

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní program: Doktorský

Studijní obor: Experimentální chirurgie



MUDr. Dita Kašparová

**Determinace spontánních abortů - úloha genu pro APO E, význam vybraných
vrozických trombofilních stavů a funkce štítné žlázy v graviditě**

Determination of spontaneous abortions – the role of Apo E gene polymorphism,
importance of selected congenital thrombophilias and thyroid function during the
pregnancy

Disertační práce

Školitel: doc. MUDr. Tomáš Fait, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 06. 02. 2017

MUDr. Dita Kašparová

Upřímně děkuji doc. MUDr. Tomášovi Faitovi, Ph.D., RNDr. Aleně Fialové, Ph.D., Ing. Jaroslavu A. Hubáčkovi, CSc., doc. MUDr. Janovi Jiskrovi, Ph.D. a MUDr. Veronice Krulišové, Ph.D. za jejich čas, ochotu a cenné rady a připomínky.

Dále děkuji prof. MUDr. Aloisovi Martanovi, CSc., prof. MUDr. Jaroslavovi Živnému, DrSc., prof. MUDr. Davidovi Kuželovi, CSc., prof. MUDr. Davidovi Cibulovi, CSc., a doc. MUDr. Davidovi Pavlišťovi, Ph.D. za vstřícnost a umožnění kombinovaného postgraduálního studia.

Velmi osobní poděkování náleží PhMr. Zdeňce Ledvinové in memoriam.

**Kašparová, Dita. Determinace spontánních abortů - úloha genu pro APO E, význam
vybraných vrozených trombofilních stavů a funkce štítné žlázy v graviditě.**

*[Determination of spontaneous abortions – the role of Apo E gene polymorphism,
importance of selected congenital thrombophilias and thyroid function during the
pregnancy]. Praha, 2017. 136 s., 34 př. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1.*

**lékařská fakulta, Klinika gynekologicko-porodnická/ Ústav 1. LF UK 2017. Vedoucí
závěrečné práce**

doc. MUDr. Tomáš Fait, Ph.D.

Abstrakt

Úvod: Spontánní potrat (SA) je nejčastější komplikací v těhotenství. Cílem práce bylo prověřit kauzalitu vybraných vyšetřovaných faktorů genetických - apolipoproteinu E (APO E), mutace faktoru V Leiden (FVL), mutace protrombinu (PT G20210A) a faktorů negenetických - tyreoidálního stimulačního hormonu (TSH), volného tyroxinu (fT4), protilátek proti tyreoidální peroxidáze (a-TPO) v etiopatogenezi časného SA.

Materiály a metody: Ke genotypizaci polymorfismů APO E byla využita metoda PCR-RFLP. K detekci mutací v genech FV a FII byla použita metoda HRM. Laboratorní tyreoidální markery TSH, a-TPO a fT4 byly stanoveny na automatickém analyzátoru využívajícím chemiluminiscenční imunoanalýzu. U infertilních žen po SA proběhlo do 8 týdnů od krevního odběru sonografické vyšetření štítné žlázy.

Výsledky: APO E genotypy ve sledovaném souboru 410 vzorků embryonální /fetální tkáně se významně neliší od kontrolní skupiny 2 606 adultních jedinců ($P = 0.653$).

Ve sledovaném souboru 75 žen s izolovaným SA byla FVL mutace zjištěna v heterozygotní konstituci s prevalencí 12 %. Prevalence FVL v souboru žen s izolovaným časným SA byla signifikantně vyšší oproti kontrolní skupině 76 zdravých žen (12 % vs. 2.6 %, $P = 0.031$). Při vzájemném statistickém porovnání zjištěných prevalencí PT G20210A mezi soubory žen s izolovaným SA a kontrolní skupinou nebyl zjištěn signifikantní rozdíl (4 % vs. 5.3 %, $P = 1$).

Prevalence zvýšené hladiny TSH (vyšší než 2.5 mIU/l) v souboru 188 infertilních žen byla signifikantně vyšší ve srovnání se 172 zdravými těhotnými bez ohledu na počet SA ($P = 0.005$). Prevalence zvýšené hladiny a-TPO (vyšší než 143 IU/ml) byla signifikantně vyšší u žen s recidivujícím a habituálním potracením ve srovnání se souborem žen s izolovaným potratem (15 % vs. 5 % $P = 0.003$). Při hodnotě a-TPO nad 143 IU/ml je 116x vyšší riziko současné přítomnosti sonografických známek středního (TUS 3) a/nebo těžkého stupně (TUS 4) tyreoiditidy než přítomnosti žádných (TUS 0) a/nebo hraničních zánětlivých změn štítné žlázy (TUS 1) (OR = 116.2 [95 %CI: 14.2-947.4]).

Závěr: APO E polymorfismus nelze označit za determinující faktor v roli časného SA. FVL v heterozygotní konstituci lze po eliminaci základních etiologických kauzálních příčin SA označit za možný rizikový faktor izolovaného SA. Hodnotu TSH vyšší než 2.5mIU/l lze považovat za rizikový faktor časného SA ($P = 0.005$). Laboratorní nález hladiny a-TPO vyšší než 143 IU/ml lze označit za rizikový faktor pro recidivující a/nebo habituální potracení v období prvního trimestru ($P = 0.003$).

Klíčová slova: spontánní potrat, APO E, hereditární trombofilie, tyreoidální dysfunkce

Abstract

Introduction: Spontaneous abortion (SA) is the most common complication in pregnancy. The aim of the study was to investigate causality of selected genetic factors - Apolipoprotein E (Apo E) gene polymorphisms factor V Leiden (FVL), prothrombin gene (PT G20210A) and nongenetics factors - Thyroid stimulating hormone (TSH), free thyroxine (fT4), antibodies against thyroid peroxidase (a-TPO) in the role of early SA.

Materials and methods: For genotyping of APO E polymorphisms was used PCR-RFLP. Detection of FVL and PT G20210A was performed using by HRM. Laboratory markers of thyroid (TSH, a-TPO and fT4) were determined by an automated analyzer using chemiluminescent immunoassay.

Results: APO E genotypes of investigated group of 410 samples embryonic / fetal tissues were not significantly different from 2 606 adult ($P = 0.653$). In group of 75 women with isolated SA were FVL heterozygous detected with a prevalence of 12 %. The prevalence of FVL in a group of women with early insulated SA was significantly higher than 76 controls (12 % vs. 2.6 %, $P = 0.031$). The difference of PT G20210A prevalence between women with isolated SA and the control was not significant (4 % vs. 5.3 %, $P = 1$).

The prevalence of elevated TSH levels (higher than 2.5 mIU/l) was significantly higher in group of 188 infertile women compared with the 172 controls regardless of the number of SA ($P = 0.005$). Prevalence of elevated a-TPO levels (higher than 143 IU/ml) was significantly higher in women with recurrent miscarriage and habitual in comparison with the group of women with isolated miscarriage (15 % vs. 5 % $P = 0.003$). The value of a-TPO levels above 143 IU/ml is 116x higher risk of simultaneous presence of sonographic signs of mild (TUS 3) and / or serious degree (TUS 4) of thyroiditis than the presence of any (TUS 0) and / or borderline inflammatory changes of thyroid (TUS 1) (OR = 116.2 [95 % CI: 14.2 to 947.4]).

Conclusion: APO E gene polymorphisms cannot be described as determining factor in the role of early SA. Heterozygous FVL are after the previous elimination of other basic etiological causes of early SA identified as a possible risk factor for insulated SA ($P = 0.031$). TSH values higher than 2.5mIU/l can be considered as a risk factor for early SA ($P = 0.005$). Laboratory findings of a-TPO greater than 143 IU/ml can be identified as a risk factor for recurrent and /or habitual abortion during the first trimester ($P = 0.003$).

Keywords: spontaneous abortion, APO E, hereditary thrombophilia, thyroid dysfunction

Seznam zkratek

ADHD / <i>hyperaktivita s poruchou pozornosti</i>	B9 / <i>kyselina listová</i>
ADP / <i>adenosindifosfát</i>	BMI / <i>Body Mass Index</i>
AFC / <i>Antral Follicle Count, velikost kohorty antrálních folikulů v časně folikulární fázi</i>	CBS / <i>cystation-B-syntetáza</i>
AITD / <i>autoimunitní onemocnění štítné žlázy</i>	CC / <i>challenge test, stimulace klomifencitrátem</i>
AMH / <i>Anti-Müllerian Hormone</i>	CD 56plus / <i>neural cell adhesion molecules</i>
anti-HCV / <i>protilátky proti hepatitidě C</i>	CD40 / <i>ligand T lymfocytů</i>
anti-Xa / <i>funkční aktivita koagulačního faktoru X</i>	CLT / <i>chronická lymfocytární tyreoiditida</i>
APA / <i>antifosfolipidový syndrom</i>	CMV / <i>cytomegalovirus</i>
APC / <i>aktivovaný protein C</i>	CNS / <i>centrální nervový systém</i>
APC-R / <i>APC- rezistence</i>	COC / <i>perorální kombinovaná antikoncepce</i>
APO E / <i>apolipoprotein E</i>	CRL / <i>Crown-Rump Length, temeno-kostrční délka</i>
APO E2 / <i>apolipoprotein E s cysteinem na pozici 112 a 158</i>	Cys / <i>cystein</i>
APO E3 / <i>apolipoprotein E s cysteinem na pozici 112 a argininem na pozici 158</i>	DES / <i>diethylstibesterol</i>
APO E4 / <i>apolipoprotein E s argininem na pozici 112 a argininem na pozici 158</i>	DM I. typu / <i>diabetes mellitus I. typu</i>
aPTT / <i>aktivovaný parciální tromboplastinový čas</i>	DS / <i>dermatansulfát</i>
Arg / <i>arginin</i>	E / <i>estrogen</i>
AS / <i>akce srdeční</i>	F X / <i>koagulační faktor X</i>
AT / <i>antitrombin</i>	F Xa / <i>aktivovaný koagulační faktor X</i>
ATA / <i>American Thyroid Association</i>	FIIa / <i>aktivovaný koagulační faktor II</i>
a-Tg / <i>protilátky proti tyreoglobulinu</i>	FIX / <i>koagulační faktor IX</i>
a-TPO / <i>protilátky proti tyreoperoxidáze</i>	FSH / <i>folikulostimulační hormon</i>
a-TSH / <i>protilátky proti tyreotropinu</i>	fT4 / <i>volná frakce tyroxinu</i>
B12 / <i>kobalamin</i>	FVa / <i>aktivovaný koagulační faktor V</i>
B6 / <i>pyridoxin</i>	FVIIa / <i>aktivovaný koagulační faktor VII</i>
	FVIIa-TF-PI-Ca2plus / <i>vnější tenáza</i>
	FVIII / <i>koagulační faktor VIII</i>

