

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI

Gynekologicko-porodnická klinika



IMUNOLOGICKY RIZIKOVÁ ŽENA A JEJÍ DÍTĚ

DOKTORSKÁ DIZERTAČNÍ PRÁCE

MUDr. Alice Mocková

Vědní obor: Gynekologie a porodnictví

Školitel: Prof. MUDr. Zdenka Ulčová-Gallová, DrSc.

Plzeň 2014

Souhrn

Autoimunitní onemocnění (AD), spojená s přítomností antifosfolipidových protilátek (aPL) se vyskytují často u žen ve fertilním věku a mohou ovlivnit zdravotní stav jejich dětí. Úvodním cílem práce bylo zjistit přítomnost aPL proti $\beta 2$ glykoproteinu I (anti- $\beta 2$ GPI), kardiolipinu (aCL), fosfatidyl-L-serinu, fosfatidylinositolu, fosfatidylethanolaminu, fosfatidyl-DL-glycerolu, kyselině fosfatidové a annexinu V u matek s definovanými AD a jejich dětí po porodu, v 6 a 12 měsících života, a porovnat výskyt aPL se soubory zdravých matek a jejich dětí. Dalším cílem studie byla realizace 2 - letého follow-up novorozenců aPL pozitivních a aPL negativních matek s AD včetně vyšetření krevního obrazu, USG CNS a břicha, tranzientních evokovaných otoakustických emisí, elektrokardiografického a psychologického ve snaze odhalit možný dopad mateřského AD na zdravotní stav dětí.

Z původně vyšetřených 82 aPL pozitivních žen s AD bylo do prospektivní studie zařazeno 31 matek a jejich 34 novorozenců, rovněž s pozitivními aPL. Druhý soubor tvořilo 23 žen s AD s negativními aPL a jejich 24 aPL negativních dětí. Soubor matek bez AD tvořilo 30 žen, soubor dětí matek bez AD byl sestaven z 30 probandů. Hladiny aPL byly vyšetřovány ELISA metodou. Statistické hodnocení výsledků bylo provedeno programem Statistika 9. U matek s AD jsme detekovali nejčastěji aPL proti fosfatidyl-L-serinu, proti aCL a $\beta 2$ GPI v subtypech IgG. Mezi skupinami aPL pozitivních a zdravých matek byl při kvantitativním stanovení aPL zjištěn signifikantní rozdíl ($p < 0,01$) mezi všemi jednotlivými aPL v subtypech IgG ($p < 0,01$) s výjimkou aPL proti fosfatidyl-DL-glycerolu, v subtypu IgM jsme našli významnou diferenci hladiny aCL ($p < 0,05$) a v subtypu IgA u anti $\beta 2$ GPI ($p < 0,01$). U matek bez AD činila incidence aPL 3,3 %. Transplacentární přenos aPL subtypu IgG byl po porodu prokázán u 41,4 % novorozenců, nejčastěji detekovanou aPL byla aPL proti fosfatidyl-L-serinu IgG. U novorozenců zdravých matek byla prokázána přítomnost aPL IgG ve 3,3 %. V 6 měsících perzistovaly aPL u 38,2 % dětí aPL pozitivních matek, ve 12 měsících byly identické protilátky detekovány ještě u 5,8 % zmíněných dětí. Novotvorba aPL v 6 a 12 měsících věku byla nejvyšší u souboru dětí aPL pozitivních matek ve srovnání se skupinou dětí aPL negativních matek a se skupinou zdravých dětí.

Během 2 - letého sledování skupin dětí matek s AD jsme nenalezli trombotické komplikace či příznaky neonatálního lupusu, rovněž vyšetření EKG a tranzientních otoakustických emisí bylo bez patologie. U dětí aPL pozitivních matek byl přítomný vyšší výskyt přechodné trombopenie a vyšší výskyt USG abnormit CNS, které ustoupily do 6 měsíců. Psychologické vyšetření ve 2 letech prokázalo u těchto dětí signifikantně nižší mentální vývojový index ($p < 0,01$), 17,6 % dětí mělo hodnotu MVI v pásmu středního poškození, rozdíl v četnosti tohoto parametru mezi oběma skupinami byl významný ($p=0,03$). Parametr MVI u dětí aPL pozitivních matek silně negativně koreloval s hodnotou anti- $\beta 2$ GPI IgG po narození ($p < 0,0001$). Domníváme, že u dětí matek s AD a pozitivními aPL je žádoucí jejich dlouhodobé sledování včetně psychologického vyšetření ve 2 letech věku k detekci časných abnormit neuropsychického vývoje a k zahájení korekce pod odborným vedením.

Summary

Women in childbearing age are often affected by autoimmune diseases (AD) associated with the presence of antiphospholipid antibodies (aPL) that may influence further development of their children. The primary objective of our prospective study was to determine the presence of the following aPL: anti β 2 glycoprotein I (anti- β 2GPI), anticardiolipin (aCL), antiphosphatidylserine, antiphosphatidylinositol, antiphosphatidylethanolamine, antiphosphatidylglycerol, antiphosphatidic acid, antiannexin V in mothers with defined AD and their children after birth, at 6 and 12 months of life, and to compare the incidence of aPL with a control group. A secondary objective of the study was a 2-year follow-up of children born to aPL negative and aPL positive mothers with AD in order to detect the possible impact of maternal AD on the health of the offspring. In children, we analysed anthropometric data, blood cell count, cerebral and abdominal ultrasound examination, transient evoked otoacoustic emission test (TEOAE), electrocardiograph (ECG), the presence and kinetics of aPL. At the age of 2 years the Bayley Scales of Infant Development (BSID-II) were used for children's assessment of motor, language and cognitive development. 31 mothers from the total examined 82 aPL positive women with AD delivered 34 neonates that were also aPL positive and were included in the study. The second group consisted of 24 aPL negative newborns born to 23 aPL negative mothers with AD. The control group comprised of 30 mothers without AD and 30 children born to women without AD. Home-made and commercial ELISA kits were used for aPL detection. The most frequently detected aPL in mothers with AD were antiphosphatidylserine, aCL and anti β 2GPI IgG. The quantitative determination of aPL IgG differed significantly ($p < 0.01$) between mothers with AD and mothers without AD except antiphosphatidylglycerol. The level of aCL IgM and anti- β 2GPI IgA was significantly higher in mothers with AD ($p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively). The aPL incidence in mothers without AD was 3.3 %. The transplacental transfer of aPL IgG was detected at birth in 41.4 % of newborns. The antiphosphatidylserine IgG was the most frequently found aPL in newborns. In neonates born to healthy mothers, aPL presence was detected in 3.3 % of cases. At 6 months of age the aPL persisted in 38.2 % of children born to aPL positive mothers, the identical aPL were present in 5.8 % of those children even at 12 months of age. The de novo aPL production at 6 and 12 months of age was highest in the group of children of aPL positive mothers. Neither symptoms of neonatal lupus nor thrombotic event were found in any of children during follow-up. Evaluation of ECG and TEOAE did not reveal any pathology. Higher incidence of transient thrombopenia and mild CNS abnormalities were observed in children of aPL positive mothers. Mental development index (MDI) of BSID-II was significantly lower in these children ($p < 0.01$). The prevalence of the moderate damage differed significantly between the two groups ($p=0.03$). MDI in children of aPL positive mothers negatively correlated with anti β 2GPI IgG at birth ($p < 0.01$). We believe that maternal AD with presence of aPL may negatively influence the mental development of their offspring. Therefore a long term follow-up of the children with BSID testing is required in order to detect early abnormalities of their neuropsychological development and to enable timely correction.

Předmluva

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou dizertační práci zpracovala samostatně s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství. Výzkumná data, jejich interpretace a komentáře jsem získala vlastní klinickou a výzkumnou činností a studiem uvedených literárních zdrojů. Při této činnosti jsem respektovala etické zásady vědecké práce a práva pacientů. Souhlasím se zveřejněním dizertační práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon ve znění pozdějších předpisů.

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala své školitelce prof. MUDr. Zdeňce Ulčové-Gallové, DrSc. za odborné vedení v průběhu vzniku této práce a během celého mého postgraduálního studia. Můj dík patří i laborantkám, paní Bibkové a paní Mičanové, za laboratorní zpracování krevních vzorků.

Děkuji též doc. MUDr. Zdeňkovi Novotnému, CSc a doc. MUDr. Jiřímu Dortovi, PhD. za vytvoření podmínek, které mi umožnily dokončit postgraduální studium a vytvořit tuto práci.

Velký dík patří všem spolupracovníkům, kteří se spolupodíleli na vzniku této práce, zejména Bc. Haně Hrachovcové za vedení databáze pacientů, Ing. Stanislavovi Kormundovi za statistické zpracování výsledků a v neposlední řadě všem neonatologickým sestřičkám za pomoc při odběrech vzorků krve a při kontrolách pacientů.

Obsah

1 Úvod	10
2 Cíl práce	11
3 Současný stav poznání	12
3.1 Změny v imunitním systému u těhotných žen	12
3.1.1 <i>Imunolance navozená HLA systémem</i>	12
3.2 Imunologické změny v periferní krvi u těhotných žen	13
3.2.1 <i>Leukocyty</i>	13
3.2.2 <i>T-lymfocyty</i>	13
3.2.3 <i>Th1/ Th2 přesmyk a jeho důsledky u těhotných žen</i>	14
3.2.4 <i>Pomocné lymfocyty Th17</i>	15
3.2.5 <i>Regulační T-lymfocyty (Treg)</i>	15
3.2.6 <i>B-lymfocyty a imunoglobulin IgG</i>	16
3.2.7 <i>Změny komplementu</i>	17
3.3 Lokální imunologické změny u těhotných žen	17
3.3.1 <i>Uterinní přirození zabíječi (uNK)</i>	18
3.3.2 <i>Uterinní T-lymfocyty</i>	18
3.3.3 <i>Uterinní makrofágy</i>	19
3.3.4 <i>Dendritické buňky</i>	19
3.4 Imunitní změny v graviditě a infekce	19
3.5 Imunologické odchylky u těhotných žen	20
3.5.1 <i>Imunodeficitní stavy u těhotných žen</i>	20
3.5.2 <i>Imunoproliferativní stavy u těhotných žen</i>	22
3.5.3 <i>Imunopatologické stavy</i>	23
3.6 Autoimunitní choroby u žen	23
3.6.1 <i>Vliv sexuálního dimorfismu a pohlavních hormonů</i>	23
3.6.2 <i>Genetický podklad autoimunitních chorob u žen</i>	24
3.6.3 <i>Autoimunitní onemocnění u žen a vliv mikrochimérizmu</i>	25
3.6.4 <i>Autoimunitní choroby u žen -infertilita a opakované ztráty gravidity</i>	26
3.7 Možné mechanismy vzniku protilátkově vyvolaných autoimunitních onemocnění u plodu a novorozence	28

3.7.1	<i>Systémový lupus erythematosus matky a neonatální lupus</i>	29
3.7.2	<i>Antifosfolipidový syndrom matky a neonatální antifosfolipidový syndrom</i>	31
3.7.3	<i>Imunitní tyreopatie matky a novorozence</i>	34
3.7.4	<i>Rh inkompatibilita a hemolytické onemocnění plodu a novorozence</i>	35
3.7.5	<i>Imunní trombopenie matky a novorozence</i>	37
3.7.6	<i>Myastenie gravis matky a novorozence</i>	37
3.7.7	<i>Bulózní dermatitidy matky a novorozence</i>	38
3.7.8	<i>Neonatální hemochromatóza</i>	40
3.7.9	<i>Depresivní choroby matek</i>	40
4	Vlastní řešení studie	41
4.1	Studované soubory	41
4.2	Protokol studie	42
4.3	Metodika studie	45
4.3.1	<i>Stanovení hladin antifosfolipidových protilátek</i>	45
4.3.2	<i>Vyšetření krevního obrazu</i>	46
4.4	Statistické zpracování	46
5	Výsledky	47
5.1	Soubory matek	47
5.2	Soubory novorozenců	52
5.2.1	<i>Porodní údaje a poporodní adaptace</i>	52
5.2.2	<i>Hodnocení krevního obrazu novorozenců</i>	53
5.2.3	<i>Hodnocení vyšetření elektrokardiografického vyšetření (EKG) u novorozenců</i>	54
5.2.4	<i>Hodnocení vyšetření transientních evokovaných otoakustických emisí (TEOAE), ultrasonografie (USG) a klinického nálezu novorozenců při propuštění</i>	55
5.2.5	<i>Hodnocení follow-up dětí ve věku 6, 12 a 24 měsíců</i>	56
5.2.6	<i>Hodnocení detekce antifosfolipidových protilátek u novorozenců po porodu</i>	60
5.2.7	<i>Hodnocení detekce antifosfolipidových protilátek u dětí ve věku 6 a 12 měsíců</i>	61
5.2.8	<i>Výsledky psychologického vyšetření dětí ve 24 měsících věku</i>	64
6	Hodnocení výsledků studie a diskuze	67
6.1	Soubory matek	67
6.2	Soubory dětí	69
7	Závěr	76

8 Seznam použité literatury	78
9 Publikační a přednášková činnost	97
9.1 Impaktované publikace	97
9.2 Recenzované publikace	97
9.3 Jiné publikace	97
9.4 Přednášková činnost.....	98

Seznam použitých zkratek

aCL	protilátka proti kardiolipinu (anticardiolipin)
AIHA	autoimunní hemolytická anemie (autoimmune hemolytic anemia)
AD	autoimunitní choroby (autoimmune diseases)
AIDS	syndrom získaného selhání imunity (acquired immunodeficiency syndrome)
AchR	acetylcholinový receptor (acetylcholine receptor)
ANA	antinukleární protilátka (antinuclear antibody)
aPL	antifosfolipidová protilátka (antiphospholipid antibody)
APS	antifosfolipidový syndrom (antiphospholipid syndrome)
β2GPI	β2 glykoprotein I
BMI	index tělesné hmotnosti (body-mass index)
BPD	bronchopulmonální dysplázie
CD	diferenční skupina (cluster of differentiation)
CNS	centrální nervový systém
CHB	vrozený srdeční blok (congenital heart block)
CVID	běžný variabilní imunodeficit (common variable immunodeficiency)
c-PVL	cystická periventrikulární leukomalácie
DC	dendritické buňky (dendritic cells)
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ENA	extrahovatelný nukleární antigen
FcRn	neonatální receptor pro transport IgG (neonatal Fc receptor for IgG)
FIRS	syndrom systémové zánětlivé odpovědi plodu (fetal inflammatory response syndrome)
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti (human immunodeficiency virus)
HLA	lidský leukocytární antigen (human leucocyte antigen)
HELLP	hemolysis-elevated liver enzymes-low platelet count syndrome
HON	hemolytické onemocnění novorozence
HPA	lidský destičkový antigen (human platelet antigen)
IL	interleukin
IFN γ	interferon γ
Ig G, A, M	imunoglobulin třídy G, A, M
ITP	imunitní trombocytopenická purpura
IUGR	intrauterinní růstová retardace (intrauterine growth restriction)
IVF	in vitro fertilizace
IVH	nitrokomorové krvácení (intraventricular hemorrhage)
KIR	killer cell inhibitory receptor
LA	lupus antikoagulans
LMWH	nízkomolekulární heparin (low-molecular-weight heparin)

MG	myastenie gravis
MHC	hlavní histokompatibilní komplex (major histocompatibility complex)
MVI	mentální vývojový index
NAIT	novorozenecká aloimunní trombopenie
NK	přirození zabíječi (natural killer)
NLE	novorozenecký lupus erythematosus
PIBF	progesterone-induced blocking factor
POF	předčasné ovariální selhání (premature ovarian failure)
PROM	předčasný odtok plodové vody (premature rupture of membrane)
PVI	psychomotorický vývojový index
Rh	Rhesus faktor
RDS	syndrom dechové tísně (respiratory distress syndrome)
ROP	retinopatie z nezralosti (retinopathy of prematurity)
SEPC	subependymální pseudocysta (subependymal pseudocyst)
SLE	systemový lupus erythematosus
TGF β	transformující růstový faktor β (transforming growth factor β)
TEOAE	tranzientně evokované otoakustické emise
TNMG	tranzientní novorozenecká myastenie gravis
TNF α	faktor nádorové nekrózy α (tumor necrosis factor α)
TPO	tyreoideální peroxidáza
TRAb	protilátka proti TSH receptoru (thyroid receptor antibody)
TSH	tyreoideu stimulující hormon (thyroid-stimulating hormone)
TSHr	receptor pro tyreoideu stimulující hormon
Th lymphocyt	pomocný lymfocyt (T helper lymphocyt)
U1-RNP	U1- ribonukleoprotein
uNK	uterine natural killer
USG	ultrasonografie

1 Úvod

Za imunologicky rizikovou ženu v souvislosti s těhotenstvím můžeme obecně označit ženu, u které existence určitých imunologických odchylek může nepříznivě ovlivnit její zdravotní stav, vznik a průběh gravidity a může mít i následný negativní dopad na stav plodu či novorozence. Gravidita je považována za imunologicky podmíněný proces, při kterém dochází k toleranci a vývoji plodu, a který je aktivně řízený imunoregulačními mechanismy. Těhotenství tedy představuje důležitý faktor, který modifikuje imunitní odpovědi a reakce ženy.

Imunologické odchylky matky, které mohou významně změnit zdravotní stav plodu a následně novorozeného dítěte, lze obecně zařadit do tří základních kategorií. První z nich, imunodeficientní stavy, charakterizuje funkční porucha některé ze složky imunitního systému. Druhou kategorií reprezentují imunoproliferativní nemoci, jejichž základním rysem je maligní proliferace určitých typů buněk imunitního systému.

Nejčastěji se u gravidních žen setkáváme s třetí kategorií imunologických odchylek, kterou představují imunopatologické stavy, vyvolané abnormální odpovědí na exogenní či endogenní antigenní podnět. Do zmíněné skupiny jsou zařazena i autoimunitní onemocnění, postihující téměř 5-7 % populace. Predominance autoimunitních chorob u ženského pohlaví a fakt, že tato onemocnění stále častěji postihují ženy v reprodukčním období, z nichž činí závažný sociální a medicínský problém.

Důležitým rysem autoimunitních chorob je přítomnost celé řady autoprotilátek, ke kterým patří i antifosfolipidové protilátky. I když téma antifosfolipidových protilátek v adultním věku je v literatuře hojně diskutované, účinek těchto protilátek na nejranější období dětského věku není zcela objasněn.

V rámci zlepšující se péče a nových strategií v léčbě končí gravidity matek s autoimunitním onemocněním, spojených s přítomností antifosfolipidových protilátek, stále častěji porodem živého dítěte. Do středu zájmu současného výzkumu se dostává tedy dopad autoimunitní choroby a možné konsekvence účinku antifosfolipidových protilátek na potomky těchto žen.

2 Cíl práce

Při stanovení cíle své disertační práce jsem vycházela z výzkumné činnosti Gynekologicko-porodnické kliniky FN Plzeň, která se problematikou účinku antifosfolipidových protilátek (aPL) ve spojitosti s imunologií reprodukce dlouhodobě zabývá.

Na základě známých patofyziologických účinků aPL je možno předpokládat, že autoimunní onemocnění matky, spojená s výskytem aPL, představují zvýšené riziko pro zdravotní stav dítěte. Dále je možno předpokládat, že pasivní transfer antifosfolipidových protilátek během gravidity může mít nepříznivý dopad na psychomotorický vývoj dětí v raném věku.

Cílem naší práce bylo:

- a) zjistit přítomnost osmi vybraných aPL (proti fosfatidyl-L-serinu, fosfatidylethanolaminu, fosfatidylinositolu, fosfatidyl-DL-glycerolu, kyselině fosfatidové, annexinu V, kardiolipinu a β 2-glykoproteinu I) po porodu u matek s diagnózou primárního antifosfolipidového syndromu a jiným definovaným autoimunitním onemocněním a porovnat tyto hladiny se souborem matek bez autoimunitního onemocnění;
- b) detekovat přítomnost osmi vybraných antifosfolipidových protilátek (proti fosfatidyl-L-serinu, fosfatidylethanolaminu, fosfatidylinositolu, fosfatidyl-DL-glycerolu, kyselině fosfatidové, annexinu V, kardiolipinu a β 2-glykoproteinu I) v souborech novorozených dětí těchto matek po porodu;
- c) sledovat výskyt zmíněných aPL protilátek s odstupem 6 a 12 měsíců po porodu u dětí v souborech aPL pozitivních a aPL negativních matek s autoimunitním onemocněním a v souboru dětí matek bez autoimunitního onemocnění;
- d) zhodnotit komplexní vyšetření (klinické, sonografické, vyšetření tranzientních evokovaných otoakustických emisí, vyšetření elektrokardiografické, vyšetření krevního obrazu, vyšetření psychologické) dětí matek s autoimunitním onemocněním po narození a při následném 2 - letém follow-up ve snaze odhalit možné následky autoimunitního onemocnění matky na celkový vývoj dětí.

3 Současný stav poznání

3.1 Změny v imunitním systému u těhotných žen

Původní teorie Medawara, která předpokládala přežití fětu na základě anatomické separace mezi plodem a matkou a komplexním potlačením jejich imunologické interakce, doznala řady změn [Beer, 1971; Medawar, 1953].

Gravidita ovlivňuje imunitní systém matky následkem intimního a prolongovaného kontaktu mateřských tkání a krve s alogenním oplozeným oocytem, trofoblastem a fětem. Charakter imunitních změn u ženy je ovlivněn stářím gravidity. Poněvadž neexistuje vaskulární kontinuita mezi matkou a plodem, podstatnou roli v toleranci fětu hraje placenta.

Nejdůležitější fetální buňky, exponované mateřskému organizmu jsou buňky trofoblastu. Rozlišujeme tři různé populace trofoblastických buněk: non-vilózní trofoblast, proliferující prekursorové buňky trofoblastu, migrující do deciduy a myometria, dále vilózní cytotrofoblast, což je aktivně dělící se trofoblast obsažený v klcích a konečně syncytiotrofoblast, tvořící vnější mnohojadernou vrstvu bez viditelných hranic mezi buňkami, která se uvolňuje do mateřské cirkulace [Veenstra Van Nieuwenhoven, 2003].

Proces implantace, placentace a prakticky celý první trimestr jsou charakterizovány prozánětlivou imunitní odpovědí. Ta umožňuje průnik blastocysty epiteliální vrstvou uteru a invazi do endometriální tkáně s následným procesem náhrady endoteliální a muskulární části mateřských spirálních arterií extravilózním trofoblastem [Harris, 2011]. Tyto změny jsou nezbytné pro vznik arteriolárního systému s nízkým odporem bez vazomotorické mateřské kontroly, který umožňuje podstatný vzestup krevního zásobení rostoucímu plodu. Během časných stadií implantace, cytotrofoblastové zátky mohou fungovat jako ventily regulující tok krve v intervilózním prostoru a chránící embryo před silným mateřským krevním tokem [Norwitz, 2001]. Prozánětlivé prostředí je rovněž důležité pro regeneraci děložního epitelu a odstranění buněčné drti.

Pro následnou fázi gravidity je typický protizánětlivý imunitní stav, umožňující optimální fetální růst a vývoj. Před porodem dochází k nárůstu počtu imunitních buněk a opětovnému vzniku proinflamatorního statutu, který umožní kontrakce dělohy, vypuzení plodu a rejekci placenty.

3.1.1 *Imunolance navozená HLA systémem*

Hlavním mechanismem, chránícím fětus před aktivovaným imunitním systémem matky, je neschopnost trofoblastu exprimovat klasické HLA (human leukocyte antigen) antigeny třídy I a (tzn. HLA-A, HLA-B) a třídy II (tzn. HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR), které jsou jinak přítomné v membráně všech jaderných buněk [Hunt, 1987].

Místo toho extravilózní cytotrofoblast v rané graviditě exprimuje neklasické HLA molekuly třídy Ib (tzn. HLA-G, HLA-E) a parciálně klasický molekulový produkt třídy Ia HLA-C [Hunt, 2005]. HLA-C molekula je středně polymorfni a pokud se paternální

antigeny liší od mateřských, pravděpodobně stimuluje mateřskou antifetální imunitu. Vzájemná reakce mezi HLA-C a přirozenými deciduálními zabíječi může také usnadňovat invazi trofoblastu do mateřské tkáně [Tilburgs, 2009]. Na rozdíl od molekul třídy 1a jsou molekuly třídy HLA 1b relativně nepolymorfní, tudíž je mateřský organizmus nepovažuje za cizorodé.

Předpokládá se, že HLA-G antigen zvyšuje rezistenci non-vilózního cytotrofoblastu k lytické schopnosti NK (natural killers) buněk, snižuje proliferaci T-lymfocytů a podporuje Th1/Th2 přesmyk [Bainbridge, 2000; Carosella, 2003; Hunt, 2009]. Existence solubilní molekuly s HLA-G v plazmě a amniové tekutině přispívá rovněž udržení gravidity např. mechanismem inhibice cytotoxických T-lymfocytů [Le Bouteiller, 2003]. Steck a kol. prokázal supresivní vliv HLA-G and HLA-E na sekreci TNF α (tumor nekrotizující faktor α), interleukinu (IL)-10 a IL-8 nezralými dendritickými buňkami, což je považováno za další důkaz imunotoleranční role zmíněných HLA antigenů [Steck, 2002]. Jiným mechanismem imunotolerance plodu je exprese FAS ligandu, transmembránového proteinu typu II ze skupiny TNF cytokínů, na trofoblastu. Pomocí těchto ligandů mohou buňky trofoblastu indukovat apoptózu aktivovaných imunokompetentních buněk [Chaouat, 2001].

3.2 Imunologické změny v periferní krvi u těhotných žen

3.2.1 Leukocyty

Jednou z prvních změn v periferním imunitním systému matky je zvýšení počtu periferních leukocytů jako reakce na alogenní buňky syncytiotrofoblastu [Germain, 2007b]. Změny v hladinách progesteronu a estrogeneru v graviditě a placentární produkty, které jsou přímo uvolňovány do mateřského oběhu, jsou pravděpodobně zodpovědné i za aktivaci periferních monocytů a granulocytů, u kterých byla pozorována zvýšená exprese adhezních molekul [Bouman, 2001; Sacks, 2000].

3.2.2 T-lymfocyty

Aktivita imunokompetentních buněk v graviditě je regulována cytokíny a chemokíny za účasti T-lymfocytů jako klíčových efektorů. Cytokíny jsou považovány za mediátory, které v dokonalé souhře s ostatními faktory podporují průběh úspěšné gravidity. K důležitým změnám dochází v populaci T-lymfocytů, které jsou považovány za hlavní regulační buňky specifické imunitní odpovědi. Někteří autoři uvádějí, že počty jednotlivých subpopulací tzn. pomocných lymfocytů (Th - helper lymfocytů) a cytotoxických lymfocytů (Tc lymfocytů) se mohou lišit mezi negravidními a gravidními ženami [Kumru, 2005; Luppi, 2002].

Na základě profilu sekretovaných cytokínů rozdělujeme Th populaci lymfocytů na Th1 a Th2 skupiny, zvláštní skupinou jsou regulační T-lymfocyty, které suprimují autoreaktivní

T buňky. Th1 lymfocyty produkují interferon gama (IFN γ), interleukin 1 a 2 (IL-1, IL-2) a tumor nekrotizující faktor alfa (TNF α), aktivují makrofágy, ovlivňují produkci cytotoxických CD 8 Th lymfocytů a opsonizačních protilátek. Th2 lymfocyty vytvářejí interleukiny IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 a IL-13, stimulují B lymfocyty a zvyšují produkci neutralizujících protilátek. IL-10 snižuje produkci prozánětlivých cytokinů Th1 buňkami a makrofágy.

3.2.3 Th1/ Th2 přesmyk a jeho důsledky u těhotných žen

Podle klasického paradigmatu Th1 / Th2 dochází během gravidity k přesmyku od Th1 zaměřené imunitní odpovědi k Th2 imunitní reakci. Tento tzv. Th1 / Th2 shift umožňuje udržení gravidity potlačením produkce cytotoxických reakcí, které by negativně ovlivnily vývoj embrya a fétu.

Hladina cytokinů a solubilních cytokinových receptorů v séru gravidních žen se mění během jednotlivých stádií gravidity [Dekel, 2010]. V systémové cirkulaci zdravých těhotných žen se progresivně zvyšuje produkce interleukinů IL-4, IL-6, IL-10 a IL-13. Sérové hladiny Th1 cytokinů IL-1a, IL-1b, IL-2, IL-12 jsou v 1. trimestru zvýšeny, ve 3. trimestru dochází k jejich signifikantnímu poklesu [Chow, 2008; Sacks, 2001]. Podobně jako IFN γ a TNF α jsou tyto cytokíny nezbytné v časném stadiu těhotenství, ale přetrvávající převaha Th1 imunitní odpovědi v pozdějším stadiu gravidity je považována za jednu z možných příčin selhání reprodukce a spontánních potratů [Ng, 2002]. V asociaci s těhotenskými abnormitami byla proto v mnoha pracích sledována hladina IFN γ u gravidních žen [Brewster, 2008; Daher, 2003].

V časných stadiích těhotenství je IFN γ produkován také děložními NK buňkami. Ovlivňuje přestavbu spirálních arterií a reguluje geny, stimuluje produkci alfa 2 makroglobulinu, který prostřednictvím vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF - vascular endothelial growth factor) působí na vaskulární dilataci [Hunt, 1997]. Hladiny IFN γ , který inhibuje migraci cytotrofoblastu v závislosti na počtu NK buněk, byly nalezeny zvýšené u preeklamptických gravidit. Rovněž IL-1b and TNF α jsou exprimovány v tkáni choriových klků v prvním trimestru [Bennett, 1999]. Hladina TNF α v séru během těhotenství kolísá pouze mírně a její výraznější navýšení je spojováno s těhotenskými patologiemi charakteru preeklampsie, intrauterinní růstové retardace plodu a předčasného nástupu děložní činnosti [Bahar, 2003; Jonsson, 2006].

Th1 / Th2 přesmyk je pravděpodobně ovlivněn zvýšením hormonů progesteronu a estrogeneru v graviditě, určitý vliv je rovněž připisován lokální produkci cytokinů v placentě a trofoblastu, který produkuje především Th2 cytokíny [Piccinni, 1995].

Klinický důkaz Th1 / Th2 přesmyku v graviditě je markantní u žen s autoimunitním onemocněním. U gravidních s revmatoidní artritidou, považované za nemoc způsobenou buněčnou imunitou (Th1), dochází až u 70 % pacientek k alespoň částečné remisi příznaků. Podobně pacientky s roztroušenou sklerózou mají méně exacerbací během gravidity, ale ke zhoršení symptomů dochází v postpartálním období [Al-Shammri, 2004]. Naopak pacientky se systémovým lupus erythematosus, typickým Th2 imunitním

onemocněním, mají v graviditě a postpartum vyšší incidenci relapsů [Doria, 2004]. Změny v imunitní odpovědi u gravidních žen ve prospěch Th2 větve jsou konzistentní se snížením počtu NK buněk a jejich nižší produkcí IFN γ [Veenstra Van Nieuwenhoven, 2003]. Některé studie prokázaly souvislost mezi elevací počtu periferních NK buněk nad 18 % a počtem selhání in vitro fertilizačních (IVF) cyklů [Kwak-Kim, 2008].

3.2.4 Pomocné lymfocyty Th17

Dle novějších poznatků je klasický model přesmyku Th1 / Th2 ovlivňován existencí další subpopulace pomocných lymfocytů Th17 v periferní krvi a v deciduální tkáni, která produkuje interleukin 17 (IL-17) s prozánětlivým efektem [Crome, 2010]. Diferenciace Th17 z CD4 naivních T- lymfocytů vyžaduje u lidí přítomnost IL-1 β a IL-23 a je rovněž stimulována prostaglandiny [Bettelli, 2008]. Předpokládá se, že Th17 lymfocyty se spolupodílejí na udržení gravidity a dle některých autorů jejich počet v pozdějších stádiích gravidity klesá [Santner-Nanan, 2009].

IL-17 má důležitou úlohu v indukci protektivní imunitní odpovědi proti extracelulárním patogenům a jeho přítomnost byla dokázána v cytotrofoblastu, syncytiotrofoblastu, placentárních makrofázích (Hofbauerovy buňky) a extravilózním trofoblastu. Přesná úloha IL-17 ve vývoji placenty není zcela objasněna, ale předpokládá se, že reguluje produkci ostatních cytokínů, přítomných na materno - fetálním rozhraní [Saito, 2011].

Zvýšené počty Th 17 buněk jsou zvýšeně nalézány u některých těhotenských patologií (recidivující aborty, preeklampsie) a u řady autoimunitních chorob (revmatoidní artritida, systémový lupus, antifosfolipidový syndrom) [Bowness, 2011; Pernis, 2009; Toldi, 2011].

3.2.5 Regulační T- lymfocyty (Treg)

K populaci CD4⁺ T- lymfocytů, které jsou ovlivněny graviditou, patří regulační T- lymfocyty (Treg), nesoucí povrchovou molekulu CD 25. Ty se dělí na skupinu přirozených Treg, vznikajících v thymu, a indukovaných, které vznikají v přítomnosti transformujícího růstového faktoru β (TGF β), který aktivuje expresi transkripčního faktoru Foxp3 v naivních CD4 buňkách. Hlavní funkcí Treg lymfocytů je udržování homeostázy v imunitním systému. Jejich tlumivé působení potlačuje zánětlivé reakce, zabraňuje poškození tkání, spolupůsobí v regulaci autoimunitních onemocnění, infekcí, nádorových onemocnění a při rejekci transplantovaných orgánů.

U zdravých těhotných žen jsou CD4⁺CD25⁺ Treg výrazně zvýšené během střední fáze gravidity a klesají po porodu. Dle některých teorií jsou regulační T- lymfocyty v decidue zodpovědné za produkci imunosupresivních cytokínů IL-10 a TGF β , důležitých v časně graviditě. Tyto cytokíny suprimují aktivaci T- lymfocytů a proliferaci, dokáží zvyšovat expresi HLA-G antigenu a potlačovat klasické MHC produkty třídy I a II v monocytech [Mellor, 2000].

3.2.6 B-lymfocyty a imunoglobulin IgG

Humorální aktivita a funkce B buněk zůstávají během gravidity relativně nezměněné. Význam mateřských protilátek pro imunitně naivní plod je dvojitý. V první řadě získává vyvíjející se plod s mateřskými protilátkami pasivní ochranu před infekčními agens ve fetálním i neonatálním období. Ovšem u řady těhotných žen dochází k tvorbě IgG protilátek proti paternálním antigenům HLA I. a II. třídy, které mohou vážně poškodit plod.

Imunoglobulin G (IgG) s molekulární hmotností 160 kDa je jediným z pěti tříd imunoglobulinů, transportovaným transplacentárně v podstatném množství. Specifický transport IgG je prováděn pomocí neonatálního receptoru (FcRn) [Firan, 2001].

FcRn je tří doménovou podjednotkou α o molekulární hmotností 40 - 45 kDa, která je spjata s β 2-mikroglobulinem. Strukturálně připomíná FcRn nejvíce molekulu třídy I HLA komplexu. Na rozdíl od jiných Fc γ receptorů je vazba tohoto receptoru pH dependentní. Vysoká afinita vazby pro IgG je patrná při pH 6,0, ale 100 x nižší při fyziologickém pH 7,4 [Kuo, 2010]. Z tohoto důvodu není FcRn receptor schopen vázat IgG na apikální straně syncytiotrofoblastu, který je omýván mateřskou krví, a k vazbě IgG na FcRn je využíváno kyselé prostředí endosomů.

FcRn je exprimován na interním povrchu endosomů. Endosomy s mateřským IgG pak uvolňují na fetální straně syncytiotrofoblastu imunoglobulin do fetální cirkulace [Fuchs, 2004]. FcRn receptor je dále exprimován v řadě dalších tkání (např. v endoteliálních buňkách a buňkách původem z kostní dřeně), chrání IgG před degradací a umožňuje recyklaci imunoglobulinu zpět do krevního oběhu [Kane, 2009].

Buňky syncytiotrofoblastu, stroma intervilózních prostorů a endoteliální buňky fetálních cév exprimují ještě další izoformy Fc receptoru pro IgG, označované jako Fc γ RI, Fc γ RII a Fc γ RIII, které jsou nezbytné pro indukci fagocytózy opsonizovaných mikrobů a aktivaci NK buněk, část z nich zachycuje imunní komplexy s IgG, ne však monomerní IgG [Palmeira, 2012].

Hladina IgG protilátek u novorozence koreluje s mateřskými koncentracemi imunoglobulinu. Množství IgG, přeneseného do fetální cirkulace, závisí na množství povrchových receptorů FcRn, po jejich nasycení protilátkou IgG jsou nenavázané IgG molekuly degradovány lysozomálními enzymy [Saji, 1999]. Tato limitace aktivního transportu má za následek snížené hodnoty IgG v krvi fétu ve srovnání s mateřskými [Simister, 2003].

FcRn receptor má rozdílnou afinitu pro jednotlivé podtřídy IgG. Přednostně je transportován subtyp IgG1 a IgG3, následovaný subtypy IgG4 a IgG2, což může hrát určitou úlohu při infekci novorozenců bakteriemi *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* a *Streptococcus pneumoniae*. Protilátky proti těmto opouzdřeným bakteriím jsou převážně subtypu IgG2 [Costa-Carvalho, 1996; Van Den Berg, 2010].

Poněvadž exprese FcRn je závislá na gestačním stádiu fétu a je pravděpodobně maximálně vyjádřena v třetím trimestru gravidity, hladina celkového IgG u novorozenců je dependentní na délce gestace.

Transfer IgG od matky k fétu začíná již ve 13. týdnu gestace, ve 28.- 32. týdnu gestace dosahují fetální hladiny IgG 50 % mateřských hladin. Většina IgG je do fetální cirkulace přenesena během posledních čtyř týdnů gravidity, takže v době termínu porodu mohou hladiny IgG plodu převyšovat o 20 - 30 % mateřské hodnoty [Malek, 1996].

Některé studie prokázaly, že transport protilátek může být ovlivněn placentárními patologiemi (při onemocnění malárií) či chorobami těhotné (HIV infekce, hypergamaglobulinemie) [Brair, 1994]. U HIV exponovaných, ale neinfekčních novorozenců, byly nalezeny podstatně nižší hladiny IgG specifických protilátek proti Hemofilus influenzae typu B, Bordetella pertusis, pneumokokům a tetanovým toxinům ve srovnání s HIV neexponovanými dětmi. Tento nálezn byl však považován za tranzientní, protože v 16. týdnech věku došlo u HIV exponovaných kojenců k masivní a signifikantně významnější protilátkové odpovědi na rutinní vakcinaci proti pneumokokům a Bordetelle pertusis ve srovnání s kontrolní skupinou dětí [Jones, 2011].

