in children with asthma', *Pediatr Allergy Immunol*, 16: 231-5.
- "Urinary iodine concentrations for determining iodine status." In. 2013. edited by World Health Organization, 1-5. Vitamin and Mineral Nutrition Information System.
- Van de Geijn, F. E., R. J. Dolhain, W. van Rijs, J. M. Hazes, and C. J. de Groot. 2007. 'Mannose-binding lectin genotypes and pre-eclampsia: a case-control study', *Hum Immunol*, 68: 888-93.

- Van de Geijn, F. E., R. J. Dolhain, W. van Rijs, S. P. Willemsen, J. M. Hazes, and C. J. de Groot. 2008. 'Mannose-binding lectin genotypes are associated with shorter gestational age. An evolutionary advantage of low MBL production genotypes?', *Mol Immunol*, 45: 1514-8.
- Van de Geijn, F. E., A. Roos, Y. A. de Man, J. D. Laman, C. J. de Groot, M. R. Daha, J. M. Hazes, and R. J. Dolhain. 2007. 'Mannose-binding lectin levels during pregnancy: a longitudinal study', *Hum Reprod*, 22: 362-71.
- Vanderpump, M. P., W. M. Tunbridge, J. M. French, D. Appleton, D. Bates, F. Clark, J. Grimley Evans, D. M. Hasan, H. Rodgers, F. Tunbridge, and et al. 1995. 'The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham Survey', *Clin Endocrinol (Oxf)*, 43: 55-68.
- Vianna, P., G. K. Da Silva, B. P. Dos Santos, M. E. Bauer, C. A. Dalmaz, E. Bandinelli, and J. A. Chies. 2010. 'Association between mannose-binding lectin gene polymorphisms and pre-eclampsia in Brazilian women', *Am J Reprod Immunol*, 64: 359-74.
- Vitacolonna, E., A. Lapolla, B. Di Nenno, A. Passante, I. Bucci, C. Giuliani, D. Cerrone, F. Capani, F. Monaco, and G. Napolitano. 2012. 'Gestational diabetes and thyroid autoimmunity', *Int J Endocrinol*, 2012: 867415.
- Wakwoya, E.B., Fita, F.U. 2018. 'Adverse maternal outcome and its association with gestational diabetes among women who gave birth in selected public hospitals in eastern Ethiopia', *Trop J Obstet Gynaecol*, 35: 58-62.
- Wang, S. H., J. D. Bretz, E. Phelps, E. Mezosi, P. L. Arscott, S. Utsugi, and J. R. Baker, Jr. 2002. 'A unique combination of inflammatory cytokines enhances apoptosis of thyroid follicular cells and transforms nondestructive to destructive thyroiditis in experimental autoimmune thyroiditis', *J Immunol*, 168: 2470-4.
- Wang, X., J. Saito, Y. Tanino, T. Ishida, T. Fujita, and M. Munakata. 2007. 'Mannose binding lectin gene polymorphisms and asthma', *Clin Exp Allergy*, 37: 1334-9.
- Weetman, A. P. 2010. 'Immunity, thyroid function and pregnancy: molecular mechanisms', *Nat Rev Endocrinol*, 6: 311-8.
- Wisniewski, J. J., and S. M. Jones. 1992. 'Comparison of autoantibodies to the collagen-like region of C1q in hypocomplementemic urticarial vasculitis syndrome and systemic lupus erythematosus', *J Immunol*, 148: 1396-403.
- Wong, E. M., K. M. Sullivan, C. G. Perrine, L. M. Rogers, and J. P. Pena-Rosas. 2011. 'Comparison of median urinary iodine concentration as an indicator of iodine status among pregnant women, school-age children, and nonpregnant women', *Food Nutr Bull*, 32: 206-12.
- Xiang, A. H., R. K. Peters, E. Trigo, S. L. Kjos, W. P. Lee, and T. A. Buchanan. 1999. 'Multiple metabolic defects during late pregnancy in women at high risk for type 2 diabetes', *Diabetes*, 48: 848-54.
- Yalakanti, D., and P. B. Dolia. 2016. 'Association of Type II 5' Monodeiodinase Thr92Ala Single Nucleotide Gene Polymorphism and Circulating Thyroid Hormones Among Type 2 Diabetes Mellitus Patients', *Indian J Clin Biochem*, 31: 152-61.



Zhu, Y., and C. Zhang. 2016. 'Prevalence of Gestational Diabetes and Risk of Progression to Type 2 Diabetes: a Global Perspective', *Curr Diab Rep*, 16: 7.

Zimmermann, M. B., M. Gizak, K. Abbott, M. Andersson, and J. H. Lazarus. 2015. 'Iodine deficiency in pregnant women in Europe', *Lancet Diabetes Endocrinol*, 3: 672-4.