FVIIIa / aktivovaný koagulační faktor VIII	IgM / imunoglobulin M
FVL / mutace faktoru V Leiden	IH / izolovaná hypotyrozinemie
FXa / aktivovaný koagulační faktor X	IL-2 / interleukin 2
FXa-FVa-PI-Ca2plus / protrombináza	IL-6 / interleukin 6
FXI / koagulační faktor XI	IM myom / intramurální myom
FXIIIa / aktivovaný koagulační faktor XIII	INR / protrombinový čas
GA / gynekologická anamnéza	IUFD / Intrauterine Fetal Death, intrauterinní smrt plodu
GB / Graves-Basedowa toxikóza	IUGR / Intrauterine Growth Restriction, intrauterinní růstová restrikce plodu
GDM / gestační diabetes mellitus	IVF / in vitro fertilizace
GEU / extrauterinní gravidita	IVIG / intravenózní imunoglobuliny
GnRHa / agonisté gonadotropin uvolňujícího hormonu	kF / kofaktor
GP receptory / glykoproteinové receptory	kF FV / kofaktor koagulačního faktoru
HBsAg / australský antigen	kF FVIII / kofaktor koagulačního faktoru VIII
HC II / heparinový kofaktor	LDL / vysokodenzitní lipoprotein
HC II / heparinový kofaktor	LH / luteinizační hormon
hCG / lidský choriogonadotropin	LM / laparoskopická myomektomie
HCII / heparin kofaktor II	LMWH / nízkomolekulární heparin
HDL / nízkodenzitní lipoprotein	LTX / levotyroxin
HELLP syndrom / hemolýza, zvýšení jaterních enzymů, snížení trombocytů	MC / menstruační cyklus
HIV / virus lidské imunitní nedostatečnosti	MMI / tyreostatikum imidazolového typu
HLA / systém antigenů hlavního histokompatibilního systému	mRNA / messenger RNA
HMWK / vysokomolekulární kininogen	MTHFR / metylenn-tetrahydrofolát reduktáza
HRT / hormonální substituční terapie	NK buňky / (natural killer cells, přirození zabíječi) 3. hlavní subpopulace lymfocytů
HS / heparansulfát	OA / osobní anamnéza
H-Y Ag / povrchový glykoprotein na 6. chromozomu	oGTT / orální glukózový toleranční test
IgG / imunoglobulin G	OM / open myomectomy
	PAI-1 / inhibitor aktivátoru plasminogenu

PAK / *perorální antikoagulancia*

PGD / *preimplantační genetická diagnostika*

PI / *inhibitor proteáz*

PIBF / *progesteron induced blocking factor*

PIGF / *placentární růstový faktor*

PM / *1. den poslední menses*

PPT / *poporodní thyreoiditida*

PRL / *prolaktin*

PT G20210A / *mutace protrombinu*

PTU / *tyreostatikum propylthiouracylového typu*

RA / *rodinná anamnéza*

rT3 / *reverzní trijodtyronin*

RU 486 / *mifepriston*

SA / *spontánní potrat*

s-glc / *sérová koncentrace glukózy*

SM myom / *submukózní myom*

SPRM / *selektivní modulátory progesteronových receptorů*

TAFI / *trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy*

TAT / *komplex FIIa-AT*

TEN / *trombembolická nemoc*

TF / *tkáňový faktor*

TFPI / *inhibitor tkáňového faktoru*

TGB / *tyreoglobulin*

TM / *trombomodulin*

TM myom / *transmurální myom*

TNF alfa / *Tumor Necrosis Factor*

TORCH syndrom / *panel Toxoplasma, Rubeolla, Cytomegalovirus a Herpes viru*

t-PA / *tkáňový aktivátor plazminogenu*

TRAK / *protilátky proti tyroxinového receptoru*

TSH / *tyreotropin*

TT3 / *celkový trijodtyronin*

TT4 / *celkový tyroxin*

TTE / *totální tyreoidektomie*

TVP / *trombotická vaskulopatie plodu*

TXA2 / *tromboxan A2*

UAE / *intraarteriální uterinní embolizace*

UFH / *nefrakcionovaný heparin*

u-PA / *urokináza*

UZ / *ultrazvuk*

VEGF / *vaskulární endoteliální faktor*

VTE / *venózní tromboembolismus*

vWF / *von Willebrandův faktor*

1. Obsah

Seznam zkratek	7
2. Teoretická část	12
2.1. Prevalence SA	13
2.2. Klinické varianty SA	15
2.3. Diagnostika a management neprosperující gravidity	15
2.4. Diagnostický algoritmus při těhotenských ztrátách	17
2.5. Etiologické faktory opakovaných těhotenských ztrát	19
2.5.1. Embryonální/ fetální faktor	19
2.5.2. Maternální faktor	20
2.6. Determinace SA - úloha genu pro APO E	31
2.6.1. Úvod	31
2.6.2. Charakteristika genu kódujícího APO E	32
2.6.3. APO E izoformy	32
2.6.4. APO E v klinických studiích	33
2.7. Determinace SA - význam vybraných trombofilních stavů	34
2.7.1. Principy hemostázy	35
2.7.2. Hemostáza v graviditě	39
2.7.3. Trombofilní stavy	40
2.7.4. Vyšetřované hereditární trombofilní stavy	46
2.7.5. Maternální hereditární trombofilie v klinických studiích	48
2.7.6. Fetální trombofilie	51
2.7.7. Placentární vaskulopatie	52
2.7.8. Regulace hemostázy v placentě	53
2.7.9. Indikační parametry vyšetření hereditárních trombofilí	55
2.7.10. Tromboprofylaxe	56
2.7.11. Antitrombotická profylaxe a péče o ženy v pre-, peri- a postkoncepčním období – praktická doporučení	57

2.8.	Determinace SA - tyreoidální funkce v graviditě	62
2.8.1.	Štítná žláza a gravidita	63
2.8.2.	Diagnostika tyreopatií	65
2.8.3.	Jednotlivé tyreopatie v graviditě	68
2.8.4.	Screening tyreoidálních dysfunkcí v graviditě	77
3.	Experimentální část	82
3.1.	Determinace SA - úloha genu pro APO E	82
3.1.1.	Úvod	82
3.1.2.	Cíl projektu	82
3.1.3.	Pracovní hypotéza	82
3.1.4.	Vyšetřované subjekty a metody	83
3.1.5.	Materiál a metodika	83
3.1.6.	Výsledky	85
3.1.7.	Diskuze	87
3.1.8.	Závěr	88
3.2.	Determinace SA - význam vybraných trombofilních stavů	88
3.2.1.	Úvod	88
3.2.2.	Cíl projektu	88
3.2.3.	Pracovní hypotéza	89
3.2.4.	Vyšetřované subjekty a metody	89
3.2.5.	Materiál a metodika	91
3.2.6.	Výsledky	93
3.2.7.	Diskuze	96
3.2.8.	Závěr	98
3.3.	Determinace SA - význam funkce štítné žlázy	98
3.3.1.	Úvod	98
3.3.2.	Cíle projektu	99
3.3.3.	Pracovní hypotéza	99

3.3.4. Vyšetřované subjekty a metody	99
3.3.5. Materiál a metodika	100
3.3.6. Výsledky	104
3.3.7. Diskuze	112
3.3.8. Závěr	114
4. Závěr	116
5. Bibliografie	118
Seznam obrázků	135
Seznam tabulek	135
Seznam grafů	136

2. Teoretická část

Spontánní potrat (SA) je jedním z prvních projevů přírodní selekce a již pouze v podobě své klinické prevalence znamená nejčastější komplikaci v těhotenství. V důsledku vzrůstající frekvence SA, pokračujícího trendu odkládání rodičovství a širokému etiologickému spektru možných kauzálních příčin SA je a do budoucna velmi pravděpodobně bude problematika spontánních potratů stále více aktuální a tíživá pro ženy po stránce fyzické, psychické i sociální.

Pro vyhodnocení koncepční anamnézy, včasné zahájení diagnostického algoritmu možných kauzálních příčin SA a především pro efektivní management možných terapeutických preventivních opatření v následující graviditě je důležitá znalost správné terminologie.

Dne 1. 4. 2012 vstoupila v platnost legislativní úprava, jež pozměnila dosavadní hranici mezi SA a porodem mrtvého plodu (IUFD). Aktuální platná legislativní definice SA vychází ze znění zákona č. 372/2011 Sb.: „plodem po potratu se rozumí plod, který po úplném vypuzení, nebo vynětí z těla matky neprojevuje ani jednu ze známek života (srdeční akce, dýchací pohyby, aktivní svalové pohyby, křik) a současně jeho porodní hmotnost je nižší než 500g. Pokud porodní hmotnost nelze zjistit, pak jestliže je těhotenství kratší než 22 týdnů“ (Česko, 2017)

V rámci terminologického názvosloví SA existují jistá specifika. Infertilita znamená neschopnost ženy donosit plod do viability při současně zachované schopnosti spontánní koncepce. V rámci důrazu na terminologii je důležité odlišení infertility od sterility, tedy neschopnosti spontánně otěhotnět (Hudeček R., 2009). Výše zmíněným rozlišováním pojmů se rozcházíme s anglofonní odbornou literaturou, kde je infertilita definována jako onemocnění reprodukčního traktu zabraňující spontánní koncepci (odpovídá české definici sterility). Pro stav, kdy žena není schopna donosit plod do jeho viability, jsou v anglosaských oblastech užívány termíny recurrent pregnancy loss (opakované těhotenské ztráty), či recurrent fetal loss (opakované ztráty plodu).

Potratí-li žena samovolně jedenkrát, jedná se o tzv. izolovaný SA. Dojde-li ke dvěma konsekutivním SA, mluvíme o dysfertilitě, nebo o recidivujícím potratu (Zwinger A., 2004). Pokud existuje v anamnéze záznam o minimálně 3 spontánních konsekutivních těhotenských ztrátách, jedná se o habituální potrácení. Habituální potrácení postihuje 0.4-1 % žen (Binder T., 2002). Lze jej rozlišit na primární, tedy že žena pouze konsekutivně potrací, nebo sekundární, kdy žena anamnesticky udává těhotenství zakončené porodem. U 50 % páru s anamnézou habituálního potrácení

zůstává i po vyšetření možných kauzálních příčin etiologie neznámá. I u žen s habituálním potracením je statisticky pravděpodobnější, že následující těhotenství bude zakončeno spíše porodem než další těhotenskou ztrátou. Potratila-li žena dvakrát, je riziko dalšího potratu 24 %, po 3 spontánních potratech činí riziko opakování 30 % a po 4 těhotenských ztrátách 40-50 % (Binder T., 2002)

O tzv. preklinický SA se jedná v případě, kdy je gravidita potvrzena laicky tj. pouze orientačním gravitestem z moči. Klinicky proběhne potrat pod obrazem opožděné silnější menstruace většinou do 6 týdnů od poslední menses (PM). V odborné literatuře lze nalézt též ekvivalentní pojem biochemická gravidita.