3.2.7 Změny komplementu

Další změny v imunitním systému gravidní ženy se týkají komplementového systému, tvořeného souborem asi 40 sérových a membránových glykoproteinů, které slouží jako humorální složka nespecifické imunity. Někteří autoři našli v plazmě těhotných žen zvýšené koncentrace proteinů C3a, C4a a C5, což považují za důkaz aktivace nespecifické imunity během normálního těhotenství. Tato aktivace komplementu patrně kompenzuje snížení specifické imunity a má za cíl chránit matku a plod proti mikroorganizmům [Richani, 2005].

Regulační proteiny komplementu, mezi které patří faktor akcelerující rozpad komplementu (decay accelerating factor - DAF; CD 55), regulační membránový protein (CD 46) a inhibitor komplexu proteinů MAC (membrane attack complex, CD 59) jsou výrazně exprimovány v trofoblastu a pravděpodobně chrání plod před poškozením, vyvolaným aktivací komplementu [Holmes, 1992; Hsi, 1991].

3.3 Lokální imunologické změny u těhotných žen

K důležitým imunitním reakcím těhotné ženy dochází v deciduální tkáni, která tvoří mateřskou část placenty a je v těsném kontaktu s mateřskými a fetálními buňkami.

Decidua obsahuje různé buněčné populace, mezi které řadíme decidualizované buňky stromatu, leukocyty, uterinní přirozené zabíječe CD56+ CD16 (uterine natural killers - uNK), monocyty, makrofágy, dendritické a epitelální buňky. Granulocyty a B buňky jsou zastoupeny minimálně.

Řadu reakcí v lokálním imunitním systému ovlivňují hormony estrogen a progesteron. Zejména progesteron je považován hlavní protizánětlivý mediátor, který podporuje expanzi Th2 buněk, snižuje cytotoxicitu NK buněk, inhibuje produkci kysličníku dusnatého a tumor nekrotizujícího faktoru [Roberts, 2001]. Zároveň ovlivňuje produkci interleukinu IL-4 který zvyšuje syntézu protilátky subtypu IgG4 [Robinson, 2012].

Do zmíněných dějů zasahuje i progesteronem indukovaný blokující faktor (progesterone induced blocking factor, PIBF), což je protein produkovaný lymfocyty a snižující prostřednictvím IL-10 také cytotoxicitu NK buněk [Szekeres-Bartho, 2009].

Protizánětlivý efekt je připisován estrogeneru (např. snižuje produkci tumor nekrotizujícího faktoru, stimuluje produkci protilátek B - buňkami a snižuje apoptózu dendritických buněk a makrofágů [Szekeres-Bartho, 2009; Zen, 2010].

3.3.1 Uterinní přirození zabíječi (uNK)

Na začátku implantace v endometriu stoupá počet leukocytů, které zastupují až 40 % všech deciduálních buněk. Elevace leukocytů v decidue je vysvětlena zvýšením uNK, tvořících až 60 % jejich celkového počtu. Proliferace deciduálních NK buněk je ovlivněna sekrecí různých chemokinů cytotrofoblastem či steroidními hormony [Henderson, 2003].

Ačkoliv jsou NK buňky přítomny v decidue ve velkém množství, nenapadnou alogenní non-vilózní cytotrofoblast. NK buňky exprimují inhibiční receptory (např. Ig-like killer cell inhibitory receptor – KIR 2D, KIR 2DL4), které naváží MHC třídy Ia a Ib (HLA-C, HLA-E a HLA-G) trofoblastu, a které tlumí jejich lytickou aktivitu [King, 2000]. NK buňky deciduy jsou nezbytné rovněž v procesu implantace a placentace, někteří autoři považují výrazné zvýšení jejich počtu za rizikový faktor pro neplodnost, potrácení a preeklampsii [Matsubayashi, 2001b].

Jiní autoři našli snížení počtu uNK u geneticky abnormálních plodů [Quack, 2001]. Produkce některých cytokinů I typu (např. TNF α a IFN γ) NK deciduálními buňkami může mít negativní vliv na implantaci a trofoblastickou invazi. Naopak sekrece faktorů stimulačních kolonie granulocytů (G-CSF) či kolonie granulocytů a makrofágů (GM-CSF) nebo sekrece leukemického inhibičního faktoru těmito buňkami umožňuje proliferaci a diferenciaci trofoblastu [Vince, 2000].

3.3.2 Uterinní T- lymfocyty

Menší procentuální zastoupení v systému imunokompetentních buněk deciduy (20 %) mají uterinní T- lymfocyty, které rovněž na základě absence MHC Ia antigenů v trofoblastu tolerují non-vilózní cytotrofoblast. Mají také schopnost produkovat cytokiny I typu a tím negativně ovlivnit toleranci fétu či jeho následný vývoj. TNF α a IFN γ stimuluje apoptózu lidského trofoblastu, inhibují trofoblastickou invazi [Hill, 1995], mohou aktivovat tvorbu trombinu a ovlivnit krevní zásobení vyvíjející se placenty [Clark, 1998].

Uterinní T- lymfocyty produkují rovněž cytokiny II. typu, považované obecně za stimulační pro růst a invazi trofoblastu [Das, 2002].

Teorie o relativní predominaci Th2 buněk jak v uterinním prostředí, tak i v periferní krvi je však v současné době některými autory považována za příliš simplifikující [Chaouat, 2002]. I když některé studie prokázaly asociaci s nedostatkem cytokinů II. typu a těhotenskými ztrátami [Piccinni, 2001], novější studie toto nepotvrdily. Chaouat et al. předpokládají, že na materno - fetálním rozhraní dochází k balancované produkci cytokinů, tvořených rozličnými imunitními buňkami, nutných k udržení úspěšné gravidity. Tato souhra je řízena jedním komplexem, koordinujícím imunitní reakce [Chaouat, 2002].

3.3.3 Uterinní makrofágy

Množství deciduálních makrofágů je ovlivňováno produkcí estrogenů v graviditě. Tyto makrofágy tvoří 20 - 30 % deciduálních leukocytů, odstraňují buněčný debris, spojený s trofoblastickou invazí a podílejí se na placentaci. Pomocí Toll-like receptorů a lecitinových receptorů C typu rovněž tvoří nezbytnou součást ochrany deciduální tkáň před infekcí, způsobené ascendentní či hematogenní cestou [Trundley, 2004]. Makrofágy, aktivované vlivem prozánětlivých cytokinů a lipopolysacharidů, jsou označovány jako M1 fenotyp, sekretují TNF α a IL-1 a podílejí se na progresi zánětu [Ozenci, 2001].

Polarizace makrofágů do fenotypu M2 je ovlivněna prostředím s Th2 cytokíny (IL-4, IL-10, IL-13) a glukokortikoidy [Gordon, 2003]. M2 makrofágy se účastní spíše protizánětlivých mechanismů a remodelačních procesů deciduální tkáň [Houser, 2011]. Předpokládá se, že funkční diferenciaci makrofágů může být reverzibilní [Martinez, 2006]. Makrofágy jsou schopny kromě cytokinů produkovat imunosupresivní prostaglandiny, blokující Tc lymfocyty a uNK buňky [Houser, 2012; Houser, 2011].

3.3.4 Dendritické buňky

U těhotných žen je rovněž modifikována funkce dendritických buněk (dendritic cells, DC), které jsou považovány za zásadní antigen prezentující buňky. DC mají schopnost stimulovat naivní T- a B- buňky a regulovat tak imunitní odpověď organismu. Dle některých autorů dochází následkem modifikace myeloidních dendritických buněk k usnadnění přesmyku ve prospěch Th2 imunitní odpovědi [Bachy, 2008]. Uterinní dendritické buňky nespouštějí imunitní odpověď T- lymfocytů na fetální a placentální antigeny z několika důvodů: v průběhu gravidity dochází k jejich přirozenému úbytku, zbytek DC je zachycen v tkáni a tím nedochází k jejich migraci do regionálních lymfatických uzlin. Zdá se, že uterinní DC usnadňují implantaci embrya a deciduální angiogenezi [Tagliani, 2011].

3.4 Imunitní změny v graviditě a infekce

I když je v současné době přehodnocena původní Medawarova hypotéza, že gravidita může indukovat stav generalizované „netečnosti“ či imunodeficiencie u zdravých žen, na základě potlačení aktivity cytotoxických T - lymfocytů byla v některých epidemiologic-

kých studiích prokázána zvýšená vnímavost gravidních žen k infekčním onemocněním [Jamieson, 2006].

U těhotných žen může častěji dojít k reaktivaci latentních virových infekcí (vyvolaných virem Epstein - Barrové, cytomegalovirem či herpetickými viry), přímé virové nákaze (influenza, hepatitida, těžký akutní respirační syndrom - SARS) či vzniku parazitárních chorob (toxoplazmóza) [Lam, 2004; Stockman, 2004]. Rovněž infekce vyvolané *Listeria monocytogenes* a plasmodiové infekce mají predilekci k placentární tkáni a mohou negativně ovlivnit výsledek gravidity.

Animální studie dále prokázaly, že placentární infekce mohou působit rovněž jako spouštěč syndromu fetální zánětlivé reakce (fetal inflammatory response syndrome - FIRS), který je charakterizován vysokou hladinou cirkulujících zánětlivých cytokínů IL-1, IL-6, IL-8 a TNF α u plodu. Prozánětlivé prostředí negativně ovlivňuje jeho centrální nervový a oběhový systém následným možným rozvojem intrakraniálního krvácení a ventrikulomegalie mozkových komor [Kuypers, 2012]. Mimo morfologické změny fetálního CNS je FIRS považován za rizikový faktor při rozvoji dětské mozkové obrny, autismu a poruše kognitivních funkcí [Burd, 2012].

Na druhé straně se organizmus těhotné ženy rozličnými způsoby snaží zvýšit antimikrobiální obranu. Jeden z těchto obranných mechanismů zajišťuje vilózní cytotrofoblast produkcí indoleamin 2,3 - dioxygenázy, enzymu ovlivňujícímu katabolismus esenciální aminokyseliny tryptofanu v lokální tkáni. Zmíněný enzym, na jehož tvorbě se podílejí i deciduální makrofágy, inhibuje růst intracelulárních bakterií (např. chlamydií) a řady extracelulárních patogenů a protozoí [Sedlmayr, 2012]. Pokles mateřských hladin tryptofanu během těhotenství je současně považován za faktor nepřímo potlačující proliferaci mateřských T- lymfocytů a tím zabraňující rejekci fětu [Kudo, 2000; Munn, 1998].

3.5 Imunologické odchylky u těhotných žen

3.5.1 Imunodeficitní stavy u těhotných žen

Imunodeficientní stavy jsou onemocnění, vyznačující se poruchou struktury či funkce imunitního systému. Základní rozdělení dle etiologie tyto stavy člení na primární (vrozené), vzniklé na podkladě genové mutace a na sekundární (získané), které postihují pacientky v důsledku jiných onemocnění.

Imunodeficientní ženy mohou mít poruchu specifické imunity (protilátkové imunodeficiencie, poruchy T - lymfocytů, kombinované poruchy) či postižení nespecifické imunity (poruchy fagocytujících buněk, defekty komplementového systému). Imunodeficientní nemoci jsou častěji spojeny s rozvojem autoimunitních chorob, alergií či malignit.

Hlavním klinickým rysem imunodeficientních stavů jsou v závislosti na postižené imunitní složce recidivující infekce řady orgánů, které mohou mít závažný, atypický

průběh a mohou být vyvolány oportunními patogeny [Horejsi, 2002]. Incidence primárních imunodeficiencí kolísá od 1: 500 u selektivního deficitu IgA až po vzácná onemocnění s frekvencí 1: 100 000 (např. těžké kombinované imunodeficiency T - a B - lymfocytů; SCID - severe combine imunodeficiency).

Běžný variabilní imunodeficit (common variable immunodeficiency - CVID) je nejčastěji se vyskytující symptomatickou primární poruchou humorální imunity u žen ve fertilním věku [Park, 2008]. Dominujícím laboratorním rysem onemocnění jsou nízké hladiny protilátek IgG, IgA a někdy i IgM, u části pacientek je přítomen i defekt aktivace T-lymfocytů. Pro zachování gravidity pacientek s CVID je nezbytná adekvátní antibiotická terapie probíhajících infekcí. V případech se závažnou hypogamaglobulinémií je v graviditě nutné pokračování individualizované substituční léčby imunoglobuliny, podávanými subkutánně, intramuskulárně a intravenózně [Hansen, 2004]. Navýšení substituční dávky imunoglobulinů v posledním trimestru gravidity o 50 % má za cíl optimalizovat hladinu imunoglobulinů u novorozence a zajistit jeho imunitu v prvních šesti měsících postnatálně [Kurecova, 2009]. U žen s CVID a přidruženými autoimunitními chorobami (arthritis, ulcerózní kolitis aj.) je indikována kortikoidní a event. imunosupresivní terapie (cyklosporin A). Po porodu je nutno vyšetřit hypofyzární-nadledvinovou osu a monitorovat parametry krevního obrazu u novorozence [Kurecova, 2009].

K imunodeficitům, postihujícím počet fagocytyujících buněk, patří Kostmannův syndrom či jiné hereditární a cyklické neutropenie, které se na základě snížení počtu cirkulujících neutrofilů vyznačují těžkými pyogenními infekcemi kůže, sliznic a vnitřních orgánů [Dale, 2003]. Výsledek gravidit žen s těžkými neutropeniemi se zlepšil v případě podávání humánního rekombinantního granulocytárního růstového faktoru (filgrastimu) během těhotenství. Dle údajů registru Severe Chronic Neutropenia International Registry není podávání filgrastimu spojeno s vyšším počtem fetálních úmrtí či kongenitálních anomálií u novorozenců ani neovlivnilo růst a vývoj dětí [Cottle, 2002].

Sekundární imunodeficiency u žen nalézáme při postižení ledvin (nefrotický syndrom), střev (exudativní enteropatie, střevní lymfangiektázie), po splenektomiích či u pacientek s maligními onemocněními.

Mezi nejznámější sekundární typ imunodeficiency patří infekce vyvolaná virem HIV (human immunodeficiency virus), vedoucí ke vzniku syndromu získaného imunodeficitu (Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS). Pro HIV stejně jako pro ostatní retroviry je charakteristická schopnost zabudovat svou genetickou informaci do genomu hostitelské buňky a vyvolat její chronickou celoživotně perzistující infekci. HIV napadá především buňky imunitního systému, zejména CD4 T- lymfocyty.

U HIV pozitivních žen udávají někteří autoři vyšší výskyt spontánních potratů i obecně nižší incidenci gravidit než u stejně staré populace [Massad, 2004]. Uvedené odlišnosti ve fertilitě jsou rovněž následkem životního stylu velké části infikovaných žen a přidruženého vlivu jiných pohlavně přenosných nemocí (syfilis, herpes genitalis), malnutrice či abuzu drog, přispívajících dále k sekundárnímu imunodeficitu. U HIV gravidní ženy je

následkem snížení jejich imunitních mechanismů vyšší incidence infekce virem hepatitidy C, lidským papilomavirem a cytomegalovirem.

Prenatálně může dojít u HIV gravidní ženy k přímé infekci syncytiotrofoblastu a následně transplacentárnímu přenosu na plod (od 9.-11. týdne gravidity) [Moussa, 2001]. Intrapartálně se novorozenec nakazí krví, vaginálními sekrety matky či plodovou vodou. Možnost přenosu infekce na dítě zvyšují rizikové faktory (trvání HIV infekce nad 2 roky, nedostatek vitamínu A, nízký počet CD4 T- lymfocytů matky, virémie matky nad 100 000 kopií / ml, předčasný odtok plodové vody déle než 4 hodiny, chorioamniitis aj.) [Mark, 2012]. Největší incidence vertikálního přenosu HIV infekce je peripartálně (50 - 80 %) [Mark, 2012].

Antenatální a peripartální aplikace antiretrovirotik (nukleosidové / nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy, nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy, proteázové inhibitory nukleozidových inhibitorů reverzní transkriptázy - zidovudin, lamivudin) těhotným ženám, preference elektivních císařských řezů, postnatální podávání zidovudinu novorozencům po dobu 6 týdnů a zástava laktace HIV pozitivním matkám významně snížily vertikální přenos viru z matky na dítě [Mcgowan, 2000; Nesheim, 2012].

I když benefit antiretrovirové terapie pro HIV exponované novorozence je dokázaný, v posledních letech byly publikovány práce, prokazující mitochondriální poškození léčených dětí a nezanedbatelný není ani potenciální mutagenní a karcinogenní efekt této léčby v pozdějším věku [Sturt, 2010; Thorne, 2007].

3.5.2 Imunoproliferativní stavy u těhotných žen

Imunoproliferativní onemocnění jsou charakterizovaná abnormální proliferací primárních buněk imunitního systému, zejména lymfocytů či leukocytů (leukemie, lymfomy, mnohočetné myelomy) nebo excesivní produkcí gamaglobulinů a paraproteinů, které mohou provázet některé hematologické malignity.

Incidence malignit v graviditě je nízká (např. leukemie 1: 75000 - 100 000 porodů ročně, Hodgkinův lymfom 1: 6000 porodů ročně), ale zvyšuje se s přibývajícím věkem rodiček [Popp, 2009]. Vlastní gravidita nemá pravděpodobně vliv na průběh choroby, ale výsledek těhotenství je významně ovlivněn druhem a stadiem maligního onemocnění, dobou stanovení diagnózy, celkovým stavem ženy a zvoleným typem terapie, proto léčba každé gravidní ženy musí být individualizována [Aviles, 2009].

U nálezu malignit v časných stadiích těhotenství připadá v úvahu arteficiální abort, neboť podávání kombinované chemoterapie je spojováno s 15 - 25 % rizikem kongenitálních malformací či spontánních potratů. Při nutnosti aplikace chemoterapie v pozdějších stadiích gravidity byl pozorován dřevňový útlum u novorozenců, ale při dlouhodobém sledování nebyl zjištěn efekt mateřské léčby na jejich neurologický vývoj, fertilitu či vznik malignit. Aktinoterapie by měla být v graviditě kontraindikována [Michieli, 2012].

Řešení pro pacientky s malignitami, plánujícími potomky, je uchování fertility při odebrání a uchování ovariální tkáně či oocytů pomocí metod, produkujících zralé oocyty

nebo fertilizovaná embrya pro budoucí použití. U pacientek s kontraindikací hormonální stimulace připadá v úvahu aspirace oocytů z ovariálních folikulů, maturace oocytů je provedena in vitro s jejich následným zamražením. Zmražená ovariální tkáň může být v přísně indikovaných případech předmětem autologní transplantace, je však nutno zvážit riziko recidivy onkologického onemocnění. Další možností je u onkologicky nemocných žen použití dárcovských oocytů ke koncepci s následnou vlastní graviditou. V případě závažných onkologických stavů může být využita tzv. náhradní matka [Ayensu-Coker, 2012; Berwanger, 2012; Zinger, 2004].

3.5.3 Imunopatologické stavy

Imunopatologické stavy vznikají na základě poruchy regulace imunitní reakce na zevní či vnitřní antigeny, při které dojde k poškození tkáně nebo funkce orgánu. Imunopatologické reakce na zevní antigen jsou podstatou alergií, reakce na vnitřní antigen jsou podkladem autoimunitních chorob.

Mezi autoimunitní choroby (autoimmune diseases, AD) patří dle recentních prací více než 80 onemocnění, u 45 z nich byl objeven dobře definovaný autoantigen [Hayter, 2012]. U AD dochází k narušení principu tolerance vlastního s následným imunopatologickým zánětem. K jejich základním charakteristikám patří detekce autoantigenů a stanovení autoprotilátek, event. autoreaktivních T- lymfocytů, přítomnost adaptivní imunitní odpovědi namířené proti orgánu či systému a možnost indukce choroby pomocí imunizace autoantigenem, prokázána v animálních pokusech [Damoiseaux, 2002].

U systémových AD je patologická imunitní reakce namířena proti orgánově nespecifickým autoantigenům, u orgánových jsou přítomny typické autoantigeny v postižené tkáni. Na poškození tkání se podílejí zejména typy IIa - IVb imunopatologických reakcí (dle klasifikaci podle Coombsa a Gela).

U orgánových AD (diabetes mellitus I. typu, revmatoidní artritida, roztroušená skleróza) se uplatní zejména cytotoxické mechanismy, zprostředkované autoprotilátkami nebo autoreaktivními lymfocyty a jejich produkty (II. a IV. typ reakce). U systémových AD dominuje imunokomplexová reakce, tvořená autoprotilátkou s autoantigenem (III. typ) [Horejsi, 2002]. Kategorie AD, vznikající prostřednictvím autoprotilátek, jejichž produkce je úzce spjata s B - lymfocyty, zahrnuje např. myasthenii gravis, antifosfolipidový syndrom, Gravesovu chorobu, imunní trombocytopenickou purpuru a systémový lupus erythematosus.

3.6 Autoimunitní choroby u žen

3.6.1 Vliv sexuálního dimorfismu a pohlavních hormonů

Etiopatogeneze AD je komplexní a je ovlivněna genetickými faktory, abnormalitami imunitního systému, hormonálními faktory a faktory zevního prostředí, mezi které obecně

řadíme infekce, stres, nikotinismus, vakcinace a chemická adjuvancia, hovoříme o mozaice autoimunity [Shoenfeld, 1989]. Prokázanou skutečností u AD je vysoká prevalence u žen, dosahující až 80 % a začátek velké části chorob ve fertilním věku žen [Fairweather, 2004].

Ženské pohlaví je spojováno s odlišnostmi v klinických projevech, nástupu, progresi a výsledku určitých autoimunitních procesů [Ortona, 2008]. Jedním z možných vysvětlení je sexuální dimorfismus v lidské imunitě, ženy mají silnější buněčnou a protilátkovou odpověď ve srovnání s muži [Invernizzi, 2009].

U žen obecně je nalézán vyšší počet CD4 buněk než u mužů, což vede ke zvýšenému poměru CD4 / CD8. Ženy mají vyšší hladinu IgM v plazmě a vyšší produkci IL-4, INF γ , and IL-1 [Leo, 2008]. Je známo, že pohlavní hormony mohou ovlivnit vulnerabilitu cílových orgánů k autoimunitní odpovědi [Rose, 2002]. Pohlavní hormony, které modulují imunitní odpovědi ženy prostřednictvím androgenních a estrogenních receptorů, jsou pravděpodobně rovněž spoluodpovědné za vyšší výskyt AD u žen [Lockshin, 2006; Mccombe, 2009].

Estrogen svým imunostimulačním působením ovlivňuje maturaci imunitních buněk, potlačuje prezentaci antigenů dendritickými buňkami a makrofágy, zvyšuje tvorbu INF γ , TNF α , TGF β , interleukinu IL-1, IL-5, IL-4 a IL-10 a upřednostňuje Th2 mediované reakce. Jeho vliv byl v animálních modelech prokázán na stimulaci autoreaktivních B-lymfocytů a sekreci autoprotilátek [Shoenfeld, 2008].

Koncentrace estrogenu je v graviditě 3 - 8x vyšší než u netěhotné ženy a hyperestrogenní status je spojován např. s relapsy SLE či nástupu projevů SLE u predisponovaných žen [Gleicher, 2007; Shoenfeld, 2008].

Dalším hormonem, kterému je připisován vliv při vzniku AD u žen je prolaktin. Ovlivňuje selekci autoreaktivních B-lymfocytů, má antiapoptotický efekt, zvyšuje proliferativní odpověď k antigenům a mitogenům a zvyšuje produkci autoprotilátek. I když neexistuje jasná korelace mezi hladinou prolaktinu a aktivitou nemoci, hyperprolaktinemie byla pozorována u mnoha AD (systémový lupus, revmatoidní artritida, Sjögrenův syndrom, roztroušená skleróza) [Shelly, 2012].

V roli AD u žen hraje svoji roli i imunosupresivní účinek androgenů a progesteronu. Tyto hormony jsou spojovány s upřednostňováním Th1 imunitní reakce, aktivací CD8 lymfocytů a snížením produkce IL-1, IL-4, IL-5, IL-6 and TNF α . Bylo prokázáno, že dehydroepiandrosteron (DHEA) má vliv na proliferaci T-lymfocytů, snížení hladiny IL-10 a zvýšení TGF β [Duan, 2003].

3.6.2 Genetický podklad autoimunitních chorob u žen

Genetický podklad AD u žen je dán sexuálně odlišnou expresí určitých genů, která může ovlivnit i průběh choroby [Rubtsov, 2010]. Vliv genetických faktorů pravděpodobně ovlivňuje i vyšší konkordanci AD u monozygotních dvojčat ve srovnání s dizygotními. AD se zvýšeně vyskytují u potomků žen s AD a u jedinců, postižených již jedním typem AD.

U AD je sklon k imunopatologické reaktivitě je spojen s větším počtem genů. Polymorfismus genů pro MHC byl popsán u ankylozující spondylitidy a HLA B-27, genotyp

HLA DR2 pozitivně koreluje s SLE a roztroušenou sklerózou, HLA DR3 se Sjögrenovým syndromem, myastenii gravis a SLE, HLA DR4 je spojován s výskytem revmatoidní artritidy a diabetes mellitus [Braun, 1992].

V etiopatogenezi AD u žen je zvažován je polymorfismus genů, kódujících sekreci cytokinů (TNF γ , transformujícího růstového faktoru β -TGF β , IL-10) a genů, regulujících proteiny, podílejících se na apoptóze (Fas, FasL, Bcl-2, Bim) [Vaux, 2000; Weant, 2008] Mutace genu, kódujícího transkripční faktor Fox3p, který je nezbytný pro diferenciaci regulačních T - lymfocytů, jsou podkladem pro syndrom IPEX (imunitní deregulace, polyendokrinopatie, enteropathie, X- vázaný způsob dědičnosti) [Barzaghi, 2012].

Dalším zvažovaným mechanismem dědičnosti AD je inaktivace chromozomu X či jeho abnormality [Brix, 2010; Selmi, 2008]. V posledních letech vystupují do popředí tzv. genome-wide association studie (GWAS), které identifikovaly velký počet lokusů spojených s rozličnými AD, ale klinické implikace těchto nálezů jsou zatím nedostatečné [Zenewicz, 2010].

3.6.3 Autoimunitní onemocnění u žen a vliv mikrochimérizmu

Historicky byla placenta považována za orgán, který zabraňuje rejekci alogenního zárodka mateřským imunitním systémem a současně představuje bariéru proti výměně buněčných komponent. Moderními molekulárními technikami však byla prokázána existence bidirekčního transportu buněk mezi matkou a plodem, vedoucího ke vzniku mikrochimérizmu.

Tento jev nastává asi v 90 % gravidit a je charakterizován dlouhodobou perzistencí fetálních buněk v těle matky, které mohou prostřednictvím cirkulující krve infiltrovat jakoukoliv její tkáň [Lo, 2000]. Obdobně byl dokázán transplacentární transfer mateřských buněk do fetální cirkulace [Srivatsa, 2003; Sudik, 2001].

Diskutovaným dalším zdrojem mikrochimérizmu pro plod může být starší sourozenec, jehož buňky léta perzistují v mateřském organizmu, či současný sourozenec, prostřednictvím vzájemné intrauterinní transfuze. Tyto transfuze jsou popisovány v 8 % gravidit s dvojčaty a až v 21 % gravidit s trojčaty. Syndrom mizejícího dvojčete může být zodpovědný za fetální mikrochimérizmus u jednočetné gravidity [Van Dijk, 1996].

V některých případech jsou fetální kmenové buňky (mikrochiméry) považovány za příčinu nebo důležitý faktor, přispívající k vývoji určitých AD, ale existují také důkazy, že se podílejí na hojení tkání. Předpokládá se, že tyto HLA inkompatibilní buňky mohou perzistovat v imunokompetentním jedinci až do dospělosti a vyvolat odpověď podobnou graft versus host reakci [Stevens, 2007]. Ukazuje se však, že funkční kapacita chimérických mateřských buněk není dostatečně definována. Protože in vitro chimérické buňky matky hůře reagují s antigeny a specifickými i nespecifickými mitogeny, existuje předpoklad, že tyto buňky mají limitovanou expresi receptorů [Knobloch, 1991].

Souvislost s mateřským mikrochimérizmem a AD byla prokázána ve studiích žen se systémovou sklerodermií, u kterých byla detekována signifikantně vyšší hladina fetální DNA ve srovnání se zdravými ženami [Lambert, 2004]. Podobné studie našly zvýšenou

přítomnost mateřských buněk u dětí s myositidami a chronickými střevními záněty [Artlett, 2000]. Další studie se zabývaly parenchymálním mikrochimérizmem v kontextu s onemocněním neonatálním lupusem. Mateřské buňky byly signifikantně zvýšeně detekovány a kvantifikovány v srdeční tkáni pacientů s neonatálním lupusem než u kontrolní skupiny. Tyto semialogenní mateřské buňky mohou být cílem pro imunitní reakci [Stevens, 2003].

V současné době je však klasická teorie o úloze mikrochimérizmu revidována na základě nízké frekvence maternálních buněk v organizmech dětí a faktu, že existuje plasticita buněk, která umožňuje transformovat transportované buňky do různých hematopoetických a somatických buněk.

Je nutné zdůraznit, že pro vývoj AD je mimo endogenního podnětu nezbytný i zevní stimul, ke kterému řadíme vliv virové a bakteriální infekce. Řada AD je spojena s předchozí infekční epizodou (diabetes, sklerosis multiplex, myokarditis aj.). Infekční stimul se může podílet na autoimunitním procesu rozličnými mechanismy: odkrytí kryptického neoantigeny, stimulace anergických autoreaktivních lymfocytů, exprese MHC molekul II. třídy a tím prezentaci peptidů, jinak nedostupných imunitnímu systému, polyklonální aktivace T- lymfocytů mikrobiálními superantigeny. Předpokládá se, že různé mikroorganismy by mohly vyvolat jedinou AD. Protože však infekční stimul dlouhou dobu předchází AD, hledání specifického vyvolávajícího agens je velmi obtížné.

3.6.4 Autoimunitní choroby u žen - infertilita a opakované ztráty gravidity

AD nebývají běžně považovány za hlavní příčinu snížené fertility žen, avšak řada těchto chorob je provázena neschopností žen koncipovat nebo donosit plod.

Infertilita je definována jako neschopnost otěhotnět po 12 měsících pravidelného sexuálního styku a postihuje 10 % párů fertillního věku. Autoprotilátková teorie předpokládá přímé poškození trofoblastu samotnými protilátkami či toxickými imunitní komplexy. Dle novějších studií se autoprotilátky a imunokomplexy spíše podílejí na poškození endotelu cév deciduy či placenty mechanismem trombotizace a následné ischemizace tkání [Germain, 2007a]. Důležitou roli zde hrají i snížené hladiny prostacyklinu s vasodilatačním efektem oproti hladinám tromboxanu s vazokonstrikčními vlastnostmi [Norwitz, 2001; Stephenson, 2007]. Tyto patologické kroky jsou popisovány rovněž při vzniku preeklampsie. Nejvíce prozkoumanou skupinou protilátky v těchto procesech jsou antifosfolipidové protilátky. Opakované potrácení u žen s antifosfolipidovým syndromem může předcházet manifestní AD onemocnění i o řadu let.

U 10 - 30 % žen s AD (thyreopathie, hypoadrenalismus, myastenie gravis, systémový lupus, revmatoidní artritida, Crohnova choroba) bývá jednou z mnoha příčin neplodnosti předčasná ovarialní selhání (premature ovarian failure - POF) [Cervera, 2008; Yan, 2000].

U adrenálních autoimunitních chorob s POF je nalézána přítomnost autoprotilátek proti buňkám produkujícím steroidy (folikulární buňky membrána granulosa, buňky theca folliculi interna a luteinní buňky) a zánětlivá infiltrace ovarialních folikulů [Wilson, 2011].

Část žen s autoimunitním POF má přítomné protilátky proti zona pellucida, což je extracelulární matrix obklopující oocyt a obsahující tři hlavní glykoproteiny ZP1, ZP2, a ZP3 [Forges, 2004; Ulcova-Gallova, 2012]. Jak prokázaly animální studie, antizonální protilátky proti zmíněným glykoproteinům mohou ovlivnit přichycení spermií k vajíčku a její průnik do oocytu a tím být příčinou selhání přirozené či umělé fertilizace [Calongos, 2009; Ulcova-Gallova, 2010].

Mezi další protilátky, spojované s infertilitou, patří protilátky proti spermiím, detekované v řadě tělesných tekutin (sérum, sperma, cervikální hlen, folikulární a peritoneální tekutina), které mohou mít negativní vliv na transport spermatozoí ženským genitálním traktem, interferovat s fertilizací oocytů či mít postfertilizační efekt na zygotu [Kokcu, 2012]. Názory na efekt těchto protilátek jsou však v literatuře rozporuplné, neboť se mohou vyskytovat u 4 % žen s normální reprodukční kapacitou. Plné rozvinutí imunologické reakce závisí jednak na povrchu spermií, na imunogenních látkách obsažených v seminální plazmě, ale především na proměnlivé vnímavosti rozpoznávacích imunitních mechanismů, které jsou geneticky podmíněné [Chiu, 2004; Zini, 2011].

Maturace oocytu vyžaduje normální hladiny tyreoidálních hormonů. V reprodukčním věku jsou AD choroby štítné žlázy žen nejčastější příčinou hypotyreózy, často spojované s nepravidelnostmi menstruačního cyklu a neplodností [Abalovich, 2007b; Poppe, 2002; Van Den Boogaard, 2011]. Byla popsána i asociace mezi tyreoidální autoimunitou, endometriózou a ovariálním selháním [Petta, 2007]. Přítomnost autoprotilátek proti tyreoidální tkáni je spojována s neplodností či opakovanými potraty [Matalon, 2003].

Mezi ostatní protilátky, jejichž úloha je zvažována při selhání reprodukce, řadíme protilátky proti lamininu 1, představující glykoproteinovou součást bazální vrstvy (extracelulární matrix), ke které jsou navázány buňky endotelu a epitelu. Mimo této strukturální funkce laminin podporuje migraci neurálních kmenových buněk a přispívá k buněčné diferenciaci [Inagaki, 2005]. Protilátky proti lamininu 1 jsou signifikantně zvýšeny u infertilních pacientek s endometriózou [Caccavo, 2011].

Během fyziologicky probíhající gravidity je adekvátní mateřská imunitní odpověď na antigeny trofoblastu, spojená s přechodným potlačením buněčné imunitní reakce, predominantním mechanismem k udržení těhotenství. V případě následných rekurentních 2 a více spontánních potratů do 10. týdne gravidity připadá v úvahu po vyloučení endokrinologických, anatomických a genetických příčin u žen s AD imunitní etiologie.

Dle recentních prací je důraz kladen na patologickou buněčnou imunitu, namířenou proti trofoblastu a proti plodu. Imunopatologickým mechanismem opakovaného potracení je narušení procesů kontrolujících matčinu přirozenou autoimunitní reakci proti trofoblastovým a plodovým antigenům, zděděným po otci [Matthiesen, 2012].

Biopsie děložní sliznice opakovaně potrácejících žen prokázaly zmnožení počtu leukocytů, zvláště makrofágů a NK buněk a jejich výraznou aktivaci. U žen s recidivujícími potraty jsou přítomny změny poměrů v lymfocytárních subpopulacích a nízká hladina cirkulujících CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ T- regulačních lymfocytů predikuje riziko potratu u těhotných žen [Mjosberg, 2007].

Navýšení počtu cytotoxických T- lymfocytů, namířeným proti paternálním antigenům a sekrece stimulačních cytokinů jsou dalšími nálezy u žen s recidivujícími aborty. Zvýšen je rovněž počet cytotoxických T- lymfocytů proti otcovským antigenům a produkce stimulačních cytokinů, především IFN γ , TNF α , IL-1, IL-2 a IL-6. Blokující faktory, které suprimují tuto toxickou humorální aktivitu, jsou u potrácejících žen nedostatečné, zejména v případech značné shody matky a otce ve znacích HLA systému. U všech těchto stavů je možný podíl nedostatečné exprese nebo porušené funkce HLA-G molekul.

Mechanismy buněčné imunity mohou být zodpovědné za vyšší incidenci potratů žen s často latentními nitroděložními infekcemi. Spouštěcím mechanismem může být embryotoxický IL-1, produkovaný makrofágy, které aktivuje i stopové množství bakteriálních endotoxinů, a dále IFN γ , který mimo přímého embryotoxického vlivu zvyšuje na trofoblastových buňkách expresi HLA znaků. Na ty pak adherují cytotoxické protilátky a zabíječské lymfocyty [Madar, 2002].

K terapeutickým přístupům opakovaných těhotenských ztrát nejen u žen s AD se řadí imunologická léčba (prednisolon, intravenózní imunoglobuliny, plazmaferéza, paternální lymfocytární terapie), podávání antiagregačních látek (aspirin) a antikoagulačních preparátů (nefrakcionovaný nebo nízkomolekulární heparin). V některých pracích je popisován příznivý vliv aplikace granulocytární a makrofágové kolonie stimulujících faktorů (GM-CSF) u žen s rekurentními potraty a abnormální placentací. GM-CSF podporuje adhezi, diferenciaci a invazivitu embryonálních struktur [Sjoblom, 2002].

3.7 Možné mechanismy vzniku protilátkově vyvolaných autoimunitních onemocnění u plodu a novorozence

Působení AD na plod a novorozence je ovlivněno řadou faktorů, zahrnujících aktivitu mateřské nemoci, závažnost orgánového poškození, přítomnost cirkulujících protilátek a medikamentózní terapii matky.

Protilátky vyvolávající zmíněné choroby jsou většinou třídy IgG a jejich transplacentární přenos do fetální cirkulace může způsobit fetální či neonatální onemocnění cestou mnohočetných patogenních mechanismů.

Část protilátek vyvolá chorobu vazbou na antigenní cíl, který se nachází v plazmě či na membránách jednotlivých buněk. K expozici těchto antigenů imunitnímu systému může dojít během apoptózy, programové buněčné smrti, která je vyvolána buněčným inzulem. Během apoptotického procesu dochází ke zpracování některých intracelulárních a intranukleárních proteinů a jejich prezentaci na buněčném povrchu. Protilátky proti těmto antigenům se podílejí např. na patogenezi systémového lupusu. Do dané skupiny patří mateřské přenesené protilátky proti nitrobuněčným cílům typu anti SSA/Ro, anti SSB/La a antinukleární protilátky (ANA) [Martin, 2004].