### 13. Seznam použitých zkratek

Ab	protilátka
Ag	antigen
AIDS	syndrom získaného imunodeficitu
AITD	autoimunitní onemocnění štítné žlázy
anti-C1q (CLR)	protilátky vázané ke kolagenu podobné části C1q molekuly
anti-C1q	autoprottilátky proti C1q složce komplementu
anti-CTLA-4	autoprottilátky proti antigenu 4 asociovanému s cytotoxickými T lymfocyty
anti-gC1q	protilátky zaměřené na globulární hlavy C1q
anti-PDI	anti-protein disulfid izomeráza
APC	antigen prezentující buňka
CTLA-4	cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4
DM	diabetes mellitus
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FaS/L	FaS ligand
fB	faktor B
FbhCG	volná podjednotka beta lidského choriového gonadotropinu
fD	faktor D
FFA	volné mastné kyseliny
fP	faktor P
FT3	volný trijodtyronin
FT4	volný tyroxin
GB	Gravesova-Basedowova choroba
GDM	gestační diabetes mellitus
HbA1c	glykovaný hemoglobin
hCG	lidský choriogonadotropin
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti
HLA	lidské leukocytární antigeny
HT	Hashimotova tyreoiditida
IAPDSG	Mezinárodní asociace pro studium diabetu v těhotenství (International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups)
IFN	interferon
IVF	in vitro fertilizace
LC/MS-MS	kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrofotometrií
LT	lymfocytární tyreoiditida
LT4	levotyroxin
MAC	membránu atakující komplex
MASP	serinová proteáza asociovaná s MBL (manózu vázajícím lektinem)
MBL	manózu vázající lektin
MBP	manózu vázající protein
MHC	hlavní histokompatibilní komplex
N	počet

neoTSH	novorozenecký tyreoidu stimulující hormon
NK	přírodní „zabíječi“ (natural killer cells)
NS	nesignifikantní
oGTT	orální glukózový toleranční test
P	míra významnosti
PAPP A	plazmatický protein A spojený s těhotenstvím
PGDM	pregestační diabetes mellitus
PPROM	předčasný odtok plodové vody před termínem porodu
PROM	předčasný odtok plodové vody
RDS	syndrom dechové tísně
SLE	systémový lupus erythematosus
T3	trijodtyronin
T4	tyroxin (tetrajodtyronin)
TFH	folikulární pomocné T lymfocyty
TgAb	protilátky proti tyreoglobulinu
TGF-beta	transformující růstový faktor beta
Th1, Th2	pomocné T lymfocyty 1 a 2
TNF-alfa	tumor nekrotizující faktor alfa
TPOAb	protilátky proti tyreoperoxidáze
TRAB	protilátky proti TSH receptoru
Treg	regulační T lymfocyty
TRH	tyreotropin uvolňující hormon
TSH	tyreoidu stimulující hormon
UIC	koncentrace jodu v moči (jodurie)
VEGF	vaskulární endoteliální růstový faktor
WHO	Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

## 14. Seznam publikací autora

### 14.1 Publikace s IF, které se zabývají problematikou disertační práce

1) Potluková E., Freiburger T., Límanová Z., Jiskra J., Telička Z., Bartáková J., Springer D., Vítková H., Trendelenburg M. Association between Low Levels of Mannan-Binding Lectin and Markers of Autoimmune Thyroid Disease in Pregnancy. *PLoS One*, 2013, vol. 8. ISSN 1932-6203. IF = 3, 24

2) Vítková H., Jiskra J., Springer D., Límanová Z., Telička Z., Bartáková J., Trendelenburg M., Potluková E. Anti-C1q autoantibodies are linked to autoimmune thyroid disorders in pregnant women. *Clinical and Experimental Immunology*, 2016, vol. 186, s. 10-17. ISSN 0009-9104. IF = 3, 73

### 14.2 Publikace s IF, které se nezabývají problematikou disertační práce

1) Krátký J., Vítková H., Bartáková J., Telička Z., Antošová M., Límanová Z., Jiskra J. Thyroid Nodules: Pathophysiological Insight on Oncogenesis and Novel Diagnostic Techniques. *Physiological Research*, 2014, vol. 63. ISSN 0862-8408. IF = 1, 881

2) Krátký J., Vítková H., Bartáková J., Lukáš J., Jiskra J. Neck Muscles and Content of Carotid Artery as Reference Tissue for Strain Ratio - a Novel Approach to Improve the Diagnostic Performance of Thyroid Elastography?. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 2016, vol. 124, s. 192-197. ISSN 0947-7349. IF = 2,949