Jako tzv. časný spontánní potrat je označováno těhotenství spontánně zaniklé do 12. týdne od 1. dne poslední menses (PM). Pozdní spontánní potrat je forma SA datována od 12. gestačního týdne až do 22. týdne gravidity, nebo není-li známo gestační stáří plodu, je-li jeho hmotnost nižší než 500 g (Stephenson M.D., 2009).

V rámci I. trimestru lze rozlišit vývoj plodu na embryonální období, které se datuje od 3. do ukončeného 8. gestačního týdne, a fetální období, jež začíná 9. gestačním týdnem a trvá až do období porodu (Sadler T.W., 2010).

2.1. Prevalence SA

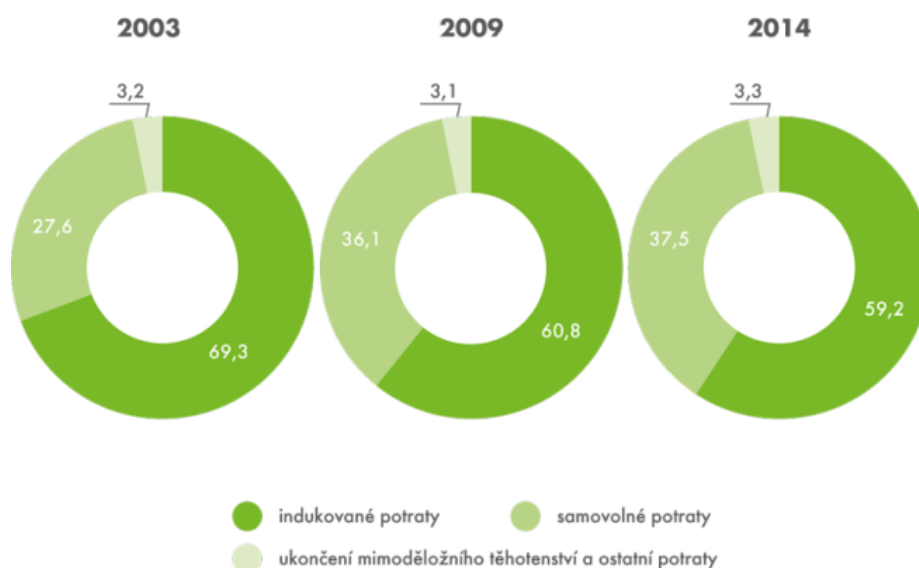
Prevalence těhotenských ztrát není přesně známa. Ke klinické diagnóze SA dochází s nejčastěji udávanou frekvencí 15-20 % (Binder T., 2002). U klinicky potvrzených gravidit je díky povinnému hlášení situace jasně přehledná. Jinak je tomu u těhotenských ztrát preklinických, u nichž se odhady různí, shoda panuje v tom, že jsou spíše vysoké, dle všeobecného konsensu mohou dosahovat až 50 % (Binder T., 2002) (Roztočil A., 2007). Zdá se, že frekvence preklinických těhotenských ztrát vykazuje vzrůstající tendenci díky trendu pečlivého koncepčního plánování a možnosti velmi časně „domácí“ detekce gravidity prostřednictvím gravitestů z moči.

Statistická data týkající se potratů se u nás začala vést v návaznosti na z. 68/1957 Sb. „O umělém přerušení těhotenství“ v roce 1958. Pod termínem absolutní počet evidovaných potratů jsou zahrnuty potraty samovolné, umělá přerušení těhotenství (tzn. miniinterrupce (miniUPT) a jiné legální interrupce (UPT), ostatní potraty a ukončení mimoděložního těhotenství. Absolutní počet evidovaných potratů se dlouhodobě snižuje. V roce 2015 činil počet všech evidovaných potratů 35 700, což je o 1200 méně než v roce předchozím. Do roku 1989 byl vysoký absolutní počet potratů dán především majoritním podílem UPT. Maximálního počtu UPT, a sice 113 730, bylo dosaženo v roce 1988. Tomu předcházelo zrušení tzv. potratových komisí v

roce 1986. V návaznosti na změnu politické situace po roce 1989 došlo k rozšíření informovanosti a především dostupnosti antikoncepčních metod. V první polovině 90. let rychle klesl celkový počet potratů díky snížení počtu UPT, kterých bylo v roce 1990 ještě provedeno 111 268, v roce 1995 již pouze 49 531. Nejnovější statistická data za rok 2015 uvádí celkem 20 400 evidovaných UPT, což je o 1 400 méně než v roce 2014. V souvislosti s legalizací tzv. „potratové pilulky“ RU 486, která je dostupná od poloviny roku 2014, se diskutovalo o možném negativním dopadu na statistická data týkající se UPT, ten se však nepotvrdil.

Vývoj statistických dat týkajících se SA už tak jednoznačný nebyl. Během první poloviny 90. let se počet SA snížil. Od roku 1996 však podíl SA stoupal navzdory pokračujícímu klesajícímu trendu celkového počtu potratů až do roku 2010, kdy opět počet SA na 2 roky klesl. V tomto období ovšem klesl i celkový počet všech těhotenství. Od roku 2013 počet SA opětovně stoupá. V roce 2015 došlo k mírnému nárůstu na 14 100, kdy SA již dosáhly podílu 39 % všech evidovaných potratů. Růst počtu SA pravděpodobně ovlivňoval i nárůst průměrného věku žen v době těhotenství, i tento trend pokračuje. Průměrný věk ženy při potratu po roce 2000 vzrostl pouze mírně z 29,7 let v roce 2003 na 32let v roce 2014, do jisté míry je odrazem nárůstu průměrného věku v době prvního těhotenství (ÚZIS, 2016).

Graf 1: absolutní počet evidovaných potratů a procentuální zastoupení jednotlivých druhů potratu¹



¹ zdroj: http://www.statistikaamy.cz/wp-content/uploads/2016/01/Kurkin_graf1.png

2.2. Klinické varianty SA

Podle klinického průběhu lze rozlišit SA na nekomplikovaný a komplikovaný. Nekomplikovaný SA probíhá ve 3 fázích.

O hrozící potrat (abortus imminens) se jedná v situaci, kdy těhotná krvácí z děložního hrdla a pociťuje tlaky v podbřišku. Při vaginálním vyšetření je hrdlo zcela uzavřené. Při již počínajícím potratu (abortus incipiens) tlak v podbřišku přechází v bolestivé kontrakce. Vaginálně lze palpovat zkrácené a rozšířené hrdlo. Nález je doprovázen silným krvácením z hrdla. Potratu v běhu (abortus in cursu) již nelze zabránit, jeho podstatou je rozsáhlá separace plodového vejce od deciduální tkáně opět se silným krvácením. Potrat úplný (abortus completus) znamená, že plodové vejce je potraceno in toto, dutina děložní při ultrazvukovém vyšetření je prázdná.

Komplikovaný potrat lze rozdělit do 4 dalších podjednotek. Protrahovaný potrat (abortus protractus) je doprovázen slabými kontrakcemi a dlouhodobějším krvácením. Plodové vejce je odloučené částečně. Potrat neúplný (abortus incompletus) znamená, že plod je potracen, jeho obaly částečně či zcela zůstávají v dutině děložní. Děložní hrdlo je dilatované, ultrazvukem potvrzujeme v této situaci dilataci dutiny děložní smíšeně echogenním materiálem. Žena krvácí intenzitou od slabého po velmi intenzivní krvácení.

Podstatou horečnatého potratu (abortus febrilis) je nejčastěji ascendentní infekce z pochvy či hrdla při neúplném potratu (původci streptokoky, stafylokoky, střevní patogeny). Zůstává-li infekce v plodovém vejci a obalech, jedná se o infekt ovulární (potrat horečnatý nekomplikovaný ohraničený), přestoupí-li infekce na okolní tkáň, jedná se již o horečnatý komplikovaný potrat. Klinický průběh je závislý na virulenci původce a celkovém stavu ženy, v extrémním případě hrozí sepse, endotoxinový šok až smrt ženy.

Zamlklý potrat (missed abortion) je stav, kdy je plodové vejce odumřelé, není však vypuzeno. V klinickém průběhu je typická amenorea, která je po delší době následována krvácením.

2.3. Diagnostika a management neprosperující gravidity

Stěžejní pro správnou diagnostiku je odběr gynekologické anamnézy s důrazem na způsob koncepce. Zda koncepce proběhla cestou spontánní, nebo pomocí in vitro fertilizace (IVF). Zjišťována je délka „sekundární“ amenorey včetně charakteru a intenzity PM (poslední menses). Jaký byl dosavadní charakter a délka menstruačního

cyklu (MC) v korelaci s kvalitním transvaginálním sonografickým vyšetřením. Palpační gynekologické vyšetření dopomůže k určení klinické fáze SA.

Ultrazvukovým vyšetřením lze stanovit diagnózu neprosperujícího těhotenství v I. trimestru, nebo podezření na neprosperující graviditu. Vždy je nutné provedení transvaginální ultrazvukovou sondou a je doporučeno současné doplnění ultrazvukového vyšetření transabdominálním přístupem (Caldá P., 2013).

Neprosperující gravidita je zastižena pod typickým obrazem (Caldá P., 2013):

- embryo o velikosti CRL (Crown-Rump Length, temeno-kostrční délka) větší nebo rovno 7mm bez prokazatelné akce srdeční (AS)
- přítomno plodové vejce bez prokazatelného embrya (s přítomností, či bez přítomnosti žloutkového váčku) s průměrnou velikostí větší než 25 mm (3x měřeno, průměr 3 hodnot)
- 2 a více týdnů po nález gestáčního váčku bez přítomnosti žloutkového váčku není přítomno embryo s prokazatelnou AS
- po 11 a více dnech po nález gestáčního váčku se žloutkovým váčkem není přítomno embryo s prokazatelnou AS

Existují-li pochybnosti o stáří gravidity u asymptomatické těhotné, vyšetření by mělo být zopakováno v rozmezí 7 - 10 dnů v ambulantním režimu.