Další typ mateřských protilátek může způsobit poškození fetálních buněk prostřednictvím vazby na jejich povrch, které vyvolá následný rozpad prostřednictvím komplementem aktivované lytické reakce, protilátkově vyvolané buněčné cytotoxicity,

odstraněním v retikoendotelovém systému či indukci apoptózy. Tímto způsobem jsou vyvolány neonatální cytopenie. Velmi zřídka se jedná o pravé mateřské autoprotilátky, které postihují matku i plod. Většinou jsou detekovány aloprotilátky, které reagují s paternálními antigeny, exprimovanými u plodu. Pokud matka nemá antigenní cíle pro dané aloprotilátky, je postižen pouze plod. Aloprotilátky mohou být antierytrocytární, antitrombocytární, antineutrofilní a antilymfocytární. V nejtěžších případech mohou způsobit i úmrtí fětu.

Mateřské protilátky proti receptorům se váží na povrchové molekuly endogenních buněk a působí jako agonisté či antagonisté receptorů. Antireceptorové protilátky mohou obsadit místo pro původní ligand a tím změnit interakci receptoru s endogenním ligandem či ovlivňují stavbu či expresi receptoru. Protilátky vázané na buněčný povrch tím způsobí destrukci cílové buňky. Antireceptorová protilátka, která může působit jako parciální, kompletní či suprafyziologický agonista, podobně jako endogenní ligand aktivuje cílové buňky, avšak při tomto procesu nedochází k její regulaci ani degradaci. Jako příklad je uváděna agonistická protilátka proti thyroideu stimulujícímu receptoru (TSHr). Antagonistické antireceptorové protilátky redukuje buněčnou signalizaci, příkladem je protilátka proti β 1adrenoreceptoru či proti receptoru pro acetylcholin.

Protilátky matky proti adhezním molekulám ovlivňují endogenní buněčné proteiny, poruší mezibuněčnou komunikaci, důležitou pro signalizaci buněk a udržení buněčné integrity. Příkladem je protilátka proti desmogleinu. Mateřské protilátky proti nutrientům se naváží na endogenní receptory a interferují s fetálním či neonatálním příjmem určité nutriční složky. Protilátkami zprostředkovaný nutriční nedostatek klinicky imituje pravou nutriční deficienci či vrozené chybění odpovídajícího receptoru. Do této skupiny řadíme protilátky proti folátovému receptoru či receptoru pro intrinsic faktor.

V následující části práce jsou uvedeny soudobé poznatky o vybraných onemocněních plodu a novorozence, způsobené výše uvedenými mechanismy.

3.7.1 Systémový lupus erythematosus matky a neonatální lupus

Systémový lupus erythematosus (SLE) gravidních žen je chronické multiorgánové zánětlivé onemocnění neznámého původu, které nejčastěji postihuje kůži, klouby, ledviny, serózní blány, plíce, srdce, cévy a centrální nervový systém. Jako typická Th 2 mediovaná choroba má SLE u těhotných žen 2 x častější tendenci k exacerbacím. I když prognóza gravidit matek se SLE se v posledních 50 letech zlepšila, mají gravidní ženy se SLE ve srovnání se zdravými rodičkami 2,4 x vyšší riziko předčasného porodu, 2 x vyšší riziko porodu růstově retardovaného plodu a 3 x vyšší riziko preeklampsie. Nejvyšší riziko fetálních a mateřských komplikací mají ženy s lupusovou nefritidou, která se vyvine během gravidity [Clowse, 2008].

Neonatální lupus erythematosus (NLE) představuje klasický model transplacentálními protilátkami zprostředkované choroby plodu a novorozence. Protilátky proti extrahovatelným nukleárním antigenům (anti - SSA/Ro , anti - SSB/La, anti - U1- RNP), zodpovědné za klinické příznaky NLE, jsou nalézány u řady žen s různými AD. Prevalence

anti - SSA/Ro a anti - SSB/La protilátek je u žen se SLE zhruba 35 / 13 %, u žen se Sjögrenovým syndromem 90 / 80 %, u žen s revmatoidní artrití 3 / 1 % a do 2 % u žen s nediferencovanou chorobou pojiva [Brucato, 2001]. U zdravých osob bez předchozí AD jsou zmíněné protilátky přítomny zhruba v 0,1 - 1,5 %. Důležitý je fakt, že zhruba polovina případů NLE se vyskytne u novorozenců asymptomatických matek bez diagnostikované choroby pojiva [Gordon, 2004]. NLE je diagnostikován u 1 - 5 % gravidit žen s přítomností zmíněných protilátek [Friedman, 2007]. Je zvažována asociace s přítomností určitých HLA alel u těchto žen (např. HLA-A1, B8, DR3, DQ), která ale nebyla prokázána u dětí postižených NLE [Siren, 1999].

Nejzávažnějším klinickým projevem NLE je kongenitální srdeční blok (congenital heart block - CHB), jehož etiopatogeneze se odehrává ve dvou fázích. V první fázi se anti-SSA/Ro protilátky naváží na fetální kardiomyocyty a způsobí jejich apoptózu, poté může dojít k vazbě anti SSB/La na apoptotické buňky. V druhé fázi dochází k zánětlivé reakci, vyvolané uvolněním zejména TGF β , která vede k fibrotizaci a jizvení převodního srdečního systému. Zdá se, že důležitou úlohu v etiopatogenezi NLE hraje polymorfismus genu pro TGF β [Buyon, 2005]. U vnímavých jedinců se CHB se může projevit progresí atrioventrikulárního bloku I. či II. stupně do irreverzibilního bloku III. stupně, u ostatních dojde k spontánní regresi atrioventrikulárního bloku I. stupně [Salomonsson, 2005]. Riziko vzniku CHB u anti SSA/ Ro pozitivních žen je 1 - 2 % a riziko rekurence v následujícím těhotenství činí přibližně 18 %. Více bývají postiženy dívky [Wahren-Herlenius, 2006].

Mortalita fétů s CHB in utero na základě srdečního selhání a dilatační kardiomyopatie v prvních třech měsících gravidity je odhadována na 16 - 30 % [Brucato, 2002]. U gravidit s plody postiženými CHB je indikováno prenatální podávání fluoridovaných kortikosteroidů matce, při výraznější fetální bradykardii je terapie rozšířena o medikamentózní β adrenergní stimulaci či sympatomimetika. Další možností je preventivní aplikace intravenózních imunoglobulinů rizikovým matkám při profylaxi CHB [Wong, 2001]. U 30 - 80 % novorozenců s atrioventrikulárním blokem III. stupně je indikována implantace pacemakeru, která však nezabrání vzniku kardiomyopatie, srdečnímu selhání a rozvoji endokardiální fibroelastózy [Buyon, 2003]. Alternativním řešením u indikovaných případů je transplantace srdce [Chan, 2006].

Mezi další projevy NLE, vyskytujícími se izolovaně či v kombinaci s CHB patří kožní rash (v 16 - 50 %), který má charakter anulárních erytematózních ložisek na tvářích, ve vlasové části hlavy a na trupu dítěte. Podstatou jeho vzniku je cytotoxická reakce, vyvolaná po expozici keratinocytů kůže ultrafialovému záření a mediovaná protilátkami anti - U1 RNP, SSA/Ro, SSB/La [Lee, 2005]. Kožní projevy se objevují v prvních týdnech života dětí NLE a mizí do 7 měsíců, přínosná bývá aplikace lokálních kortikosteroidů [Motta, 2004]. Podobně jako kožní projevy mají i změny krevního obrazu (neutropenie, hemolytické anemie s pozitivním Coombsovým testem, trombopenie), pozorované u cca u 27 % případů NLE, přechodný charakter [Cimaz, 2003]. Léčebně je lze ovlivnit podáváním intravenózních imunoglobulinů novorozencům. Hepatobiliární projevy NLE

(mírná hepatobiliární obstrukce a ikterus, přechodná elevace jaterních testů) mají mírný průběh a rovněž spontánně vymizí po rozpadu mateřských protilátek [Lee, 2002].

3.7.2 *Antifosfolipidový syndrom matky a neonatální antifosfolipidový syndrom*

Neonatální antifosfolipidový syndrom (APS) je klinická jednotka, charakterizovaná přítomností vaskulární trombózy v postnatálním období či do 6 měsíců věku a transplacentárně přenesených antifosfolipidových protilátek (aPL) izotypu IgG.

aPL patří mezi heterogenní skupinu protilátek, podílející se mnohočetnými mechanismy na rozvoji autoimunitních procesů. Působí proti plazmatickým a buněčným proteinům, navázaných na fosfolipidový povrch. Trombofilní aPL potřebují k navázání na fosfolipidy protein jako plazmatický kofaktor, představovaný sérovým proteinem $\beta 2$ glykoprotein I ($\beta 2$ GPI) [Bas De Laat, 2004; Pelkmans, 2012]. Vlastní fosfolipidy, které tvoří součást všech buněčných membrán a participují na řadě buněčných procesů (transportní systém, přenos buněčných signálů, reakce s koagulačními faktory), jsou pro svoji molekulovou velikost neimunogenní. Část aPL má trombogenní účinek: ovlivňují expresi prokoagulačních faktorů (např. tkáňového faktoru), tlumí přirozené inhibitory koagulace (antitrombin III, protein C,S) a omezují efekt komplexních inhibitorů hemostázy [Horstman, 2009].

Jedna z mnoha klasifikací zahrnuje dělení aPL podle užitého antigenu v detekční ELISA metodě. Rozlišujeme protilátky proti kardiolipinu, $\beta 2$ GPI a proti jednotlivým fosfolipidům např. fosfatidyl-L-serinu, fosfatidylcholinu, fosfatidylinositolu, fosfatidylethanolaminu, fosfatidyl-DL-glycerolu, annexinu V a kyselině fosfatidové [Roubey, 1994]. aPL proti protrombinu méně korelují s klinickými projevy trombóz. Je zajímavé, že aPL se in vitro chovají jako inhibitor koagulace, ale in vivo paradoxně vykazují silnou asociaci s trombotickými příhodami [Mcintyre, 2003].

Přítomnost aPL protilátek je spojována s APS, systémovým lupusem a jinými AD, může být ovlivněna přítomností chronických infekcí či malignit a zhruba v 2 - 5 % ji můžeme detekovat i u zdravých dětí a dospělých [Horstman, 2009]. Dle studie Euro Phospholipid Project má 53 - 62 % pacientů primární APS a u téměř 41 % pacientů je APS sdružen s jinými autoimunitami, převážně se SLE [Cervera, 2002]. Příklady dalších stavů, spojených s výskytem aPL protilátek, jsou uvedeny v **tabulce 1**.

Tabulka 1 - Choroby a léčiva asociovaná s přítomností antifosfolipidových protilátek

Autoimunitní choroby -systémové choroby pojiva	SLE, lupus like syndrom, revmatoidní artritida, Sjögrenův syndrom, sklerodermie, vaskulitidy, ankylozující spondartritida, dermato/polymyozitida
Jiné autoimunitní choroby	APS, diabetes mellitus, Crohnova choroba, ITP, autoimunní hemolytická anémie, roztroušená skleróza, tyreoiditida
Nádorová onemocnění	karcinom, thymom, leukémie, lymfom
Léčiva	např. fenothiazin, prokainamid, estrogenní kontraceptiva, interferon α , penicilin, hydralazin, valproáty
Infekční onemocnění	např. malárie, lues, lepra, tuberkulóza, stafylokoky, HIV

APS v adultním věku byl objeven před 33 lety na základě nálezu inhibitorů koagulace imunoglobulinové povahy (lupus antikoagulans) u pacientů s anamnézou trombózy a opakovaných potratů ve třetím trimestru gravidity. Po detekci kardiolipinu v roce 1983 metodami radioimunoanalýzy a enzymoimunoanalýzy byla nalezena korelace mezi aPL a porodnickými komplikacemi u pacientek se SLE a u zdravých pacientek s opakovanými aborty [Harris, 1983]. APS je považován za autoimunitně podmíněný prokoagulační stav a k jeho definici je nutno splnění minimálně jednoho klinického a laboratorního kriteriia [Pengo, 2011].

Klinická revidovaná kriteriia pro APS, prezentovaná v roce 2006 v Sydney, zahrnují: průkaz jedné a více venózní a / nebo arteriální trombózy nebo trombózu malých cév ve tkáni nebo orgánu prokázanou klinicky, dopplerometricky nebo histopatologicky (bez zánětu cévy) nebo těhotenské komplikace (1. jedno a více předčasných narození morfologicky zdravého novorozence ve 34. týdnu a dříve, spojené s těžkou preeklampií či těžkou insuficiencí placenty; 2. tři a více jinak nevysvětlitelných následných samovolných potratů před 10. týdnem gravidity; 3. jedna či více jinak nevysvětlitelných ztrát morfologicky normálního plodu v 10. a dalších týdnech gravidity.

Mezi laboratorní kriteriia patří průkaz lupus antikoagulans nebo antikardiolipinových protilátek či protilátek proti β 2GPI v séru či plazmě v IgG či IgM izotopu dva a vícekrát v časovém odstupu 12 a více týdnů měřením dle doporučeného postupu [Miyakis, 2006]. Mimo zmíněných příznaků má APS řadu dalších klinických projevů (trombopenie, hemolytické anemie, livedo retikularis, srdeční valvulopatie, cévní mozkové příhody, katastrofický APS aj.).

Patogenní úloha aPL v těhotenství byla jednoznačně dokázána v animálních pokusech, kdy infuze aPL gravidním myším měla za následek vyšší resorpční index embryí a růstovou retardaci plodů. Zpočátku byly za hlavní patogenetický mechanismus porodnického APS považovány placentární trombózy a infarkty s následným zhoršením krevního zásobování fétu [Meroni, 2004].

Dle novějších teorií jsou trombotické příhody na placentární úrovni spojovány s aktivací endoteliálních buněk a komplementu, inhibicí antikoagulačního systému proteinu C/S, fibrinolýzou a odhalením anexinu V [Shamonki, 2007]. Annexin V, placentární antikoagulační protein I, je považován za hlavní faktor v udržení placentární integrity.

V současné době je dále zdůrazňována úloha protilátek proti β 2GPI, které jsou schopny vázat se na buňky trofoblastu a jsou spojeny s abnormální proliferací trofoblastu, poruchou placentace a zánětlivými procesy v oblasti placenty [Meroni, 2008]. Zánik gravidity do 10. gestačního týdne může být vyvolán množstvím jiných příčin (hormonálních, genetických, anatomických aj) a proto spojitost APS syndromu u žen a zánikem gravidity je popisována hlavně až v pozdějším, tzv. fetálním období (od 10. týdne gestace). Tyto ženy mají také vysoké procento porodu mrtvého dítěte [Cervera, 2009].

Adekvátní terapie matek s APS, ke které řadíme podávání nízkomolekulárních heparinů a kyseliny acetylsalicylové, podstatně snížila tyto závažné jevy [Branch, 2003; Tuthill, 2009]. Avšak i u žen s léčeným APS a přítomností aPL se vyskytuje celé spektrum těhotenských komplikací zahrnujících růstovou retardaci plodů, placentární insuficienci, preeklampsii, HELLP syndrom, abrupci placenty, předčasné porody.

Nejčastější patologické stavy u novorozenců matek s APS vyplývají především ze samotné nezralosti. Patří k nim syndrom dechové tísně na podkladě nedostatku surfaktantu, neonatální infekce, nitrokomorové krvácení, bronchopulmonální dysplazie, nekrotizující enterokolitis, sepse, retinopatie nedonošených dětí, otevřený ductus arteriosus, poruchy trávení a termoregulace a komplikace provázející růstovou retardaci [Bramham, 2010].

Příznaky neonatálního APS zahrnují především trombózy, které se nejčastěji vyskytují v arteriálním řečišti CNS a abdominální aorty (81 %), v intraabdominálních vénách jsou detekovány v 21 %, 10 % postižených novorozenců může mít bilaterální adrenální hemorhagie. Je nutné zdůraznit, že trombotické příhody neonatálního APS jsou málo časté a u velké části novorozenců: byly nalezeny ještě další rizikové faktory: vrozené trombofilní stavy, přítomnost centrálních katetrů, snížení hladiny antitrombinu III, proteinu C a S, prematurita, sepse a asfyxie. aPL, které byly transplacentárně transferovány od matek, byly antikardiolipinové a proti β 2GPI, jiné protilátky nebyly uváděny. Raritně jsou referovány neonatálního APS, vzniklého de novo, u kterého nebyly aPL prokázány u matky a u dítěte byl nález aPL v izotopu IgM, nepřecházejícího přes placentu [Alshekaili, 2010].

Animální pokusy prokázaly, že nejen systémová, ale i intraventrikulární inokulace aPL byla u pokusných zvířat spojena s vyšší hyperaktivitou, agresivitou, zhoršenou koordinací, zhoršením reflexů, pozornosti a vízu. Tyto projevy byly patrně v souvislosti s poškozením kůry a mozkového kmene [Shoenfeld, 2003]. Mikroskopickým vyšetřením tkáně CNS pokusných zvířat byla nalezena zvýšená mononukleární infiltrace chorioideálních plexů, vypovídající, že aPL mohou poškodit kognitivní funkce i jiným způsobem než indukci trombózy [Shoenfeld, 2003].

Ačkoliv jednoznačný mechanismus, který by jednoznačně vysvětlil patogenezi neurokognitivních patologií u AD není jednoznačně objasněn, předpokládá se, že jednu

z hlavních rolí hraje protilátková a cytokínová aktivita. Z protilátek, podílejících se na poškození CNS, jsou nejčastěji zmiňovány protilátky antineuronální, proti podjednotce NMDA (N-methyl-D -aspartát) glutamátového receptoru a aPL [Shoenfeld, 2003].

aPL mohou v mozkových cévách indukovat nejen prokoagulační pochody s následnými mikrotrombózami, mohou způsobovat aktivaci komplementu s následným inflamatorním stavem a lokální ischemizaci tkáně CNS a tím zvyšovat propustnost hematoencefalické bariéry [Trysberg, 2003]. Influx periferně produkováných patologických protilátek a cytokinů (zejména IL-6) se dále podílí na neurotoxicitě. aPL vázající β 2GPI mohou rovněž negativně ovlivnit inhibici cerebrovaskulární aterogeneze. V experimentálních modelech protilátky proti β 2GPI vytváří vazbu na neuronální a astrocytární membrány, způsobují depolarizaci membrán a redukují viabilitu těchto buněk [Chapman, 1999]. aPL mohou vyvolat hyperaktivaci glutamátových receptorů a tím indukovat neurotoxicitu či přímo reagovat s lipidy CNS [Cikes, 2008].

Zajímavým poznatkem je závěr experimentálních studií, který prokázal, že ke vzniku poruch chování dochází při prolongované expozici APLA. Jednoznačné behaviorální poruchy u zvířat byly pozorovány po uplynutí 4 - 5 měsíců po jednorázové aplikaci protilátek [Katzav, 2001; Kent, 1997; Shrot, 2002].

3.7.3 Imunitní tyreopatie matky a novorozence

U žen s Graves - Basedowovou chorobou, AD s produkcí protilátek, namířených proti TSH receptoru (TSHr) v buněčné membráně buněk štítné žlázy, se v 1 % případů může vyskytnout neonatální tyreotoxikóza. Fetální štítná žláza začíná produkovat tyreoidální hormony okolo 12. týdne gestace s progresivním zvyšováním volného tyroxinu (T4) a tyroxin vázajícího globulinu mezi 18. - 36. týdnem gestace. Reaktivita fetálních receptorů k tyreoidu stimulujícímu hormonu (TSH) a transplacentárním mateřským protilátkám proti TSHr začíná ve 20. týdnu gestace [Radetti, 2002]. Značná heterogenita v odpovědi na tyto mateřské protilátky existuje mezi i identickými dvojčaty [O'Connor, 2007].

Většina protilátek proti TSH receptoru (TRAb) má stimulační charakter a vzhledem k absenci kontrolního systému zpětné vazby vede k aktivaci fetální štítné žlázy do obrazu hypertyreózy. Pouze malá část protilátek proti TSHr, přecházejících do fětu po 21. týdnu gestace, má inhibiční efekt s následným vznikem kongenitálního hypotyroidizmu.

Mateřské TRAb mohou způsobit ve fetálním období strumu, tachykardii, srdeční selhání, hydrops a urychlení kostní maturace plodu. Těžké případy fetální hypertyreózy vedou k úmrtí plodu či k předčasnému porodu. Léčba in utero spočívá v podávání tyreostatik matce v dávce, která normalizuje srdeční frekvenci plodu a současně matku udrží v eutyroidním nebo lehce hypertyroidním stavu [Abalovich, 2007a; Polak, 2004]. Rozsáhlé klinické příznaky neonatální hypertyreózy se klinicky projeví většinou koncem prvního týdne života a zahrnují strumu, zvýšenou iritabilitu a třes, oční příznaky (periorbitální edém, exoftalmus), kardiovaskulární příznaky (tachykardie, srdeční selhání, arytmie) a známky hypermetabolismu (průjem, pocení, hladové pití), kostní patologie

(kraniosynostózy, mikrocefalie), hepatosplemomegalii, později pak růstovou retardací dítěte. Při adekvátní léčbě (karbimazol, propylthiouracil, beta blokátory, jódové roztoky, vyjímečně kortikoidy) příznaky mizí do 5 měsíce věku. Některé údaje hovoří až o 25 % mortalitě novorozenců s tyreotoxikózou [Kolská, 2001].

Nejčastější příčinou hypotyreózy u těhotných žen je autoimunitní zánět štítné žlázy. Neléčená klinická i subklinická hypotyreóza matek je spojena s vyšším rizikem spontánního potratu, gestační hypertenze, preeklampsie, předčasného porodu, abrupce placenty a poporodního krvácení [Glinioer, 2001]. I plod je prokazatelně ohrožen zvýšenou perinatální morbiditou a mortalitou, zejména v oblasti vývoje CNS [Abalovich, 2007a; Rovelli, 2010].

Fetální a novorozenecká hypotyreóza může být způsobena blokujícími protilátkami proti TSHr, které jsou rovněž detekovány u žen s autoimunitní tyreoiditis, a vyskytuje se do 2 % všech novorozenců s hypotyreózou [Parks, 2010]. U novorozenců s tranzitní hypotyreózou byly některých pracích detekovány až v 77 % protilátky proti tyreoglobulinu [Ordookhani, 2007]. Další příčinou fetální hypotyreózy je podávání tyreostatik, inhibujících produkci tyreoidálních fetálních hormonů, matkám s Graves - Basedowovou chorobou. Vzhledem ke screeningu kongenitální hypotyreózy by měly být tyto děti zachyceny ihned po narození. Klasické příznaky této nemoci nastupující v prvních dvou měsících života jsou: protrahovaná hyperbilirubinenémie, obstipace, potíže s krmením, neprospívání, chladná a suchá kůže, velký jazyk, hrubý křik, umbilikální kýla, protruze břicha, hypotonie, snížená výbavnost reflexů, prostorná velká fontanela, přítomnost malé fontanely. Po stanovení diagnózy je indikována substituční terapie levotyroxinem, která je vzhledem k charakteru onemocnění pouze dočasná [Mengreli, 2003].

Mezi ostatní transplacentálně přenesené protilátky řadíme protilátky proti tyreoglobulinu či proti tyreoidální peroxidáze (anti-TPO) jejich efekt na novorozence je méně vyjádřen. Přítomnost anti-TPO u gravidních žen s normální funkcí štítné žlázy byla popsána ve spojitosti s porušeným neuropsychickým vývojem narozených dětí [Mannisto, 2009].

3.7.4 Rh inkompatibilita a hemolytické onemocnění plodu a novorozence

Hemolytické onemocnění plodu a novorozence (HON) patří do skupiny protilátkami indukovaných hemolytických anémií. Esenciální pro vznik HON je přítomnost paternálního antigenu u plodu, nepřítomného u matky, který vyvolá produkci protilátek v mateřském organizmu. Mezi nejzávažnější formy HON řadíme Rh inkompatibilitu.

Rh inkompatibilita reprezentuje imunitní konflikt na základě tvorby mateřských protilátek u Rh negativních žen proti erytrocytárnímu antigenu Rh pozitivních plodů. Rh pozitivní plod má v membráně erytrocytů Rh antigenní komplex, který je tvořen molekulou lipoproteinu o molekulové hmotnosti 30 000 Daltonů. Rh komplex tvoří antigeny C, Cw, c, D, E, e a nedědičná poziční varianta Du [Westhoff, 2007]. Přítomnost D antigenu podmiňuje Rh pozitivitu krve a výskyt D antigenu závisí na etnické příslušnosti. V Evropě se udává až 85 % pozitivních jedinců. Výskyt D antigenu bývá ve velké části

provázen přítomností antigenu e a antigenu C. Při absenci všech Rh antigenů vzniká více či méně vyvinutá hemolytická anemie [Conroy, 2005].

Imunizace matky je zapříčiněna nejčastěji fetomaternálním krvácením, vyjímečně aplikací inkompatibilní transfuze krve matce či přenosem krve injekčními stříkačkami u narkomanek [Studnickova, 2010]. U prvorodiček může být důvodem imunizace maternofetální transport antigenu.

Nejsilnějším imunitním stimulem je antigen D, který je po přestupu do organismu matky destruován systémem makrofágů. Paralelně dochází k tzv. primární imunitní odpovědi s následnou tvorbou IgM a posléze IgG protilátek přecházejících do plodu. Vzhledem k jejich nízkému titru zpravidla nevyvolají u plodu závažnější hemolýzu. Udává se, že intenzita primární imunitní odpovědi je závislá na množství Rh pozitivních buněk, které přestoupily placentární bariéru.

Opakovaná expozice identického antigenu vyvolá v matce rychlou sekundární imunitní odpověď s elevací protilátek IgG, které se vyznačují zvýšenou afinitou k antigenům na fetálních erythrocytech. Důsledkem následné hemolýzy u plodu je rozvoj fetální anemie, která stimuluje fetální erythropoézu v játrech, slezině a kostní dřeni a vzácně i v kůži. Extramedulární erythropoéza v játrech plodu může způsobit destrukci jaterního parenchymu s rozvojem portální hypertenze, hypoproteinemie, ascitu a hydropsu fétu. Závažná anemie bývá asociována s intrauterinní hypoxií a úmrtím plodu. Důležitý je fakt, že výše titru protilátky neodpovídá stupni hemolýzy, takže i při nízkých titrech protilátek může být plod významně ohrožen.

V rámci prenatalní péče o Rh negativní těhotné ženy je prováděn monitoring aloimunních protilátek a důsledná prevence aloimunizace podáváním anti-D imunoglobulinu v indikovaných případech, sumarizované v revidovaném doporučení pro Českou republiku v roce 2010 [Lubusky, 2013]. U gravidní ženy, která porodila v předchozí graviditě plod se závažnou Rh izoimunizací a má narůstající titr aloprotilátek, je vhodné zjištění Rh plodu odběrem choriových klků, kordocentézou či izolací fetální DNA z mateřského séra. Pravidelné dopplerometrické monitorování průtoku v arteria cerebri anterior plodu slouží k časně detekci fetální anémie, při jejím potvrzení je pak indikována intrauterinní transfuze [Lubusky, 2006]. Průměr perinatálního přežití novorozenců po intrauterinní transfuzi je v literatuře udáván mezi 85 - 90 %, u hypopických plodů 70 % [Mockova, 2006].

Postnatálně se nejčastěji HON projevuje hyperbilirubinemií s následnou anemizací. Mírnější formy HON (50 %), jsou korigovatelné fototerapií a aplikací intravenózních imunoglobulinů novorozenci. Závažnější formy HON (25 %) jsou charakterizovány rychlou hemolýzou, rozvojem anémie a elevací bilirubínu s nutností provedení výměnné transfuze. Novorozenci s těžkou formou HON (25 %) se rodí často s hydropsem, těžkou anémií, s projevy tkáňové hypoxie a srdečního selhání. Součástí intenzivní neonatální péče o tyto pacienty bývá umělá plicní ventilace, medikamentózní podpora oběhu, v indikovaných případech evakuace ascitu, výměnná transfuze, korekce anémie a hypoalbuminémie. Vzhledem k neuro - a ototoxicitě hyperbilirubinémie je nezbytné je

dlouhodobé sledování dítěte s ohledem na jeho psychomotorický vývoj [Mockova, 2006]. Mezi ostatní antigeny, schopné vyvolat závažnou formu HON, patří zejména antigen c, E a Kell, vyjimečně antigeny A či B při ABO inkompatibilitě.

3.7.5 Imunní trombopenie matky a novorozence

Imunní trombocytopenická purpura (ITP) matky je příčinou novorozenecké autoimunní trombopenie, charakterizované poklesem trombocytů pod $150 \times 10^9/l$. Transplacentárně přenesené mateřské protilátky typu IgG mají širokou specifitu pro glykoproteiny destiček fětu, přítomné na jejich povrchu. Po navázání protilátky na antigeny destiček dojde k destrukci trombocytů plodu v retikuloendotelovém systému. U zhruba u 10 % případů matek s ITP jsou u novorozence přítomny trombocyty nižší než $50 \times 10^9/l$. Rizikovými faktory postižení plodu jsou závažnost ITP matky, provedená splenektomie u matky a postižení předchozího potomka [Suri, 2006]. U 0,12 % novorozenců nacházíme hodnoty trombocytů pod $20 \times 10^9/l$, spojené s možností závažného krvácení, zejména do CNS. Léčba matky v graviditě (steroidy, intravenózní gamaglobuliny), přechází do plodu a zmírňuje příznaky neonatální trombopenie [Ali, 2003].

V případě neonatální aloimunní trombopenie (NAIT) je matka zdráva a vytváří protilátky proti paternálním antigenům na fetálních trombocytech, které sama nemá. Je známo, že 97 % kavkazské populace exprimuje lidský destičkový antigen HPA 1a (human platelet antigen) v homozygotní či heterozygotní formě HPA -1a / HPA 1b, méně časté jsou antigeny HPA 5b nebo HPA 6w. Na rozdíl od Rh aloimunizace, vznikající podobným mechanismem, je postiženo již první dítě matky [Kumpel Bm, 2003]. Frekvence NAIT je 1: 1 500 porodů a rekurence se objevuje v 75 - 90 % případů, závažnost NAIT se může v následných graviditách zvyšovat.

Ve srovnání s novorozeneckou autoimunní trombopenií je NAIT častější a důsledky pro novorozence závažnější (až 20 - 28 % novorozenců může mít intrakraniální krvácení) [Risson, 2012]. Trvání problematiky u novorozence závisí na době rozpadu vyvolávajících protilátek, většinou dochází k normalizaci počtu krevních destiček řádově do týdnů. Postnatální léčba dětí se závažnou auto - i aloimunní trombopenií zahrnuje podání trombocytárních náplavů a individualizovanou aplikaci intravenózních imunoglobulinů a steroidů.

3.7.6 Myastenie gravis matky a novorozence

Myastenia gravis (MG) je chronické neuromuskulární AD, charakterizované slabostí a unavitelností příčně pruhovaného svalstva. Je spojeno s přítomností protilátek proti autoantigenům, ke kterým řadíme α jednotku nikotinového acetylcholinového receptoru (AchR) na postsynaptické membráně nervosvalové ploténky (u 80 % pacientů) či vzácněji svalově specifickou tyrozinkinázu, která ovlivňuje diferenciaci AchR (u 20 % pacientů) [Evoli, 2003]. Účinkem heterogenních patologických protilátek dochází k strukturální

degradaci či funkční blokaci AchR v postsynaptické membráně, někdy za účasti komplementu. Důležitou roli v rozvoji MG mají AChR specifické CD4+ T-lymfocyty, přítomné v thymu a periferní krvi asenzibilizované autoreaktivní B -lymfocyty, produkující protilátky zejména proti AchR [Vincent, 2004].

U žen se MG vyskytuje s maximem mezi 20 - 30 rokem života, popisovaná incidence je 1: 10 - 20 000 žen ve fertlním věku [Djelmis, 2002]. Během gravidity dochází u třetiny žen k exacerbaci MG, zejména v průběhu prvního trimestru a postpartálně, u většiny žen zůstává průběh choroby v graviditě nezměněn. Léčba gravidních žen, zahrnující podávání kortikoidů či cyklosporinu A, musí být vedena s ohledem na vývoj plodu. Podávání methotrexátu, cyklofosfamidu či mykofenolát mofetilu není v těhotenství doporučováno [Berlit, 2012].

Transplacentárně přenesené mateřské protilátky proti AchR mohou u cca 10 - 20 % novorozenců způsobit výskyt tranzientní neonatální myastenii gravis (TNMG). Podobně jako u ostatních AD, existuje jen mírná korelace mezi titrem mateřských protilátek, tíží onemocnění u matky a rizikem vzniku TNMG. Menší výskyt TNMG byl pozorován u thymektomovaných žen [Hoff, 2007]. Fetální syntéza α fetoproteinu, který inhibuje vazbu protilátek proti AChR, může ovlivnit závažnost neonatálních příznaků [Gliaschera, 1989].

Intrapartální fetální distres bývá první známkou preexistující neurologické abnormality. Klinické projevy typické TNMG se v 70 % projeví u novorozenců do 12 - 48 hodin po porodu, nejpozději do 3 dnů. Predilekčně jsou postiženy svaly extraokulární, mimické, orofaryngeální, šíjové, pletencové a respirační [Keeseey, 2004]. Novorozenec má problémy se sáním, polykáním, pláčem, přítomna bývá celková hypotonie [Hoff, 2007].

Atypická forma TNMG bývá spojena s projevy kongenitální artrogrypózy multiplex u plodu či novorozence. Vyznačuje se neprogresivními kongenitálními kontrakturami, vznikajícími na základě absence fetálních pohybů in utero [Polizzi, 2000].

Léčba TNMG zahrnuje podávání inhibitorů cholinesterázy, blokujících reverzibilně cholinesterázu, která enzymaticky hydrolyzuje acetylcholin na nervosvalové ploténce. Tím dochází k prodloužení účinku uvolněných kvant acetylcholinu. Vyjimečně byly aplikovány intravenózní imunoglobuliny či indikována výměnná transfúze k odstranění cirkulujících protilátek z oběhu dítěte. Příznaky TNMG většinou ustupují do několika týdnů po porodu [Klehmet, 2010; Richman, 2003].

3.7.7 Bulózní dermatitidy matky a novorozence

Mezi AD kůže těhotných žen, které mohou vzácně vyústit v poškození kůže novorozenců, řadíme následující bulózní onemocnění: pemfigus vulgaris, pemfigus foliaceus, bulózní pemfigoid a gestační pemfigoid.

Pemfigus vulgaris je charakterizován tvorbou intradermálních puchýřů, lokalizovaných kdekoliv na kůži či sliznicích, zejména orofaryngu, vedoucí k bolestivým erozím a hojící se jizevnatěním. Tyto patologické změny jsou způsobeny protilátkami proti cílovému antigenu, kterým je epidermální glykoprotein desmoglein, patřící do skupiny kadherinů a podílející se na zachování integrity epidermis. V současné době jsou známy 4 izoformy

desmogleinů (Dsg 1-4). Po fixaci protilátek na adhezivní molekulu desmogleinu dojde k protilátkou mediované akantolýze což bylo prokázáno v animálních experimentech u neonatální myši indukci puchýřnatých projevů mateřskými protilátkami [Schulze, 2012]. U pemfigus vulgaris je protilátka namířena proti desmogleinu 3, který je v rohovější epidermis uložen v bazální vrstvě.

Protilátky u matek proti desmogleinu 1, který se nachází v povrchových částech epidermis a sliznic, způsobí povrchové typy pemfigu např. foliaceus, charakterizovaným plochými, rychle praskajícími puchýřky a následně erozivními plochami, pokrývající se šupinami a krustami. Excentricky se šíří a může dojít až ke vzniku sekundární erythrodermie.

Gestační pemfigoid, subepidermální puchýřnaté onemocnění kůže, se vyskytuje u gravidních žen s maximem ve 2. a 3. trimestru a šestinedělí. Jeho výskyt je podmíněn přítomností placentární tkáně [Chaidemenos, 2005]. U žen s časnými projevy nemoci v 1 a 2. trimestru je popisován zvýšený výskyt spontánní abortů a předčasných porodů [Ingen-Housz-Oro, 2011]. První příznaky choroby lze najít u 20 % postižených žen až v poporodním období. Etiopatogeneze choroby není jednoznačně objasněna, je uváděna asociace s určitými HLA mateřskými antigeny (HLA třídy I A 1/B 8 , HLA třídy II DR 3 a v kombinaci s DR 4 (DR 3/DR 4) [Kasperkiewicz, 2012]. Cílem cirkulujících protilátek izotypu IgG1 a IgG3 je antigen bazální membrány epidermis, který je identický s antigeny bulózního pemfigoidu BP 180 (BP2) či BP 230 (BP1) [Chimanovitch, 2000].

Navázané protilátky s antigenem aktivují komplement a v zóně bazální membrány kůže a v amniu matky jsou pravděpodobněpříčinou tvorby imunokomplexů. Projevy pemfigu u novorozenců bývají dle některých prací byly pozorovány pouze u 5 - 10 % případů [Panko, 2009]. Predikce neonatálního postižení pemfigem je obtížná díky vysoké heterogenitě polyklonálních protilátek a rozdílné distribuci izoform desmogleinů u novorozence. Určitou roli může hrát i složení epidermis novorozenců, předpokládající rozdílnou distribuci desmogleinů 3. Udává se, že vysoké hladiny desmogleinu 3 v povrchové epidermis u novorozených dětí mohou vykompenzovat protilátkou způsobenou ztrátu desmogleinu 1 při pemfigu [Wu, 2000]. Bulózní změny kůže u novorozenců jsou mírné, většinou spontánně ustoupí do 4 týdnů, nemají rekurentní charakter.

Léčba všech forem neonatálního pemfigu bývá pouze podpůrná, výjimečně je indikována krátkodobá aplikace lokálních kortikosteroidů [Kardos, 2009; Parlowsky, 2003]. Klinické příznaky pemfigu mohou vymizet i dříve než dojde k rozpadu kauzálních protilátek v organismu novorozence (např. eliminační poločas protilátky proti BP 180 byl některými autory určen na 15 dní u matky i dítěte, klinické projevy u novorozence nebyly v této době již patrné) [Aoyama, 2007]. Průběh neonatálního pemfigu bývá ovlivněn i terapií matky, která v závažných případech může být léčena systémovými kortikoidy, intravenózními imunoglobuliny či plazmaferézou [Rodrigues Cdos, 2007].

3.7.8 Neonatální hemochromatóza

Mezi další onemocnění plodu a novorozence, u kterých je zvažována imunologická etiopatogeneze, patří i vzácná neonatální hemochromatóza. Předpokládá se, že maternální aloimunní protilátky IgG reagují za přítomnosti komplementu s hepatocyty plodu a vyvolají následně jejich cytolýzu. Dochází ke vzniku sekundární intrahepatální a extrahepatální siderózy. Plody jsou ohroženy intrauterinním úmrtím či růstovou retardací, po narození dochází k progresivnímu hepatálnímu selhání u novorozenců v rozmezí týdnů. Choroba má u dětí nepříznivou prognózu, řešením je transplantace jater.