3) Jiskra J., Antošová M., Krátký J., Vítková H., Límanová Z., Marečková H., Potluková E. CXCR3, CCR5, and CRTH2 Chemokine Receptor Expression in Lymphocytes Infiltrating Thyroid Nodules with Coincident Hashimoto's Thyroiditis Obtained by Fine Needle Aspiration Biopsy. *Journal of Immunology Research*, 2016, vol. 2016. ISSN 2314-8861. IF = 4,27

4) Krátký J., Ježková J., Kosák M., Vítková H., Bartáková J., Mráz M., Lukáš J., Límanová Z., Jiskra J. Positive Antithyroid Antibodies and Nonsuppressed TSH Are Associated with Thyroid Cancer: A Retrospective Cross-Sectional Study. *International Journal of Endocrinology*, 2018, vol. 2018. ISSN 1687-8337. IF = 3,05

### 14.3 Publikace bez IF, které se zabývají problematikou disertační práce

1) Vítková H., Potluková E. Suplementace jódu v období těhotenství a kojení. *Farmi News*, 2013, roč. 11, vol. 2013, č. 3, s. 24. ISSN: 1214-5017.

### 14.4 Publikace bez IF, které se nezabývají problematikou disertační práce

1) Potluková E., Vítková H., Límanová Z. Individuální přístup k pacientům při léčbě hypotyreózy. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa*, 2014, vol. 17, s. 85-90. ISSN 1211-9326.

- 2) Vítková H., Jiskra J. Tyreopatie v perimenopauze a seni. *Klimakterická medicína*, 2014, vol. 19, s. 12-18. ISSN 1211-4278.
- 3) Bartáková J., Krátký J., Vítková H., Límanová Z., Khwaja K., Jiskra J. Overtesting of women on levothyroxine treatment during pregnancy. *American International Journal of Contemporary Scientific Research*, 2015, vol. 2, s. 80-89. ISSN 2349-4425.
- 4) Vítková H., Překlad článku od Girgis M. Ch., CliftonBligh J. R., Turner N., Lau L. S., Gunton E. J. Účinky vitamínu D na kosterní sval: pády, síla, sportovní výkonnost, inzulinová rezistence. *Revue endokrinologie*, 2015, vol. 18, s. 59-65. ISSN 1801-6413.
- 5) Vítková H., Překlad článku od Elisei R. Molekulární profily papilárních tyreoidálních tumorů se během posledních desetiletí změnily: Jak to lze vysvětlit? *Revue endokrinologie*, 2015, vol. 18, s. 9-11. ISSN 1801-6413.
- 6) Vítková H., Překlad článku od Wartofsky L. Subklinická hypertyreóza a riziko fraktury u žen. *Revue endokrinologie*, 2015, vol. 18, s. 20-20. ISSN 1801-6413.
- 7) Vítková H., Překlad článku od Selmer C., et al. Subklinická a manifestní tyreoidální dysfunkce a riziko celkové mortality a kardiovaskulárních příhod. *Revue endokrinologie*, 2015, vol. 18, s. 17-17. ISSN 1801-6413.
- 8) Vítková H., Překlad článku od Garin C. M., Arnold M. A., Lee S. J., Robbins J., Cappola R. A. Subklinická tyreoidální dysfunkce a fraktura kyčelního kloubu a kostní minerálová denzita u starších dospělých: The Cardiovascular Health Study. *Revue endokrinologie*, 2015, vol. 18, s. 18-19. ISSN 1801-6413.
- 9) Vítková H., Překlad článku od Randolph J. F. Jr., Zheng H., Avis N. E., Greendale G. A., Harlow S. D. Masturbace a sexuální funkce jsou spojeny se sérovými hladinami reprodukčních hormonů během období menopauzy. *Revue endokrinologie*, 2016, vol. 2016, s. 58-59. ISSN 1801-6413.
- 10) Vítková H., Překlad článku od Demers L. M., Hankinson S. E., Haymond S., Key T., Rosner W., Santen R. J., Stanczyk F. Z., Vesper H. W., Ziegler R. G. Měření estrogenu a jeho metabolitů: Doporučení z workshopu na základě klinických problémů. *Revue endokrinologie*, 2016, vol. 2016, s. 59-60. ISSN 1801-6413.
- 11) Vítková H., Překlad článku od Mohammed K., Abu Dabrh A. M., Benkhadra K., Al Nofal A., Carranza Leon B. G., Prokop L. J., Montori V. M., Faubion S. S., Murad M. H. Perorální versus transdermální estrogenová terapie a vaskulární příhody: systematické review a meta-analýza. *Revue endokrinologie*, 2016, vol. 2016, s. 46-47. ISSN 1801-6413.
- 12) Vítková H., Překlad článku od Crandall C. J., Aragaki A., Cauley J. A., Manson J. E., LeBlanc E., Wallace R., Wactawski-Wende J., LaCroix A., O'Sullivan M. J., Vitolins M., Watts N. B. Spojení menopauzálních vazomotorických symptomů s incidencí zlomenin. *Revue endokrinologie*, 2016, vol. 2016, s. 70-72. ISSN 1801-6413.
- 13) Vítková H., Překlad článku od Theodoraki A., Vanderpump J. P. M. Tyreotoxikóza a užívání amiodaronu: možnosti využití ultrazvuku v péči o pacienta. *Revue endokrinologie*, 2017, vol. 20, s. 30-31. ISSN 1801-6413.