Nutnost dalšího ověření k potvrzení diagnózy neprosperujícího těhotenství je při následujících ultrazvukových nálezech (Caldá P., 2013):

- CRL je menší než 7mm bez prokazatelné AS
- gestáční váček s průměrnou velikostí 16-24 mm bez prokazatelného embrya (průměr 3 hodnot)
- nepřítomnost embrya s prokazatelnou AS 7-13 dnů po nález gestáčního váčku bez žloutkového váčku
- nepřítomnost embrya s prokazatelnou AS 7-10 dnů po nález gestáčního váčku se žloutkovým váčkem
- prázdný amnion (amnion viditelný spolu se žloutkovým váčkem bez viditelného embrya)
- nepřítomnost embrya 6 a více týdnů od PM
- nález žloutkového váčku větší než 7 mm
- malý gestáční váček v poměru k velikosti embrya (méně než 5 mm rozdíl mezi průměrnou velikostí gestáčního váčku a CRL)

Je-li žena klinicky asymptomatická a současně oběhově stabilní, je doporučen monitoring dynamiky sérových koncentrací hladin lidského choriogonadotropinu (hCG) v korelaci s transvaginálním ultrazvukovým nálezem. Při nepřítomnosti plodového vejce intrauterinně nelze z jedné hodnoty sérové koncentrace hCG spolehlivě odlišit ektopickou, mladší intrauterinní viabilní a neprosperující intrauterinní graviditu. Volba frekvence dalších kontrol závisí na klinickém stavu pacientky, respektive na míře rizika přítomnosti extrauterinní gravidity (GEU). Nejčastěji se hladina sérové koncentrace hCG hodnotí podle dynamiky ve 48 hodinovém intervalu - tzv. M4 Triage protocol (Van Calster B., 2013). Při diagnóze neprosperující gravidity u asymptomatické těhotné bez rizika z prodlení je vždy doporučena verifikace ultrazvukového nálezu i jiným lékařem - sonografistou, kdy alespoň jeden z nich má kvalifikační stupeň II dle ČSUPG ČLS JEP (Calda P., 2013).

Cílem tohoto opatření je optimalizace péče o pacientku v době raného těhotenství a současně minimalizace rizika poškození potenciálně normální gravidity.

2.4. Diagnostický algoritmus při těhotenských ztrátách

Vyšetření možných příčin neprosperující gravidity je obvykle zahájeno u páru s anamnézou habituálního potratu v prvním trimestru, nebo u jedné pozdní těhotenské ztráty. Je vhodné tento přístup přísně individualizovat na základě konkrétních anamnestických a klinických dat pacientky, ev. jejího partnera. Asi u poloviny páru s anamnézou habituálního potracení se příčinu nalézt nepodaří. Přesto se 70-80 % z nich dočká úspěšného dokončení gravidity (Binder T., 2002).

Pozn: vyšetření laboratorních tyreoidálních parametrů je doporučeno již při první těhotenské ztrátě (Jiskra J., 2014).

Doporučený vyšetřovací algoritmus (Roztočil A., 2007) (Binder T., 2002):

- Anamnéza:
 - Z rodinné anamnézy (RA) jsou důležitá data především z oblasti chronických interních poruch, endokrinologických poruch, autoimunitní onemocnění, koagulopatií a genetických poruch.
 - Z osobní anamnézy (OA) jsou stěžejní věk obou partnerů, chronická interní onemocnění, endokrinopatie, chronická medikace, údaje o dosavadních operačních zákrocích (se zaměřením na oblast dutiny břišní a malé pánve), urologické infekty (jejich roční frekvence, dosavadní absolvovaná urologická vyšetření, zjištěná infekční agens

atd.), sexuálně přenosná onemocnění a jiná závažná infekční onemocnění, nutriční aspekty, abúzus a stav psychiky.

- V gynekologické anamnéze (GA) klademe důraz na délku, charakter a intenzitu menstruačního cyklu (MC), menarché, PM, údaje o užívání kombinované hormonální antikoncepce (COC), počtu celkových gravidit, počtu a dataci SA, počtu UPT, GEU, počtu a charakteru porodů (fyziologické, patologické, předčasné, v termínu, spontánní, vaginální operační, operační včetně indikací atd.) dosavadních porodů, charakteru dosavadních gravidit (spontánní, těhotenství po IVF, fyziologické, patologické atd.), charakter dosavadních porodů, porodní hmotnosti a délky plodů. Údaje o gynekologických operacích včetně zákroků na děložním cervixu, výsledek preventivního cytologického vyšetření, údaje o zjištěných sexuálně přenosných chorobách a konečně údaje o samovyšetření prsů a eventuelních absolvovaných sonografických/mamografických vyšetření prsů a jejich indikací.
- Fyzikální a gynekologické vyšetření:
 - transvaginální a transabdominální sonografické vyšetření
 - diagnostická hysteroskopie včetně biopsie endometria, eventuálně diagnostická laparoskopie.
- Hormonální vyšetření:
 - 2. den MC hladina estrogenu (E), folikulostimulačního hormonu (FSH), luteinizačního hormonu (LH)
 - tyreostimulačního hormonu (TSH), volný tyroxin (fT4), protilátek proti tyreoperoxidázy (a-TPO)
 - prolaktinu (PRL)
 - glykémie nalačno (s-glc)
- Genetické vyšetření:
 - cytogenetické vyšetření potraceného embryonálního/ fetálního materiálu
 - karyotypizace obou partnerů
 - panel trombofilních markerů
- Imunologické vyšetření:

- autoimunitní příčiny:
 - antikardiolipinové, antifosfolipidové, antinukleární protilátky, lupus antikoagulans
- alloimunitní příčiny:
 - antispermatické, antitrofoblastické protilátky
 - HLA (Human Leukocyte Antigen) kompatibilita
 - testy na NK buňky
 - průkaz H-Y antigenu
- Panel infekčních agens:
 - kulturační vyšetření z hrdla děložního a pochvy
 - serologické vyšetření přítomnosti protilátek HBsAg, anti-HCV, HIV, CMV, toxoplazmózy, syfilis

2.5. Etiologické faktory opakovaných těhotenských ztrát

2.5.1. Embryonální/ fetální faktor

Genetické embryonální/fetální abnormality tvoří dle některých autorů až v 60 % příčinu všech časných reprodukčních ztrát (Binder T., 2002). Izolovaný SA je až v 90 % zapříčiněn chromozomální aneuploidií, v naprosté většině de novo vzniklé, s minimálním rizikem opakování (Roztočil A., 2011).

U třídních embryí po IVF metodách byla potvrzena chromozomální abnormalita až v 50 %. U spontánních abortů v prvním trimestru bylo 50 % geneticky abnormálních (Mardésič T., 2013).

Spektrum závažnosti poruch embryogeneze lze nalézt v pásmu širokého rozmezí od forem zcela neslučitelných s životem tzv. anembryomolly, kdy zcela chybí embryo a přítomen je pouze gestační vak, až po vývojové chyby s životem slučitelné. Celková incidence chromozomálních abnormalit u novorozenců činí cca 0.6 % (Gaillyová R., 2006).

Až 95 % geneticky defektních gravidit podlehne prenatální selekci. Jde o genetické abnormality v počtu chromozomů (tzv. numerické aberace - haploidie, polyploidie, trisomie, absence X chromozomu). Často se ale jedná i o strukturní aberace chromozomů 13, 18, 21, X a Y. Terapie v těchto případech možná není. Jistou výjimku tvoří vyvážené translokace, které mohou být diagnostikovány u rodičů. Je-li

stejná porucha přítomna u plodu, většinou těhotenství skončí formou časného SA do 10. týdne těhotenství, určité procento však přežívá (Gaillyová R., 2006).

2.5.2. Maternální faktor

Genetické abnormality

Pro lidskou reprodukci je charakteristické vysoké procento těhotenských ztrát díky vysokému podílu aneuploidií (monozomií i trisomií). Aneuploidie vznikají nondisjunkcí chromozomů při meiotickém dělení. U zdravého mužského jedince se pohybuje frekvence aneuploidií přibližně okolo 5 % spermií, u žen může frekvence aneuploidií činit až okolo 20 %. Frekvence aneuploidních koncepcí lineárně závisí na věku matky. U žen nad 40 let bylo zaznamenáno až 60 % oocytů aneuploidních. U mužů byl pozorován zvýšený výskyt aneuploidií v přímé souvislosti s patologií spermiogramu (Mardésič T., 2013).

Aberace pohlavních chromozomů souvisí s vývojem a funkcí gonád, balancované strukturní aberace autozomů představují významné riziko fetálních ztrát a postižení potomků jejich nosičů. U 2-19 % páru s opakovanými těhotenskými ztrátami lze zjistit nosičství balancované chromozomální aberace. Je-li jejím nosičem žena, je riziko narození dítěte s nebalancovanou translokací 12 %. Je-li jejím přenašečem muž, činí riziko narození dítěte s nebalancovanou translokací přibližně 5 % (Mardésič T., 2013).

Jsou-li přítomny balancované translokace u obou rodičů, je indikována časná karyotypizace plodu. I při výsledném normálním karyotypu plodu, je gravidita nadále považována za rizikovou pro subfertilitu matky. Je doporučováno podpůrné užívání acidum folicum v dávce 10 - 20 mg denně a tokoferolu 100 mg denně (ideálně obojí již v prekoncepčním období), gestagenů (Utrogestan 2 x 200 mg perorálně nebo vaginálně) minimálně do 12. týdne těhotenství (Binder T., 2002).

Párům s již prekoncepčně známou diagnostikovanou přenosnou genetickou poruchou je obvykle nabízeno využití metod tzv. preimplantační genetické diagnostiky (PGD), nebo použití darovaných zárodečných buněk. PGD je metoda cílená a preventivní, je zaměřena na testování a diagnózu daného genetického onemocnění. Cílem je výběr zdravého embrya před vlastní implantací do dělohy (Brachtlová T., 2005).

Anatomické faktory

Anatomické abnormality genitálního traktu nacházíme u cca 0.1 % žen. Klinicky se projeví většinou až v dospělosti formou infertility především v období II. trimestru (Gaillyová R., 2006). Lze je rozdělit na vrozené a získané.

Implantace a vývoj embrya jsou podmíněny dokonalou schopností adaptace sliznice děložní nárokům gravidity a dostatečným cévním zásobením stěny děložní. S opakovanými potraty jsou spojeny anatomické poruchy v oblasti těla i hrdla děložního (Roztočil A., 2007). Odhaduje se, že primární příčinou habituálního potracení mohou tyto poruchy být až v 15 % případů (Binder T., 2008). Nejčastěji vrozené vývojové vady vznikají poruchami splývání pravého a levého tzv. paramezonefrického (Müllerova) vývodu. Obvykle jsou doprovázeny klinickým nálezem hypoplastické dělohy. Jejich prevalence je odhadována na 1 : 200 – 1 : 600 žen. Zdvojené malformace lze dále rozdělit na jednoplášťové a dvouplášťové. Mezi jednoplášťové patří uterus subseptus, tedy parciální defekt resorpce nízké vaskularizované tkáně intrauterinně. U ženy s intrauterinním parciálním septem činí riziko SA až 60 % (Binder T., 2008). V I. trimestru je v tomto případě podkladem těhotenské ztráty obvykle inadequate placence v důsledku implantace embrya do nedostatečně připraveného endometria právě nad děložním septem. Klinická manifestace septované dělohy závisí na anatomické variantě děložního septa a současně na lokaci implantace embrya (Bick R.L., 1998). Při parciální septované děloze žena opakovaně potrací, při kompletním septu se většinou klinicky jedná o primární sterilitu. Terapií septované dělohy je hysteroskopická resekce děložního subsepta/septa po předchozí verifikaci vady expertním ultrazvukovým vyšetřením (ev. ještě laparoskopickou cestou).