Poněvadž existuje 80 % možnost rekurence neonatální hemochromatózy v další graviditě, je zkoušeno prenatální podávání intravenózních imunoglobulinů matkám od 18. týdne gravidity [Whittington, 2004].

3.7.9 Depresivní choroby matek

Dle výzkumů z poslední dekády se v etiopatogenezi velké skupiny depresivních poruch uplatňují imunologické faktory. Depresivní porucha, definovaná jako patologická porucha nálady neodpovídající okolnostem, se vyskytuje u žen dvakrát častěji než u mužů.

V etiopatogenezi je zvažována mimo identifikace specifických genotypů a genových polymorfismů imunologická dysregulace, charakterizovaná inflamatorní reakcí se zvýšenou produkcí cytokinů (IL-1, IL-6, TNF α , IFN γ), které jsou citlivé na stresové podněty. Byla nalezena i asociace mezi depresemi a oxidativním stresem a s poklesem antioxidační aktivity. Tento názor je podporován skutečností, že řada antidepressivních preparátů má i specifický protizánětlivý účinek a protizánětlivé léky mají za následek zvýšení klinického účinku antidepressivních látek [Maes, 2008].

Je známo, že samotná depresivní choroba matky bez adekvátní terapie je asociovaná s redukcí porodní hmotnosti dětí, se zvýšenou incidencí prematurit či se s zhoršením postnatální adaptace [Belik, 2008]. I účinná antidepressivní terapie matky pre - a postnatálně ohrožuje plod a novorozence následujícími možnými riziky: vznik možné vrozené vývojové vady (teratogenicita), poškození růstu, přímá neonatální toxicita a vznik dlouhodobých následků (tzv. behaviorální teratogenicita - poruchy sociálního a emočního chování, snížené IQ, problémy s učením) [Malm, 2012].

Výsledky naší předchozí studie, která se zabývala sledováním skupiny 42 novorozenců matek s depresivní chorobou, rovněž prokázaly vyšší incidenci prematurity, hyperbilirubinemie a statisticky významně menší hodnoty obvodu lbi u dětí [Mocková, 2012].

4 Vlastní řešení studie

4.1 Studované soubory

Probandy jednotlivých analyzovaných skupin jsme vybrali na základě předem stanovených vstupních kritérií.

Studijní skupinu novorozenců tvořily děti 31 žen, které měly příslušným odborným ošetřujícím lékařem stanovenou diagnózu vybraného autoimunitního onemocnění (AD) podle platných diagnostických kritérií, byly u nich opakovaně během gravidity detekovány pozitivní hladiny antifosfolipidových protilátek (aPL) a které porodily živého novorozence na Gynekologické-porodnické klinice LF UK a FN v Plzni v období od září 2009 do června 2011.

Mezi vybraná autoimunitní onemocnění matek jsme zahrnuli:

- a) primární antifosfolipidový syndrom [Miyakis, 2006];
- b) systémová onemocnění pojiva s opakovanou přítomností aPL (systémový lupus, Sjögrenův syndrom, revmatoidní artritida, systémová sklerodermie) [Kay, 2012; Petri, 2005; Vitali, 2002];
- c) autoimunitní choroby, provázené opakovanou přítomností aPL (autoimunitní hemolytická anémie, sklerosis multiplex) [Polman, 2011; Seve, 2008].

Podmínkou pro zařazení novorozence do studijní skupiny byl pozitivní průkaz jedné či více aPL při prvním náběru po narození. Novorozenci s negativními hladinami aPL při prvním náběru po narození byli vyřazeni. Konečný počet dětí ve vyšetřované skupině činil 34.

Kontrolní skupinu tvořilo 24 novorozenců 23 žen s vybranými AD, které porodily ve sledovaném období na Gynekologicko-porodnické klinice LF UK a FN v Plzni a měly v graviditě a před porodem negativní aPL. Novorozenci museli mít v době prvního odběru rovněž aPL negativní.

Ke zhodnocení hladin aPL po porodu u žen bez AD a jejich dětí byla vytvořena náhodným výběrem 3. skupina probandů, která zahrnovala 30 zdravých matek a jejich 30 novorozenců. Podmínkou zařazení do této skupiny byla dále nepřítomnost infekční komplikace u matky před porodem a porod živého dítěte v období od září 2009 do června 2011 na Gynekologické - porodnické klinice LF UK a FN v Plzni.

Z etického hlediska byly hladiny aPL v 6 a 12 měsících vyšetřovány u jiných dětí matek bez AD v rámci plánovaného odběru krve z jiných důvodů v Centru vývojové péče Neonatologického oddělení. Rozložení všech probandů ve studii ukazuje **tabulka 2**.

Tabulka 2 - Rozložení probandů ve studii

Počet rodiček ve FN Plzeň od 1.1.2009 – 30.6.2011 n - 8407			
aPL pozitivní ženy s autoimunitním onemocněním n - 82		aPL negativní ženy s autoimunitním onemocněním n - 23	Ženy bez autoimunitního onemocnění n - 30
aPL pozitivní novorozenci n - 34	aPL negativní novorozenci n - 48	aPL negativní novorozenci n - 24	Novorozenci n - 30

Před vstupem do studie byly ženy podrobně informovány o průběhu studie a svůj souhlas se zařazením sebe a svého dítěte potvrdily podpisem informovaného souhlasu. Studie byla schválena lokální Etickou komisí FN Plzeň a byla vedena dle zásad správné klinické praxe v rámci Helsinského protokolu [Council, 2006].

4.2 Protokol studie

Gravidní ženy s AD byly získávány do studie při spolupráci s odbornými ordinacemi GPK (poradna pro riziková těhotenství, poradna pro reprodukční imunologii). Zařazování žen s AD do studie probíhalo v období od září 2009 do června 2011. U všech žen byla odebrána podrobná osobní anamnéza s důrazem na AD, délku choroby, počet předchozích potratů či porodů, průběh gravidity, trvalou a současnou medikaci. Během gravidity ve III. trimestru bylo u těchto žen provedeno vyšetření vzorku 2 ml venózní krve ke stanovení hladin osmi aPL. Kontrolní vzorek venózní krve k detekci aPL byl ženám odebrán v první době porodní. Ke sledovaným údajům u žen byl zařazen způsob porodu a indikace operativních porodů. U žen bez AD bylo stanovení hladin aPL provedeno pouze v 1. době porodní.

U všech novorozenců jsme zaznamenali perinatální anamnézu (týden gestace, skóre dle Apgarové, pupečnickové pH, nutnost resuscitace bezprostředně po porodu) a antropometrické údaje (porodní hmotnost, porodní délka, frontookcipitální obvod lbi). Jako nedonošené novorozence jsme označili děti, porozené v týdnu gestace od 24 + 0 do 36 + 6, děti porozené v gestačním týdnu 37 + 0 a vyšším byly hodnoceny jako donošené. Porodní hmotnost jsme hodnotili podle grafů Kučery et al. [Kučera, 1999], jako hypotrofický novorozenec byl označen novorozenec s hmotností pod 10. percentil pro daný gestační věk a pohlaví. Obvod hlavy jsme posuzovali podle grafů pro daný gestační věk [Lubchenco, 1966]. Skóre dle Apgarové jsme určovali v 1., 5., a 10. minutě.

Poruchu poporodní adaptace jsme definovali následujícími kritérii: Apgar skóre nižší než 7 v 1. minutě, pupečnickové pH v umbilikální arterii nižší než 7,15 a nutnost resuscitace na porodním sále. První vyšetření novorozenců se zhodnocením somatického a

neurologického nálezu jsme provedli v rámci jejich hospitalizace po porodu na Neonatologickém oddělení FN Plzeň. Mezi 2.- 5. dnem po porodu jsme novorozencům odebrali venózní krev na vyšetření aPL a krevního obrazu (cca 1ml venózní krve), dětem matek bez AD jsme na detekci aPL odebrali pupečnickovou krev.

Při hodnocení krevního obrazu jsme jako anemii hodnotili hodnotu hemoglobinu pod 2 SD pod normální střední hodnotu pro gestační stáří [Saarinen, 1978]. Za leukopenii jsme považovali hodnotu leukocytů pod $5,0 \times 10^9/l$, v případě nálezu absolutního počtu neutrofilních granulocytů pod $1,5 \times 10^9/l$ jsme nález posuzovali jako agranulocytózu [Dallman, 1977]. Trombocytopenii jsme diagnostikovali jako počet trombocytů pod $150 \times 10^9/l$ [Beverley, 1984].

Ve stejném období jsme dále u dětí provedli elektrokardiografické vyšetření v končetinových a hrudních svodech přístrojem MAC 1200ST (GE Medical Systems, Germany). Ve svodu II jsme změřili interval PR, QT a RR interval v 5 nenásledných stazích, korigovaný QT interval (vztažený k srdeční frekvenci, QTc) jsme vypočítali podle Bazettova vzorce, kde se délka QT dělí druhou odmocninou RR. Za patologický nález jsme považovali hodnotu PR intervalu delší než 0,14 msec, při měření QTc intervalu hodnotu vyšší než 0,46 msec. Elektrokardiologické hodnoty jsme zvolili dle doporučení Evropské kardiologické společnosti pro interpretaci neonatálního EKG [Schwartz, 2002].

U novorozenců jsme ve 24 - 48 hodinách života provedli sonografické vyšetření mozku přes velkou fontanelu ve standartizovaných rovinách (koronární, parasagitální, sagitální) pomocí přístroje Siemens při užití ultrazvukových sond s frekvencí 5 a 7,5 MHz [Hadač, 2000]. K diagnostice patologických nálezů jsme použili klasifikaci dle Papile a Volpe [Papile, 1978; Volpe, 1989]. Mimo subependymálních a intraventrikulárních hemoragií jsme monitorovali další abnormální nálezy (chorioideální cysty, lentikulostriatovou vaskulopatii, kalcifikace, dilataci mozkových komor).

Současně jsme provedli ultrazvukové vyšetření nitrobřišních orgánů (ledvin, močového měchýře, nadledvin, jater, sleziny) ve standartizovaných projekcích [Hořák, 2012; Siegel, 2001]. Sonografické vyšetření jsme hodnotili jako negativní v případě absence patologických odchylek.

U donošených novorozenců jsme standartním způsobem vyšetřili tranzientně evokované otoakustické emise (TEOAE) mezi 3.- 5. dnem, u nedonošených dětí bylo toto vyšetření provedeno před dimisí z porodnice [Horník, 1999]. K vyšetření jsme použili přístroj Echo-Screen (Natus, Medical Inc., USA). Vyšetření sluchu jsme považovali za pozitivní (fyziologické) v případě detekce TEOAE a za negativní v případě opakované nevybavitelnosti TEOAE s odstupem 24 hodin od prvního vyšetření. V případě negativního výsledku jsme dítě odeslali na spádové foniatrické oddělení k vyšetření TEOAE [Berg, 1999; Horník, 1999; Novák, 2003].

V den dimise z porodnice bylo jsme zhodnotili somatický a neurologický nález novorozence. Mezi sledované komplikace jsme zařadili přítomnost arteriální či venózní trombózy, projevy neonatálního lupusu a abnormální neurologické nálezy, definované jako poruchy novorozeneckých reflexů či svalového napětí.

Za ukazatele časně závažné morbidity jsme považovali následující diagnózy novorozenců: syndrom dechové tísně (respiratory distress syndrom - RDS), bronchopulmonální dysplazii (BPD), perinatální poškození mozku - intraventrikulární hemorhagie (IVH) III. a IV. stupně, cystickou periventrikulární leukomalacii (c - PVL), sepsi, nekrotizující enterokolitidu (NEC) a retinopatii nedonošených (ROP) 3. a vyššího stupně.

Ambulantní sledování dětí probíhalo v ambulantní části Neonatologického oddělení FN Plzeň. Pro stanovení termínu kontrol u nedonošených dětí jsme použili postkoncepční (tzv. korigovaný) věk, vypočítaný snížením hodnoty chronologického věku o počet týdnů, o které se dítě narodilo dříve.

V prvním roce sledování jsme hodnotili klinický a psychomotorický stav dětí v 6 a 12 měsících věku, anamnestická data ohledně proběhlého očkování, prodělaných chorob a hospitalizací a provedli jsme současně vyšetření cca 1 ml venózní krve na přítomnost aPL. V případě zjištění abnormálního psychomotorického vývoje bylo dítě vyšetřeno dětským neurologem.

Závěrečné zhodnocení klinického stavu a psychomotorického vývoje dětí jsme realizovali ve 24 měsících korigovaného věku života, při kterém byl vyšetřen i psychomotorický vývoj dětským psychologem dle vývojové škály autorky Nancy Bayleyové [Bayley, 1983; 1993]. Děti byly hodnoceny podle tří škál: mentální škály obsahující celkem 178 položek, motorické škály se 111 položkami a ve škále chování. V obou škálách jsou zmíněné položky seřazeny dle věku, ve kterém je většina dětí daného věku schopna tyto položky splnit. Sečtením splněných položek bylo vypočítáno hrubé skóre (HS). Jeho hodnota byla převedena pomocí tabulek na tzv. mentální vývojový index (MVI) a psychomotorický vývojový index (PVI). Průměrná hodnota vývojových indexů byla 100 bodů, jedna standardní odchylka (SD) byla ± 15 bodů. Děti byly posuzovány dle zmíněných indexů a zařazeny do následujících kategorií: nadprůměrný vývojový index - 115 a více bodů; vývojový index v mezích normy 114 - 85 bodů; mírně opožděný vývojový index: 84 - 70 bodů; středně opožděný vývojový index: 69 - 50 bodů, závažně opožděný vývojový index: méně než 50 bodů [Sobotková, 2003].

Mezi parametry, hodnocené jako komplikace vývoje, jsme zařadili následující: odchylky hmotnosti, délky (výšky) a frontooccipitálního obvodu lbi pod 2 směrodatné odchylky (2 SD) pro daný věk, hodnoty vývojových indexů (MVI, PVI) pod 69 bodů, přítomnost poruchy sluchu, přítomnost projevů neonatálního lupusu a výskyt trombotické komplikace.

4.3 Metodika studie

4.3.1 Stanovení hladin antifosfolipidových protilátek

Po odebrání vzorku 2 ml srážlivé venózní krve matkám (u dětí 1 ml) byla získaná odseparovaná séra uchovávána při teplotě 18 °C do doby stanovení aPL. Testovaná séra byla bez známek hemolýzy. Pro zjištění aPL proti fosfatidyl-L-serinu, fosfatidylethanolaminu, fosfatidylinositolu, fosfatidyl-DL-glycerolu a kyselině fosfatidové byl zvolena home - made metoda ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay), která byla standartizována podle doporučení Evropského fóra antifosfolipidových protilátek z roku 2004 pro detekci aPL (bez ohledu na způsob kalibrace detekční soupravy). Vyšetření byla prováděna v dubletu, k výpočtu cut - off byl použit 95 % interval spolehlivosti a byly použity dvě externí kontroly - jedna nižší nežli cut - off a druhá středně pozitivní. Polystyrenové mikrotitrační destičky MaxiSorp (Nunc-Immuno™ Plates) byly potaženy 50 uml fosfolipidu (50 ul /ml metanol) a inkubovány během noci při teplotě 4 °C.

Vybrané purifikované fosfolipidy byly získány z komerčního zdroje (Sigma, St. Louis, Mo, USA). Následující den byly jamky destiček blokovány roztokem, obsahujícím 10 % fetální bovinní sérum v 1M Tris buffered saline (TBS: 250 mol/l Tris, 1,5 mol/l NaCl) po dobu 30 minut při pokojové teplotě. Následně byly polystyrenové mikrotitrační destičky promyty třikrát v pufovacím roztoku (Na₂ CO₃, Na HCO₃, Na N₃, pH 9,6). Séra žen byla naředěna v poměru 1:50 v TBS (s obsahem 10 % fetálního bovinního séra), poté byla přidána do jamek titrační destičky. Následovala dvouhodinová inkubace destiček při pokojové teplotě a destičky pak byly pětkrát promyty TBS, obsahujícím 0,05 % Tween 20. Dále bylo přidáno 50 ul antihumánního imunoglobulinu IgA, IgG, IgM konjugovaného s peroxidázou a inkubováno po dobu 60 minut při pokojové teplotě. Po inkubaci byly destičky pětkrát promyty v TBS - Tween. Do každé jamky mikrotitrační destičky bylo aplikováno 50 ul chromogenního substrátu a inkubováno v temnu po dobu 30 minut při pokojové teplotě. Reakce byla zastavena přidáním 50 ul 2 mol/l kyseliny sírové (H₂SO₄) na 1 jamku. Optická hustota každé jamky byla stanovena pomocí automatického vertikálního spektrofotometru Titertek Multiscan MCC/340 (Flow Lab, Londýn, Velká Británie) při vlnové délce 492 nm. Základní optická hustota vzorků byla stanovena u všech patientských sér, ředěných 1: 50 v jamkách na identických mikrotitračních destičkách potažených metanolem, avšak bez fosfolipidů. Výsledky byly vyjádřeny v delta OD (optical density).

Pro detekci a kvantifikaci sérových antiannexinových protilátek v izotopech IgG a IgM byl použit komerčně vyráběný ELISA testy Anti-Annexin V(GA Generic Assays GmbH, Dahlewitz, Germany), výsledky byly vyjádřeny v U/ml. Antikardiolipinové protilátky (aCL) v izotopech IgG a IgM byly stanovovány pomocí komerčně vyráběného testu Anti-Cardiolipin IgG / IgM (Organtec Diagnostika GmbH, Mainz, Germany), výsledky byly vyjádřeny v jednotkách GPL a MPL U/ml pro aCL.

Anti β 2-glykoproteinové protilátky (anti β 2GPI) v izotopech IgG a IgA byly detekovány a kvantifikovány pomocí komerčně vyráběného testu Anti β 2-glykoprotein 1 ELISA (Euroimmun, Lubeck, Germany). Výsledky byly vyjádřeny v U/ml pro anti β 2GPI.

Tabulka 3 - Referenční cut-off hodnoty v delta optical density u jednotlivých aPL v IgG a IgM izotopu, vyšetřovaných homemade metodou ELISA

aPL proti:	IgG	IgM
kyselině fosfatidové	> 0,1	> 0,1
fosfatidylethanolaminu	> 0,1	> 0,1
fosfatidylinositolu	> 0,1	> 0,1
fosfatidyl-DL-glycerolu	> 0,1	> 0,1
fosfatidyl-L-serinu	> 0,1	> 0,1

Tabulka 4 - Referenční cut-off hodnoty jednotlivých aPL v IgG, IgM a IgA izotopech, vyšetřovaných komerčně vyráběnými sety

	IgG	IgM	IgA
aPL proti:	pozitivní	pozitivní	pozitivní
β 2 glykoproteinu I	> 20		> 10
annexinu V	> 18	> 18	
kardiolipinu	> 10	> 7	

4.3.2 Vyšetření krevního obrazu

Vyšetření krevního obrazu bylo provedeno v laboratořích Ústavu klinické biochemie a hematologie Fakultní nemocnice Plzeň.

4.4 Statistické zpracování

Pro analýzu dat jsme použili statistický program STATISTICA 9.0. (StatSoft, Tulsa-USA). Z hodnocených parametrů v celém souboru a v jednotlivých skupinách a kategoriích byly vypočítány základní statistické údaje: průměr, směrodatná odchylka, v relevantních případech rozptyl, medián, šikmost. Rozdíly mezi spojitými parametry byly testovány pomocí neparametrické analýzy rozptylu (ANOVA) s použitím Wilcoxonova testu (resp. Kruskal-Wallisova testu), pro nesymetrická data byl použit mediánový test. Kategorické proměnné byly hodnoceny prostřednictvím χ^2 - testu a Fisherova exaktního testu. Hladina významnosti $p < 0,05$ byla považována za statisticky významnou. Závislost mezi spojitými zkoumanými znaky byla testována pomocí Spearmanova korelačního koeficientu.

5 Výsledky

5.1 Soubory matek

Soubor aPL pozitivních matek tvořilo 31 žen s průměrným věkem 31,9 let (směrodatná odchylka - SD 4,29; rozmezí 27 - 41 let) a průměrným body mas indexem (BMI) 27,3 (SD 2,22). Tyto hodnoty se statisticky nelišily od údajů v souboru 23 aPL negativních matek, s průměrným věkem 33,1 let (SD 3,1; rozmezí 21 - 40 let) a průměrným BMI 28,3 (SD 2,01). Ženy v obou souborech se statisticky nelišily ani v parametrech rodinného stavu a dosaženého vzdělání.

aPL pozitivní soubor tvořilo 17 žen (54,8 %) s diagnózou primárního antifosfolipidového syndromu (2 ženy měly trombotický typ, 15 žen typ spojený s porodnickými komplikacemi) a 14 žen s jinými AD: 3 ženy (9,7 %) měly diagnostikovaný SLE, 2 ženy (6,4 %) revmatoidní artritida, 3 ženy (9,7 %) Sjögrenův syndrom, 4 ženy (12,9 %) roztroušenou sklerózu a 2 ženy (6,4 %) autoimunitní hemolytickou anémií.

Soubor aPL negativních žen tvořilo 23 matek s následujícími AD u 4 žen (17,3 %) byl prokázán SLE, u 5 žen (21,7 %) revmatoidní artritida, u 4 žen (17,3 %) Sjögrenův syndrom, u 3 žen (13,0 %) systémová sklerodermie, u 5 žen (21,7 %) roztroušená skleróza a u 2 žen (8,6 %) autoimunitní hemolytická anémie. Zastoupení jednotlivých diagnóz v souborech matek ukazuje **tabulka 5**.

Průměrná délka onemocnění byla u aPL pozitivních žen 6,6 let (SD 1,29; rozmezí 3 - 12 let), v souboru v aPL negativních žen 7,1 let (SD 2,1; rozmezí 2 - 10 let). V aPL pozitivním souboru matek mělo 6 žen (19,3 %) prokázáno pozitivní antinukleární protilátky (ANA) a 4 ženy (12,9 %) měly pozitivní panel protilátek proti extrahovatelným nukleárním antigenům (ENA panel). Pozitivní ANA protilátky byly detekovány u 4 žen (17,4 %) z aPL negativního souboru, pouze 1 žena (4,3 %) z tohoto souboru měla pozitivní ENA panel protilátek.

V aPL pozitivním souboru matek bylo 16 žen (51,6 %) léčeno podáváním nízkomolekulárních heparinů (LMWH - low molecular weight heparin) a 8 žen (25,8 %) užívalo kyselinu acetylsalicylovou v průměrné dávce 100 mg / den. aPL negativní ženy byly léčeny LMWH v 10 případech (43,4 %) a žádná z nich neužívala kyselinu acetylsalicylovou. Terapii nízkodávkovanými kortikoidy (max 10 mg prednisonu / den) užívalo v aPL pozitivním souboru 12 žen (38,8 %) a aPL negativním souboru 8 žen (34,7 %). V každém souboru matek byla 1 žena užívající azathioprin (2,6 %; 4,3 %) a 1 žena užívající hydroxychlorochin (2,6; 4,3 %).

Gravidita 16 žen (51,6 %) z aPL pozitivního souboru byla ukončena spontánním porodem a u 15 žen (48,3 %) bylo indikováno ukončení těhotenství císařským řezem. V aPL negativní skupině 11 žen (47,8 %) porodilo spontánně a u 12 žen (52,1%) byl proveden císařský řez. Mezi indikace, které vedly k operativnímu ukončení gravidity, patřily ve skupině aPL pozitivních žen: předčasný odtok plodové vody (premature rupture

of membráně - PROM) u 4 žen (26,6 %), hrozící hypoxie plodu u 6 žen (40,3 %), preeklampsie u 4 žen (26,6 %) a jiné - poloha plodu koncem pánevním u 1 ženy (6,5 %). V aPL negativním souboru porodily operativně 2 ženy (16,6 %) pro PROM, 3 ženy (25,2 %) pro hrozící hypoxii plodu, 2 ženy z indikace preeklampsie (16,6 %) a v 5 případech (41,6 %) byla gravidita ukončena císařským řezem z jiných důvodů (3 x stav po předchozím císařském řezu, 2 x nepostupující porod).

Statistickým zhodnocením parametrů bylo zjištěno, že skupiny aPL pozitivních a negativních matek se lišily pouze v průměrném počtu potratů na 1 ženu ($p < 0,01$) a v parametru léčba kyselinou salicylovou ($p < 0,01$). Demografické údaje žen bez AD jsou uvedeny spolu se všemi demografickými daty v souhrnné **tabulce 6**.

Ve srovnání se souborem aPL pozitivních matek byl u žen bez AD zjištěn signifikantně nižší průměrný počet potratů na 1 ženu ($p < 0,01$) a nižší incidence ukončení gravidity císařským řezem ($p < 0,01$).

Tabulka 5 - Diagnózy matek s autoimunitním onemocněním

	aPL pozitivní matky n - 31	aPL negativní matky n - 23
Antifosfolipidový syndrom	17 (54,8%)	0
SLE	3 (9,7%)	4 (17,3%)
Revmatoidní artritida	2 (6,4%)	5 (21,7%)
Sjögrenův syndrom	3 (9,7%)	4 (17,3%)
Sklerodermie	0	3 (13,0%)
Roztroušená skleróza	4 (12,9%)	5 (21,7%)
AIHA	2 (6,4%)	2 (8,6%)

Legenda: čísla udávají počet matek s jednotlivými diagnózami (v závorce je uvedeno procentuální zastoupení), n - celkový počet matek v jednotlivých skupinách

Tabulka 6 - Základní charakteristika jednotlivých souborů matek

	aPL pozitivní matky n - 31	aPL negativní matky n - 23	<i>p</i>	zdravé matky n - 30	<i>p</i> vs. aPL pozit.	<i>p</i> vs. aPL negat.
Průměrný věk (roky)	31,9 ± 4,3 (23-37)	32,9 ± 4,4 (26-47)	0,70 *	30,1 ± 4,1 (20-40)	0,35*	0,47 **
BMI (kg /m²)	27,3 ± 4,9	28,3 ± 4,2	0,52 *	26,5 ± 2,7	0,17*	0,1*
Vzdělání						
základní	3 (9,6 %)	5 (21,7 %)	0,42 *	7 (23,3 %)		
střední	16 (51,6 %)	13 (56,5 %)	0,37 *	17 (56,6 %)		
vysokoškolské	12 (38,7 %)	5 (21,7 %)	0,30 *	4 (13,3 %)		
Stav						
vdané	25 (65,8 %)	18 (78,3 %)	0,62 *	20 (66,6 %)		
svobodné	12 (31,6 %)	3 (13,0 %)	0,57 *	6 (20,0 %)		
rozvedené	1 (2,6%)	2 (8,7 %)	0,40 *	4 (13,3 %)		
Průměrný počet potratů /1 ženu	2,67	0,25	< 0,01*	0,06	< 0,01*	0,40*
Diagnóza						
APS	17 (54,8 %)	0		0		
ostatní AD	14 (45,2 %)	23 (100 %)		0		
délka onemocnění (roky)	6,6 ± 2,3 (2-12)	7,1 ± 2,1 (2-12)	<0,01***	0		
ANA protilátky	6 (19,3 %)	4 (17,4 %)	0,64 ***	-		
Pozitivní ENA panel	4 (12,9 %)	1(4,3 %)	0,71 ***	-		
Léčba						
LMWH)	16 (51,6 %)	10 (43,4 %)	0,27 ***	0		
kys. acetylsalicylová	8 (25,8 %)	0	<0,01 ***	0		
kortikoidy	12 (38,7%)	8 (34,7%)	0,24 ***	0		
imunosupresiva)	1 (2,6%)	1 (4,3 %)	0,51 *	0		
hydroxychlorochin	1 (2,6%)	1 (4,3 %)	0,64 *	0		
Způsob porodu						
spontánní (n)	16 (51,6 %)	11 (47,8%)	1,0 **	22 (73,3 %)	0,11**	0,09**
per sectio Caesarea	15(48,3 %)	12 (52,1%)	0,52 **	8(26,6 %)	<0,01**	0,26**
Indikace porodu per s.c.						
PROM	4(26,6 %)	2(16,6 %)	1,0 ***	0	0,11**	0,18**
hrozící hypoxie plodu	6(40,3 %)	3(25,2 %)	0,7 ***	1(3,3 %)	0,71**	0,30**
preeklampsie	4(26,6 %)	2 (16,6 %)	1,0 ***	0	<0,01**	0,08**
jiné	1(6,5 %)	5(41,6 %)	0,40 *	7 (23,3%)	0,03**	1,0**

Legenda: Čísla v parametrech: věk, BMI udávají průměrné hodnoty a směrodatné odchylky (čísla v závorkách rozmezí dané hodnoty); n - počet celkově vyšetřených pacientů; *p* - hladina významnosti (*-Wilcoxonův test, **- Fisherův exaktní test, ***- chi - square test).

Při hodnocení hladin jednotlivých analyzovaných antifosfolipidových protilátek u aPL pozitivních matek byla nejčastěji detekována protilátka proti fosfatidyl-L-serinu (13 žen; 42 %), a proti β 2 glykoproteinu I (12 žen; 38,7 %) v subtypu IgG, naopak nejméně často detekovanou protilátkou byla protilátka proti annexinu V (3 ženy; 9,6 %).

V testované skupině zdravých žen bez AD byla zastižena protilátka proti fosfatidyl-DL-glycerolu v subtypu IgG a IgM u jedné ženy (3,3 %), ostatní ženy byly negativní. Výsledky jsou uvedeny v **tabulce 7**.

Tabulka 7 - Počet žen s pozitivními hladinami jednotlivých analyzovaných aPL nad arbitrážně stanovenou hodnotu cut - off v jednotlivých souborech

aPL proti:	Matky aPL pozitivní n - 31		Matky aPL negativní n -23		Zdravé matky n - 30	
	IgG	IgM IgA	IgG	IgM IgA	IgG	IgM IgA
kyselině fosfatidové	6 / 31	0 / 31	0 / 23	0 / 24	0/30	0/30
fosfatidylethanolaminu	6 / 31	1 / 31	0 / 23	0 / 23	0/30	0/30
fosfatidylinositolu	9 / 31	1 / 31	0 / 23	0 / 23	0/30	0/30
fosfatidyl-DL-glycerolu	5 / 31	1 / 31	0 / 23	0 / 23	1/30	1/30
fosfatidyl-L-serinu	13 / 31	3 / 31	0 / 23	0 / 23	0/30	0/30
kardiolipinu	9 / 31	3 / 31	0 / 23	0 / 23	0/30	0/30
annexinu V	3 / 31	4 / 31	0 / 23	0 / 23	0/30	0/30
β 2 glykoproteinu I	12 / 31	6/31	0 / 23	0 / 23	0/30	0/30

Při hodnocení kvantitativního stanovení hladin všech jednotlivých aPL v subtypech IgG mezi skupinami aPL pozitivních a zdravých matek byl zjištěn statisticky signifikantní rozdíl ($p < 0,01$) s výjimkou protilátky proti fosfatidyl-DL-glycerolu.

Porovnáním kvantitativních hladin všech jednotlivých aPL v subtypu IgM jsme našli statisticky významnou diferenci u protilátky proti kardiolipinu ($p < 0,05$) a u protilátky proti β 2 glykoproteinu I v subtypu IgA ($p < 0,01$), **tabulka 8**. Porovnání kvantitativních hladin jednotlivých aPL pomocí Wilcoxonova testu v souboru aPL negativních žen a zdravých matek neukázalo statisticky významné rozdíly.

Tabulka 8-Srovnání kvantitativních hodnot jednotlivých analyzovaných aPL v souborech aPL pozitivních matek a zdravých matek

	Ženy aPL pozitivní				Zdravé ženy				p
	průměr	SD	median	IR	průměr	SD	median	IR	
aPL proti:									
kyselíné fosfatidové IgG	0,11	0,15	0,07	0,04-0,09	0,02	0,01	0,01	0,01-0,02	< 0,001
IgM	0,09	0,23	0,05	0,02-0,07	0,02	0,04	0,01	0,01-0,02	0,6
fosfatidylethanolaminiu IgG	0,13	0,22	0,05	0,04-0,08	0,02	0,01	0,01	0,01-0,02	< 0,002
IgM	0,05	0,08	0,03	0,01-0,07	0,02	0,03	0,01	0,01-0,02	0,4
fosfatidylinositolu IgG	0,15	0,23	0,05	0,03-0,20	0,01	0,02	0,08	0,002-0,03	< 0,001
IgM	0,09	0,16	0,07	0,03-0,08	0,01	0,01	0,01	0,003-0,01	0,5
fosfatidylglycerolu IgG	0,14	0,22	0,07	0,01-0,09	0,02	0,06	0,01	0,008-0,01	0,10
IgM	0,15	0,24	0,03	0,03-0,09	0,02	0,03	0,01	0,008-0,02	0,10
fosfatidylserinu IgG	0,20	0,21	0,09	0,02-0,35	0,08	0,14	0,05	0,02-0,08	< 0,01
IgM	0,05	0,06	0,03	0,02-0,07	0,03	0,03	0,03	0,01-0,05	1,0
kardiolipinu IgG	12,60	16,4	2,51	1,80-27,2	1,90	0,65	2,51	1,80-27,2	< 0,001
IgM	5,11	9,94	1,51	1,07-2,57	0,8	0,77	0,86	0,02-1,49	< 0,05
annexinu V IgG	7,18	19,9	2,24	0,90-4,79	1,08	0,83	0,28	0,28-1,24	< 0,004
IgM	1,43	6,26	1,29	0,22-3,20	0,95	0,94	0,79	0,23-1,24	0,2
β2 glykoproteinu I IgG	11,24	11,2	3,46	1,46-23,2	2,21	1,81	1,52	1,22-2,21	< 0,01
IgA	12,07	30,5	2,31	1,52-8,26	2,8	2,7	1,89	1,21-3,24	< 0,01

Legenda:SD-směrodatná odchylka,IR-interkvartilové rozmezí; p-hladina významnosti

5.2 Soubory novorozenců

5.2.1 Porodní údaje a poporodní adaptace

Do skupiny novorozenců aPL pozitivních matek bylo zařazeno celkem 34 dětí, u kterých byla po porodu detekována nejméně jedna pozitivní aPL protilátka. Soubor tvořilo 13 dívek (38,2 %) a 21 chlapců (61,7 %). Průměrný gestační věk novorozenců činil 36,6 týdnů (rozmezí 24+1 - 41+1; SD 4,5), 10 dětí (29,4 %) bylo nedonošených. Průměrná porodní hmotnost dětí byla 2751 gramů (rozmezí 580 - 4270 g, SD 962), 4 děti měly porodní hmotnost pod 1500 g. Průměrná porodní délka činila 46,5 centimetrů (rozmezí 30 - 53 cm; SD 6,6), při vyšetření frontokcipitálního obvodu lbi byla nalezena průměrná hodnota 32,3 centimetrů (rozmezí 21,5 - 37 cm; SD 4,0).

Soubor novorozenců aPL negativních matek byl sestaven z 10 dívek (41,6 %) a 14 chlapců (58,3 %). Jejich průměrné gestační stáří bylo 37,0 týdnů (rozmezí 26+4-41+0; SD 3,9). Počet dětí narozených pod hranicí donošenosti činil 5 (10,8 %). Průměrná porodní hmotnost aPL negativních dětí byla 3150 gramů (rozmezí 2980-4210 g; SD 833), 4 děti měly porodní hmotnost pod 1500g. Při hodnocení průměrné porodní délky dětí byla zjištěna hodnota 46,3 centimetrů (rozmezí 31-52 cm; SD 3,1). Měřením frontokcipitálního obvodu lbi byla nalezena průměrná hodnota 33,0 centimetrů (rozmezí 23,0 - 37 cm; SD 4,0). Ve výše uvedených demografických údajích nebyly mezi soubory nalezeny statisticky významné rozdíly.

V souboru aPL pozitivních novorozenců činilo průměrné skóre Apgarové v 1 minutě 9,0, v 5. minutě 9,4 a v 10. minutě 9,6; průměrné pupečnickové pH bylo 7,1 (SD 1,26). v souboru aPL negativních novorozenců dosáhlo průměrné skóre Apgarové v daných časových intervalech 8,9-9,3-9,5, průměrná hodnota pupečnickového pH byla 7,3 (SD 0). Porucha poporodní adaptace s nutností resuscitace na porodním sále byla v souboru aPL pozitivních novorozenců přítomna u 3 dětí (8,8 %), v 2. skupině u 1 novorozence (4,1 %). Soubor novorozenců žen bez AD byl tvořen 30 donošenými novorozenci, z nichž 14 bylo dívek (46,6 %) a 16 chlapců (53,3 %). Jejich porodní antropometrické údaje jsou spolu s výše uvedenými hodnotami sumarizovány v **tabulce 9**.

Tabulka 9 - Základní charakteristiky jednotlivých souborů dětí

	novorozenci aPL pozitivních matek n - 34	novorozenci aPL negativních matek n - 24	P	novorozenci zdravých matek n - 30
Dívky	13(38,2%)	10 (41,6%)	0,79	14 (46,6%)
Chlapci	21(61,7%)	14 (58,3%)	0,65	16 (53,3%)
Gestační věk (týdny)	ø 36,6 ± 4,5 (24+1 – 41+1)	ø 37,0 ± 3,9 (26+4 – 41+0)	0,94	ø 39,2 ± 0,8 (38+1 – 41+0)
Počet nedonošených dětí	10 (29,4%)	5(10,8%)	0,46	0
Porodní hmotnost (g)	ø 2751 ± 962 (580 – 4270)	ø 2798 ± 833 (860 – 4000)	0,98	ø 3150 ± 833 (2980 – 4210)
Počet hypotrofických dětí	6 (17,6 %)	4 (16,6 %)	0,72	1(3,3 %)
Porodní délka(cm)	ø 46,5 ± 6,6 (30 – 53)	ø 46,3 ± 5,3 (31 – 52)	0,43	46,3 ± 5,3 (31 – 52)
Obvod hlavy (cm)	ø 32,3 ± 4,0 (21,5-37,0)	ø 33,0 ± 3,1 (23,0-36,0)	0,34	ø 34,0 ± 3,1 (32,0-38,0)
Apgar skóre v 1-5-10 min	9,0-9,4-9,6	8,9-9,3-9,5	0,25	10-10-10
Pupečníkové pH	7,1±1,26	7,3 ± 0	0,49	7,4 ± 0,5
Porucha poporodní adaptace	3 (8,8 %)	1 (4,1%)	0,43	0

Legenda: čísla v parametrech: gestační věk, porodní hmotnost, porodní délka, obvod hlavy, pupečnickové pH udávají průměrné hodnoty a směrodatné odchylky (čísla v závorkách zobrazují rozmezí dané hodnoty); čísla u parametru Apgar skóre udávají průměrné hodnoty v daných minutách
n - počet celkově vyšetřených pacientů; *p* - hladina významnosti při srovnání souborů novorozenců aPL pozitivních a aPL negativních matek

5.2.2 Hodnocení krevního obrazu novorozenců

Při hodnocení krevního obrazu veskupině novorozenců aPL pozitivních matek jsme našli střední hodnotu hemoglobinu 174,6 g/ l (SD 40) a střední hodnota hematokritu činila 52,9 % (SD 5,9). V této skupině byla kritéria pro anémii splněna u 3 dětí (8,8 %).