- 14) Vítková H., Překlad článku od Orgiazzi J. Management pacientů s Gravesovou orbitopatií: iniciační zhodnocení, management mimo specializovaná centra a doporučené postupy. *Revue endokrinologie*, 2017, vol. 20, s. 34-34. ISSN 1801-6413.
- 15) Vítková H., Překlad článku od Bartalena L., Burch B. H., Burman D. K., Kahaly J. G. Evropský průzkum modelů klinických postupů v managementu Gravesovy choroby. *Revue endokrinologie*, 2017, vol. 20, s. 33-33. ISSN 1801-6413.
- 16) Vítková H., Překlad článku od Khong J. J., Finch S., De Silva Ch., Rylander S., Craig E. J., Selva D., Ebeling R. P. Rizikové faktory Gravesovy orbitopatie; the Australian Thyroid Associated Orbitopathy Research (ATOR) Study. *Revue endokrinologie*, 2017, vol. 20, s. 34-35. ISSN 1801-6413.
- 17) Vítková H., Překlad článku od Palermo A., Mangiameli G., Tabacco G., Longo F., Pedone C., Briganti I. S., Maggi D., Vescini F., Naciu A., Pantano L. A., Napoli N., Angeletti S., Pozzili P., Crucitti P., Manfrini S. PTH (1-34) jako primární prevence hypokalcémie. *Revue endokrinologie*, 2017, vol. 20, s. 48-48. ISSN 1801-6413.
- 18) Vítková H., Překlad článku od Tsvetov G., Hirsch D., Shimon I., Benbassat C., Masri-Iraqi H., Gorshtein A., Herzberg D., Shochat T., Shraga Slutzky I., Diker-Cohen T. Léčba thiazidy u primární hyperparatyreózy - nová indikace pro starý lék? *Revue endokrinologie*, 2018, vol. 21, s. 33-34. ISSN 1801-6413.
- 19) Vítková H., Překlad článku od Streeten A. E., Mohtasebi Y., Konig M., Davidoff L., Ryan K. Hypoparatyreóza: méně závažná hypokalcémie při léčbě vitaminem D2 ve srovnání s terapií kalcitriolem. *Revue endokrinologie*, 2018, vol. 21, s. 32-33. ISSN 1801-6413.
- 20) Vítková H., Překlad článku od Glynn N., Kenny H., Quisenberry L., Halsall J. D., Cook P., Tun K. T., McDermott H. J., Smith D., Thompson J. Ch., O'Gorman J. D., Boelen A., Lado-Abel J., Agha A. Účinek substituční terapie růstovým hormonem na tyreoidální osu. *Revue endokrinologie*, 2018, vol. 21, s. 29-30. ISSN 1801-6413.
- 21) Vítková H., Překlad článku od Bothra N., Shah N., Goroshi M., Jadhav S., Padalkar S., Thakkar H., Toteja S. G., Shivane V., Lila A., Bandgar T. Hashimotova tyreoiditida: riziko vzniku onemocnění v rodině a implikace pro screening u příbuzných prvního stupně. *Revue endokrinologie*, 2018, vol. 21, s. 33-34. ISSN 1801-6413.
- 22) Vítková H., Překlad článku od Jokar O. T., Fourman T. L., Lee H., Mentzger K., Fazeli K. P. Vyšší koncentrace TSH v rámci normálního rozmezí jsou spojeny s nevysvětlitelnou infertilitou. *Revue endokrinologie*, 2018, vol. 21, s. 20-23. ISSN 1801-6413.
- 23) Vítková H., Překlad článku od Isaksson S., Bogefors K., Stahl O., Ebehard J., Giwercman L. Y., Leijonhufvud I., Link K., Ora I., Romerius P., Bobjer J., Giwercman A. Vysoké riziko rozvoje hypogonadismu u mladých mužů po terapii neoplazie. *Revue endokrinologie*, 2019, vol. 22, s. 42-43. ISSN 1801-6413.
- 24) Vítková H. Substituce levotyroxinem. *Farmakoterapeutická revue*, 2021, vol. 6, s. 493-498. ISSN 2533-6878.