Mezi dvouplášťové vady řadíme uterus unicornis (poruchy vývoje jednoho Müllerova vývodu na podkladě předčasné migrace vývodu do místa splnutí s druhostranným vývodem a jeho následná atrezie), uterus arcuatus, uterus bicornis, uterus biciporeus unicollis, uterus duplex cum vagina septa (uterus didelphys). Příčiny těchto vrozených vývojových vad jsou nejasné, bylo prokázáno, že v důsledku prenatalního působení diethylstilbestrolu (DES) na vyvíjející se plod vznikají vývojové vady v oblasti těla, hrdla děložního i pochvy. DES byl jako první perorálně účinkující estrogen užívaný in utero jako prevence SA v letech 1941 -1971. Pro prokázanou kauzalitu s karcinomem vagíny byl v roce 1971 zakázán. Klinicky nepůsobí zdvojené vývojové vady vyjma uterus didelphys žádné obtíže. Jejich diagnostika je proto většinou náhodná při rutinním ultrazvukovém vyšetření, nebo cílená v případě diagnostiky příčin poruch plodnosti. K terapii vad dvouplášťových přistupujeme v

případě opakovaných pozdních SA individuálně formou metroplastiky, nebo v době těhotenství při splnění všech indikačních kritérií rovněž cerkláží.

Mezi získané anatomické faktory zvyšující riziko SA náleží myomy, korporální endometriální polypy, či abnormality uzávěru děložního hrdla. Děložní myomatóza je považována za příčinu SA především v období II. trimestru, kdy se podílí až na 30 % všech SA (Zwinger A., 2000). Mechanismus jejich negativního působení zasahuje jednak do vlastního mechanismu implantace, ale také prostřednictvím navození změn kalciového metabolismu. Ve formě submukózních a intramurálních děložních myomů je zodpovědná za 1 - 4 % opakovaných těhotenských ztrát (Krajčovičová R., 2007).

Prognosticky nejméně příznivým nálezem jsou myomy uložené submukózně (SM), velké intramurálně (IM) až transmurně (TM) lokalizované myomy o průměru větším než 50 mm a v počtu větším než 3. Stěžejní pro prognózu gravidity je však místo implantace plodového vejce ve vztahu k myomu. Myomatozní děloha je zjištěna u až 4 % donošených těhotenství, přičemž podle některých autorů během gravidity nemění svou velikost, nebo se zmenší až v 80 % případů (Bajekal N., 2000).

Stále není vyřešena otázka, zda se tedy jedná o kauzální příčinu těhotenských ztrát, či pouhou koincidence. Data z jednotlivých studií sledujících tento vztah jsou protichůdná a neposkytují jednoznačný názor, jak jednotně postupovat (Benson C.B., 2001) (Valli E., 2001). Spektrum možných terapeutických intervencí je pestré. Je možná operační cestou v závislosti na počtu, typu a lokalizaci děložních myomů s preferencí minimálně invazivních přístupů - hysteroskopická resekce SM myomů, laparoskopická myomektomie (LM), open myomektomie (OM) z Pfannestielova řezu, nebo intraarteriální uterinní embolizace (UAE). Jednou z možných terapeutických modalit je i předoperační nasazení agonistů gonadotropin uvolňujícího hormonu (GnRHa) v maximální délce šesti měsíců či opakovaná tříměsíční kúra ulipristal-acetátu, který náleží do skupiny syntetických selektivních modulátorů progesteronových receptorů (SPRM). Protektivně proti vzniku děložní myomatózy zdá se působí gestagenní složka perorální hormonální antikoncepce.

Endometriální korporální polypy vznikají nadměrným růstem endometria vs. na principu excesivní odpovědi v určitých okrcích endometria na stimulaci estrogenů. Jejich pouhá přítomnost negativně ovlivní implantaci oocyty.

Fyziologické aspekty

Nejen díky trendu odkládání koncepce se stále častěji setkáváme s problematikou infertility u perimenopauzálních žen. Věk ženy je důležitým aspektem u

párů s anamnézou habituálního potrácení. Se zvyšujícím věkem ženy vzrůstá riziko výskytu trizomií, non-disjunkcí či translokací (Mardésič T., 2013).

Graf 2: průměrný věk žen v době SA²



Riziko SA stoupá s věkem matky. Vyšší incidence těhotenských ztrát je již u žen po 30. roce života, rapidní nárůst je znám u žen po 40. roce věku (Binder T., 2008) .

Reprodukční stárnutí je definováno řadou navazujících dějů. První klinickou známkou je snížení plodnosti, následuje izolovaná elevace folikulostimulačního hormonu (FSH nad 10-12 IU/l) s klinickým projevem zkrácení folikulární fáze menstruačního cyklu, tím i celkové délky celého menstruačního cyklu na 24 – 25 dnů při doposud standardní délce 28 dnů. V další fázi dochází k elevaci luteinizačního hormonu (LH). Následují perimenopauzální poruchy menstruačního cyklu s většinou již anovuačními cykly, progresivní oligomenorrhea a následně menopauza. Nepříznivým faktorem po 40. roce života ženy je především nižší frekvence ovulačních cyklů, nižší kvalita embryí a snížená schopnost implantace embrya díky snížené reaktivitě s nedostatečnou sekreční transformací endometria v důsledku celkového poklesu estrogenových receptorů, které zde působí jako promotory progesteronových receptorů (Hudeček R., 2009). Chyby v průběhu meiózy oocytů jsou velmi časté, až 20 % všech produktů koncepce je aneuploidních nejčastěji důsledkem poruchy segregace

² zdroj: http://www.statistikaamy.cz/wp-content/uploads/2016/01/Kurkin_graf2.png

chromozomů během oogeneze, jejich frekvence vzrůstá s věkem ženy (Mardésič T., 2013).

Prekoncepčně je možné individuálně testovat transvaginálním ultrazvukovým vyšetřením ovariální rezervu prostřednictvím zjištění velikosti kohorty antrálních folikulů v časně folikulární fázi (AFC, Antral Follicle Count), nepřímo prostřednictvím hladiny anti-mülleriánského hormonu AMH (Anti-Müllerian Hormone), zvýšené bazální hladiny FSH, nízké hladiny inhibinu B, nízké endokrinní odpovědi na stimulaci klomifencitrátu prostřednictvím tzv. CC challenge testu. AMH umožňuje odhadnout délku reprodukčního období ženy či efektivně posoudit ovariální rezervu. Je produkován preantrálními a antrálními folikuly. Hladina AMH odráží velikost poolu folikulů zatím necitlivých na FSH stimulaci. Při vyšetření ovariální rezervy má vyšší senzitivitu a specificitu než stanovení hladin FSH, inhibinu B a estradiolu. Je tak srovnatelný s výtěžností AFC. Výhodou je, že odběr je možný díky minimální intracyklické variabilitě kdykoliv během MC. Je prokázáno, že u žen nad 40 let, pokud jsou akceptorem darovaného oocyty mladé ženy, se zvýšená incidence SA nevyskytuje. Preventivně je některými autory proto doporučeno opatření v podobě tzv. social freezing. Jedná se o kryoprezervaci embryí či oocytů (Mardésič T., 2013).

Terapií infertility v perimenopauze je ovariální stimulace v rámci metod asistované reprodukce s využitím GnRH agonistů s hMG a/nebo FSH. Alternativou je využití protokolů s GnRH antagonisty, či darovaných oocytů spolu s estrogeny a gestageny suplementací. Snížená receptivita endometria je kompenzována v průběhu asistované reprodukce vysokými dávkami progesteronu v dávce 150 mg na den (Hudeček R., 2009).

Endokrinologické faktory

Endokrinopatie jsou frekventní etiologickou příčinou SA. Jedná se o primárně gynekologické endokrinopatie z hypofunkce ovaria a endokrinopatie původu negynekologického (Krajčovičová R., 2004). Endokrinopatie mohou být zodpovědné až za 20 % habituálních potratů (Li T.C., 2000). Počet potratů v prvním trimestru je např. u žen s hyperandrogenním syndromem o 30-50 % vyšší než u zdravých žen (Kauffman R. P., 2003). Z hlediska infertility jsou stěžejní tyreopatie, diabetes mellitus a hyperprolaktinémie.

Tyreopatie postihují významnou část žen v reprodukčním věku. Neléčené poruchy tyreoidy mohou být příčinou sterility a porušení vývoje embrya i plodu. Mezi těhotnými ženami je 5 % žen s hypothyreózou (manifestní i subklinickou) a přibližně 10 % žen vykazuje pozitivitu protilátek proti tyreoperoxidáze (a-TPO) (Potluková E., 2013).

V 5. - 6. gestačním týdnu by ideálně měla být rutinně laboratorně vyšetřena funkce tyreoidy u všech těhotných (fT4, TSH, a-TPO). V případě záchytu chronické lymfocytární tyreoiditidy s poruchou funkce je při dysfertilitě indikována substituce levotyroxinem (LTX) a jódem. Při eufunkci s pozitivitou a-TPO je při dysfertilitě vhodná malá dávka LTX 25-50 ug denně a 150-200 ug Jodidu denně. Nález tyreotoxikózy je přibližně u 0.5 % gravidních žen, po dovyšetření je nastavena medikace tyreostatiky (v I. trimestru propyltiouracil, poté tiamazol) (Jiskra J., 2014).

SA souvisí často s dekompenzací diabetu na počátku gravidity, častěji u hůře kompenzovaných diabetiček I. typu, méně u DM II. typu. Gravidita je považována diabetogenní stav, GDM má souvislost s rostoucí hyperinsulinémií. Hyperinsulinémie byla diagnostikována u 27 % žen s anamnézou habituálního potratu (Carrington B., 2005).

Hyperinsulinémie způsobí redukcí endometriálních proteinů glykodelinu a insulin-like growth factor binding proteinu (IGF-BP), čímž negativně působí na endometrium. Bylo zjištěno, že 50-70 % žen s hyperandrogenním syndromem vykazují taktéž určitý stupeň insulinové rezistence (Kauffman R. P., 2003).