Střední hodnota hemoglobinu u novorozenců aPL negativních matek byla 181,8 g/ l (SD 24,9) a střední hodnota hematokritu 55,9 % (SD 5,6). Kriterium anémie nesplnil žádný novorozenec.

Střední hodnota leukocytů v první skupině dětí činila $17,8 \times 10^9 / l$ (SD 8,4), střední hodnota neutrofilních granulocytů byla $7,8 \times 10^9 / l$ (SD 4,2). Parametry leukopenie a neutropenie splnil v této skupině 1 pacient (2,9 %). Ve skupině dětí aPL negativních matek

jsme našli průměrnou hodnotu leukocytů $15,9 \times 10^9/l$ (SD 8,3) a neutrofilních granulocytů $9,7 \times 10^9/l$ (SD 4,7). V této skupině jsme nenalezli leukopenii ani neutropenii u žádného z novorozenců.

Při hodnocení trombocytů v první skupině dětí jsme našli jejich střední hodnotu $243,9 \times 10^9/l$ (SD 60), u 4 (11,7 %) novorozenců jsme diagnostikovali trombopenii pod $150 \times 10^9/l$. Průměrná hodnota trombocytů v druhé skupině činila $216,2 \times 10^9/l$ (SD 78,4), u žádného novorozence nebyla prokázána trombopenie.

Ve zmíněných hodnotách hemoglobinu, hematokritu, leukocytů, neutrofilních granulocytů a trombocytů jsme nenalezli statisticky významné rozdíly mezi oběma skupinami novorozenců. Výsledky hematologických parametrů jsou sumarizovány v **tabulce 10**.

Tabulka 10 - Parametry krevního obrazu u novorozenců aPL pozitivních a negativních matek

	novorozenci aPL pozitivních matek n - 34	novorozenci aPL negativních matek n - 24	<i>P</i>
Hemoglobin(g/l)	174,6 ± 40	181,8 ± 24,9	0,64
Hematokrit (%)	52,9 ± 5,9	55,9 ± 5,6	0,32
Leukocyty($\times 10^9/l$)	17,8 ± 8,4	15,9 ± 8,3	0,39
Neutrofilní granulocyty($\times 10^9/l$)	7,8 ± 4,2	9,7 ± 4,7	0,19
Trombocyty($\times 10^9/l$)	243,9 ± 60	216,2 ± 78,4	0,29

Legenda: Čísla v jednotlivých parametrech uvádějí průměrné hodnoty a směrodatnou odchylku; n - počet celkově vyšetřených pacientů; *p* - hladina významnosti

5.2.3 Hodnocení vyšetření elektrokardiografického vyšetření (EKG) u novorozenců

Při hodnocení EKG u obou skupin novorozenců jsme mezi průměrnými hodnotami srdeční frekvence v obou souborech nenalezli významný rozdíl; u žádného novorozence nebyla zaznamenána bradykardie. V souboru novorozenců aPL pozitivních matek činila průměrná hodnota PR intervalu 107 ms (SD 24). Novorozenci aPL negativních matek měli průměrnou hodnotu zmíněného intervalu 112 ms (SD 19).

U žádného z novorozenců jsme nezjistili blok I. stupně, charakterizovaný prodloužením PR intervalu nad 140 ms. Měřením QTc intervalu byla u první skupiny novorozenců nalezena průměrná hodnota 417 ms (SD 17), která se statisticky nelišila od průměrné hodnoty skupiny novorozenců aPL negativních matek, která činila 420 ms (SD 23). Patologická hodnota QTc intervalu, stanovená nad 440 ms, nebyla detekována ani u jednoho vyšetřovaných dětí. Hodnoty vybraných EKG parametrů zobrazuje **tabulka 11**.

Tabulka 11 - Hodnoty elektrokardiografických parametrů (srdeční frekvence, intervalu PR a intervalu QTc) u novorozenců aPL pozitivních a aPL negativních matek

	novorozenci aPL pozitivních matek n - 34	novorozenci aPL negativních matek n - 24	P
Srdeční frekvence /min	151 ± 13	145 ± 12	0,89
PR interval (ms)	107 ± 24	112 ± 19	0,78
PR interval ≥140 ms	0	0	
QTc interval (ms)	417 ± 17	420 ± 23	0,76
QTc interval ≥440 ms	0	0	

Legenda: Čísla v parametrech: srdeční frekvence, PR interval a QTc interval uvádějí průměrné hodnoty a směrodatnou odchylku; n - počet celkově vyšetřených pacientů; p - hladina významnosti

5.2.4 Hodnocení vyšetření transienčních evokovaných otoakustických emisí (TEOAE), ultrasonografie (USG) a klinického nálezu novorozenců při propuštění

Při propuštění z porodnice byla u skupiny novorozenců aPL pozitivních matek zjištěna u 4 dětí (11,7 %) nevybavitelnost TEOAE, u druhé skupiny novorozenců jsme TEOAE neprokázali u 5 dětí (20,3 %).

Abnormální sonografické nálezy CNS jsme prokázali u 6 dětí (17,6 %) aPL pozitivních matek. U 1 pacienta jsme detekovali intraventrikulární krvácení II. stupně bilaterálně, u 3 dětí jsme našli subependymální hemorhagie a u 2 novorozenců subependymální cesty. Ve skupině novorozenců aPL negativních matek jsme v 1 případě (12,5 %) našli subependymální cesty. Sonografickým vyšetřením nitrobršních orgánů jsme u obou skupin dětí neprokázali patologický nález.

Zhodnocením neurologického stavu dětí jsme v prvním souboru odhalili v 8 případech (23,5 %) centrální tonusovou poruchu, která vyžadovala celkovou rehabilitaci, v druhém souboru jsme zmíněnou odchylku našli u 3 novorozenců (12,5 %). Přítomnost arteriální či venózní trombotické příhody nebyla detekována ani u jednoho novorozence z obou souborů. Zmíněné údaje ukazuje **tabulka 12**.

Tabulka 12 - Výsledky vyšetření novorozenců aPL pozitivních a aPL negativních matek při propuštění z porodnice

	novorozenci aPL pozitivních matek n - 34	novorozenci aPL negativních matek n - 24	P
Nevybavitelnost TEOAE	4 (11,7 %)	5 (20,3 %)	0,46
Abnormální USG	6 (17,6 %)	1 (4,1 %)	0,06
Abnormální USG nitrobřišních orgánů	0	0	
Centrální tonusová porucha	8 (23,5 %)	3 (12,5 %)	0,29
Arteriální / venózní trombóza	0	0	

Legenda: n - celkový počet vyšetřených pacientů; p - hladina významnosti

V rámci hodnocení časné závažné morbidity novorozenců jsme prokázali v obou skupinách shodný výskyt RDS (4 novorozenci v obou souborech), sepse (1 novorozenec v obou souborech) a nekrotizující enterokolitis (1 novorozenec v obou souborech). Bronchopulmonální dysplazii jsme diagnostikovali pouze v souboru novorozenců aPL pozitivních matek u 1 probanda. Další monitorované klinické jednotky - intraventrikulární hemoragie III. a vyššího stupně, cystická periventrikulární leukomalacie a retinopatie nedonošených - nebyly nalezeny u žádného z novorozenců. Výsledky, které zobrazuje **tabulka 13**, se mezi skupinami se statisticky nelišily.

Tabulka 13 - Ukazatelé časné závažné morbidity u novorozenců s hmotností pod 1500 g aPL pozitivních a aPL negativních matek

	novorozenci aPL pozitivních matek n - 34	novorozenci aPL negativních matek n - 24	P
Respiratory distress syndrom	4 (11,7 %)	4 (16,6 %)	0,43
Bronchopulmonální dysplazie	1 (2,9 %)	0	0,75
Sepse	1 (2,9 %)	1 (4,1 %)	0,26
Nekrotizující enterokolitida	1 (2,9 %)	1 (4,1 %)	0,29

Legenda: n - celkový počet vyšetřených pacientů; p - hladina významnosti

5.2.5 Hodnocení follow - up dětí ve věku 6, 12 a 24 měsíců

V 6 měsících v souboru dětí aPL pozitivních matek měli 4 probandi (11,7 %) hmotnost pod 2 SD a u 3 dětí (8,8 %) jsme našli hodnoty tělesné délky a frontooccipitálního obvodu lbi pod 2 SD. Hodnoty hmotnosti, tělesné délky a frontooccipitálního obvodu lbi pod 2 SD v souboru dětí aPL negativních matek byly prokázány ve 2 případech (8,4 %).

V daném období jsme u 8 dětí (23,5 %) z 1. skupiny diagnostikovali centrální tonusovou poruchu, v 2. skupině mělo zmíněnou poruchu 5 dětí (20,8 %). Porucha sluchu nebyla prokázána u žádného z dětí v obou vyšetřovaných skupinách. Kontrolní USG CNS u 7 dětí se zjištěnými abnormálními nálezy po porodu bylo již bez patologie.

U 3 (8,8 %) dětí aPL pozitivních matek byla indikována rehospitalizace (1x pro neprospívání, 2x pro respirační infekt s febriliemi). U 1 dítěte (2,9 %) z této skupiny byla diagnostikována atopická dermatitida, která byla stanovena i u 1 probanda (4,2 %) z aPL negativní skupiny.

Při kontrole v 12 měsících věku jsme v první detekovali 3 děti (8,8 %) s tělesnou hmotností a délkou pod 2 SD, obvod lbi nižší než 2 SD byl potvrzen u 2 (5,8 %) dětí. V skupině dětí aPL negativních matek jsme hodnoty hmotnosti a tělesné délky pod 2 SD zaznamenali u 1 dítěte (4,2 %), obvod lbi nižší než 2 SD měly 2 děti (8,4 %).

Centrální tonusová porucha, vyžadující přechodně celkovou rehabilitaci, byla v aPL pozitivní skupině přítomna u 4 dětí (11,7 %), v aPL negativní skupině u 3 dětí (12,5 %). V daném období byly opětovně hospitalizovány 3 (8,8 %) děti z aPL pozitivní skupiny pro respirační infekty. Projevy atopické dermatitidy byl v první skupině přítomny u 2 dětí (5,8 %), v aPL negativní skupině u 5 dětí (20,5 %) - 3 děti měly diagnostikovanu atopickou dermatitidu, 2 děti recidivující obstruktivní bronchitidu.

Při hodnocení antropometrických údajů v 24 měsících jsme našli shodně v obou skupinách 2 děti (5,8 % ; 8,4 %) s tělesnou hmotností a délkou pod 2 SD. Měřením frontookcipitálního obvodu lbi jsme prokázali u 6 dětí (17,6 %) v aPL pozitivní skupině hodnoty pod 2 SD, v aPL negativní skupině jsme tuto odchylku nenalezli. U žádného z dětí v obou skupinách nebyla již prokázána centrální tonusová porucha.

V aPL pozitivní skupině muselo být rehospitalizováno 1 dítě pro obstruktivní bronchitidu, u 3 dětí (8,8 %) byly přítomny projevy alergie / atopie (1 dítě recidivující obstruktivní bronchitidy, 2 děti atopická dermatitida). V aPL negativní skupině si zdravotní stav dětí nevyžádal žádnou hospitalizaci v celém sledovaném období a projevy alergie / atopie byly nalezeny u 5 stejných dětí (20,5 %) jako v předchozím období.

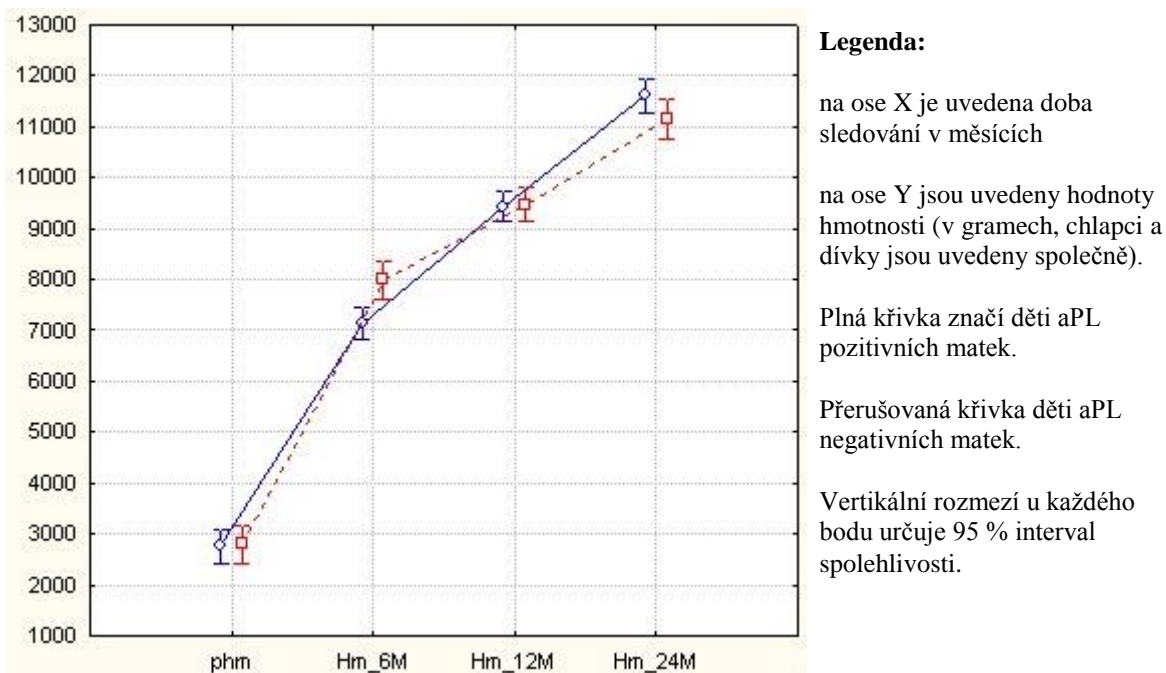
Během 24 měsíčního sledování jsme u žádného z dětí neobjevili trombotickou příhodu ani projevy neonatálního SLE. Výše uvedená data jsou přehledně zobrazena v **tabulce 14**.

Tabulka 14-Výsledky follow-up dětí aPL pozitivních a aPL negativních matek v 6, 12 a 24 měsících

	dětí aPL pozitivních matek n - 34			dětí aPL negativních matek n - 24		
	6měs	12 měs	24 měs	6 měs	12 měs	24 měs
Hmotnost ± 2 SD	4 (11,7%)	3 (8,8%)	2 (5,8%)	2 (8,4%)	1 (4,2%)	2 (8,4%)
Tělesná délka ± 2 SD	3 (8,8%)	3 (8,8%)	2 (5,8%)	2 (8,4%)	1 (4,2%)	2 (8,4%)
Obvod hlavy ± 2 SD	3 (8,8%)	2 (5,8%)	6 (17,6%)	2 (8,4%)	1 (4,2%)	0
Centrální tonusová porucha	8 (23,5%)	4 (11,7%)	0	5 (20,8%)	3 (12,5%)	0
Porucha sluchu	0	0	0	0	0	0
Arteriální/venózní trombóza	0	0	0	0	0	0
Rehospitalizace	3 (8,8%)	3 (8,8%)	1 (2,9%)	0	0	0
Projevy alergie/atopie	1 (2,9%)	2 (5,8%)	3 (8,8%)	1 (4,2%)	5 (20,8%)	5 (20,8%)

Legenda: čísla u parametrů hmotnost, tělesná délka, obvod hlavy vyjadřují počty pacientů, jejichž antropometrické údaje se lišily o 2 SD od hodnoty pro daný věk (v závorce procentuální zastoupení); v ostatních parametrech udávají čísla počet pacientů s pozitivními nálezy (v závorce procentuální zastoupení), n - celkový počet vyšetřených pacientů

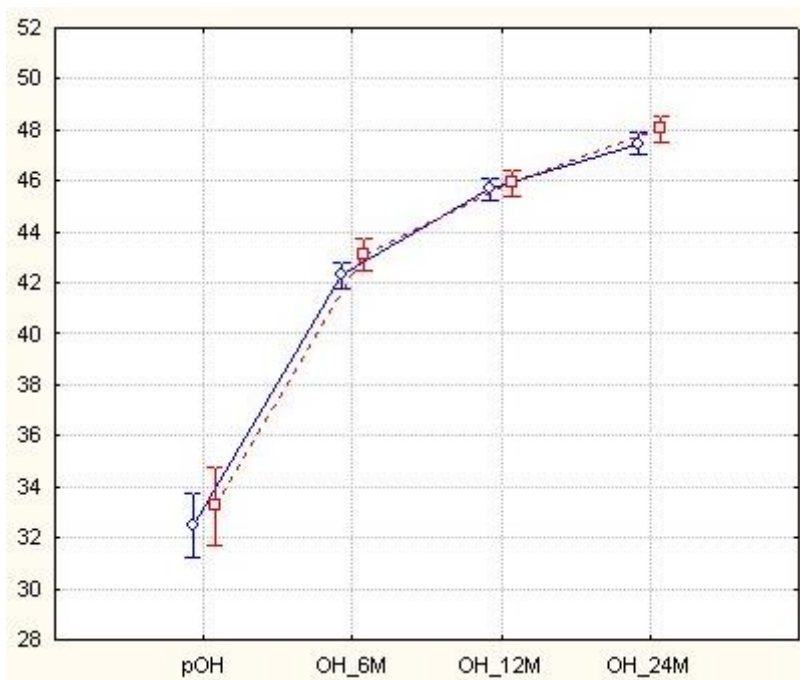
Při statistickém hodnocení vývoje hmotnosti jsme v 6 měsících věku našli statisticky signifikantní rozdíl mezi sledovanými skupinami ($p < 0,004$), při hodnocení zmíněného parametru ve 12 a 24 měsících již tento rozdíl prokázán nebyl ($p=0,94$ a $p=0,12$). Grafické hodnocení vývoje hmotnosti ukazuje **obrázek 1**.



Obrázek 1 - Srovnání vývoje hmotnosti dětí aPL pozitivních a aPL negativních matek během 24-měsíčního follow-up

Při hodnocení vývoje tělesné délky jsme neprokázali statisticky významné rozdíly v hodnocených obdobích (v době porodu $p=0,43$, v 6 měsících věku $p=0,56$, ve 12 měsících $p=0,33$, a ve 24 měsících $p=0,44$).

Při analýze vývoje obvodu lbi jsme v 6 měsících pozorovali statisticky významný rozdíl ($p=0,03$), avšak v dalším vývoji se hodnoty sledovaného parametru již významně nelišily (ve 12 měsících $p=0,25$, ve 24 měsících $p=0,07$). Uvedená data ilustruje **obrázek 2**.



Legenda:

na ose X je uvedena doba sledování v měsících,

na ose Y jsou uvedeny hodnoty obvodu lbi (v centimetrech, chlapci a dívky jsou uvedeni společně).

Plná křivka značí aPL pozitivní děti.

Přerušovaná křivka značí aPL negativní děti.

Vertikální rozmezí u každého bodu určuje 95% interval spolehlivosti.

Obrázek 2 - Srovnání vývoje obvodu lbi dětí aPL pozitivních a aPL negativních matek během 24-měsíčního follow-up

5.2.6 Hodnocení detekce antifosfolipidových protilátek u novorozenců po porodu

Z původně narozených novorozenců všem aPL pozitivním matkám (82 dětí) jsme u 34 dětí (41,4 %) prokázali transplacentární přenos protilátek po porodu.

Nejčastěji detekovanou protilátkou v souboru novorozenců aPL pozitivních matek byla protilátka proti fosfatidyl-L-serinu IgG u 11 dětí (32,3 %), následovaná aPL proti β 2GPI v subtypu IgG u 10 dětí (29,4 %) a protilátkou proti kardiolipinu a fosfatidylinositolu v subtypu IgG - shodně u 7 dětí (20,5 %). První stanovení hladin aPL po porodu v jednotlivých souborech novorozenců je přehledně zobrazeno v **tabulce 15**.

Tabulka 15 - Počet novorozenců v jednotlivých souborech s pozitivními hladinami analyzovaných aPL nad arbitrážně stanovenou hodnotu cut-off

aPL proti:	novorozenci aPL pozitivních matek n - 34		novorozenci aPL negativních matek n - 24		novorozenci zdravých matek n - 30	
	IgG	IgM IgA	IgG	IgM IgA	IgG	IgM IgA
kyselině fosfatidové	4 / 34	0 / 34	0 / 24	0 / 24	0/30	0/30
fosfatidylethanolaminu	4 / 34	0 / 34	0 / 24	0 / 24	0/30	0/30
fosfatidylinositolu	7 / 34	0 / 34	0 / 24	0 / 24	0/30	0/30
fosfatidyl-DL-glycerolu	2 / 34	0 / 34	0 / 24	0 / 24	0/30	1/30
fosfatidyl-L-serinu	11 / 34	0 / 34	0 / 24	0 / 24	0/30	0/30
kardiolipinu	7 / 34	0 / 34	0 / 24	0 / 24	0/30	0/30
annexinu V	1 / 34	0 / 34	0 / 24	0 / 24	0/30	0/30
β2 glykoproteinu I	10/ 34	0/34	0 / 24	0/24	0/30	0/30
Počet dětí s 1pozitivní aPL	34/34	0/34	0/24	0/24	0/30	1/30

5.2.7 Hodnocení detekce antifosfolipidových protilátek u dětí ve věku 6 a 12 měsíců

V 6 měsících jsme v souboru dětí aPL pozitivních matek detekovali perzistující aPL v subtypu IgG u 13 dětí (38,2 %). Nejčastěji byla nalezena protilátka proti β2GPI (6 dětí; 17,6 %), ve 12 měsících perzistovaly stejné aPL ještě u 2 dětí (5,8 %).

Novotvorbu aPL v subtypu IgG jsme prokázali u 6 dětí (17,6 %) v 6 měsících a u 9 dětí (26,5 %) ve 12 měsících.

V subtypu IgM jsme v daných obdobích neprokázali žádnou pozitivitu vyšetřovaných aPL. Protilátky proti β2GPI v subtypu IgA byly nově nalezeny u 4 dětí (11,7 %) v 6 měsících a u 2 dětí (5,8 %) ve 12 měsících věku. Zmíněná data jsou přehledně zobrazena v **tabulce 16 a 17**.

Tabulka 16 - Počet novorozenců aPL pozitivních matek s pozitivními hladinami analyzovaných aPL v subtypu IgG nad arbitrážně stanovenou hodnotu cut-off po porodu, v 6 a 12 měsících

	Porod	6 měsíců		12 měsíců	
	n - 34	n - 34		n - 34	
aPL proti:		perzistující	de novo	perzistující	de novo
kyselině fosfatidové	4/34	0/34	1/34	0/34	3/34
fosfatidylethanolaminu	4/34	2/34	0/34	0/34	3/34
fosfatidylinositolu	7/34	3/34	1/34	1/34	0/34
fosfatidyl-DL-glycerolu	2/34	2/34	0/34	0/34	0/34
fosfatidyl-L-serinu	11/34	2/34	1/34	1/34	0/34
kardiolipinu	7/34	3/34	1/34	1/34	0/34
annexinu V	1/34	0/34	0/34	0/34	0/34
β2 glykoproteinu I	10/34	6/34	2/34	1/34	3/34
Počet dětí s 1 pozitivní aPL	34/34	13/34	6/34	2/34	9/34

Tabulka 17 - Počet novorozenců aPL pozitivních matek s pozitivními hladinami analyzovaných aPL v subtypu IgM/A nad arbitrážně stanovenou hodnotu cut-off po porodu, v 6 a 12 měsících

	Porod	6 měsíců		12 měsíců	
	n - 34	n - 34		n - 34	
aPL proti:		perzistující	de novo	perzistující	de novo
kyselině fosfatidové	0/34	0/34	0/34	0/34	0/34
fosfatidylethanolaminu	0/34	0/34	0/34	0/34	0/34
fosfatidylinositolu	0/34	0/34	0/34	0/34	0/34
fosfatidyl-DL-glycerolu	0/34	0/34	0/34	0/34	0/34
fosfatidyl-L-serinu	0/34	0/34	0/34	0/34	0/34
kardiolipinu	0/34	0/34	0/34	0/34	0/34
annexinu V	0/34	0/34	0/34	0/34	0/34
β2 glykoproteinu I (IgA)	0/34	0/34	4/34	0/34	2/34
Počet dětí s 1 pozitivní aPL	0/34	0/34	4/34	0/34	2/34

Při hodnocení vývoje protilátek v souboru dětí aPL negativních matek jsme v 6 měsících věku nově detekovali u 3 dětí (12,5 %) pozitivní aPL v subtypu IgG a ve 12 měsících u 4 dětí (16,8 %). Nejčastěji se jednalo o protilátku proti β2GPI. Výsledky jsou prezentovány v **tabulce 18**. V subtypech IgM a IgA jsme neprokázali pozitivitu aPL v žádném věkovém období u tohoto souboru dětí.

Tabulka 18 - Počet novorozenců aPL negativních matek s pozitivními hladinami analyzovaných aPL v subtypu IgG nad arbitrážně stanovenou hodnotu cut-off po porodu, v 6 a 12 měsících

	Porod	6 měsíců		12 měsíců	
	n - 24	n - 24		n - 24	
aPL proti:		perzistující	de novo	perzistující	de novo
kyselině fosfatidové	0/24	0/24	0/34	0/24	0/34
fosfatidylethanolaminu	0/24	0/24	0/34	0/24	0/34
fosfatidylinositolu	0/24	0/24	0/34	0/24	0/34
fosfatidyl-DL-glycerolu	0/24	0/24	0/34	0/24	0/34
fosfatidyl-L-serinu	0/24	0/24	0/34	0/24	1/34
kardiolipinu	0/24	0/24	1/34	0/24	1/34
annexinu V	0/24	0/24	0/34	0/24	0/34
β2 glykoproteinu I	0/24	0/24	2/34	0/24	2/34
Počet dětí s 1pozitivní aPL	0/24	0/24	3/24	0/24	4/34

Vyšetřením hladin aPL v subtypu IgG po porodu u dětí zdravých matek byla u 1 novorozence (3,3 %) detekována aPL proti fosfatidylglycerolu. V souboru dětí matek bez AD jsme v 6 měsících u 2 dětí (6,6 %) našli pozitivní hladiny aPL proti β2GPI v IgA a ve 12 měsících jsme prokázali pozitivitu u 4 dětí (13,3 %) rovněž u aPL proti β2GPI v IgG a IgA subtypech. Hladiny aPL protilátek v subtypu IgM byly ve zmíněných souborech negativní ve všech časových obdobích. Hodnoty jsou sumarizovány v **tabulce 19**.

Tabulka 19 - Počet novorozenců zdravých matek s pozitivními hladinami analyzovaných aPL v subtypu IgG/ IgA nad arbitrážně stanovenou hodnotu cut-off po porodu, v 6 a 12 měsících

	Porod	6 měsíců	12 měsíců
	n - 30	n - 30	n - 30
aPL proti:		de novo	de novo
kyselině fosfatidové	0/30	0/30	0/30
fosfatidylethanolaminu	0/30	0/30	0/30
fosfatidylinositolu	0/30	0/30	0/30
fosfatidyl-DL-glycerolu	1/30	0/30	0/30
fosfatidyl-L-serinu	0/30	0/30	0/30
kardiolipinu	0/30	0/30	0/30
annexinu V	0/30	0/30	0/30
β2 glykoproteinu I	0/30	0/30	2/30
β2 glykoproteinu I(IgA)	0/30	2/30	2/30
Počet dětí s 1pozitivní aPL	1/30	2/30	4/30

5.2.8 Výsledky psychologického vyšetření dětí ve 24 měsících věku

Závěrečnou ambulantní kontrolu dětí jsme doplnili psychologickým vyšetřením ve 24 měsících korigovaného věku, provedeným klinickým psychologem.

Tabulka 20 ukazuje průměrné hodnoty průměrného mentálního indexu (MVI) a psychomotorického indexu (PVI) u obou skupin dětí. U dětí aPL pozitivních matek byl průměrný MVI 86,3 (SD 12,9) a průměrný PVI 90,3 (SD 16,1). Tento rozdíl byl statisticky signifikantní ($p < 0,01$).

U potomků aPL negativních matek dosáhla průměrná hodnota MVI 97,9 (SD 11,1) a průměrná hodnota PVI činila 97,4 (SD 11,9). Tento rozdíl nebyl statisticky významný.

Tabulka 20 - Průměrný MVI a PVI dětí aPL pozitivních a aPL negativních matek v 24 měsících korigovaného věku

	děti aPL pozitivních matek n - 34	děti aPL negativních matek n - 24	<i>p</i>
MVI	86,3 (12,9)	97,9 (11,1)	< 0,01
PVI	90,3 (16,1)	97,4 (11,9)	0,056

Legenda: Čísla udávají průměrné hodnoty vyšetřovaných parametrů, v závorce jsou uvedeny směrodatné odchylky. n - počet celkově vyšetřených pacientů; *p* - hladina významnosti (k hodnocení užit Wilcoxonův test).

Při hodnocení mentálního vývojového indexu (MVI) ve skupině dětí aPL pozitivních matek jsme 22 dětí (64,7 %) zařadili do pásma normy, u druhé skupiny jsme do pásma normy začlenili 20 (83,3 %) dětí. Do pásma lehkého opoždění jsme zařadili 6 (17,6 %) dětí aPL pozitivních matek a 4 (17,6 %) dětí aPL negativních matek.

V pásmu středního opoždění bylo v aPL pozitivní skupině přítomno 6 (17,6 %) dětí, v aPL negativní skupině tato kritéria nesplnil žádný proband. Dle Fisherova exaktního testu jsme našli statisticky významný rozdíl v četnosti zkoumaného parametru mezi sledovanými skupinami jen v pásmu středního opoždění ($p < 0,03$).

Hodnotu MVI pod 50, signalizující vážné opoždění, jsme neprokázali u žádného probanda z obou sledovaných skupin.

Při vyšetřování psychomotorického vývojového indexu (PVI) splnilo jen 22 (64,7 %) dětí aPL pozitivní skupiny podmínky pro zařazení do pásma normy, u aPL negativní skupiny bylo v pásmu normy 20 (83,3 %) dětí. Rozdíl mezi hodnotami nebyl statisticky významný ($p=0,26$), totéž platí i pro hodnocení PVI dětí v pásmu lehkého a středního opoždění. Kritéria pro zařazení do pásma vážného poškození při vyšetření PVI nesplnil z obou skupin žádný proband. Uvedená data jsou sumarizována v **tabulce 21**.

Tabulka 21 - Distribuce dětí aPL pozitivních a aPL negativních matek ve 4 kategoriích při hodnocení mentálního a motorického vývoje

	dětí aPL pozitivních matek n - 34				dětí aPL negativních matek n - 24			
	<u>nad 85</u> <i>norma</i>	<u>84-70</u> <i>lehké</i> <i>opožďení</i>	<u>69-50</u> <i>střední</i> <i>opožďení</i>	<u>pod 50</u> <i>vážné</i> <i>opožďení</i>	<u>nad 85</u> <i>norma</i>	<u>84-70</u> <i>lehké</i> <i>opožďení</i>	<u>69-50</u> <i>střední</i> <i>opožďení</i>	<u>pod 50</u> <i>vážné</i> <i>opožďení</i>
MVI	22 (64,7%)	6 (17,6%)	6* (17,6%)	0	20 (83,3%)	4 (17,6%)	0	0
PVI	22 (64,7%)	9 (26,4 %)	3 (0,09 %)	0	20 (83,3%)	4 (17,6%)	0	0

Legenda: Čísla udávají počty pacientů v jednotlivých kategoriích, v závorce je uvedeno procentuální zastoupení. n - počet celkově vyšetřených pacientů. Hodnoty označené * se lišily na 5 % hladině významnosti, pro hodnocení užít Fisherův exaktní test.

Při hodnocení obou skupin dětí ve 3 kategoriích chování, které zobrazuje **tabulka 22**, jsme zjistili, že ve faktoru orientace / zájem spadalo ze skupiny dětí aPL pozitivních matek 88, 2 % do pásma normy a 11, 8 % dětí bylo hodnoceno jako hraničních. Ve skupině dětí aPL negativních matek splnilo normu ve zmíněném faktoru 91,7 % dětí, 8,3 % bylo hraničních.

V oblasti emoční regulace byly výsledky obou skupin srovnatelné (norma - 91,1 % dětí aPL pozitivních matek, 91,7 % dětí aPL negativních matek). Při zjišťování rozdílu kvality motoriky splnilo normu pouze 76,3 % dětí z 1. skupiny ve srovnání s 87,5 % dětí z 2. skupiny. Uváděné hodnoty byly hodnoceny jako statisticky nesignifikantní.

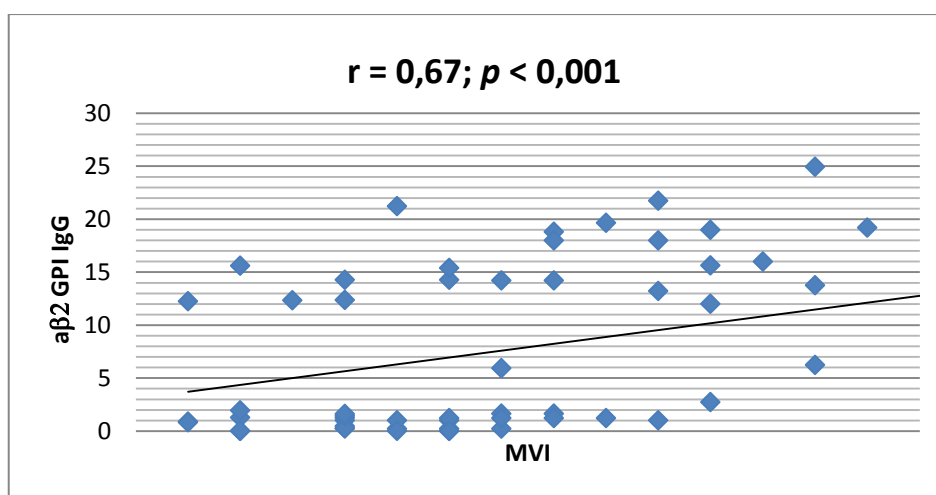
V celkovém hodnocení chování jsme 85,3 % dětí aPL pozitivních matek zařadili do pásma normy, v souboru aPL negativních matek splnilo tuto normu 95,8 % probandů. Tento rozdíl nebyl statisticky signifikantní. Ostatní děti byly ve sledovaných faktorech v hraničním pásmu, do kategorie pod normou jsme nezařadili žádné dítě z obou sledovaných souborů.

Tabulka 22-Distribuce dětí aPL pozitivních a aPL negativních matek ve 3 kategoriích hodnocení chování

Chování	dětí aPL pozitivních matek n - 34			dětí aPL negativních matek n - 24		
	norma (nad 26. percentil)	hraniční (11-25. percentil)	pod normou (pod 10. percentil)	norma (nad 26. percentil)	hraniční (11.-25. percentil)	pod normou (pod 10. percentil)
orientace/zájem	30 (88,2 %)	4 (11,8 %)	0	22 (91,7%)	2 (8,3 %)	0
emoční regulace	31 (91,1 %)	3 (8,8 %)	0	22 (91,7%)	2 (8,3%)	0
kvalita motoriky	26 (76,3 %)	8 (11,8 %)	0	21 (87,5%)	3 (12,5 %)	0
Celkem	29 (85,3 %)	5 (14,7 %)	0	23 (95,8 %)	1 (2,9 %)	0

Legenda: Čísla udávají počty pacientů v jednotlivých kategoriích, v závorkách je uvedeno procentuální zastoupení. n - počet celkově vyšetřených pacientů; žádné hodnoty se nelišily na 5 % hladině významnosti, pro hodnocení byl užit Fisherův exaktní test.

Při hodnocení vztahu mezi detekovanými hladinami jednotlivých aPL a sledovanými parametry follow-up pomocí Spearmanova korelačního koeficientu byla zjištěna výrazně statisticky signifikantní středně silná negativní korelace u dětí aPL pozitivních matek mezi hodnotami aPL proti β 2GPI v subtypu IgG po narození a hodnotou dosaženého skóre MVI (korelační koeficient 0,67, $p < 0,0001$), zobrazená v **obrázku 3**. Ostatní korelace mezi sledovanými proměnnými nebyly statisticky významné.



Legenda: p -hladina významnosti; r -korelační koeficient

Obrázek 3 - Korelace mezi hladinami anti β GPI v subtypu IgG a hodnotami mentálního vývojového indexu (MVI) ve 2 letech v souboru dětí aPL pozitivních matek

6 Hodnocení výsledků studie a diskuze

6.1 Soubory matek

Ke klasickým antifosfolipidovým protilátkám (aPL), u kterých byla prokázána klinická spojitost s trombózami a s těhotenskými patologiemi, patří lupus antikoagulans (LA), antikardiolipinové protilátky a protilátky proti $\beta 2$ glykoproteinu I.

Spektrum námi vyšetřovaných aPL u žen s autoimunitami zahrnovalo dále protilátky proti negativně nabitým fosfolipidům (kyselině fosfatidové, fosfatidylinositolu, fosfatidyl-L-serinu, fosfatidyl-DL-glycerolu), proti dipolárnímu fosfolipidu (fosfatidylethanolaminu) a proti annexinu V. Tyto aPL mohou být dle novějších prací častěji více spojovány s těhotenskými patologiemi než zmiňovaný kardiolipin, který není přítomen v membráně erytrocytů a není součástí hemokoagulační kaskády. Detekce těchto aPL není rutinně prováděna, i když dle některých autorů provádění průkazu protilátek proti širšímu spektru fosfolipidů zvyšuje senzitivitu laboratorních testů k potvrzení APS. Dle závěrů workshopu 13. mezinárodního kongresu o antifosfolipidových protilátkách v Texasu v roce 2010 by jejich průkaz pomohl odhalit pacientky s netypickými formami APS, u kterých nebyla splněna klasická laboratorní kritéria [Bertolaccini, 2011].