U žen s anamnézou DM I. typu je na místě pečlivá prekoncepční péče se snahou o maximální kompenzací diabetu (HbA1c do 45 mmol/mol min. 3 měsíce před koncepcí). Léčeny jsou i navíc u 50-70 % ženy s hyperandrogenním syndromem vykazující určitý stupeň insulinové rezistence, tyto pacientky intenzifikovaným inzulinovým režimem s minimálně 4 denními dávkami inzulinu nebo inzulinovými pumpami. V graviditě lze použít humánní inzulinu nebo inzulinová analoga s výjimkou glulisinu. Vedle farmakoterapie jsou doporučena dietní opatření, pohybová aktivita a pečlivý monitoring dle aktuálních hodnot klinických a laboratorních vyšetření. Screening gestačního diabetu (GDM) probíhá dvoustupňově od roku 2014. V prvním trimestru gravidity je vyšetřena glykémie nalačno v žilní plazmě standardní metodou, mezi 24. - 28. týdnem těhotenství provádíme tříbodový oGTT při negativním nálezu v prvním trimestru. Terapie GDM spočívá v dietním opatření, pohybové aktivitě a ev. ve využití farmakoterapeutických modalit - lze použít taktéž humánní inzulinu nebo inzulinová analoga s výjimkou glulisinu, po 24. týdnu těhotenství metformin i glibenklamid.

Klinicky hyperprolaktinémie manifestuje poruchami MC typu luteální insuficience, anovulace, amenorea nebo galaktorea. Prolaktin (PRL) je secernován buňkami adenohypofýzy a formou tzv. autokrinní sekrece i buňkami deciduy, myometria, leukocyty a lymfocyty. Jeho sekrece je řízena neurony nucleus arcuatus,

kde dochází současně k produkci dopaminu (tzv. PRL inhibiting factor) a TSH (stimuluje sekreci PRL). Diferenciálně diagnosticky je třeba odlišit fyziologickou elevaci hladiny PRL vlivem koitu, stresu, laktace, gravidity, zvýšenou tělesnou aktivitou, farmakologicky navozenou hyperprolaktinémii prostřednictvím např. antihypertensiv, antiepileptik, anestetik, inhibitory syntézy dopaminu, estrogenů, neuroleptik, antipsychotik a opiátů. Patologickou hyperprolaktinémii navodí rovněž traumata, kraniofaryngom, meningiom, akromegalie, prolaktinom, hypotyreóza, jaterní cirhóza, PCO syndrom nebo radioterapie v oblasti hypothalamo-hyofyzární oblasti. Terapeuticky lze využít dopaminergní agonisty stimulující dopaminergní D2-receptory (Tergurid – Mysalfon - 0.5 mg 2 - 4x denně, Bromokriptin 2.5 mg až 3x denně, Carbegolin - Dostinex- 0.5 mg 1-2 x týdně).

Názorová různorodost panuje v otázce luteální insuficience jakožto možné příčině SA. Jedná se o tzv. faktor implantační a nidační. Luteální insuficience je definována jako nízká hladina progesteronu při standardní délce luteální fáze, nebo normální hladina progesteronu při délce luteální fáze kratší než 11 dnů, a/nebo porucha endometriální reakce na progesteron (Koryntová D., 2002). Vzniká při ní nerovnováha mezi sekreční produkcí endometria a nutritivními nároky oplozeného oocytu. Tato situace, zdá se, může být kauzální a vést k zástavě vývoje embrya (Erlebacher A., 2004).

Hematologické faktory

Trombembolická nemoc (TEN) je jednou z nejzávažnějších komplikací gravidity a především raného puerperia. Pro fyziologickou graviditu je typickým nálezem zvýšená hladina fibrinogenu, koagulačních faktorů VII, VIII, IX, X, XII, snížení aktivity antifibrinolytických proteinů a antikoagulačních faktorů.

Trombofilní stavy, hereditární i získané, toto prokoagulační ladění mohou dále potencovat. Mohou se tak podílet v etiopatogenezi časných i pozdních SA, intrauterinní smrti plodu (IUFD- Intrauterine Fetal Death), preeklampsie/eklampsie, intrauterinní růstové restrikci plodu (IUGR- Intrauterine Growth Restriction), HELLP syndromu, abrupce placenty či venózního tromboembolismu (VTE) (Murphy R. P., 2000). Jednotlivé hereditární trombofilní stavy se navzájem liší, zejména svou prevalencí a mírou pohotovosti k rozvoji VTE. Lze je rozdělit do dvou základních skupin. První skupinu tvoří trombofilie podmíněné deficitem vrozených inhibitorů koagulace. Jejich prevalence je ve srovnání s druhou skupinou nižší při současně vyšším riziku vzniku TEN. Do první skupiny patří deficit antitrombinu, deficit proteinu C a deficit proteinu S. Do druhé skupiny, pro níž je typická vyšší prevalence při nižším riziku exacerbace TEN, patří mutace FV Leiden (FVL) a protrombinová mutace (PT G20210A) (Dulíček P., 2002).

Mezi získané trombofilie náleží antifosfolipidový syndrom (APA), myeloproliferativní onemocnění, nefrotický syndrom a jiné. Terapie je individuální v závislosti na závažnosti konkrétního typu trombofilie, klinickém průběhu, aktuálních výsledcích laboratorních vyšetření a anamnéze dotyčné ženy.

Možný patogenetický mechanismus účinku spočívá v tvorbě fibrinových depozit, hypoxických změnách v endotelu a trofoblastu, trombózách v uteroplacentárním cévním řečišti (Hudeček R., 2009). Řada z nositelek hereditární trombofilie žádné klinické obtíže neměla a mít nebude, naopak jiné klinicky manifestují velmi časně a bouřlivě (Said J.M., 2010). Tato skutečnost podporuje tezi multifaktoriální patogeneze TEN a vzájemnou interakci jejich jednotlivých rizikových faktorů. Možnost predikce a prevence trombogenních komplikací v graviditě však zůstává často limitovaná.

Imunologické faktory

Fyziologický průběh těhotenství je podmíněn souhrou složitých imunitních mechanismů. V případě habituálního potrácení se etiologicky uplatňuje až ve 40 - 60 % případů (Krajčovičová R., 2007). U infertilních žen je udáván pokračující vzestupný trend imunopatologických nálezů (Hudeček R., 2007).

Oplozený oocyt, trofoblast, embryo/fetus jsou nositeli cizích antigenních znaků paternálního původu, na jejichž přítomnost mateřský organismus zareaguje specifickou imunodepresí v oblasti endometria. Lze rozlišit řadu imunologických mechanismů, jak k tomu dochází. Jedná se např. o zmnožení leukocytů z řad monocytů a makrofágů v oblasti deciduy po implantaci blastocysty. Makrofágy jsou zde producenty imunopresivních faktorů díky potlačení jejich fagocytární aktivity. T- lymfocyty, mezi nimiž převažují tlumivé buňky s gama/delta aktivitou, neodpovídají na aktivační signály, čímž je snížena produkce interleukinů- především IL-2. Současně je excitovaná produkce cytokinů s protrofoblastovou aktivitou. V průběhu gravidity byl zaznamenán trvalý pokles cytotoxických a NK buněk. Z humorálních mechanismů převládá produkce transformujících růstových faktorů (Nouza K., 2000).

Významnou úlohu zastává i progesteron. Nedostatečná aktivace progesteronových receptorů na fetu-maternálním rozhraní způsobí prostřednictvím allogenních imunomechanismů odmítnutí embrya. Progesteron prostřednictvím aktivace PIBF (Progesteron Induced Blocking Factor) udržuje nízkou koncentraci NK buněk, čímž přispívá k fyziologickému průběhu těhotenství (Ventruba P., 2002).

Za stěžejní v mechanismu imunodeprese je považována role trofoblastu. Díky strohé imunogenní povrchové výbavě má odolnost vůči imunitní reakci mateřského

organismu. V syncytiotrofoblastu nejsou vyjádřeny HLA znaky I. a II. třídy, jež slouží jako aktivátory vypuzovací imunoreakce a cíle imunitních mechanismů, ale pouze nepolymorfní HLA znaky třídy G, E a F, které nespouští imunitní mateřské reakce a navíc nejsou citlivé na ataky lymfocytů, makrofágů a protilátek (Nouza K., 2000).

Samotné embryo/fetus disponuje řadou protektivních a podpůrných mechanismů stěžejních pro jeho úspěšný vývoj. Jde např. o EPF (faktor časného těhotenství), alfa-fetoprotein nebo hCG. Jejich přičiněním je limitováno množení a aktivace mateřských imunitních buněk a faktorů důležitých pro odolnost embrya mateřským imunitním reakcím. Narušení jakéhokoliv výše uvedeného článku z celé kaskády imunotolerančních mechanismů může vyústit v těhotenskou ztrátu (Nouza K., 2000).

Z hlediska cílového antigenu lze imunologicky podmíněné SA rozdělit na autoimunitní a aloimunitní.

U autoimunitně podmíněných těhotenských ztrát je cílovým antigenem oblast gestačního váčku, konkrétně cévní endotel a decidua. Nejlépe je v tomto směru prozkoumán mechanismus antifosfolipidového syndromu (APA) s udávanou frekvencí 15 -25 % mezi těhotenskými ztrátami imunologicky podmíněných (Nouza K., 2000)

APA je současně řazen mezi tzv. získané trombofilní stavy. Byl popsán v roce 1986 autory Hughesem a Harrisem (Hughes G. R., 1992). Jeho definice je podmíněna klinickými a laboratorními kritérii. Pro splnění diagnózy APA je nutné alespoň jedno klinické a jedno laboratorní kritérium s opakovaně potvrzenou pozitivitou v odstupu 6 týdnů až 3 měsíců (Dulíček P., 2005).

Klinická kritéria:

- arteriální či žilní trombóza v kterémkoliv orgánu
- habituální potrácení v I. trimestru, nebo minimálně 1 pozdní těhotenská ztráta, partus praematurus do 34. gestačního týdne s fyziologickou morfologií plodu

Laboratorní kritéria:

- průkaz přítomnosti protilátek typu lupus antikoagulans
- průkaz přítomnosti antikardiolipinových protilátek
- průkaz protilátek proti B-2-glykoproteinu I ve třídě IgM, IgG ve středních či vysokých titrech

Podstatou autoimunitní patogeneze je mnohočetný protrombotický zásah především antifosfolipidových, antikoagulačních, antinukleárních a řady dalších protilátek do cév deciduy a/nebo placenty evokovaný snížením vzájemného poměru vazodilatačně působícího prostacyklinu a vasokonstrikčního tromboaglutinačního tromboxanu. Současně se uplatní přímý zásah do mechanismu apoptózy prostřednictvím vazby na fosfatidylserin. Zkřížená reaktivita APA s fosfolipidy vilózního trofoblastu může být příčinou destrukce trofoblastu mateřskými imunitními efektorovými buňkami. Opakované potracení pak velmi často bývá první klinickou manifestací APA u žen (Nouza K., 2000).