U skupiny matek s autoimunitním onemocněním a pozitivními aPL jsme nejčastěji našli protilátku proti fosfatidyl-L-serinu v izotypu IgG a IgM (13 žen; 41,9 %). Tato protilátka byla i druhou nejčastěji detekovanou v souboru aPL pozitivních novorozenců (11 dětí; 32,3 %). Fosfatidylserin tvoří 10 - 15 % z celkových fosfolipidů vnitřní strany cytoplazmatické membrány trombocytů, je součástí buněk endotelu, trofoblastu a jiných. Při aktivaci krevních destiček dojde k odhalení negativně nabitých fosfolipidů a za účasti $\beta 2$ GPI se na ně naváží aPL. Patogenní vliv aPL proti fosfatidyl-L-serinu na výsledek gravidity byl prokázán v animálních pokusech [Yodfat, 1996]. Tyto aPL mohou být součástí mechanismu, kterým je indukován proces apoptózy, podílejí na vzniku trombózy, mohou negativně ovlivňovat diferenciaci trofoblastu a formaci syncytia a snižovat syntézu beta-HCG [Blank, 1994; Katsuragawa, 1997; Ulcova-Gallova, 2005].

Druhou nejčastěji detekovanou protilátkou u žen s AD byla aPL proti $\beta 2$ GPI v izotypu IgG, která byla nalezena u 12 žen (38,7 %). Po realizaci vazebné reakce $\beta 2$ GPI s fosfolipidem prodělá molekula $\beta 2$ GPI konformační změny s následným odhalením kryptického neoepitopu. Proti vzniklému komplexu působí poté patogenní aPL. Vazba aPL prostřednictvím $\beta 2$ GPI může aktivovat endotelové buňky nebo trombocyty, vyvolat proliferaci endoteliálních buněk a zapříčinit cévní okluzi s následným porušením funkce uteroplacentární jednotky [Sebire, 2002].

U 6 (19,3 %) žen (4 ženy primárním APS, 2 ženy s SLE) byly detekovány protilátky proti $\beta 2$ GPI v subtypu IgA. I když průkaz protilátek proti $\beta 2$ GPI v tomto subtypu není součástí laboratorních kritérií pro APS, izolovaná detekce anti $\beta 2$ GPI IgA byla prokázána v řadě prací v souvislosti s APS, SLE, recidivujícími aborty a preeklampsií [Danowski, 2006; Hradecky, 2009]. Prevalence anti $\beta 2$ GPI IgA u pacientů s SLE a APS je udávána až

v 61 %. Udává se, že stanovením anti β 2GPI IgA dojde ke zvýšení senzitivity imunoeseje [Bruce, 2000; Subrt, 2008]. Existují však i práce, které hovoří o naopak nízké frekvenci izotypu IgA u žen s těhotenskými komplikacemi, navíc většinou spojenou se současnou pozitivitou anti β 2GPI v izotypu IgG či IgM [Carmo-Pereira, 2003].

Třetí nejčastěji prokázanou protilátkou ve skupině matek s AD byly aPL proti fosfatidylinositolu, detekované u 9 žen (29 %). Fosfatidylinositol tvoří cca 5 % fosfolipidů a jeho štěpné produkty inositol-1,4,5-trisfosfát, diacylglycerol a fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát jsou nezbytné pro signální činnost buněk, regulaci intracelulární hladiny vápníku a propustnost buněčných membrán. Dle některých prací protilátky proti fosfatidylinositolu spolu s aPL proti ostatním negativně nabitým fosfolipidům (kyselina fosfatidová, fosfatidyl-DL-glycerol) lépe korelují s projevy trombóz a těhotenských patologií než klasické protilátky proti aCL [Tebo, 2008].

Protilátky proti fosfatidylethanolaminu byly přítomny u 6 (19,3 %) matek s AD. aPL proti tomuto neutrálnímu fosfolipidu, který je řazen mezi glycerolfosfolipidy a tvoří až 20 - 30 % celkových fosfolipidů buněčných membrán, byly zvýšeně nalézány u žen s nevysvětlenými fetálními ztrátami [Gris, 2000; Sugi, 2004]. Studie u séronegativních APS suspektních pacientů s trombotickými příhodami prokázaly izolovanou přítomnost aPL proti fosfatidylethanolaminu. Existuje názor, že zmíněné protilátky by mohly hrát důležitou roli v patogenezi APS prostřednictvím inhibice aktivovaného proteinu C [Sanmarco, 2007].

Zajímavým zjištěním byla nízká incidence protilátek proti annexinu V. Ve skupině aPL pozitivních matek byly nalezeny pouze u 4 žen (12,9 %) v subtypech IgG a IgM. V této skupině žen byla nejvyšší incidence spontánních abortů v předchozích graviditách (1,3 potrat / 1 žena) v porovnání se skupinou aPL negativních matek (0,2 potrat / 1 žena). Dle literárních údajů participuje annexin V ve formaci tzv. protektivního antikoagulačního štítu na cévním endotelu či syncytiotrofoblastu a tím zabraňuje zmíněným tkáním podílet se na fosfolipid - dependentních koagulačních reakcích [Ulcova-Gallova, 2006]. Po narušení ochranného štítu pomocí aPL dojde expresi anionických fosfolipidů s jejich trombogenními vlastnostmi, což může vést k trombózám a potratům [Matsubayashi, 2001a]. I při vyšší incidenci potratů ve aPL pozitivní skupině matek jsme v hladinách zmíněné aPL nezjistili signifikantní rozdíly mezi skupinami matek s AD.

Při hodnocení kvantitativního stanovení hladin všech aPL v subtypech IgG mezi skupinami aPL pozitivních a zdravých matek jsme zjistili statisticky signifikantní rozdíl ($p < 0,01$) s výjimkou protilátky proti fosfatidyl-DL-glycerolu, v subtypu IgM jsme tento rozdíl našli jen u protilátky proti kardiolipinu ($p < 0,05$) a u protilátky proti β 2 glykoproteinu I v subtypu IgA ($p < 0,01$).

6.2 Soubory dětí

Antifosfolipidové protilátky se u nejmladších dětí mohou vyskytovat ze dvou důvodů. Prvním z nich je transplacentární přenos od těhotných žen, které mají specifickou autoimunitní chorobu, provázenou výskytem těchto protilátek. Typickým příkladem je antifosfolipidový syndrom a choroby pojivové tkáně (např. SLE, revmatoidní artritida, Sjögrenův syndrom). Tyto diagnózy byly prokázány u 80 % matek naší skupiny aPL pozitivních novorozenců. U ostatních autoimunitních onemocnění je výskyt aPL již vzácnější. Studie, které se zabývaly změnami hladin aPL u těhotných žen během tří jednotlivých trimestrů gravidity, neprokázaly signifikantní rozdíly [Motta, 2006].

Procenta dětí, u kterých je detekován transplacentární přenos aPL v krvi, se v různých studiích pohybují okolo 30 % [Motta, 2006; Tuohy, 2005]. Cohenová et al. prokázala, že v amniální tekutině u dětí matek s AD byla o 50 % vyšší incidence aPL ve srovnání s hodnotami v pupečnickové krvi novorozenců. Autoři vysvětlují rozdíl zachycením transplacentárně přenesených aPL v retikuloendotelovém systému plodů [Cohen, 2000]. Relativně nízké procento transplacentárního přenosu aPL může být vysvětleno několika mechanismy. aPL mohou být navázány a absorbovány na β 2GPI, exprimovaném na trofoblastu. Heparin, který je podáván matkám s AD, má rovněž schopnost vázat cirkulující protilátky a redukovat tak jejich přestup do fetální cirkulace [Franklin, 2003].

V naší práci jsme prokázali transplacentární přestup aPL u 41,4 % novorozenců. Vyšší výskyt v našem souboru může být dán skutečností, že jsme vyšetřovali hladiny 8 typů aPL, ve zmiňovaných studiích se detekce soustředila na aCL a anti β 2GPI.

Druhá příčina detekce aPL v krvi novorozence je jejich tvorba de novo v organizmu dítěte. Sporadicky jsou referovány neonatálního APS, vzniklého de novo, u kterého nebyly aPL prokázány u matky nebo u dítěte byl nález aPL izotopu IgM, nepřecházejícího přes placentu [Alshekaili, 2010; Rego Sousa, 2012]. V našem souboru jsme podobnou novotvorbu protilátek nezaznamenali.

Výskyt aPL prokázaných v souboru novorozenců zdravých žen činil 3,3 % (1 dítě), protilátka proti fosfatidyl-DL-glycerolu byla v izotypu IgG. Nízký titr a často nepatogenní aPL jsou nalézány až u 3 - 5 % zdravých jedinců a mohou být přechodně zvýšeny po virových infekcích či po expozici léků [Blank, 2004]. Předpokládaný výskyt aPL (aCL a anti β 2GPI) v dětské populaci je některými autory udáván okolo 7 % pravděpodobně v souvislosti s rekurentními respiračními infekty [Avcin, 2001].

Při posuzování transplacentárně přenesených aPL v 6 měsících byla perzistence protilátek přítomna u 13 (38,2 %) dětí aPL pozitivních matek, ve 12 měsících přetrvávaly tyto protilátky pouze u 2 (5,9 %) dětí. Jedním z nich byl původně extrémně nezralý hypotrofní chlapec, u kterého jsme detekovali progredující vysoké titry aCL (68 GPL / ml), anti β 2GPI (120 GPL/ml) a aPL proti fosfatidyl-L-serinu nad 99. percentil normy v izotopu IgG. I když u námi sledovaných dětí nebylo zatím prokázáno onemocnění autoimunitní povahy, dle některých studií existuje předpoklad, že přítomnost perzistujících aPL může působit jako trigger, spouštějící autoimunitní aktivitu [Frauenknecht, 2005].

Vysoké perzistující titry aPL jsou nalézány u méně než 2 % zdravých dospělých, u dětí nejsou údaje známy. I přes nízké riziko vzniku APS s postinfekčními aPL, byly popsány případy dětí, u kterých došlo ke vzniku purpury fulminans a trombotické příhody, spojené s aPL a deficiencí proteinu S po infekci virem varicella zoster [Josephson, 2001; Kurugol, 2000].

Sledováním aPL vzniklých de novo byl u souboru dětí aPL pozitivních matek zjištěn vyšší výskyt aPL v 6 měsících (38,2 %) i ve 12 měsících (32,4 %) ve srovnání se skupinou dětí aPL negativních matek (12,5 % ; 16,6 %) a se skupinou zdravých dětí (0 % ; 6,6 %). Tento náález by mohl svědčit o vyšší aktivní autoimunitní odpovědi dětí aPL pozitivních matek. Podobný závěr učinil již i Motta et al. ve své práci, popisující vyšší hladinu anti β 2GPI u ročních dětí aPL pozitivních matek v porovnání s dětmi narozenými aPL negativním matkám či zdravým ženám [Motta, 2006]. Nejčastěji jsme našli anti β 2GPI v izotopech IgG a IgA. Vyšší incidence aPL v prvních 12 měsících života dětí je v literatuře vysvětlována expozicí vakcinačním antigenům [Martinuc Porobic, 2005]. Tranzientní vyšší titry netrombogenních aPL mohou být způsobeny rovněž vlivem potravinových alergenů či provázet projevy atopie [Ambrozic, 2002].

V obou námi sledovaných skupinách dětí jsme nezaznamenali během 2 let sledování žádná trombotická příhoda. Role aPL u neonatálních a pediatrických pacientů při vzniku trombózy či mozkového infarktu není zcela objasněna. Předpokládá se, že raritní výskyt zmíněných nálezů je dán menším výskytem jiných protrombotických rizikových faktorů u populace této věkové kategorie.

V pracích, které se zabývaly zkoumáním rizikových faktorů, podílejících se na vzniku perinatální arteriální ischemické mozkové příhody, vzniklé v období od 28. gestačního týdne do 28 dnů postnatálně, byla autory přítomnost aPL nalezena u 21,7 % novorozenců a u 18 % matek. Přítomnost aPL společně s rezistencí na aktivovaný protein C, způsobenou genovou mutací faktoru V Leiden, byla nejčastějším trombofilním stavem [Simchen, 2009]. Rovněž dle údajů mezinárodního APS registru pro dětské pacienty byla u 26 % pacientů s touto diagnózou detekována mozková ischemie jako iniciální projev choroby, mozkový infarkt se více vyskytoval u pacientů s primárním APS a 7 % dětí mělo trombózu mozkového venózního sinu [Avcin, 2008]. Asociaci mezi různými typy aPL a mozkovými patologiemi prokázal von Scheven, který našel vyšší pozitivitu anti β 2GPI u dětí s primárním i sekundárním APS, spojenou s cerebrovaskulárním onemocněním [Von Scheven, 2002]. Další studie prokázaly zvýšenou přítomnost aCL u 50 % dětí s idiopatickou mozkovou ischemií [Angelini, 1994].

Absence trombotické příhody u dětí v naší práci však podporuje tvrzení, že role aPL je považována v potenciaci trombogenního rizika za druhotnou - teorie „two hits“ [Pierangeli, 2000]. Podle této hypotézy přítomnost aPL indukuje endoteliální dysfunkci („first hit“) a další faktory (např. infekce, hypertenze, obezita, vaskulární poranění-„second hit“) jsou vlastními spouštěči trombózy.

Další možné vysvětlení přinesla identifikace jednotlivých specifických domén v jednoduchém řetězci β 2GPI. Jednou z příčin nízké incidence trombotických příhod u dětí

s aPL může být zvýšená přítomnost specifických anti β 2GPI protilátek, namířených proti doméně D 4/5 β 2GPI, která není spojována s trombózy. Naopak anti β 2GPI proti doméně D1 jsou asociovány s trombotickými komplikacemi [Andreoli, 2011]. V naší práci však nebylo vyšetření zmíněné bližší specifikace anti β 2GPI protilátek dostupné.

Při hodnocení USG vyšetření mozku ve studijní skupině jsme našli u 6 (17,6 %) novorozenců abnormální ultrazvukové nálezy. S výjimkou intraventrikulárního krvácení II. stupně u 1 silně nezralého novorozence jsme zachytili nálezy subependymálních hemoragií (SEH) v oblasti kaudothalamické rýhy u 3 donošených novorozenců a u 2 donošených novorozenců byl prokázán nález subependymálních cyst (SEPC) periventrikulárně.

SEPC a SEH se vyskytují u donošených zdravých novorozenců pouze v 0,5 - 5,2 % [Zuppa, 2004]. Jsou považovány za následek intrauterinního poškození vulnerabilní terminální matrix v periventrikulární subependymální oblasti. K patogenním mechanismům SEPC se řadí lokální hemorhagický infarkt a postvirová lokální germinolýza. SEPC jsou zvýšeně nalézány u nedonošených a růstově retardovaných novorozenců, u dětí matek s preeklampií, u novorozenců s asfyxií, fetálními infekcemi (cytomegalovirus, rubeola) či chromozomálními a jinými malformacemi [Makhoul, 2001]. Jiným možným vysvětlením pro vznik těchto USG abnormalit může být protilátkami mediovaná zánětlivá reakce, podobná hypotéza je uvažována při vzniku lentikulostriatální vaskulopathie [Prendiville, 2003], která však námi nebyla prokázána u žádného z vyšetřovaných dětí. Domníváme se, že vyšší incidence těchto tranzitorních cerebrálních abnormalit ve studijní skupině dětí může být následek zhoršené placentární perfuze, často pozorované u žen s autoimunitami.

Je známo, že izolované SEPC v typické lokalizaci (periventrikulárně, kaudothalamická rýha, hlava nucleus caudatus) a izolovaná drobná krvácení v germinální matrix mají dobrou prognózu a regredují spontánně do několika měsíců [Malinger, 2002]. Při hodnocení mentálního a motorického indexu těchto 6 dětí nebyly prokázány významnější odchylky.

Starší studie, které zabývaly přítomností aPL a hodnocením mozkové tkáně pacientů se SLE pomocí magnetické rezonance (MRI), pozitronové emisní tomografie (PET) a jednofotonové emisní tomografie (SPECT), nenalezly žádnou pozitivní korelaci specifických patologií CNS s přítomností aPL [Kao, 1999]. Někteří autoři však předpokládají, že hyperdenzity bílé hmoty mozkové, pozorované u pacientů s pozitivními aPL bez přítomnosti trombózy při vyšetření MRI, by mohly korelovat s poruchou kognitivních funkcí těchto pacientů [Erkan, 2011].

I když je v některých studiích uváděna asociace mezi přítomností aPL a senzorineurální ztrátou sluchu, pravděpodobně na základě mikrotrombóz kochleární oblasti [Wang, 2009], naše studie neprokázala u žádného z dětí poškození sluchu.

Při hodnocení elektrokardiografického záznamu dětí matek s AD je pozitivita anti-Ro a anti-La matek spojena s přítomností kongenitálního srdečního bloku ve 2 - 5 % případů. Monitorování novorozenců v naší studii nezachytilo přítomnost bradykardie či jiné srdeční

arytmie. V obou sledovaných souborech novorozenců jsme nenalezli prolongovaný PR interval nad 140 ms, střední hodnoty sledovaného parametru se v obou souborech rovněž nelišily. Jedním z vysvětlení může být velmi nízká pozitivita ENA panelu u matek v obou sledovaných skupinách.

Na rozdíl od studie Gerosy et al., který při hodnocení EKG u dětí matek s AD našel u 13 % dětí anti-Ro pozitivních matek a u 20 % dětí anti-Ro negativních matek prolongaci QTc nad 140 ms, jsme neprokázali prodlouženou hodnotu QTc intervalu u žádného z novorozenců obou skupin [Gerosa, 2007]. K podobnému výsledku došla i studie Costedoat - Chalumeau et al., která konstatovala, že prevalence prodloužení QT intervalu nebyla spojena s přítomností anti-Ro protilátek u dětí matek s AD [Costedoat-Chalumeau, 2004].

Je známo, že aPL (zejména anti β 2GPI) mají proaterogenní efekt a mohou způsobit aktivaci endotelu na srdečních chlopních s rozvojem lokální zánětlivé reakce, rezultující ve valvulopathii. Protože tento proces je spojen s adultním věkem, nebylo echokardiografické vyšetření s ohledem na stáří našich pacientů zařazeno do vyšetřovacího schématu.

Mezi hematologické abnormality, citované ve spojitosti s přítomností aPL, patří nejčastěji trombopenie. V našem souboru jsme prokázali mírnou tranzientní trombopenii u 4 aPL pozitivních dětí (11,7 %), hodnoty se pohybovaly v rozmezí $65 - 128 \times 10^9/l$. Je známo, že depozita antigenních komplexů aPL a β 2GPI na trombocytech, již exprimujících negativně nabitě fosfolipidy, mohou vést k další aktivaci trombocytů a následné zvýšené tvorbě trombinu. K trombopenii dochází pravděpodobně odstraňováním trombocytů se zmíněným komplexem prostřednictvím monocytů - makrofágového systému, zejména ve slezině. Další mechanismus zahrnuje přeměnu trombocytů na mikropartikelky s obsahem fosfolipidů, zvyšujících protombotickou tendenci [Buliková, 2010].

Z ostatních hematologických patologií jsme našli pouze mírnou anémii u 3 silně nedonošených dětí s pozitivními aPL (rozmezí $92 - 110 g/l$), 1 z těchto novorozenců měl i výraznou neutropenii a granulocytopenii. Vzhledem ke gestačnímu věku zmíněných pacientů se na této hematologické odchylce podílely jistě i faktory, způsobující anémii z nezralosti (např. kratší přežívání erytrocytů, snížená hodnota erytropoetinu). U aPL negativních novorozenců nebyly přítomny žádné patologie krevního obrazu. Hodnoty všech vyšetřovaných parametrů krevního obrazu se však v obou skupinách novorozenců statisticky nelišily.

K dalším sledovaným parametrům u studovaných skupin dětí patřil psychomotorický vývoj. Je známo, že k neurologickým projevům, spojeným s přítomností aPL, patří mozkový infarkt a tranzientní ischemické ataky, označované jako neurologické komplikace APS [Miyakis, 2006]. V literatuře jsou popsány i další asociace aPL s neurologickými projevy: transverzní myelopathie, chorea, křeče, migréna, syndrom připomínající roztroušenou sklerózu a poruchy kognitivních funkcí [Chapman, 2003].

Studie, které se zabývaly dlouhodobým kognitivním a psychologickým vývojem dětí matek s AD se většinou týkají potomků žen se SLE. U těchto dětí byla až u 45 % popsána dyslexie, vyšší preference levorukosti a poruchy s učením zejména u chlapců, inteligence dětí nebyla snížena [Ross, 2003]. Vyšší incidence kognitivních poruch u dětí byla

asociována s přítomností aPL [Neri, 2004]. Nacicovich et al., kteří sledovali neuropsychologický vývoj u školních dětí matek s APS, našli u 26,7 % dětí odchylku vývoje [Nacinovich, 2008]. Problematika asociace kognitivních poruch a vlivu aPL je však většinou vyšetřována u starších dětí [Conti, 2012; Harel, 2006; Muscal, 2010; Muscal, 2006].

Zatím největší studie, která se zabývala dětmi matek s APS a SLE, vyšetřila 134 novorozenců po porodu a po 5 - letém sledování jejich vývoje prokázala více 2 x vyšší incidenci neuropsychických abnormalit než v obecné populaci [Motta, 2012].

V naší práci jsme zhodnotili psychomotorický vývoj probandů obou skupin pomocí vývojových škál, zpracovaných Bayleyovou (Bayley Scales of Infant Development - Second Edition, BSID II). Tyto vývojové škály jsou považovány za časnou a účinnou metodu k rozpoznání dětí s psychomotorickým opožděním ve stáří od 1 - 42 měsíců. I když je mentální a motorický vývoj v nejranějším období života dítěte těsně spjat, je vhodné hodnotit zmíněné oblasti odděleně, neboť vyvíjející se jedinec nemusí dosahovat stejné vývojové úrovně v daných sférách rovnoměrně.

Při vyšetření ve 2 letech korigovaného věku měla skupina aPL pozitivních novorozenců statisticky významně nižší průměrný MVI ($p < 0,01$) než skupina aPL negativních novorozenců. Při porovnání zmíněné hodnoty průměrného MVI aPL pozitivní skupiny s hodnotou, považovanou dle testu Bayleyové za populační normu (průměrný MVI 100, SD 15) jsme prokázali diferenci na 5 % hladině statistické významnosti.

Důležitým zjištěním bylo, že dle hodnocení MVI pouze 65 % aPL pozitivních dětí splnilo pásmo normy (MVI nad 85) a u 17,6 % dětí z aPL pozitivní skupiny byla hodnota MVI v pásmu středního poškození (MVI 69 - 50), rozdíl v četnosti tohoto parametru mezi oběma skupinami se prokázal jako statisticky významný ($p = 0,03$).

Při vyhodnocování parametru chování ve 4 subkategoriích (orientace / zájem, emoční regulace a kvalita motoriky) u obou skupin probandů jsme nenalezli významné rozdíly.

Při posuzování motorického vývoje, charakterizovaném parametrem PVI, se obě skupiny dětí statisticky nelišily. Srovnáním výsledků PVI obou skupin s populační normou (průměrný MVI 100, SD 15) nebyla zjištěna statisticky významná odchylka.

Lze předpokládat, že na výsledku MVI u dětí aPL pozitivních matek se spolupodílely i další faktory. I když rozdíl ve výskytu nedonošených dětí a hypotrofických dětí nebyl v jednotlivých souborech statisticky významný, právě prematurita a hypotrofie dětí mohou hrát signifikantní roli v jejich dalším psychomotorickém vývoji. Naše práce potvrdila fakt, že incidence prematurit, která obecně činí ve vyspělých státech Evropy cca 6 - 8 %, je u gravidit matek s AD onemocněním zvýšena [Beck, 2010; Motta, 2008]. V naší studii činil podíl prematurit u aPL pozitivních dětí 29,4 %, u aPL negativní skupiny 11 %. Rovněž incidence hypotrofických dětí přesáhla v obou vyšetřovaných souborech dvojnásobně výskyt v obecné populaci zdravých matek.

Vysoké procento prematurit v obou souborech se jistě podílelo na vývoji antropometrických parametrů dětí. Přestože jsme při závěrečném vyšetření ve 24 měsících nenalezli statistické rozdíly v hmotnosti, výšce a obvodu lbi mezi oběma skupinami, je

zajímavý údaj, že u 17,6 % probandů z aPL pozitivní skupiny byl obvod lbi stále pod 2 SD pro daný věk.

Dalším důležitým faktorem, ovlivňujícím psychomotorický vývoj dětí, je výskyt onemocnění, která jsou v České republice zařazena pod termín časná morbidita v novorozeneckém věku, tzn. syndrom respirační tísně novorozenců, bronchopulmonální dysplazie, intraventrikulární hemoragie III. a IV. stupně, cystická periventrikulární leukomalacie, závažné infekční komplikace včetně meningitid a retinopatie nedonošených (ROP) 3. a vyšších stupňů.

Vyšší procento zastoupení nedonošených dětí v našich souborech dětí bylo spjato i s přítomností některých těchto komorbidit (RDS, BPD, sepse, NEC), které postihly skupinu dětí pod 1500 g v obou skupinách. Četnost těchto komplikací se však mezi soubory statisticky nelišila a ani hodnotu MVI pod 50, signalizující vážné opoždění psychomotorického vývoje, jsme nenalezli u žádného probanda.

Hodnotíme - li psychomotorický vývoj dětí matek s AD, nelze opomenout ani vliv dlouhodobé terapie matek, zejména kortikosteroidů a imunosupresivních látek. Matky obou skupin užívaly prednison v dávce maximálně 10 mg denně (vyjimku tvořila žena z aPL pozitivní skupiny s vysoce aktivním SLE a s dávkou prednisonu 40 mg denně). Je známo, že placentární 11 - beta hydroxysteroid dehydrogenáza konvertuje kortizol a kortikosteroid k relativně inaktivní 11 - ketoformě a tím se k plodu dostává pouze méně než 10 % aktivního léčiva. Vedlejší účinky nízkodávkované terapie kortikoidy, které jsou inaktivovány placentární enzymy, nebyly u potomků takto léčených žen pozorovány [Ostensen, 2006]. Předpokládá se však negativní vliv fluorovaných kortikoidů (dexametazon, betametazon), opakovaně aplikovaných v rámci antenatální akcelerace maturace plicní tkáně, na neuropsychický vývoj dětí, v našem souboru dětí tato situace nenastala.

Studie, které se zabývaly účinkem azathioprinu na plody v graviditě matek s AD, prokazují nejednotné výsledky. Marder v publikaci z roku 2013 poukázal na možnou souvislost s opožděním vývoje řeči u potomků matek se SLE, užívajících azathioprin během těhotenství, avšak jiní autoři ovlivnění psychomotorického vývoje dětí nepopsali [Marder, 2013; Motta, 2008]. V naší studii užívala azathioprin 1 žena z aPL pozitivní skupiny matek se závažným průběhem SLE, avšak výrazně snížený MVI a PVI jejího potomka měl pravděpodobně multifaktoriální etiopatogenezi (IUGR, perinatální infekce, perzistující vysoký titr aPL). Dítě další ženy, léčené azathioprinem z aPL negativní skupiny, mělo veškerá vyšetření s normálním nálezem.

Podávání antimalarika hydroxychloroquinu gravidním ženám s AD procesy nebývá spojeno dle literárních údajů s žádnými dlouhodobými následky pro potomky [Motta, 2005].

Recentní práce poukazují na další důležitý aspekt vlivu aPL na neuropsychický vývoj dětí. U potomků matek s AD, spojeným s přítomností aPL, byl detekovaný 2 x vyšší výskyt autismu než v obecné populaci [Abisror, 2013]. I když v naší studii nebyl podobný případ zachycen, je zřejmé, že poruchy autistického spektra u dětí mají multifaktoriální

příčiny (genetické, infekční, imunitní) a že přítomnost aPL by mohla hrát jednu z významných rolí při vzniku této choroby [Careaga, 2013; Gesundheit, 2013].

Další vývoj dětí je ovlivněn rovněž vzděláním matek, avšak námi získaná data neumožnila verifikaci této hypotézy, neboť obě skupiny matek se v zmíněných parametrech signifikantně nelišily.

Schopnost predikce vývoje na základě psychologického vyšetření dětí ve 2 letech je limitována. Jeho význam však v naší studii spočíval hlavně v možnosti včasného zachytu jedince s vývojovými abnormitami psychomotorického vývoje a nabídce zahájení intervenčního programu ještě v době, kdy u dětí probíhá vývoj CNS a je zvýšená možnost efektivní nápravy. Na základě podrobného psychologického rozboru byli rodiče edukováni o správném pozorování a porozumění chování dětí a o možnostech odstranění porušených interakčních vazeb mezi jimi a jejich dětmi.

Závěrem lze konstatovat, že děti matek s AD onemocněním jsou ohroženy nejen časnou morbiditou, vyplývající z vysoké incidence prematurity a růstové retardace plodů i u adekvátně léčených matek, ale také specifickými problémy mentálního vývoje, souvisejícími s možným vlivem aPL.

7 Závěr

Z výsledků předložené práce vyplývají následující závěry:

a) U matek s definovaným autoimunitním onemocněním jsme detekovali nejčastěji aPL proti fosfatidyl-L-serinu, protikardiolipinu a β 2-glykoproteinu I v subtypech IgG. Při kvantitativním stanovení hladin aPL byl zjištěn statisticky signifikantní rozdíl ($p < 0,01$) mezi všemi jednotlivými aPL v subtypech IgG (s výjimkou aPL proti fosfatidyl-DL-glycerolu) mezi skupinami aPL pozitivních a zdravých matek. V subtypu IgM jsme našli ve zmíněných souborech matek statisticky významnou diferenci hladiny protilátky proti kardiolipinu ($p < 0,05$) a v subtypu IgA u protilátky proti β 2 glykoproteinu I ($p < 0,01$). U matek bez autoimunitního onemocnění činila incidence aPL 3,3%.

b) Transplacentární přenos aPL subtypu IgG byl po porodu prokázán u 41,4 % novorozenců aPL pozitivních matek. Nejčastěji detekovanou aPL u novorozenců byla protilátka proti fosfatidyl-L-serinu IgG (32,3%), dále aPL proti β 2 glykoproteinu I (29,4%) a aPL proti kardiolipinu a fosfatidylinositolu (shodně 20,5 %). U novorozenců zdravých matek byla prokázána přítomnost aPL IgG pouze u jediného dítěte (3,3 %). Tvorba aPL de novo nebyla u novorozenců po porodu detekována.

c) V 6 měsících perzistovaly aPL u 38,2 % dětí aPL pozitivních matek, ve 12 měsících byly identické protilátky detekovány ještě u 5,8 % zmíněných dětí. U potomků u aPL matek negativních nebyla perzistence aPL ve 12 měsících věku detekována. Novotvorba aPL v 6 a 12 měsících věku byla nejvyšší u souboru dětí aPL pozitivních matek (38,2 % ; 32,4 %) ve srovnání se skupinou dětí aPL negativních matek (12,5 % ; 16,6%) a se skupinou zdravých dětí (0 % ; 6,6 %). I když rozdíly nebyly statisticky signifikantní, tento nálezný by mohl svědčit o vyšší aktivní autoimunitní odpovědi dětí aPL pozitivních matek. Nejčastěji byla prokázána protilátka proti β 2 glykoproteinu I v subtypu IgG.

d) V obou souborech dětí byla významně zvýšena incidence prematurity a hypotrofie oproti normální populaci. Vyšetření EKG a tranzientních otoakustických emisí bylo v obou souborech dětí normální. U dětí aPL pozitivních matek byl přítomný vyšší výskyt přechodné trombopenie a sonograficky byl u nich detekován vyšší výskyt abnormit CNS (subependymální hemoragie, cysty), které rezolvovaly do 6 měsíců. Během 2 - letého sledování nebyly u obou sledovaných skupin dětí nalezeny trombotické komplikace či příznaky neonatálního lupusu. Hodnocením psychomotorického vývoje ve 2 letech byl u dětí aPL pozitivních matek nalezen statisticky signifikantně nižší mentální vývojový index ($p < 0,01$), 17,6 % dětí mělo hodnotu MVI v pásmu středního poškození, rozdíl v četnosti tohoto parametru mezi oběma skupinami byl rovněž statisticky významný ($p = 0,03$). U parametru MVI byla dále prokázána statisticky signifikantní středně silná negativní

korelace u dětí aPL pozitivních matek mezi hodnotami protilátky proti β 2GPI v subtypu IgG po narození a hodnotou skóre MVI ve 2 letech (korelační koeficient 0,67, $p < 0,0001$).

Na základě uvedených údajů navrhujeme realizovat u potomků matek s AD spojenými s pozitivní titry aPL psychologické vyšetření ve 2 letech věku k detekci časných abnormalit neuropsychického vývoje (např. poruchy aktivity, pozornosti, zpomalení řečového vývoje) k zahájení časné korekce.

Nezbytným předpokladem pro správný vývoj dětí matek s AD zůstává v případě potřeby specializovaná multidisciplinární péče (neurologická, rehabilitační, speciálního pedagoga, logopedická, hematologická, imunologická aj.) i s ohledem na možný vývoj AD v budoucnu, zejména u dětí s vysokými titry perzistujících aPL.

8 Seznam použité literatury

- ABALOVICH, M., AMINO, N., BARBOUR, L.A., et al. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007a, 92(8 Suppl), p. S1-47.
- ABALOVICH, M., MITELBERG, L., ALLAMI, C., et al. Subclinical hypothyroidism and thyroid autoimmunity in women with infertility. *Gynecol Endocrinol*, 2007b, 23(5), p. 279-283.
- ABISROR, N., MEKINIAN, A., LACHASSINNE, E., et al. Autism spectrum disorders in babies born to mothers with antiphospholipid syndrome. *Semin Arthritis Rheum*, 2013, 43(3), p. 348-351.
- AL-SHAMMARI, S., RAWOOT, P., AZIZIEH, F., et al. Th1/Th2 cytokine patterns and clinical profiles during and after pregnancy in women with multiple sclerosis. *J Neurol Sci*, 2004, 222(1-2), p. 21-27.
- ALI, R., OZKALEMKAS, F., OZCELIK, T., et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura in pregnancy: a single institutional experience with maternal and neonatal outcomes. *Ann Hematol*, 2003, 82(6), p. 348-352.
- ALSHEKAILI, J., REYNOLDS, G. a COOK, M.C. De novo infantile primary antiphospholipid antibody syndrome. *Lupus*, 2010, 19(13), p. 1565-1568.
- AMBROZIC, A., AVICIN, T., ICHIKAWA, K., et al. Anti-beta(2)-glycoprotein I antibodies in children with atopic dermatitis. *Int Immunol*, 2002, 14(7), p. 823-830.
- ANDREOLI, L., NALLI, C., MOTTA, M., et al. Anti-beta(2)-glycoprotein I IgG antibodies from 1-year-old healthy children born to mothers with systemic autoimmune diseases preferentially target domain 4/5: might it be the reason for their 'innocent' profile? *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(2), p. 380-383.
- ANGELINI, L., RAVELLI, A., CAPORALI, R., et al. High prevalence of antiphospholipid antibodies in children with idiopathic cerebral ischemia. *Pediatrics*, 1994, 94(4 Pt 1), p. 500-503.
- AOYAMA, Y., ASAI, K., HIOKI, K., et al. Herpes gestationis in a mother and newborn: immunoclinical perspectives based on a weekly follow-up of the enzyme-linked immunosorbent assay index of a bullous pemphigoid antigen noncollagenous domain. *Arch Dermatol*, 2007, 143(9), p. 1168-1172.
- ARTLETT, C.M., RAMOS, R., JIMINEZ, S.A., et al. Chimeric cells of maternal origin in juvenile idiopathic inflammatory myopathies. Childhood Myositis Heterogeneity Collaborative Group. *Lancet*, 2000, 356(9248), p. 2155-2156.
- AVCIN, T., AMBROZIC, A., KUHAR, M., et al. Anticardiolipin and anti-beta(2) glycoprotein I antibodies in sera of 61 apparently healthy children at regular preventive visits. *Rheumatology (Oxford)*, 2001, 40(5), p. 565-573.
- AVCIN, T., CIMAZ, R., SILVERMAN, E.D., et al. Pediatric antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic features of 121 patients in an international registry. *Pediatrics*, 2008, 122(5), p. e1100-1107.
- AVILES, A. Hematological malignancies and pregnancy. A brief review. *Rev Recent Clin Trials*, 2009, 4(2), p. 131-139.
- AYENSU-COKER, L., BAUMAN, D., LINDHEIM, S.R., et al. Fertility preservation in pediatric, adolescent and young adult female cancer patients. *Pediatr Endocrinol Rev*, 2012, 10(1), p. 174-187.

- BAHAR, A.M., GHALIB, H.W., MOOSA, R.A., et al. Maternal serum interleukin-6, interleukin-8, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in preterm labor. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2003, 82(6), p. 543-549.
- BACHY, V., WILLIAMS, D.J. a IBRAHIM, M.A. Altered dendritic cell function in normal pregnancy. *J Reprod Immunol*, 2008, 78(1), p. 11-21.
- BAINBRIDGE, D.R., ELLIS, S.A. a SARGENT, I.L. HLA-G suppresses proliferation of CD4(+) T-lymphocytes. *J Reprod Immunol*, 2000, 48(1), p. 17-26.
- BARZAGHI, F., PASSERINI, L. a BACCHETTA, R. Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, x-linked syndrome: a paradigm of immunodeficiency with autoimmunity. *Front Immunol*, 2012, 3, p. 211.
- BAS DE LAAT, H., DERKSEN, R.H. a DE GROOT, P.G. beta2-glycoprotein I, the playmaker of the antiphospholipid syndrome. *Clin Immunol*, 2004, 112(2), p. 161-168.
- BAYLEY, N., Stupnice dětského vývoje – příručka 1983, Bratislava: psycho-diagnostické a didaktické testy, n.p.
- BAYLEY, N., Bayley Scales of Infant Development. 2nd ed 1993., New York: The Psychological Corporation.
- BECK, S., WOJDYLA, D., SAY, L., et al. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ*, 2010, 88(1), p. 31-38.
- BEER, A.E. a BILLINGHAM, R.E. Immunobiology of mammalian reproduction. *Adv Immunol*, 1971, 14, p. 1-84.
- BELIK, J. Fetal and neonatal effects of maternal drug treatment for depression. *Semin Perinatol*, 2008, 32(5), p. 350-354.
- BENNETT, W.A., LAGOO-DEENADAYALAN, S., WHITWORTH, N.S., et al. First-trimester human chorionic villi express both immunoregulatory and inflammatory cytokines: a role for interleukin-10 in regulating the cytokine network of pregnancy. *Am J Reprod Immunol*, 1999, 41(1), p. 70-78.
- BERG, A.L. a SPIVAK, L. Universal newborn hearing screening: should we leap before we look? *Pediatrics*, 1999, 104(2 Pt 1), p. 351-352; author reply 354-355.
- BERLIT, S., TUSCHY, B., SPAICH, S., et al. Myasthenia gravis in pregnancy: a case report. *Case Rep Obstet Gynecol*, 2012, 2012, p. 736024.
- BERTOLACCINI, M.L., AMENGUAL, O., ATSUMI, T., et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. *Lupus*, 2011, 20(2), p. 191-205.
- BERWANGER, A.L., FINET, A., EL HACHEM, H., et al. New trends in female fertility preservation: in vitro maturation of oocytes. *Future Oncol*, 2012, 8(12), p. 1567-1573.
- BETTELLI, E., KORN, T., OUKKA, M., et al. Induction and effector functions of T(H)17 cells. *Nature*, 2008, 453(7198), p. 1051-1057.
- BEVERLEY, D.W., INWOOD, M.J., CHANCE, G.W., et al. 'Normal' haemostasis parameters: a study in a well-defined inborn population of preterm infants. *Early Hum Dev*, 1984, 9(3), p. 249-257.
- BLANK, M. a SHOENFELD, Y. Beta-2-glycoprotein-I, infections, antiphospholipid syndrome and therapeutic considerations. *Clin Immunol*, 2004, 112(2), p. 190-199.
- BLANK, M., TINCANI, A. a SHOENFELD, Y. Induction of experimental antiphospholipid syndrome in naive mice with purified IgG antiphosphatidylserine antibodies. *J Rheumatol*, 1994, 21(1), p. 100-104.

- BOUMAN, A., MOES, H., HEINEMAN, M.J., et al. The immune response during the luteal phase of the ovarian cycle: increasing sensitivity of human monocytes to endotoxin. *Fertil Steril*, 2001, 76(3), p. 555-559.
- BOWNESS, P., RIDLEY, A., SHAW, J., et al. Th17 cells expressing KIR3DL2+ and responsive to HLA-B27 homodimers are increased in ankylosing spondylitis. *J Immunol*, 2011, 186(4), p. 2672-2680.
- BRAIR, M.E., BRABIN, B.J., MILLIGAN, P., et al. Reduced transfer of tetanus antibodies with placental malaria. *Lancet*, 1994, 343(8891), p. 208-209.
- BRAMHAM, K., HUNT, B.J., GERMAIN, S., et al. Pregnancy outcome in different clinical phenotypes of antiphospholipid syndrome. *Lupus*, 2010, 19(1), p. 58-64.
- BRANCH, D.W. a KHAMASHTA, M.A. Antiphospholipid syndrome: obstetric diagnosis, management, and controversies. *Obstet Gynecol*, 2003, 101(6), p. 1333-1344.
- BRAUN, W.E. HLA molecules in autoimmune diseases. *Clin Biochem*, 1992, 25(3), p. 187-191.
- BREWSTER, J.A., ORSI, N.M., GOPICHANDRAN, N., et al. Host inflammatory response profiling in preeclampsia using an in vitro whole blood stimulation model. *Hypertens Pregnancy*, 2008, 27(1), p. 1-16.
- BRIX, T.H., HANSEN, P.S., KYVIK, K.O., et al. Preliminary evidence of a noncausal association between the X-chromosome inactivation pattern and thyroid autoimmunity: a twin study. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18(2), p. 254-257.
- BRUCATO, A., DORIA, A., FRASSI, M., et al. Pregnancy outcome in 100 women with autoimmune diseases and anti-Ro/SSA antibodies: a prospective controlled study. *Lupus*, 2002, 11(11), p. 716-721.
- BRUCATO, A., FRASSI, M., FRANCESCHINI, F., et al. Risk of congenital complete heart block in newborns of mothers with anti-Ro/SSA antibodies detected by counterimmunoelectrophoresis: a prospective study of 100 women. *Arthritis Rheum*, 2001, 44(8), p. 1832-1835.
- BRUCE, I.N., CLARK-SOLONINKA, C.A., SPITZER, K.A., et al. Prevalence of antibodies to beta2-glycoprotein I in systemic lupus erythematosus and their association with antiphospholipid antibody syndrome criteria: a single center study and literature review. *J Rheumatol*, 2000, 27(12), p. 2833-2837.
- BULIKOVÁ, A., HARUŠTIAKOVÁ, D., ZAVŘELOVÁ, J., et al. Trombocytopenie u pacientů s průkazem antifosfolipidových protilátek nebo s antifosfolipidovým syndromem. *Vnitř Lek*, 2010, 56, p. 81-90.
- BURD, I., BALAKRISHNAN, B. a KANNAN, S. Models of fetal brain injury, intrauterine inflammation, and preterm birth. *Am J Reprod Immunol*, 2012, 67(4), p. 287-294.
- BUYON, J.P. a CLANCY, R.M. From antibody insult to fibrosis in neonatal lupus-the heart of the matter. *Arthritis Res Ther*, 2003, 5(6), p. 266-270.
- BUYON, J.P. a CLANCY, R.M. Autoantibody-associated congenital heart block: TGFbeta and the road to scar. *Autoimmun Rev*, 2005, 4(1), p. 1-7.
- CACCAVO, D., PELLEGRINO, N.M., TOTARO, I., et al. Anti-laminin-1 antibodies in sera and follicular fluid of women with endometriosis undergoing in vitro fertilization. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2011, 24(2), p. 481-488.
- CALONGOS, G., HASEGAWA, A., KOMORI, S., et al. Harmful effects of anti-zona pellucida antibodies in folliculogenesis, oogenesis, and fertilization. *J Reprod Immunol*, 2009, 79(2), p. 148-155.

- CAREAGA, M., HANSEN, R.L., HERTZ-PICCOTTO, I., et al. Increased anti-phospholipid antibodies in autism spectrum disorders. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013, p. 935608.
- CARMO-PEREIRA, S., BERTOLACCINI, M.L., ESCUDERO-CONTRERAS, A., et al. Value of IgA anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibody testing in patients with pregnancy morbidity. *Ann Rheum Dis*, 2003, 62(6), p. 540-543.
- CAROSELLA, E.D., MOREAU, P., LE MAOULT, J., et al. HLA-G molecules: from maternal-fetal tolerance to tissue acceptance. *Adv Immunol*, 2003, 81, p. 199-252.
- CERVERA, R. a BALASCH, J. Bidirectional effects on autoimmunity and reproduction. *Hum Reprod Update*, 2008, 14(4), p. 359-366.
- CERVERA, R., KHAMASHTA, M.A., SHOENFELD, Y., et al. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 5-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients. *Ann Rheum Dis*, 2009, 68(9), p. 1428-1432.
- CERVERA, R., PIETTE, J.C., FONT, J., et al. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(4), p. 1019-1027.
- CIKES, N., BOSNIC, D. a SENTIC, M. Non-MS autoimmune demyelination. *Clin Neurol Neurosurg*, 2008, 110(9), p. 905-912.
- CIMAZ, R., SPENCE, D.L., HORNBERGER, L., et al. Incidence and spectrum of neonatal lupus erythematosus: a prospective study of infants born to mothers with anti-Ro autoantibodies. *J Pediatr*, 2003, 142(6), p. 678-683.
- CLARK, D.A., CHAOUAT, G., ARCK, P.C., et al. Cytokine-dependent abortion in CBA x DBA/2 mice is mediated by the procoagulant fgl2 prothrombinase [correction of prothombinase]. *J Immunol*, 1998, 160(2), p. 545-549.
- CLOWSE, M.E., JAMISON, M., MYERS, E., et al. A national study of the complications of lupus in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 199(2), p. 127 e121-126.
- COHEN, S.B., GOLDENBERG, M., RABINOVICI, J., et al. Anti-cardiolipin antibodies in fetal blood and amniotic fluid derived from patients with the anti-phospholipid syndrome. *Hum Reprod*, 2000, 15(5), p. 1170-1172.
- CONROY, M.J., BULLOUGH, P.A., MERRICK, M., et al. Modelling the human rhesus proteins: implications for structure and function. *Br J Haematol*, 2005, 131(4), p. 543-551.
- CONTI, F., ALESSANDRI, C., PERRICONE, C., et al. Neurocognitive dysfunction in systemic lupus erythematosus: association with antiphospholipid antibodies, disease activity and chronic damage. *PLoS One*, 2012, 7(3), p. e33824.
- COSTA-CARVALHO, B.T., VIERIA, H.M., DIMANTAS, R.B., et al. Transfer of IgG subclasses across placenta in term and preterm newborns. *Braz J Med Biol Res*, 1996, 29(2), p. 201-204.
- COSTEDOAT-CHALUMEAU, N., AMOURA, Z., LUPOGLAZOFF, J.M., et al. Outcome of pregnancies in patients with anti-SSA/Ro antibodies: a study of 165 pregnancies, with special focus on electrocardiographic variations in the children and comparison with a control group. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(10), p. 3187-3194.
- COTTLE, T.E., FIER, C.J., DONADIEU, J., et al. Risk and benefit of treatment of severe chronic neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *Semin Hematol*, 2002, 39(2), p. 134-140.
- COUNCIL., G.M., Good medical practice 2006, London: General medical Council

- CROME, S.Q., WANG, A.Y. a LEVINGS, M.K. Translational mini-review series on Th17 cells: function and regulation of human T helper 17 cells in health and disease.*Clin Exp Immunol*, 2010, 159(2), p. 109-119.
- DAHER, S., SHULZHENKO, N., MORGUN, A., et al. Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss.*J Reprod Immunol*, 2003, 58(1), p. 69-77.
- DALE, D.C., COTTLE, T.E., FIER, C.J., et al. Severe chronic neutropenia: treatment and follow-up of patients in the Severe Chronic Neutropenia International Registry.*Am J Hematol*, 2003, 72(2), p. 82-93.
- DALLMAN, P.R. Blood and blood-forming tissues.*Rudolph A (ed): Pediatrics (ed 16). New York: Appleton-Century-Crofts*, 1977, p. 1178.
- DAMOISEAUX, J.G. a TERVAERT, J.W. The definition of autoimmune disease: are Koch's postulates applicable? *Neth J Med*, 2002, 60(7), p. 266-268.
- DANOWSKI, A., KICKLER, T.S. a PETRI, M. Anti-beta2-glycoprotein I: prevalence, clinical correlations, and importance of persistent positivity in patients with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus.*J Rheumatol*, 2006, 33(9), p. 1775-1779.
- DAS, C., KUMAR, V.S., GUPTA, S., et al. Network of cytokines, integrins and hormones in human trophoblast cells.*J Reprod Immunol*, 2002, 53(1-2), p. 257-268.
- DEKEL, N., GNAINSKY, Y., GRANOT, I., et al. Inflammation and implantation.*Am J Reprod Immunol*, 2010, 63(1), p. 17-21.
- DJELMIS, J., SOSTARKO, M., MAYER, D., et al. Myasthenia gravis in pregnancy: report on 69 cases.*Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2002, 104(1), p. 21-25.
- DORIA, A., GHIRARDELLO, A., IACCARINO, L., et al. Pregnancy, cytokines, and disease activity in systemic lupus erythematosus.*Arthritis Rheum*, 2004, 51(6), p. 989-995.
- DUAN, R.S., LINK, H. a XIAO, B.G. Dehydroepiandrosterone therapy ameliorates experimental autoimmune myasthenia gravis in Lewis rats.*J Clin Immunol*, 2003, 23(2), p. 100-106.
- ERKAN, D., KOZORA, E. a LOCKSHIN, M.D. Cognitive dysfunction and white matter abnormalities in antiphospholipid syndrome.*Pathophysiology*, 2011, 18(1), p. 93-102.
- EVOLI, A., TONALI, P.A., PADUA, L., et al. Clinical correlates with anti-MuSK antibodies in generalized seronegative myasthenia gravis.*Brain*, 2003, 126(Pt 10), p. 2304-2311.
- FAIRWEATHER, D. a ROSE, N.R. Women and autoimmune diseases.*Emerg Infect Dis*, 2004, 10(11), p. 2005-2011.
- FIRAN, M., BAWDON, R., RADU, C., et al. The MHC class I-related receptor, FcRn, plays an essential role in the maternofetal transfer of gamma-globulin in humans.*Int Immunol*, 2001, 13(8), p. 993-1002.
- FORGES, T., MONNIER-BARBARINO, P., FAURE, G.C., et al. Autoimmunity and antigenic targets in ovarian pathology.*Hum Reprod Update*, 2004, 10(2), p. 163-175.
- FRANKLIN, R.D. a KUTTEH, W.H. Effects of unfractionated and low molecular weight heparin on antiphospholipid antibody binding in vitro.*Obstet Gynecol*, 2003, 101(3), p. 455-462.
- FRAUENKNECHT, K., LACKNER, K. a VON LANDENBERG, P. Antiphospholipid antibodies in pediatric patients with prolonged activated partial thromboplastin time during infection.*Immunobiology*, 2005, 210(10), p. 799-805.

- FRIEDMAN, D.M., RUPEL, A. a BUYON, J.P. Epidemiology, etiology, detection, and treatment of autoantibody-associated congenital heart block in neonatal lupus. *Curr Rheumatol Rep*, 2007, 9(2), p. 101-108.
- FUCHS, R. a ELLINGER, I. Endocytic and transcytotic processes in villous syncytiotrophoblast: role in nutrient transport to the human fetus. *Traffic*, 2004, 5(10), p. 725-738.
- GERMAIN, A.M., ROMANIK, M.C., GUERRA, I., et al. Endothelial dysfunction: a link among preeclampsia, recurrent pregnancy loss, and future cardiovascular events? *Hypertension*, 2007a, 49(1), p. 90-95.
- GERMAIN, S.J., SACKS, G.P., SOORANNA, S.R., et al. Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles. *J Immunol*, 2007b, 178(9), p. 5949-5956.
- GEROSA, M., CIMAZ, R., STRAMBA-BADIALE, M., et al. Electrocardiographic abnormalities in infants born from mothers with autoimmune diseases--a multicentre prospective study. *Rheumatology (Oxford)*, 2007, 46(8), p. 1285-1289.
- GESUNDHEIT, B., ROSENZWEIG, J.P., NAOR, D., et al. Immunological and autoimmune considerations of Autism Spectrum Disorders. *J Autoimmun*, 2013, 44, p. 1-7.
- GLEICHER, N. a BARAD, D.H. Gender as risk factor for autoimmune diseases. *J Autoimmun*, 2007, 28(1), p. 1-6.
- GLIASCHERA, M., BIVER, P., BRUNORI, E., et al. [Myasthenia gravis and pregnancy. Review of the literature and considerations on the immunoprotective effect of alpha-fetoprotein through the observation of a clinical case]. *Ann Ostet Ginecol Med Perinat*, 1989, 110(1), p. 20-27.
- GLINOER, D. Potential consequences of maternal hypothyroidism on the offspring: evidence and implications. *Horm Res*, 2001, 55(3), p. 109-114.
- GORDON, C. Pregnancy and autoimmune diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2004, 18(3), p. 359-379.
- GORDON, S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(1), p. 23-35.
- GRIS, J.C., QUERE, I., SANMARCO, M., et al. Antiphospholipid and antiprotein syndromes in non-thrombotic, non-autoimmune women with unexplained recurrent primary early foetal loss. The Nimes Obstetricians and Haematologists Study--NOHA. *Thromb Haemost*, 2000, 84(2), p. 228-236.
- HADAČ, J., *Ultrazvukové vyšetření mozku přes velkou fontanelu*. 1. ed2000, Praha: Triton. 194.
- HANSEN, S., GARDULF, A., ANDERSSON, E., et al. Women with primary antibody deficiencies requiring IgG replacement therapy: their perception of prenatal care during pregnancy. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*, 2004, 33(5), p. 604-609.
- HAREL, L. Neuropsychiatric manifestations in pediatric systemic lupus erythematosus and association with antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol*, 2006, 33.
- HARRIS, E.N., GHARAVI, A.E., BOEY, M.L., et al. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet*, 1983, 2(8361), p. 1211-1214.
- HARRIS, L.K. IFPA Gabor Than Award lecture: Transformation of the spiral arteries in human pregnancy: key events in the remodelling timeline. *Placenta*, 2011, 32 Suppl 2, p. S154-158.

- HAYTER, S.M. a COOK, M.C. Updated assessment of the prevalence, spectrum and case definition of autoimmune disease. *Autoimmun Rev*, 2012, 11(10), p. 754-765.
- HENDERSON, T.A., SAUNDERS, P.T., MOFFETT-KING, A., et al. Steroid receptor expression in uterine natural killer cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(1), p. 440-449.
- HILL, J.A., POLGAR, K. a ANDERSON, D.J. T-helper 1-type immunity to trophoblast in women with recurrent spontaneous abortion. *JAMA*, 1995, 273(24), p. 1933-1936.
- HOFF, J.M., DALTVIT, A.K. a GILHUS, N.E. Myasthenia gravis in pregnancy and birth: identifying risk factors, optimising care. *Eur J Neurol*, 2007, 14(1), p. 38-43.
- HOLMES, C.H., SIMPSON, K.L., OKADA, H., et al. Complement regulatory proteins at the feto-maternal interface during human placental development: distribution of CD59 by comparison with membrane cofactor protein (CD46) and decay accelerating factor (CD55). *Eur J Immunol*, 1992, 22(6), p. 1579-1585.
- HOREJSI V, B.J., Základy imunologie. 2. ed2002, Praha: Triton.
- HORNÍK, P., KLIMEŠOVÁ, P. a REITKNECHTOVÁ, M. Screeningové vyšetření sluchu pomocí otoakustických emisí v novorozeneckém věku. *Otorinolaryngologie a foniatrie*, 1999, 48(3), p. 136-143.
- HORSTMAN, L.L., JY, W., BIDOT, C.J., et al. Antiphospholipid antibodies: paradigm in transition. *J Neuroinflammation*, 2009, 6, p. 3.
- HOŘÁK, J., Pediatrikáradiologie. 1. ed2012, Praha: Karolinum. 188.
- HOUSER, B.L. Decidual macrophages and their roles at the maternal-fetal interface. *Yale J Biol Med*, 2012, 85(1), p. 105-118.
- HOUSER, B.L., TILBURGS, T., HILL, J., et al. Two unique human decidual macrophage populations. *J Immunol*, 2011, 186(4), p. 2633-2642.
- HRADECKY, L., SUBRT, I. a ULCOVA-GALLOVA, Z. Urgent termination of pregnancy in pre-eclampsia and panel of antiphospholipid antibodies. *Am J Reprod Immunol*, 2009, 62(6), p. 412-417.
- HSI, B.L., HUNT, J.S. a ATKINSON, J.P. Differential expression of complement regulatory proteins on subpopulations of human trophoblast cells. *J Reprod Immunol*, 1991, 19(3), p. 209-223.
- HUNT, J.S., ANDREWS, G.K. a WOOD, G.W. Normal trophoblasts resist induction of class I HLA. *J Immunol*, 1987, 138(8), p. 2481-2487.
- HUNT, J.S. a LANGAT, D.L. HLA-G: a human pregnancy-related immunomodulator. *Curr Opin Pharmacol*, 2009, 9(4), p. 462-469.
- HUNT, J.S., MILLER, L., VASSMER, D., et al. Expression of the inducible nitric oxide synthase gene in mouse uterine leukocytes and potential relationships with uterine function during pregnancy. *Biol Reprod*, 1997, 57(4), p. 827-836.
- HUNT, J.S., PETROFF, M.G., MCINTIRE, R.H., et al. HLA-G and immune tolerance in pregnancy. *FASEB J*, 2005, 19(7), p. 681-693.
- CHAIDEMENOS, G., LEFAKI, I., TSAKIRI, A., et al. Impetigo herpetiformis: menstrual exacerbations for 7 years postpartum. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2005, 19(4), p. 466-469.
- CHAN, J.B., LEVI, D.S., LAI, C.K., et al. Cellular rejection of the conduction system after orthotopic heart transplantation for congenital atrioventricular block. *J Heart Lung Transplant*, 2006, 25(11), p. 1371-1375.

- CHAOUAT, G. a CLARK, D.A. FAS/FAS ligand interaction at the placental interface is not required for the success of allogeneic pregnancy in anti-paternal MHC preimmunized mice.*Am J Reprod Immunol*, 2001, 45(2), p. 108-115.
- CHAOUAT, G., ZOURBAS, S., OSTOJIC, S., et al. A brief review of recent data on some cytokine expressions at the materno-foetal interface which might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy.*J Reprod Immunol*, 2002, 53(1-2), p. 241-256.
- CHAPMAN, J., COHEN-ARMON, M., SHOENFELD, Y., et al. Antiphospholipid antibodies permeabilize and depolarize brain synaptoneuroosomes.*Lupus*, 1999, 8(2), p. 127-133.
- CHAPMAN, J., RAND, J.H., BREY, R.L., et al. Non-stroke neurological syndromes associated with antiphospholipid antibodies: evaluation of clinical and experimental studies.*Lupus*, 2003, 12(7), p. 514-517.
- CHIMANOVITCH, I., HAMM, H., GEORGI, M., et al. Bullous pemphigoid of childhood: autoantibodies target the same epitopes within the NC16A domain of BP180 as autoantibodies in bullous pemphigoid of adulthood.*Arch Dermatol*, 2000, 136(4), p. 527-532.
- CHIU, W.W. a CHAMLEY, L.W. Clinical associations and mechanisms of action of antisperm antibodies.*Fertil Steril*, 2004, 82(3), p. 529-535.
- CHOW, S.S., CRAIG, M.E., JONES, C.A., et al. Differences in amniotic fluid and maternal serum cytokine levels in early midtrimester women without evidence of infection.*Cytokine*, 2008, 44(1), p. 78-84.
- INAGAKI, J., KONDO, A., LOPEZ, L.R., et al. Pregnancy loss and endometriosis: pathogenic role of anti-laminin-1 autoantibodies.*Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1051, p. 174-184.
- INGEN-HOUSZ-ORO, S. [Pemphigoid gestationis: a review].*Ann Dermatol Venereol*, 2011, 138(3), p. 209-213.
- INVERNIZZI, P., PASINI, S., SELMI, C., et al. Female predominance and X chromosome defects in autoimmune diseases.*J Autoimmun*, 2009, 33(1), p. 12-16.
- JAMIESON, D.J., THEILER, R.N. a RASMUSSEN, S.A. Emerging infections and pregnancy.*Emerg Infect Dis*, 2006, 12(11), p. 1638-1643.
- JONES, C.E., NAIDOO, S., DE BEER, C., et al. Maternal HIV infection and antibody responses against vaccine-preventable diseases in uninfected infants.*JAMA*, 2011, 305(6), p. 576-584.
- JONSSON, Y., RUBER, M., MATTHIESEN, L., et al. Cytokine mapping of sera from women with preeclampsia and normal pregnancies.*J Reprod Immunol*, 2006, 70(1-2), p. 83-91.
- JOSEPHSON, C., NUSS, R., JACOBSON, L., et al. The varicella-autoantibody syndrome.*Pediatr Res*, 2001, 50(3), p. 345-352.
- KANE, S.V. a ACQUAH, L.A. Placental transport of immunoglobulins: a clinical review for gastroenterologists who prescribe therapeutic monoclonal antibodies to women during conception and pregnancy.*Am J Gastroenterol*, 2009, 104(1), p. 228-233.
- KAO, C.H., LAN, J.L., CHANGLAI, S.P., et al. The role of FDG-PET, HMPAO-SPET and MRI in the detection of brain involvement in patients with systemic lupus erythematosus.*Eur J Nucl Med*, 1999, 26(2), p. 129-134.
- KARDOS, M., LEVINE, D., GURCAN, H.M., et al. Pemphigus vulgaris in pregnancy: analysis of current data on the management and outcomes.*Obstet Gynecol Surv*, 2009, 64(11), p. 739-749.

- KASPERKIEWICZ, M., ZILLIKENS, D. a SCHMIDT, E. Pemphigoid diseases: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Autoimmunity*, 2012, 45(1), p. 55-70.
- KATSURAGAWA, H., KANZAKI, H., INOUE, T., et al. Monoclonal antibody against phosphatidylserine inhibits in vitro human trophoblastic hormone production and invasion. *Biol Reprod*, 1997, 56(1), p. 50-58.
- KATZAV, A., SHROT, S. a LITVINJUK, Y. Cognitive and behavioral deficits develop late in a mouse model of the antiphospholipid syndrome (APS). *Neurology*, 2001, 56, p. 472.
- KAY, J. a UPCHURCH, K.S. ACR/EULAR 2010 rheumatoid arthritis classification criteria. *Rheumatology (Oxford)*, 2012, 51 Suppl 6, p. vi5-9.
- KEESEY, J.C. Clinical evaluation and management of myasthenia gravis. *Muscle Nerve*, 2004, 29(4), p. 484-505.
- KENT, M., ALVAREZ, F., VOGT, E., et al. Monoclonal antiphosphatidylserine antibodies react directly with feline and murine central nervous system. *J Rheumatol*, 1997, 24(9), p. 1725-1733.
- KING, A., ALLAN, D.S., BOWEN, M., et al. HLA-E is expressed on trophoblast and interacts with CD94/NKG2 receptors on decidual NK cells. *Eur J Immunol*, 2000, 30(6), p. 1623-1631.
- KLEHMET, J., DUDENHAUSEN, J. a MEISEL, A. [Course and treatment of myasthenia gravis during pregnancy]. *Nervenarzt*, 2010, 81(8), p. 956-962.
- KNOBLOCH, C., GOLDMANN, S.F. a FRIEDRICH, W. Limited T cell receptor diversity of transplacentally acquired maternal T cells in severe combined immunodeficiency. *J Immunol*, 1991, 146(12), p. 4157-4164.
- KOKCU, A., YAVUZ, E., CELIK, H., et al. A panoramic view to relationships between reproductive failure and immunological factors. *Arch Gynecol Obstet*, 2012, 286(5), p. 1283-1289.
- KOLSKÁ M, G.M., FINKOVÁ M. Neonatální tyreotoxikóza. *Čes-slov Pediat*, 2001, 7, p. 405-408.
- KUČERA, J. a KUBELÍK, J. Nové tabulky normální porodní hmotnosti pro Českou republiku. *Čs Pediatrie*, 1999, 54(10), p. 572-578.
- KUDO, Y., BOYD, C.A., SARGENT, I.L., et al. Modulation of indoleamine 2,3-dioxygenase by interferon-gamma in human placental chorionic villi. *Mol Hum Reprod*, 2000, 6(4), p. 369-374.
- KUMPEL BM, J.D. Immunocytochemical analysis of CD41, CD61 and human platelet antigen-1a expression in human placenta. *Transfus Med*, 2003, 36, p. 113.
- KUMRU, S., BOZTOSUN, A. a GODEKMERDAN, A. Pregnancy-associated changes in peripheral blood lymphocyte subpopulations and serum cytokine concentrations in healthy women. *J Reprod Med*, 2005, 50(4), p. 246-250.
- KUO, T.T., BAKER, K., YOSHIDA, M., et al. Neonatal Fc receptor: from immunity to therapeutics. *J Clin Immunol*, 2010, 30(6), p. 777-789.
- KURECOVA, B., JANKU, P. a LITZMAN, J. [Common variable immunodeficiency in pregnancy (set of case reports)]. *Ceska Gynecol*, 2009, 74(3), p. 197-201.
- KURUGOL, Z., VARDAR, F., OZKINAY, F., et al. Lupus anticoagulant and protein S deficiency in otherwise healthy children with acute varicella infection. *Acta Paediatr*, 2000, 89(10), p. 1186-1189.

- KUYPERS, E., OPHELDERS, D., JELLEMA, R.K., et al. White matter injury following fetal inflammatory response syndrome induced by chorioamnionitis and fetal sepsis: lessons from experimental ovine models. *Early Hum Dev*, 2012, 88(12), p. 931-936.
- KWAK-KIM, J. a GILMAN-SACHS, A. Clinical implication of natural killer cells and reproduction. *Am J Reprod Immunol*, 2008, 59(5), p. 388-400.
- LAM, C.M., WONG, S.F., LEUNG, T.N., et al. A case-controlled study comparing clinical course and outcomes of pregnant and non-pregnant women with severe acute respiratory syndrome. *BJOG*, 2004, 111(8), p. 771-774.
- LAMBERT, N.C., ERICKSON, T.D., YAN, Z., et al. Quantification of maternal microchimerism by HLA-specific real-time polymerase chain reaction: studies of healthy women and women with scleroderma. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(3), p. 906-914.
- LE BOUTEILLER, P., LEGRAND-ABRAVANEL, F. a SOLIER, C. Soluble HLA-G1 at the materno-foetal interface--a review. *Placenta*, 2003, 24 Suppl A, p. S10-15.
- LEE, L.A. Transient autoimmunity related to maternal autoantibodies: neonatal lupus. *Autoimmun Rev*, 2005, 4(4), p. 207-213.
- LEE, L.A., SOKOL, R.J. a BUYON, J.P. Hepatobiliary disease in neonatal lupus: prevalence and clinical characteristics in cases enrolled in a national registry. *Pediatrics*, 2002, 109(1), p. E11.
- LLEO, A., BATTEZZATI, P.M., SELMI, C., et al. Is autoimmunity a matter of sex? *Autoimmun Rev*, 2008, 7(8), p. 626-630.
- LO, Y.M., LAU, T.K., CHAN, L.Y., et al. Quantitative analysis of the bidirectional fetomaternal transfer of nucleated cells and plasma DNA. *Clin Chem*, 2000, 46(9), p. 1301-1309.
- LOCKSHIN, M.D. Sex differences in autoimmune disease. *Lupus*, 2006, 15(11), p. 753-756.
- LUBCHENCO, L.O., HANSMAN, C. a BOYD, E. Intrauterine growth in length and head circumference as estimated from live births at gestational ages from 26 to 42 weeks. *Pediatrics*, 1966, 37(3), p. 403-408.
- LUBUSKY, M., PROCHAZKA, M., SANTAVY, J., et al. [Actual management of pregnancies at risk for fetal anemia]. *Ceska Gynekol*, 2006, 71(4), p. 272-280.
- LUBUSKY, M., PROCHAZKA, M., SIMETKA, O., et al. [Guideline for prevention of RhD alloimmunization in RhD negative women]. *Ceska Gynekol*, 2013, 78(2), p. 132-133.
- LUPPI, P., HALUSZCZAK, C., TRUCCO, M., et al. Normal pregnancy is associated with peripheral leukocyte activation. *Am J Reprod Immunol*, 2002, 47(2), p. 72-81.
- MADAR J, N.D., NOVÁKOVÁ D. Imunologické aspekty habituálního potrácení. *Mod Gyn porod*, 2002, 11 (4), p. 621-627.
- MAES, M. The cytokine hypothesis of depression: inflammation, oxidative & nitrosative stress (IO&NS) and leaky gut as new targets for adjunctive treatments in depression. *Neuro Endocrinol Lett*, 2008, 29(3), p. 287-291.
- MAKHOUL, I.R., ZMORA, O., TAMIR, A., et al. Congenital subependymal pseudocysts: own data and meta-analysis of the literature. *Isr Med Assoc J*, 2001, 3(3), p. 178-183.
- MALEK, A., SAGER, R., KUHN, P., et al. Evolution of maternofetal transport of immunoglobulins during human pregnancy. *Am J Reprod Immunol*, 1996, 36(5), p. 248-255.

- MALINGER, G., LEV, D., BEN SIRA, L., et al. Congenital periventricular pseudocysts: prenatal sonographic appearance and clinical implications. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2002, 20(5), p. 447-451.
- MALM, H. Prenatal exposure to selective serotonin reuptake inhibitors and infant outcome. *Ther Drug Monit*, 2012, 34(6), p. 607-614.
- MANNISTO, T., VAARASMAKI, M., POUTA, A., et al. Perinatal outcome of children born to mothers with thyroid dysfunction or antibodies: a prospective population-based cohort study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(3), p. 772-779.
- MARDER, W., GANSER, M.A., ROMERO, V., et al. In utero azathioprine exposure and increased utilization of special educational services in children born to mothers with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2013, 65(5), p. 759-766.
- MARK, S., MURPHY, K.E., READ, S., et al. HIV mother-to-child transmission, mode of delivery, and duration of rupture of membranes: experience in the current era. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 2012, 2012, p. 267969.
- MARTIN, D.A. a ELKON, K.B. Mechanisms of apoptosis. *Rheum Dis Clin North Am*, 2004, 30(3), p. 441-454, vii.
- MARTINEZ, F.O., GORDON, S., LOCATI, M., et al. Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression. *J Immunol*, 2006, 177(10), p. 7303-7311.
- MARTINUC POROBIC, J., AVCIN, T., BOZIC, B., et al. Anti-phospholipid antibodies following vaccination with recombinant hepatitis B vaccine. *Clin Exp Immunol*, 2005, 142(2), p. 377-380.
- MASSAD, L.S., SPRINGER, G., JACOBSON, L., et al. Pregnancy rates and predictors of conception, miscarriage and abortion in US women with HIV. *AIDS*, 2004, 18(2), p. 281-286.
- MATALON, S.T., BLANK, M., LEVY, Y., et al. The pathogenic role of anti-thyroglobulin antibody on pregnancy: evidence from an active immunization model in mice. *Hum Reprod*, 2003, 18(5), p. 1094-1099.
- MATSUBAYASHI, H., ARAI, T., IZUMI, S., et al. Anti-annexin V antibodies in patients with early pregnancy loss or implantation failures. *Fertil Steril*, 2001a, 76(4), p. 694-699.
- MATSUBAYASHI, H., HOSAKA, T., SUGIYAMA, Y., et al. Increased natural killer-cell activity is associated with infertile women. *Am J Reprod Immunol*, 2001b, 46(5), p. 318-322.
- MATTHIESEN, L., KALKUNTE, S. a SHARMA, S. Multiple pregnancy failures: an immunological paradigm. *Am J Reprod Immunol*, 2012, 67(4), p. 334-340.
- MCCOMBE, P.A., GREER, J.M. a MACKAY, I.R. Sexual dimorphism in autoimmune disease. *Curr Mol Med*, 2009, 9(9), p. 1058-1079.
- MCGOWAN, J.P. a SHAH, S.S. Prevention of perinatal HIV transmission during pregnancy. *J Antimicrob Chemother*, 2000, 46(5), p. 657-668.
- MCINTYRE, J.A., WAGENKNECHT, D.R. a FAULK, W.P. Antiphospholipid antibodies: discovery, definitions, detection and disease. *Prog Lipid Res*, 2003, 42(3), p. 176-237.
- MELLOR, A.L. a MUNN, D.H. Immunology at the maternal-fetal interface: lessons for T cell tolerance and suppression. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18, p. 367-391.

- MENGRELI, C., MANIATI-CHRISTIDI, M., KANAKA-GANTENBEIN, C., et al. Transient congenital hypothyroidism due to maternal autoimmune thyroid disease. *Hormones (Athens)*, 2003, 2(2), p. 113-119.
- MERONI, P.L., DI SIMONE, N., TESTONI, C., et al. Antiphospholipid antibodies as cause of pregnancy loss. *Lupus*, 2004, 13(9), p. 649-652.
- MERONI, P.L., GEROSA, M., RASCHI, E., et al. Updating on the pathogenic mechanisms 5 of the antiphospholipid antibodies-associated pregnancy loss. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2008, 34(3), p. 332-337.
- MICHIELI, M., PECCATORI, F.A., LLESHI, A., et al. Antiplastic treatment of haematological malignancies during pregnancy: a crucial decision. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2012, 25(2 Suppl), p. 21S-32S.
- MIYAKIS, S., LOCKSHIN, M.D., ATSUMI, T., et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*, 2006, 4(2), p. 295-306.
- MJOSBERG, J., BERG, G., ERNERUDH, J., et al. CD4+ CD25+ regulatory T cells in human pregnancy: development of a Treg-MLC-ELISPOT suppression assay and indications of paternal specific Tregs. *Immunology*, 2007, 120(4), p. 456-466.
- MOCKOVA, A. Rh inkompatibilita-stále aktuální problém *Vox pediatrics*, 2006, 6(5), p. 3.
- MOCKOVÁ, A., NOVÁKOVÁ, V. a Z., L. Deprese a antidepresivní terapie matek z pohledu neonatologa. *Pediatric pro praxi*, 2012, 13(3), p. 188-192.
- MOTTA, M., BOFFA, M.C., TINCANI, A., et al. Follow-up of babies born to mothers with antiphospholipid syndrome: preliminary data from the European neonatal registry. *Lupus*, 2012, 21(7), p. 761-763.
- MOTTA, M., CHIRICO, G., REBAIOLI, C.B., et al. Anticardiolipin and anti-beta2 glycoprotein I antibodies in infants born to mothers with antiphospholipid antibody-positive autoimmune disease: a follow-up study. *Am J Perinatol*, 2006, 23(4), p. 247-251.
- MOTTA, M., TINCANI, A., FADEN, D., et al. Follow-up of infants exposed to hydroxychloroquine given to mothers during pregnancy and lactation. *J Perinatol*, 2005, 25(2), p. 86-89.
- MOTTA, M., TINCANI, A., LOJACONO, A., et al. Neonatal outcome in patients with rheumatic disease. *Lupus*, 2004, 13(9), p. 718-723.
- MOTTA, M., TINCANI, A., MERONI, P.L., et al. Follow-up of children exposed antenatally to immunosuppressive drugs. *Rheumatology (Oxford)*, 2008, 47 Suppl 3, p. iii32-34.
- MOUSSA, M., ROQUES, P., FIEVET, N., et al. Placental cytokine and chemokine production in HIV-1-infected women: trophoblast cells show a different pattern compared to cells from HIV-negative women. *Clin Exp Immunol*, 2001, 125(3), p. 455-464.
- MUNN, D.H., ZHOU, M., ATTWOOD, J.T., et al. Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. *Science*, 1998, 281(5380), p. 1191-1193.
- MUSCAL, E., BLOOM, D.R., HUNTER, J.V., et al. Neurocognitive deficits and neuroimaging abnormalities are prevalent in children with lupus: clinical and research experiences at a US pediatric institution. *Lupus*, 2010, 19(3), p. 268-279.