Aloimunitně podmíněné SA jsou častější variantou imunologicky podmíněných potratů. Za jejich podstatu je považováno prolomení imunotolerančního mechanismu vůči paternálním znakům plodu. Může se jednat o mechanismy nekontrolované antitrofoblastové a antifetální buněčné imunity či nekontrolovanou produkci trofoblastotoxických a embryotoxických cytokinů, ty mohou vznikat v interakci mateřských leukocytů se spermii, trofoblastem i embryonálními tkáněmi (Nouza K., 2000)

Diagnostika se u autoimunitních mechanismů opírá o průkaz cirkulujících autoprottilátek a imunokomplexů, v případě aloimunitních poruch je nutná HLA typizace partnerů, detekce embryo- a trofoblastotoxických faktorů a ev. imunohistochemické vyšetření deciduy.

Při terapii autoimunitních poruch lze podávat nízké dávky kyseliny acetylsalicylové (k. ASA, Anopyrin 100 mg denně) v kombinaci s nízkomolekulárním heparinem (LMWH), případně středně velkými dávkami glukokortikoidů. V případě APA a anamnézy minimálně 2 SA do 10. gestačního týdne je vhodná terapie kyselinou acetylsalicylovou (ASA)- (Anopyrin 100 mg denně) od počátku gravidity, od 12. gestačního týdne je doporučeno převedení na profylaktickou dávku LMWH (Clexane 0.4 ml s. c. á 24 hodin, nebo Fraxiparine 0.3 ml s. c. á 24hod) (Dulíček P., 2006).

Alternativní postupy uvádějí možnost podání dávky až 5 mg Prednisonu denně nebo vysoké dávky intravenózních imunoglobulinů (IVIG). Léčba LMWH ve srovnání s Prednisonem vykazuje méně vedlejších příznaků matky při srovnatelných výsledcích. Dočasné limitace patologických autoprottilátek lze dočasně docílit opakovanou plazmaferézou. Prokázáno bylo profitování pacientek intravenózní aplikací vysokých dávek imunoglobulinů (IVIG) do dvou dnů od průkazu ovulace. IVIG terapie je v praxi limitována cenou (Ventruba P., 2002).

U aloimunitních poruch se při vysoké shodě partnerů v HLA antigenech doporučuje imunizace partnerovými leukocyty. V terapii se taktéž využívá kombinace Prednisonu, Dihydroprogesteronu, Wobenzymu a ev. hCG (Nouza K., 2000).

Dydrogesteron, syntetický perorální gestagen užívaný jako embryoprotektivní imunomodulans, působí v oblasti deciduy. Vykazuje vysokou afinitu k progesteronovým receptorům a zároveň nevykazuje estrogenní a androgenní aktivitu. Dydrogesteron aktivuje produkci PIBF, dochází tak k inhibici produkce endometriálních prostaglandinů a cytotoxické aktivity NK buněk, tím docílí stabilizace endometria a relaxace myometria. Podává se obvykle v denní dávce 2x 10 mg tbl. per os (Ventruba P., 2002).

Infekční faktory

Role maternální i fetální infekce v preembryonálním, embryonálním a fetálním období v problematice potrácení vyznívá poněkud kontroverzně. Jednoznačný důkaz abortivního efektu infekčních agens chybí, nicméně vyšetření vaginálního, cervikálního a ev. intrauterinního prostředí zaujímá ve vyšetřovacím panelu důležité místo (Binder T., 2002).

Infertilní ženy by v tomto směru měly být edukovány k důslednému řešení vulvovaginálního dyskomfortu již prekoncepčně. Diskutovaný vyšetřovaný panel TORCH (Toxoplasma, Rubella, Cytomegalovirus a Herpes) infekce se při habituálním potrácení neprokázala (Hudeček R., 2004). Naopak byla potvrzena asociace bakteriální vaginózy a časných těhotenských ztrát, pozdních těhotenských ztrát a předčasného porodu. I když se spíše uplatňují jako jednorázové agens, jejich vliv na habituální potrácení zcela vyloučit jednoznačně nelze (Binder T., 2002). V séru žen s anamnézou habituálního potrácení byly zjištěny vyšší titry protilátek proti Chlamydia trachomatis. Chronický zánětlivý proces snižuje receptivitu endometria a negativně přispívá k funkčním změnám v dutině děložní, jež snižují schopnost implantace embrya a jeho další časnou genezi (Hudeček R., 2004).

Při pozitivním nálezu akutní či chronické infekce následuje antibiotická terapie dle příslušné citlivosti zjištěného agens. U žen v programu IVF byla publikována alternativa dokonce terapeutické kyretáže pod antibiotickou clonou dle citlivosti zjištěného agens před následným cyklem IVF (Hudeček R., 2004).

Environmentální faktory

Existuje příčinná souvislost s vybranými faktory zevního prostředí a habituálním potrácením. Mezi potvrzené noxy se řadí ionizující záření, organická rozpouštědla,

alkohol, rtuť a olovo, mezi noxy suspektní patří hypertermie, kofein, kouření (Hudeček R., 2009).

Psychologické faktory

Jako primární příčina opakovaných těhotenských ztrát je uváděna v minimech případů infertilních párů po předchozím důkladném vyloučení všech ostatních možných etiologických organických agens, častěji se vyskytuje jako sekundární efekt v důsledku prožitých těhotenských ztrát a obav z dalšího koncepčního neúspěchu. Předpokládá se též negativní vliv kontinuálního chronického distressu (Koryntová D., 2002).

Idiopatické faktory

Úspěch terapie je závislý na individuálním přístupu a kvalitní interdisciplinární spolupráci jednotlivých specialistů. Důležitá je rovněž edukace a psychoterapeutická podpora obou partnerů.

Cílem diagnostické intervence je možnost predikce zvýšeného rizika SA u těhotných. Jejich preventivní opatření mohou přispět ke zkvalitnění a zefektivnění lékařské péče, snížení nákladů na péči spojenou s potrativší ženou a v neposlední řadě k psychické pohodě těhotných žen především v období I. trimestru.

2.6. Determinace SA - úloha genu pro APO E

2.6.1. Úvod

Embryonální vývoj je popisován jako složitý komplexní proces, do nějž zasahuje řada genetických i negenetických faktorů. Tyto faktory mohou ovlivnit následující průběh embryonálního/fetálního vývoje a potenciálně vyústit v jeho poruchu, či úplnou zástavu. Za jednu z hlavních determinant je považován právě genetický faktor, jež je typickou determinantou především pro období časně gravidity. Zhang et al. označili genetický faktor jako nejdůležitější pro další osud gravidity. Ve své práci uvádí, že za etiologií SA stojí chromozomální anomálie až v 60 % případů, přičemž v 90 % z nich se jedná o strukturální a v 10 % o numerickou chromozomální anomálii (Zhang Y. X., 2009). Podobně Garcia-Enguidanos et al. vnímají parentální balancovanou translokaci a anatomický děložní faktor za determinující pro další vývoj gravidity (Garcia-Enguidanos A., 2002).

2.6.2. Charakteristika genu kódujícího APO E

Gen kódující apolipoprotein E (APO E) se skládá ze 4 exonů a 3 intronů. Je lokalizován na dlouhém raménku 19. chromozomu- 19q13.2 (Bianca S., 2010). Jedná se o polymorfní glykoprotein obsahující 299 aminokyselin s molekulovou hmotností 34 200 Da. Primárně souvisí tento krátký protein s lipidovým metabolismem, podílí se na transportu a redistribuci lipidů mezi tkáněmi. Působí dále jako imunomodulátor a regulátor buněčného růstu a diferenciaci. Inhibuje mitogeny indukovanou proliferaci T-lymfocytů a moduluje diferenciaci buněk hladké svaloviny. Majoritní část jeho plazmatické koncentrace (75 %) je syntetizována jaterní tkání a včleněna do lipoproteinových struktur (vysokodenzitní lipoprotein- LDL, nízkodenzitní lipoprotein- HDL a chylomikronů). Minoritně (25 %) je syntetizován v plicích, ovariích, slezině, ledvinách, nadledvinách, myocytech, astrocytech a mikroglíích.

2.6.3. APO E izoformy

APO existuje ve 3 polymorfních izoformách kódovaných odlišnými alelami - epsilon 2 (E2), epsilon 3 (E3) a epsilon 4 (E4), jež jsou produktem tří nezávislých alel na tomtéž genovém lokusu. Jednotlivé izoformy se liší záměnou cysteinu (Cys) a argininu (Arg) v pozicích 112 a 158 peptidického řetězce.

- APO E2 (Cys 112, Cys 158) má v obou pozicích cystein. Vykazuje vazbu na beta-amyloidní protein, ne však na LDL receptor.
- APO E3 (Cys 112, Arg 158) má cystein v pozici 112 a arginin v pozici 158. Váže se na beta-amyloidní protein i na LDL receptor .
- APO E4 (Arg 112, Arg 158) má arginin v pozici 112 i 158. Afinity APO E4 k beta amyloidnímu proteinu, je při porovnání se dvěma zbylými izoformami APO E2 a E3, nejvyšší.

Bylo nalezeno celkem 6 fenotypových variant (E2/E2, E2/E3, E2/E4, E3/E3, E3/E4 a E4/E4) vznikajících z 3 běžných alel tohoto genového lokusu, jež jsou předmětem zájmu řady studií. V závislosti na strukturální rozmanitosti jsou odlišné fyziologické konsekvence. Alely E2, E3 a E4 tvoří společný polymorfismus nalezený ve většině populací. Nejvyšší prevalenci, více než 60 %, má v běžné populaci alela E3 (Eichner J. E., 2002).

Polymorfismus APO E má funkční vliv na metabolismus lipoproteinů. APO E je primární ligand na tzv. B/E receptor (LDL receptor situovaný např. v jaterní a dalších tkáních) a na tzv. APO E specifický receptor v játrech. Koordinací interakcí těchto lipoproteinových komplexů s příslušnými receptory tvoří základ pro regulaci

metabolismu cholesterolu. Alelické variace APO E jsou trvale spojeny s plazmatickými koncentracemi celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a tzv. APO B, hlavním proteinem LDL, VLDL a chylomikronů. APO E gen byl zkoumán v řadě patologických stavů spojených např. s elevací hladin cholesterolu, akutním infarktem myokardu, cévní mozkové příhodě, diabetu.

2.6.4. APO E v klinických studiích

Je popsána řada asociací genotypu APO E s kardiovaskulárním systémem (Eichner J. E., 2002). Alelické variace na strukturálním lokusu genu APO E vykazují vliv na koncentraci celkového a LDL cholesterolu. APO E2 alela je spojena s nižší hladinou LDL cholesterolu a alela APO E4 naopak s vyšší hladinou LDL cholesterolu (Garcia Enguidanos A., 2002). Dále byla řešena role APO E v asociaci s Alzheimerovou nemocí (Cedazo-Minguez A., 2007), Parkinsonovým syndromem (Li Y. J., 2004), renálním selháním (Hubáček J. A., 2009) atd.