- MUSCAL, E., MINTA, A. a MYONES, B. Anti_neuronal, anti-ribosomal P, and anti-phospholipid antibodies in pediatric neuropsychiatric lupus. *Arthritis Rheum*, 2006, 52, p. 621.
- NACINOVICH, R., GALLI, J., BOMBA, M., et al. Neuropsychological development of children born to patients with antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum*, 2008, 59(3), p. 345-351.
- NERI, F., CHIMINI, L., BONOMI, F., et al. Neuropsychological development of children born to patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 2004, 13(10), p. 805-811.
- NESHEIM, S., TAYLOR, A., LAMPE, M.A., et al. A framework for elimination of perinatal transmission of HIV in the United States. *Pediatrics*, 2012, 130(4), p. 738-744.
- NG, S.C., GILMAN-SACHS, A., THAKER, P., et al. Expression of intracellular Th1 and Th2 cytokines in women with recurrent spontaneous abortion, implantation failures after IVF/ET or normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol*, 2002, 48(2), p. 77-86.
- NORWITZ, E.R., SCHUST, D.J. a FISHER, S.J. Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med*, 2001, 345(19), p. 1400-1408.
- NOVÁK, A., *Audiologie* 2003, Praha: Unitisk, spol. s r. o. 333.
- O'CONNOR, M.J., PAGET-BROWN, A.O. a CLARKE, W.L. Premature twins of a mother with Graves' disease with discordant thyroid function: a case report. *J Perinatol*, 2007, 27(6), p. 388-389.
- ORDOOKHANI, A., MIRMIRAN, P., WALFISH, P.G., et al. Transient neonatal hypothyroidism is associated with elevated serum anti-thyroglobulin antibody levels in newborns and their mothers. *J Pediatr*, 2007, 150(3), p. 315-317, 317 e312.
- ORTONA, E., MARGUTTI, P., MATARRESE, P., et al. Redox state, cell death and autoimmune diseases: a gender perspective. *Autoimmun Rev*, 2008, 7(7), p. 579-584.
- OSTENSEN, M., KHAMASHTA, M., LOCKSHIN, M., et al. Anti-inflammatory and immunosuppressive drugs and reproduction. *Arthritis Res Ther*, 2006, 8(3), p. 209.
- OZENCI, C.C., KORGUN, E.T. a DEMIR, R. Immunohistochemical detection of CD45+, CD56+, and CD14+ cells in human decidua during early pregnancy. *Early Pregnancy*, 2001, 5(3), p. 164-175.
- PALMEIRA, P., QUINELLO, C., SILVEIRA-LESSA, A.L., et al. IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012, p. 985646.
- PANKO, J., FLORELL, S.R., HADLEY, J., et al. Neonatal pemphigus in an infant born to a mother with serologic evidence of both pemphigus vulgaris and gestational pemphigoid. *J Am Acad Dermatol*, 2009, 60(6), p. 1057-1062.
- PAPILE, L.A., BURSTEIN, J., BURSTEIN, R., et al. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr*, 1978, 92(4), p. 529-534.
- PARK, M.A., LI, J.T., HAGAN, J.B., et al. Common variable immunodeficiency: a new look at an old disease. *Lancet*, 2008, 372(9637), p. 489-502.
- PARKS, J.S., LIN, M., GROSSE, S.D., et al. The impact of transient hypothyroidism on the increasing rate of congenital hypothyroidism in the United States. *Pediatrics*, 2010, 125 Suppl 2, p. S54-63.
- PARLOWSKY, T., WELZEL, J., AMAGAI, M., et al. Neonatal pemphigus vulgaris: IgG4 autoantibodies to desmoglein 3 induce skin blisters in newborns. *J Am Acad Dermatol*, 2003, 48(4), p. 623-625.

- PB, M. Some immunological and endocrinological problems raised by evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol*, 1953, 7, p. 320-338.
- PELKMANS, L. a DE LAAT, B. Antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I: the one and only? *Lupus*, 2012, 21(7), p. 769-772.
- PENGO, V. APS--controversies in diagnosis and management, critical overview of current guidelines. *Thromb Res*, 2011, 127 Suppl 3, p. S51-52.
- PERNIS, A.B. Th17 cells in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *J Intern Med*, 2009, 265(6), p. 644-652.
- PETRI, M. Review of classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am*, 2005, 31(2), p. 245-254, vi.
- PETTA, C.A., ARRUDA, M.S., ZANTUT-WITTMANN, D.E., et al. Thyroid autoimmunity and thyroid dysfunction in women with endometriosis. *Hum Reprod*, 2007, 22(10), p. 2693-2697.
- PICCINNI, M.P., GIUDIZI, M.G., BIAGIOTTI, R., et al. Progesterone favors the development of human T helper cells producing Th2-type cytokines and promotes both IL-4 production and membrane CD30 expression in established Th1 cell clones. *J Immunol*, 1995, 155(1), p. 128-133.
- PICCINNI, M.P., SCALETTI, C., VULTAGGIO, A., et al. Defective production of LIF, M-CSF and Th2-type cytokines by T cells at fetomaternal interface is associated with pregnancy loss. *J Reprod Immunol*, 2001, 52(1-2), p. 35-43.
- PIERANGELI, S.S., GHARAVI, A.E. a HARRIS, E.N. Experimental thrombosis and antiphospholipid antibodies: new insights. *J Autoimmun*, 2000, 15(2), p. 241-247.
- POLAK, M., LE GAC, I., VUILLARD, E., et al. Fetal and neonatal thyroid function in relation to maternal Graves' disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2004, 18(2), p. 289-302.
- POLIZZI, A., HUSON, S.M. a VINCENT, A. Teratogen update: maternal myasthenia gravis as a cause of congenital arthrogryposis. *Teratology*, 2000, 62(5), p. 332-341.
- POLMAN, C.H., REINGOLD, S.C., BANWELL, B., et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol*, 2011, 69(2), p. 292-302.
- POPP, H., SPIEKERMANN, K., WOLLENBERG, A., et al. [Hematologic neoplasias and solid tumors in pregnancy. Part 1: diagnosis and principal treatment options]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2009, 134(7), p. 311-315.
- POPPE, K., GLINOER, D., VAN STEIRTEGHEM, A., et al. Thyroid dysfunction and autoimmunity in infertile women. *Thyroid*, 2002, 12(11), p. 997-1001.
- PRENDIVILLE, J.S., CABRAL, D.A., POSKITT, K.J., et al. Central nervous system involvement in neonatal lupus erythematosus. *Pediatr Dermatol*, 2003, 20(1), p. 60-67.
- QUACK, K.C., VASSILIADOU, N., PUDNEY, J., et al. Leukocyte activation in the decidua of chromosomally normal and abnormal fetuses from women with recurrent abortion. *Hum Reprod*, 2001, 16(5), p. 949-955.
- RADETTI, G., ZAVALLONE, A., GENTILI, L., et al. Foetal and neonatal thyroid disorders. *Minerva Pediatr*, 2002, 54(5), p. 383-400.
- REGO SOUSA, P., FIGUEIRA, R. a VASCONCELLOS, R. Neonatal stroke associated with de novo antiphospholipid antibody and homozygous 1298C/C methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *BMJ Case Rep*, 2012, 2012.

- RICHANI, K., SOTO, E., ROMERO, R., et al. Normal pregnancy is characterized by systemic activation of the complement system. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2005, 17(4), p. 239-245.
- RICHMAN, D.P. a AGIUS, M.A. Treatment of autoimmune myasthenia gravis. *Neurology*, 2003, 61(12), p. 1652-1661.
- RISSE, D.C., DAVIES, M.W. a WILLIAMS, B.A. Review of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *J Paediatr Child Health*, 2012, 48(9), p. 816-822.
- ROBERTS, C.W., WALKER, W. a ALEXANDER, J. Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites. *Clin Microbiol Rev*, 2001, 14(3), p. 476-488.
- ROBINSON, D.P. a KLEIN, S.L. Pregnancy and pregnancy-associated hormones alter immune responses and disease pathogenesis. *Horm Behav*, 2012, 62(3), p. 263-271.
- RODRIGUES CDOS, S., FILIPE, P., SOLANA MDEL, M., et al. Persistent herpes gestationis treated with high-dose intravenous immunoglobulin. *Acta Derm Venereol*, 2007, 87(2), p. 184-186.
- ROSE, N.R. Mechanisms of autoimmunity. *Semin Liver Dis*, 2002, 22(4), p. 387-394.
- ROSS, G., SAMMARITANO, L., NASS, R., et al. Effects of mothers' autoimmune disease during pregnancy on learning disabilities and hand preference in their children. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2003, 157(4), p. 397-402.
- ROUBEY, R.A. Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins: a new view of lupus anticoagulants and other "antiphospholipid" autoantibodies. *Blood*, 1994, 84(9), p. 2854-2867.
- ROVELLI, R., VIGONE, M.C., GIOVANETTONI, C., et al. Newborn of mothers affected by autoimmune thyroiditis: the importance of thyroid function monitoring in the first months of life. *Ital J Pediatr*, 2010, 36, p. 24.
- RUBTSOV, A.V., RUBTSOVA, K., KAPPLER, J.W., et al. Genetic and hormonal factors in female-biased autoimmunity. *Autoimmun Rev*, 2010, 9(7), p. 494-498.
- SAARINEN, U.M. a SIIMES, M.A. Developmental changes in red blood cell counts and indices of infants after exclusion of iron deficiency by laboratory criteria and continuous iron supplementation. *J Pediatr*, 1978, 92(3), p. 412-416.
- SACKS, G., SARGENT, I. a REDMAN, C. Innate immunity in pregnancy. *Immunol Today*, 2000, 21(4), p. 200-201.
- SACKS, G.P., CLOVER, L.M., BAINBRIDGE, D.R., et al. Flow cytometric measurement of intracellular Th1 and Th2 cytokine production by human villous and extravillous cytotrophoblast. *Placenta*, 2001, 22(6), p. 550-559.
- SAITO, S., NAKASHIMA, A., ITO, M., et al. Clinical implication of recent advances in our understanding of IL-17 and reproductive immunology. *Expert Rev Clin Immunol*, 2011, 7(5), p. 649-657.
- SAJI, F., SAMEJIMA, Y., KAMIURA, S., et al. Dynamics of immunoglobulins at the fetomaternal interface. *Rev Reprod*, 1999, 4(2), p. 81-89.
- SALOMONSSON, S., SONESSON, S.E., OTTOSSON, L., et al. Ro/SSA autoantibodies directly bind cardiomyocytes, disturb calcium homeostasis, and mediate congenital heart block. *J Exp Med*, 2005, 201(1), p. 11-17.
- SANMARCO, M., GAYET, S., ALESSI, M.C., et al. Antiphosphatidylethanolamine antibodies are associated with an increased odds ratio for thrombosis. A multicenter study with the participation of the European Forum on antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost*, 2007, 97(6), p. 949-954.

- SANTNER-NANAN, B., PEEK, M.J., KHANAM, R., et al. Systemic increase in the ratio between Foxp3+ and IL-17-producing CD4+ T cells in healthy pregnancy but not in preeclampsia. *J Immunol*, 2009, 183(11), p. 7023-7030.
- SEBIRE, N.J., REGAN, L. a RAI, R. Biology and pathology of the placenta in relation to antiphospholipid antibody-associated pregnancy failure. *Lupus*, 2002, 11(10), p. 641-643.
- SEDLMAYR, P. a BLASCHITZ, A. Placental expression of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Wien Med Wochenschr*, 2012, 162(9-10), p. 214-219.
- SELMI, C. The X in sex: how autoimmune diseases revolve around sex chromosomes. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2008, 22(5), p. 913-922.
- SEVE, P., PHILIPPE, P., DUFOUR, J.F., et al. Autoimmune hemolytic anemia: classification and therapeutic approaches. *Expert Rev Hematol*, 2008, 1(2), p. 189-204.
- SHAMONKI, J.M., SALMON, J.E., HYJEK, E., et al. Excessive complement activation is associated with placental injury in patients with antiphospholipid antibodies. *Am J Obstet Gynecol*, 2007, 196(2), p. 167 e161-165.
- SHELLY, S., BOAZ, M. a ORBACH, H. Prolactin and autoimmunity. *Autoimmun Rev*, 2012, 11(6-7), p. A465-470.
- SHOENFELD, Y. a ISENBERG, D.A. The mosaic of autoimmunity. *Immunol Today*, 1989, 10(4), p. 123-126.
- SHOENFELD, Y., NAHUM, A., KORCZYN, A.D., et al. Neuronal-binding antibodies from patients with antiphospholipid syndrome induce cognitive deficits following intrathecal passive transfer. *Lupus*, 2003, 12(6), p. 436-442.
- SHOENFELD, Y., ZANDMAN-GODDARD, G., STOJANOVICH, L., et al. The mosaic of autoimmunity: hormonal and environmental factors involved in autoimmune diseases--2008. *Isr Med Assoc J*, 2008, 10(1), p. 8-12.
- SHROT, S., KATZAV, A., KORCZYN, A.D., et al. Behavioral and cognitive deficits occur only after prolonged exposure of mice to antiphospholipid antibodies. *Lupus*, 2002, 11(11), p. 736-743.
- SCHULZE, K., GALICHET, A., SAYAR, B.S., et al. An adult passive transfer mouse model to study desmoglein 3 signaling in pemphigus vulgaris. *J Invest Dermatol*, 2012, 132(2), p. 346-355.
- SCHWARTZ, P.J., GARSON, A., JR., PAUL, T., et al. Guidelines for the interpretation of the neonatal electrocardiogram. A task force of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 2002, 23(17), p. 1329-1344.
- SIEGEL, M.J. Pediatric Sonography. 3rd ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, p. 213-624.
- SIMCHEN, M.J., GOLDSTEIN, G., LUBETSKY, A., et al. Factor v Leiden and antiphospholipid antibodies in either mothers or infants increase the risk for perinatal arterial ischemic stroke. *Stroke*, 2009, 40(1), p. 65-70.
- SIMISTER, N.E. Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine*, 2003, 21(24), p. 3365-3369.
- SIREN, M.K., JULKUNEN, H., KAAJA, R., et al. Role of HLA in congenital heart block: susceptibility alleles in children. *Lupus*, 1999, 8(1), p. 60-67.
- SJOBLOM, C., WIKLAND, M. a ROBERTSON, S.A. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) acts independently of the beta common subunit of the GM-CSF receptor to prevent inner cell mass apoptosis in human embryos. *Biol Reprod*, 2002, 67(6), p. 1817-1823.

- SOBOTKOVÁ, D.: Psychometrické ověření a národní standardizace metody Bayleyové (BSID-II) pro hodnocení vývoje dětí raného věku, 2003, IGA MZ ČR.
- SRIVATSA, B., SRIVATSA, S., JOHNSON, K.L., et al. Maternal cell microchimerism in newborn tissues. *J Pediatr*, 2003, 142(1), p. 31-35.
- STECK, T., RIEGER, L., RODEL, E., et al. [Expression of the molecules HLA-G and HLA-E modulates cytokine production of monocyte generated dendritic cells]. *Zentralbl Gynakol*, 2002, 124(5), p. 304-309.
- STEPHENSON, M. a KUTTEH, W. Evaluation and management of recurrent early pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol*, 2007, 50(1), p. 132-145.
- STEVENS, A.M. Do maternal cells trigger or perpetuate autoimmune diseases in children? *Pediatr Rheumatol Online J*, 2007, 5, p. 9.
- STEVENS, A.M., HERMES, H.M., RUTLEDGE, J.C., et al. Myocardial-tissue-specific phenotype of maternal microchimerism in neonatal lupus congenital heart block. *Lancet*, 2003, 362(9396), p. 1617-1623.
- STOCKMAN, L.J., LOWTHER, S.A., COY, K., et al. SARS during pregnancy, United States. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10(9), p. 1689-1690.
- STUDNICKOVA, M., L'UBUSKY, M., ORDELTOVA, M., et al. [Possibility to identify fetomaternal haemorrhage]. *Ceska Gynekol*, 2010, 75(5), p. 443-446.
- STURT, A.S., DOKUBO, E.K. a SINT, T.T. Antiretroviral therapy (ART) for treating HIV infection in ART-eligible pregnant women. *Cochrane Database Syst Rev*, 2010(3), p. CD008440.
- SUBRT, I., ULCOVA-GALLOVA, Z., BIBKOVA, K., et al. Recurrent pregnancy loss and frequency of eight antiphospholipid antibodies and genetic thrombophilic factors in Czech women. *Am J Reprod Immunol*, 2008, 59(3), p. 193-200.
- SUDIK, R., JAKUBICZKA, S., NAWROTH, F., et al. Chimerism in a fertile woman with 46,XY karyotype and female phenotype. *Hum Reprod*, 2001, 16(1), p. 56-58.
- SUGI, T., MATSUBAYASHI, H., INOMO, A., et al. Antiphosphatidylethanolamine antibodies in recurrent early pregnancy loss and mid-to-late pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol Res*, 2004, 30(4), p. 326-332.
- SURI, V., AGGARWAL, N., SAXENA, S., et al. Maternal and perinatal outcome in idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) with pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2006, 85(12), p. 1430-1435.
- SZEKERES-BARTHO, J., HALASZ, M. a PALKOVICS, T. Progesterone in pregnancy; receptor-ligand interaction and signaling pathways. *J Reprod Immunol*, 2009, 83(1-2), p. 60-64.
- TAGLIANI, E. a ERLEBACHER, A. Dendritic cell function at the maternal-fetal interface. *Expert Rev Clin Immunol*, 2011, 7(5), p. 593-602.
- TEBO, A.E., JASKOWSKI, T.D., HILL, H.R., et al. Clinical relevance of multiple antibody specificity testing in anti-phospholipid syndrome and recurrent pregnancy loss. *Clin Exp Immunol*, 2008, 154(3), p. 332-338.
- THORNE, C. a NEWELL, M.L. Safety of agents used to prevent mother-to-child transmission of HIV: is there any cause for concern? *Drug Saf*, 2007, 30(3), p. 203-213.
- TILBURGS, T., SCHERJON, S.A., VAN DER MAST, B.J., et al. Fetal-maternal HLA-C mismatch is associated with decidual T cell activation and induction of functional T regulatory cells. *J Reprod Immunol*, 2009, 82(2), p. 148-157.

- TOLDI, G., RIGO, J., JR., STENCZER, B., et al. Increased prevalence of IL-17-producing peripheral blood lymphocytes in pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*, 2011, 66(3), p. 223-229.
- TRUNDLEY, A. a MOFFETT, A. Human uterine leukocytes and pregnancy. *Tissue Antigens*, 2004, 63(1), p. 1-12.
- TRYSBERG, E., NYLEN, K., ROSENGREN, L.E., et al. Neuronal and astrocytic damage in systemic lupus erythematosus patients with central nervous system involvement. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(10), p. 2881-2887.
- TUOHY, J. a HARRISON, A. Prenatal transfer of anticardiolipin antibodies associated with fatal neonatal aortic thrombosis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2005, 45(2), p. 175-176.
- TUTHILL, J.I. a KHAMASHTA, M.A. Management of antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun*, 2009, 33(2), p. 92-98.
- ULCOVA-GALLOVA, Z. Immunological and physicochemical properties of cervical ovulatory mucus. *J Reprod Immunol*, 2010, 86(2), p. 115-121.
- ULCOVA-GALLOVA, Z., KRAUZ, V., NOVAKOVA, P., et al. Anti-phospholipid antibodies against phosphatidylinositol, and phosphatidylserine are more significant in reproductive failure than antibodies against cardiolipin only. *Am J Reprod Immunol*, 2005, 54(2), p. 112-117.
- ULCOVA-GALLOVA, Z., MOCKOVA, A. a CEDIKOVA, M. Screening tests of reproductive immunology in systemic lupus erythematosus. *Autoimmune Dis*, 2012, 2012, p. 812138.
- ULCOVA-GALLOVA, Z., TUREK, J., BIBKOVA, K., et al. [Serum antibodies against annexin V and other phospholipids in women with fertility failure]. *Ceska Gynekol*, 2006, 71(3), p. 200-203.
- VAN DEN BERG, J.P., WESTERBEEK, E.A., BERBERS, G.A., et al. Transplacental transport of IgG antibodies specific for pertussis, diphtheria, tetanus, haemophilus influenzae type b, and Neisseria meningitidis serogroup C is lower in preterm compared with term infants. *Pediatr Infect Dis J*, 2010, 29(9), p. 801-805.
- VAN DEN BOOGAARD, E., VISSENBERG, R., LAND, J.A., et al. Significance of (sub)clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: a systematic review. *Hum Reprod Update*, 2011, 17(5), p. 605-619.
- VAN DIJK, B.A., BOOMSMA, D.I. a DE MAN, A.J. Blood group chimerism in human multiple births is not rare. *Am J Med Genet*, 1996, 61(3), p. 264-268.
- VAUX, D.L. a FLAVELL, R.A. Apoptosis genes and autoimmunity. *Curr Opin Immunol*, 2000, 12(6), p. 719-724.
- VEENSTRA VAN NIEUWENHOVEN, A.L., HEINEMAN, M.J. a FAAS, M.M. The immunology of successful pregnancy. *Hum Reprod Update*, 2003, 9(4), p. 347-357.
- VINCEGS, J.P. Growth factors and cytokines at the maternal/fetal interface. *Biochem. Soc. Trans*, 2000, 28, p. 191-195.
- VINCENT, A. a ROTHWELL, P. Myasthenia gravis. *Autoimmunity*, 2004, 37(4), p. 317-319.
- VITALI, C., BOMBARDIERI, S., JONSSON, R., et al. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis*, 2002, 61(6), p. 554-558.
- VOLPE, J.J. Intraventricular hemorrhage and brain injury in the premature infant. Diagnosis, prognosis, and prevention. *Clin Perinatol*, 1989, 16(2), p. 387-411.

- VON SCHEVEN, E., GLIDDEN, D.V. a ELDER, M.E. Anti-beta2-glycoprotein I antibodies in pediatric systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome.*Arthritis Rheum*, 2002, 47(4), p. 414-420.
- WAHREN-HERLENIUS, M. a SONESSON, S.E. Specificity and effector mechanisms of autoantibodies in congenital heart block.*Curr Opin Immunol*, 2006, 18(6), p. 690-696.
- WANG, J.G., XIE, Q.B., YANG, N.P., et al. Primary antiphospholipid antibody syndrome: a case with bilateral sudden sensorineural hearing loss.*Rheumatol Int*, 2009, 29(4), p. 467-468.
- WEANT, A.E., MICHALEK, R.D., KHAN, I.U., et al. Apoptosis regulators Bim and Fas function concurrently to control autoimmunity and CD8+ T cell contraction.*Immunity*, 2008, 28(2), p. 218-230.
- WESTHOFF, C.M. The structure and function of the Rh antigen complex.*Semin Hematol*, 2007, 44(1), p. 42-50.
- WHITINGTON, P.F. a HIBBARD, J.U. High-dose immunoglobulin during pregnancy for recurrent neonatal haemochromatosis.*Lancet*, 2004, 364(9446), p. 1690-1698.
- WILSON, C. Autoimmunity: autoimmune Addison disease and premature ovarian failure.*Nat Rev Endocrinol*, 2011, 7(9), p. 498.
- WONG, J.P., KWEK, K.Y., TAN, J.Y., et al. Fetal congenital complete heart block: prophylaxis with intravenous gammaglobulin and treatment with dexamethasone.*Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2001, 41(3), p. 339-341.
- WU, H., WANG, Z.H., YAN, A., et al. Protection against pemphigus foliaceus by desmoglein 3 in neonates.*N Engl J Med*, 2000, 343(1), p. 31-35.
- YAN, G., SCHOENFELD, D., PENNEY, C., et al. Identification of premature ovarian failure patients with underlying autoimmunity.*J Womens Health Gen Based Med*, 2000, 9(3), p. 275-287.
- YODFAT, O., BLANK, M., KRAUSE, I., et al. The pathogenic role of anti-phosphatidylserine antibodies: active immunization with the antibodies leads to the induction of antiphospholipid syndrome.*Clin Immunol Immunopathol*, 1996, 78(1), p. 14-20.
- ZEN, M., GHIRARDELLO, A., IACCARINO, L., et al. Hormones, immune response, and pregnancy in healthy women and SLE patients.*Swiss Med Wkly*, 2010, 140(13-14), p. 187-201.
- ZENEWICZ, L.A., ABRAHAM, C., FLAVELL, R.A., et al. Unraveling the genetics of autoimmunity.*Cell*, 2010, 140(6), p. 791-797.
- ZINGER, M., LIU, J.H., HUSSEINZADEH, N., et al. Successful surrogate pregnancy after ovarian transposition, pelvic irradiation and hysterectomy.*J Reprod Med*, 2004, 49(7), p. 573-574.
- ZINI, A., LEFEBVRE, J., KORNITZER, G., et al. Anti-sperm antibody levels are not related to fertilization or pregnancy rates after IVF or IVF/ICSI.*J Reprod Immunol*, 2011, 88(1), p. 80-84.
- ZUPPA, A.A., GALLINI, F., DE LUCA, D., et al. Cerebral ultrasound findings in neonatal lupus syndrome.*Biol Neonate*, 2004, 86(4), p. 230-234.

9 Publikační a přednášková činnost

9.1 Impaktované publikace

- MOCKOVA, A., ULCOVA-GALLOVA, Z., NAHLOVSKY, J. et al. **Occurrence of selected antiphospholipid antibodies in offspring born from mothers with autoimmunity.** Lupus. 2012; 21(7):793-5, **IF 2,78**
- NUCCI AM, BECKER DJ, VIRTANEN SM, TRIGR Study Group. **Growth differences between North American and European children at risk for type 1 diabetes.** Pediatr Diabetes. 2012 Aug; 13(5):425-31, **IF 2,08**
- MOCKOVA, A., DORTOVÁ, E., DORT, J., NAHLOVSKÝ, J., KOREČKO, V., ULCOVÁ-GALLOVA, Z. **Extremely hypotrophic newborn of mother with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome.** Lupus. 2014; 23(3): 313-8, **IF 2,78**

9.2 Recenzované publikace

- ULCOVA-GALLOVA, Z., MOCKOVA, A., CEDIKOVA, M. **Screening Tests of Reproductive Immunology in Systemic Lupus Erythematosus.** Autoimmune diseases, 2012 (812138), 2090-0422, doi:10.1155/2012/812138.
- MOCKOVÁ, A., LUKÁŠOVÁ, V., DORT, J., LUCKOVÁ, Z. **Deprese a antidepresivní terapie matek z pohledu neonatologa.** Pediatrie pro praxi 2012, 13(3), s. 188-192
- BABUŠKA, V., ČEDÍKOVÁ, M., RAJDL, D., RACEK, J., ZECH, N., MOCKOVÁ, A., ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z., NOVOTNÝ, Z., KRÁLÍČKOVÁ, M. **Srovnání vybraných parametrů oxidačního stresu ve folikulární tekutině u žen s poruchou plodnosti a u zdravých fertálních dárkyň oocytů.** Čes. Gynek. 2012, 77, č. 6 s. 543-548.
- MOCKOVÁ, A., HUML, P., DORT, J., VONDRÁKOVÁ, R., ČERNÁ, Z., SUBRT, I. **Případ závažné venózní trombózy u novorozence.** Pediatrie pro praxi 2013; 14(2): 118-119.
- MOCKOVÁ, A. **Novorozenec matky s autoimunitním onemocněním [online].** 2013. vyd. Bratislava: i-med, 2013 [cit. 2013-06-10]. ISSN: 1338-4392. Dostupné z: <http://www.i-med.sk/moodle/login/index.php>.
- KOREČKO, V., LANDSMANOVÁ, J., MOCKOVÁ, A., KUTOVÁ, T. **Výsledky perinatální péče o těhotné s diabetem v západních Čechách.** Čes. Gynek. 2014, 79, č. 1 s. 43-47

9.3 Jiné publikace

- DORT, J., BAYER, M., MOCKOVA, A. et al. **Vitamin D and Other Parameters of Calcium and Phosphate Metabolism in Healthy Term Newborns After Birth.** Pediatric Research. Volume-Suppl 1 : 512, November 2010. IF 2, 609, *abstrakt*

- SUSTEROVÁ, L., DORTOVÁ, E., MOCKOVÁ, A. **Záhadné DMO.** 45. česko-slovenské neurologické dny dětské neurologie. Neurologie pro praxi 2011; 12 Suppl.D, *abstrakt*
- MATAS, M., VACEK, P., DORT, J., HUML, P., MOCKOVÁ, A. **Urgentní léčba hydrocefalu u novorozenců zavedením komorového katetru a subgaleárního rezervoáru.** Neonatologické listy, 2009, ročník 15 (1), s. 28-30
- MOCKOVÁ, A., DORT, J. **Ovariální cysty u novorozenců.** Neonatologické listy, 2009, ročník 15(2), s. 31-33
- MOCKOVÁ, A. **Akutní mozkové příhody v neonatologii [online]. 2009.** Dostupné z: http://www.neonatologie.cz/fileadmin/userupload/Odborne_publicace/mozkove_prihody.pdf.
- LUKÁŠOVÁ, V., STUNOVÁ, P., MOCKOVÁ, A. et al. **Atypická manifestace Beckwith-Wiedemannova syndromu u novorozence, kazuistika.** Neonatologické listy, 2009, roč. 15(2), s. 62.
- HUML, P., DORT, J., MOCKOVÁ, A. **Užití řízené hypotermie v léčbě hypoxického novorozence.** Plzeňský lékařský sborník 2011, 77(77), s. 65-68.
- MOCKOVÁ, A., LUKÁŠOVÁ, V., DORT, J. a LUCKOVÁ, Z., 2011. **Depresivní choroba matek-rizikový faktor pro novorozence?** Plzeňský lékařský sborník (Plzeň Medical Reports.) 2011, 77(77), s. 73-82.
- TOBRMANOVÁ, H., MOCKOVÁ, A. **Rizika léčby epilepsie gravidních žen-fetální valproátový syndrom.** Vox pediatrie, 2013, 13, č. 5, s. 26-28
- ULCOVA-GALLOVA,Z., MOCKOVA, A., LOSAN,P. **Autoimmune diseases in reproductive imunology.** Journal of Reproductive Immunology. Vol 69, Issue Supplement s2, p. 89, June 2013. Issue: Abstracts of the 14th International Symposium for Immunology of Reproduction, 28 May-June 1 2013, *abstrakt*

9.4 Přednášková činnost

- MOCKOVÁ, A., ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z.,NAHLOVSKÝ, J. et al. **Occurrence of selected antiphospholipid antibodies in offspring born from mothers with autoimmunity.** 8th Meeting of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies- 29 th September - 1st October 2011, Padua, Italy, přednáška, *abstrakta*
- LUKÁŠOVÁ, V., STUNOVÁ, P., MOCKOVÁ, A., DORT, J., ŠUBRT, I. **Atypická manifestace Beckwith- Wiedemannova syndromu u novorozence – kazuistika.** XX V. Neonatologické dny, 11.-13. listopad 2009, Luhačovice, poster, *abstrakta*.
- MOCKOVÁ, A., JEHLIČKA, P. **Supraventrikulární paroxysmální tachykardie - kazuistika.** Regionální seminář Neonatologického odd. FN Plzeň, listopad 2009, přednáška
- LANDSMANOVÁ, J., HUDEC, A., MOCKOVÁ, A. **Polyhydramnion-atypické příčiny.** 10. konference fetální sekce fetální mediciny ČGPS ČLS JEP, Kongresové Centrum Nemocnice na Homolce, Praha, leden 2010, přednáška

- MOCKOVÁ, A., ŠUTEROVÁ, L., STUNOVÁ, P. **Neonatální Bartterův syndrom.** Večer Neonatologického oddělení společnost JEP Plzeň, únor 2010, přednáška
- HUML, P., MOCKOVÁ, A., DORT, J., HUDEC, A., KOUBA, J. **Diferenciální diagnostické megaveziky.** Večer Neonatologického oddělení společnost JEP Plzeň, únor 2010, přednáška
- MATAS, M., VACEK, P., DORT., MOCKOVÁ, A., HUML, P. **Hydrocefalus: Komplikace ventrikuloperitoneální drenáže.** Večer Neonatologického oddělení společnost JEP Plzeň, únor 2010, přednáška
- MOCKOVÁ, A., LUCKOVÁ, Z., LUKÁŠOVÁ, V., DORT, J. **Vliv antidepressivní terapie matek během gravidity na výskyt vrozených vývojových vad a poruchy poporodní adaptace novorozenců.** XXVI. Neonatologické dny, 10.- 12. 11. 2010, Olomouc, poster, *abstrakta*
- MOCKOVÁ, A., LUKÁŠOVÁ, V., DORT, J., LUCKOVÁ, Z. **Vliv antidepressivní terapie matek během gravidity na výskyt vrozených vývojových vad a poruchy poporodní adaptace novorozenců.** Konference: Diagnostika, léčba a prevence závažných civilizačních onemocnění, 25. 11. 2010, Plzeň, přednáška, *abstrakta*
- MOCKOVA, A., ULČOVA-GALLOVA, Z., NAHLOVSKY, J., LUKASOVA, V., DORT, J., BIBKOVA, K., MICANOVA, Z. **Presence of eight antiphospholipid antibodies in children born to mothers with autoimmune diseases-preliminary results.** Medicina a antifosfolipidové protilátky, Plzeň, 23.-25. 6. 2011, přednáška, *abstrakta*
- NAHLOVSKY, J., MOCKOVA, A., MATAS, M., DORT, J., DORTOVA, E., ULCOVA-GALLOVA, Z. **Premature infant from a mother with APS secondary to SLE – a case study.** Medicina a antifosfolipidové protilátky, Plzeň, 23.- 25. 6. 2011, poster, *abstrakta*
- HRADECKY, L., MOCKOVA, A., ULČOVA-GALLOVA, Z., SUBRT, I. **Preeclampsia and selected immunogenetic factors.** Medicina a antifosfolipidové protilátky, Plzeň, 23. - 25. 6. 2011, přednáška, *abstrakta*
- TICHÁČKOVÁ, K., LUCKOVÁ, Z., MOCKOVÁ, A. **Mikrobiologické osídlení novorozenců s extrémně nízkou porodní hmotností na neonatologické JIRP FN Plzeň.** 3. Kongres klinické mikrobiologie a infekčních nemocí, Plzeň 21. - 23. 9. 2011, poster, *abstrakta*
- MOCKOVÁ, A., ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z., NAHLOVSKÝ, J., LUKASOVÁ, V., DORT, J. **Ovlivní antifosfolipidové protilátky matek s autoimunitními chorobami postnatální vývoj dětí ?** Konference Experimentální výzkum v medicíně a jeho klinická aplikace, Plzeň, 3. 11. 2011, poster, *abstrakta*
- HUML, P., VACEK, K., MOCKOVÁ, A., VONDRÁKOVÁ, R. **Využití neuroendoskopie v neonatologii - kasuistiky.** XXVII. Neonatologické dny s mezinárodní účastí, Plzeň, 23. - 25. 11. 2011, poster, *abstrakta*

- DORTOVÁ, E., DORT, J., MOCKOVÁ, A., NÁHLOVSKÝ, J., PRÁZNOVSKÁ, L. **Dlouhodobé sledování dětí s bronchopulmonální dysplasií propuštěných na domácí oxygenoterapii.** XXVII. Neonatologické dny s mezinárodní účastí, Plzeň, 23. - 25. 11. 2011, poster, *abstrakta*
- MOCKOVÁ, A., ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z., NAHLOVSKÝ, J., LUKASOVÁ, V., DORT, J. **Výskyt antifosfolipidových protilátek u matek s autoimunitními chorobami a jejich novorozenců.** XXVII. Neonatologické dny s mezinárodní účastí, Plzeň, 23. - 25. 11. 2011, poster, *abstrakta*
- TICHÁČKOVÁ, K., LUCKOVÁ, Z., MOCKOVÁ, A., DORT, J., HUML, P., BERGEROVÁ, T., VESELÁ, P. **Vliv prepartální ATB terapie matek na kolonizaci a morbiditu jejich extrémně nezralých novorozenců.** XXVII. Neonatologické dny s mezinárodní účastí, Plzeň, 23. - 25. 11. 2011, poster, *abstrakta*
- URBÁNEK, J., MOCKOVÁ, A. **Využití 24 hodinové impedance - pH metrie u novorozenců s podezřením na gastroezofageální reflux (GER).** Večer Neonatologického oddělení, Spolek lékařů ČLS JEP, Plzeň, 25. 1. 2012, přednáška
- MOCKOVÁ, A., HUML, P., DORT, J., VONDRÁKOVÁ, R., ČERNÁ, Z. **Případ závažné venózní trombózy u novorozence.** Večer Neonatologického oddělení, Spolek lékařů ČLS JEP, Plzeň, 25. 1. 2012, přednáška
- LUKÁŠOVÁ, V., MOCKOVÁ, A., DORT, J., ŠUBRT, I. **Familiární manifestace kongenitální myotonické dystrofie.** Večer Neonatologického oddělení, Plzeň, 25. 1. 2012, přednáška
- ULČOVÁ-GALLOVÁ, HRADECKÝ, L., BIBKOVÁ, K., MIČANOVÁ, Z., UHER, P., MOCKOVÁ, A. **Antifosfolipidový syndrom a geneticky poškozená embrya u opakovaného potrácení - kazuistika.** Postgraduální lékařské dny Plzeň, 14. - 16. 2. 2012, sborník, *abstrakta*, s. 24.
- MOCKOVÁ, A., ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z. **Matky s antifosfolipidovými protilátkami a jejich dítě.** Pracovní schůze České společnosti alergologie a klinické imunologie a České imunologické společnosti. Praha, 13. 9. 2012, přednáška
- LANDSMANOVÁ, J., KOREČKO, V., MOCKOVÁ, A., HUDEC, A. **Chlopeň zadní uretry.** 33. celostátní konference Sekce ultrazvukové diagnostiky České gynekologické a porodnické společnosti ČLS JEP, Brno, 5.- 7. 10. 2012, poster.
- HUML, P., DORT, J., MOCKOVÁ, A., VONDRÁKOVÁ R., FARHANOVÁ, V. **Léčba hypoxicko ischemické encephalopathie čízenou hypotermií-naše zkušenosti a výsledky.** XXVIII. Neonatologické dny s mezinárodní účastí, Ostrava, 7.- 9. 11. 2012, poster, *abstrakta*
- MOCKOVÁ, A., LUKÁŠOVÁ, V., DORT, J., LUCKOVÁ, Z. **Deprese a antidepressivní léčba matek jako rizikový faktor pro novorozence.** Regionální neonatologický seminář, Plzeň, 22. 11. 2012, přednáška
- MOCKOVÁ, A., ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z., LUKÁŠOVÁ, V., DORT, J. **Imunologicky riziková žena a její dítě.** Večer Neonatologického oddělení, Spolek lékařů ČLS JEP, Plzeň, 22. 1. 2013, přednáška

MOCKOVÁ, A., TOBRMANOVÁ, H., DORT, J. **Syndrom maternální fenylketonurie u novorozence - stále aktuální problém.** XXIX. Neonatologické dny, Ústí nad Labem, 6.- 8. 11. 2013, poster, *abstrakta*

MOCKOVÁ, A., URBÁNEK, J. **Naše zkušenosti s využitím kombinovaného měření 24 hodinové pH metrie s multikanálovou intraluminální impedancí u novorozenců.** XXIX. Neonatologické dny, Ústí nad Labem, 6.- 8. 11. 2013, poster, *abstrakta*

MOCKOVÁ, A., TOBRMANOVÁ, STUNOVÁ, P., KOMOROUSOVÁ, M. **Vzácná kongenitální kožní anomálie u novorozence.** Večer Neonatologického oddelení, Spolek lékařů ČLS JEP, Plzeň, 29. 1. 2014, přednáška