V souvislosti s vývojem výše zmíněných patologií byla pozorována statistická souvislost genové alely APO E4 ve vazbě na věk jako jedna z možných determinant (Stakias N., 2006). Ve studii Cauley et al. publikovali, že v populaci pravděpodobně dochází k selekci jedinců s APO E4 alelou, kdy prevalence APO E4 v kohortě 870 žen ve věku 65 - 90 let byla signifikantně nižší ($P = 0.005$) než v kohortě 473 žen ve věku 42 - 50 let (Cauley J. A., 1993). Navzdory publikované převážně negativní roli alely APO E4 ve zmiňovaných nedědičných analyzovaných patologiích se prevalence APO E4 v populaci pohybuje stále relativně vysoko v rozmezí 2 % (Panza F., 1999) – 36.8 % (Kamboh M. I., 1990) v závislosti na konkrétní populaci. Na podkladě několika málo studií, které publikovaly možný benefit přítomnosti alely APO E4, jako např. (Keltikangas-Järvinen L., 1993), nelze však spolehlivě vysvětlit, proč je prevalence alely E4 v populaci stále tak vysoká (Stakias N., 2006).

Vlivu alely APO E na prenatální období se v předešlé době nevěnovalo tolik pozornosti. Byla diskutována role APO E v nervové soustavě a zveřejněna hypotéza role APO E ve vývoji mozkového kmene v embryonálním období. Zetterberg et al., kteří zkoumali prevalenci APO E4 polymorfismu u 81 spontánně potracených embryí/fétu, potvrdili signifikantně nižší prevalenci izoformy APO E4 a současně signifikantně vyšší prevalenci APO E3 izoformy ve sledovaném souboru ve srovnání s kontrolní skupinou dospělé populace. Závěrem bylo hodnocení přítomné embryonální/fetální APO E4 alely jako potenciálního protektivního faktoru SA ($P = 0.009$) a APO E3 jako potenciálního rizikového ($P = 0.005$) faktoru SA v průběhu embryogeneze (Zetterberg H., 2002). Jedna z diskutovaných možností, proč je prevalence alely APO E4 v populaci stále tak

vysoká, je možná asociace alely E4 a doposud nerozpoznaného faktoru v průběhu prenatálního vývoje, jež by mohl fungovat jako protektivní činitel v průběhu ontogeneze (Zetterberg H., 2002).

2.7. Determinace SA - význam vybraných trombofilních stavů

Prevalence SA je v literatuře obvykle uváděna okolo 15 - 20 % z všech klinicky verifikovaných těhotenství. Etiologické spektrum kauzálních příčin časného SA je široké a pestré. Další z možností jsou právě hereditární trombofilní stavy.

Adekvátní placentace a suficientní placentární cirkulace závisí na rovnováze mezi faktory prokoagulačními a antikoagulačními. Hereditární trombofilie představují skupinu geneticky determinovaných koagulopatií, jež svou přítomností mohou tuto rovnováhu narušit a přispět k formování trombu v uteroplacentárním či intervillózním prostoru (Brenner B., 2003) (Murphy R. P., 2000). Etiologicky se tak mohou v časné graviditě podílet na časném SA, či následovně na pozdních těhotenských komplikacích typu pozdní SA, intrauterinní růstové restrikci (IUGR), HELLP syndromu, preeklampsii, abrupci placenty či intrauterinní smrti plodu (IUFD) (Brenner B., 2003). Patogenetický mechanismus účinku spočívá v tvorbě fibrinových depozit, hypoxických změnách v endotelu a trofoblastu, trombózách v uteroplacentárním cévním řečišti (Hudeček R., 2009).

Prevalence trombózy v jakékoliv její klinické variantě u nositelek jednotlivých hereditárních trombofilních mutací je velmi variabilní v závislosti na konkrétním typu trombofilie a na přítomnosti dalších rizikových faktorů, jež trombofilie dále potencují. Hereditární trombofilie se vyskytují v české populaci s minimální prevalencí 5 – 8 %. Navzájem se liší zejména svou prevalencí a mírou pohotovosti k rozvoji venózní trombembolické nemoci (VTE). Nejčastěji se jedná o FVL (2 – 5 %) a PT G20210A (1 – 2 %) v heterozygotních konstitucích, pro něž je typická vyšší prevalence při současně nižší trombofilnosti, tj. pohotovosti ke vzniku VTE (Dulíček P., 2002).

Řada z nositelek hereditární trombofilie žádné klinické obtíže neměla a mít nebude, naopak jiné klinicky manifestují velmi časně a bouřlivě (Said J.M., 2010). Tato skutečnost podporuje tezi multifaktoriální patogeneze VTE a vzájemnou interakci jejich jednotlivých rizikových faktorů (Matýšková M., 2009). Možnost predikce a prevence trombogenních porodnických komplikací zůstává často limitovaná. Terapie je individuální v závislosti na závažnosti konkrétního typu trombofilie, klinickém průběhu, aktuálních výsledcích laboratorních vyšetření a anamnéze dotyčné ženy.

2.7.1. Principy hemostázy

Základním obecným principem hemostatických mechanismů je udržení dynamického „stavu“ fluidokoagulační rovnováhy pomocí enzymatických kaskád a jejich inhibitorů, cévní stěny a celulární části krve.

Enzymatické kaskády zahrnují systém koagulačních faktorů (F) s kofaktory (kF) a inhibitory koagulace, systém fibrinolytický a jeho inhibitory, systém rekalkrenkininogenový a systém komplementu. Klinicky nejvýznamnější jsou první dva zmiňované systémy. Dojde-li k narušení integrity systému fluidokoagulační rovnováhy, nastupuje primární hemostáza, jíž následuje sekundární hemostáza a fibrinolýza.

Endotel cév zajišťuje nesmáčivý cévní povrch, selektivní propustnost pro molekuly i proteiny z intraluminárního do extraluminárního prostoru, podílí se na regulaci vazomotoriky a funkci trombocytů v procesu hemostázy. V endotelu probíhá také cyklus kyseliny arachidonové, výsledkem je syntéza substancí způsobující změnu průsvitu cévního lumen (prostacyklin, oxid dusnatý), blokující agregaci trombocytů (prostacyklin, enzymy metabolizující ADP na AMP), aktivující protein C (tromomodulin), aktivující nebo inhibující fibrinolýzu (t-PA, PAI-1, u-PA) a potencující účinek antitrombinu a trombomodulinu (heparansulfát). Primární hemostáza vede k tvorbě tzv. primární (fibrinové) hemostatické zátky, účastní se jí přímo endotel a trombocyty. Obnažení kolagenových vláken subendotelu vlivem insultu vede k adhezi trombocytů prostřednictvím glykoproteinových (GP) receptorů za účasti adhezivních proteinů - např. von Willebrandův faktor (vWF) a fibronektinu. Adheze trombocytů k poškozené stěně endotelu vede ke změně tvaru trombocytů (tzv. flip flop fenomén) a aktivaci GP receptorů, jež způsobí aktivaci trombocytů. Proces aktivace trombocytů je doprovázen uvolněním proagregačních substancí typu tromboxan A₂ (TXA₂), adenosindifosfát (ADP), fibrinogen atd. (Šlechtová J., 2007)

Plazmatický koagulační systém představuje procesy vedoucí ke vzniku nerozpustného fibrinu. Působením trombinu (FIIa) dochází ke štěpení fibrinogenu, po odštěpení fibrinopeptidů A a B vznikne fibrin monomer, který v přítomnosti FXIIIa dává vzniknout nerozpustnému fibrinu. Koagulační faktory s výjimkou tkáňového faktoru, jsou přítomny v plazmě v inaktivní formě jako proenzymy (zymogeny). Výjimkou je FVII, který je fyziologicky v minimálním množství přítomen v plazmě v aktivní formě F VIIa. Faktory II, VII, IX, X, XI, XII a prekalikrein patří mezi serinové proteázy. Jiné faktory se po rozštěpení podílí na tvorbě aktivních komplexů (např. vnitřní tenáza, protrombináza) a chovají se jako kofaktory (F VIII, F V, kininogen-HMWK). Fibrinogen je substrátem pro trombin. Mezi serinové proteázy patří i faktory z oblasti fibrinolýzy (plazminogen, t-PA, u-PA) a faktory z oblasti serpinů (inhibitory serinových proteáz) - protein C. Faktory II,

VII, IX, X, protein C a jeho kofaktor protein S jsou vitamin K dependentní (Šlechtová J., 2007).

Plazmatický koagulační systém se aktivuje při kontaktu s tkáňovým faktorem (TF), jež je suprimován subendotelovými buňkami (v cirkulující krvi je zdrojem TF monocyt).

Primární systém aktivace je aktivován po vazbě FVIIa a TF. Vytvořený komplex za účasti PI a Ca²⁺ (FVIIa-TF-PI-Ca²⁺, „vnější tenáza“) změní inaktivní FX na FXa. FXa vstupuje s kofaktorem FV a trombocytárními FL a Ca²⁺ do komplexu protrombinázy (FXa-FVa-PI-Ca²⁺). Protrombináza katalyzuje konverzi malého množství protrombinu na trombin, ten zpětně aktivuje koagulační F XI, F IX, kofaktor VIII, FV a trombocyty (nemá ale schopnost rozštěpit dostatečně množství fibrinogenu). Jedná o tzv. iniciaci. Souběžně se vznikem vnější tenázy a protrombinázy aktivuje inhibitor tkáňového faktoru (TFPI). Jakmile dojde k navázání TFPI na TF, je vnější cesta koagulace zablokována, probíhá pak akcesorně pouze vnitřní cestou koagulace ve fázi amplifikace a propagace (Šlechtová J., 2007).

Přídavný systém aktivace koagulace je spuštěn pomocí zpětných mechanismů. Malým množstvím trombinu vzniklým vnější cestou se aktivuje F IX, F XI, kofaktor F VIII a F V. FXa a FVIIIa vytvoří s FL a Ca²⁺ tetramerní komplex (FIXa-FVIIIa-PI-Ca²⁺) tzv. vnitřní tenázu. Vnitřní tenáza potencuje vznik dostatečného množství FXa. FXa a FV konvertuje v komplexu protrombinázy (FXa-FVa-PI-Ca²⁺) dostatečné množství protrombinu na trombin. Trombin poté katalyzuje konverzi fibrinogenu na fibrinové monomery. Ty jsou stabilizovány trombinem aktivovaným FXIIIa (fibrin stabilizující faktor) za vzniku nerozpustného fibrinového koagula (Šlechtová J., 2007).

Oba systémy hemokoagulace působí společně, pro iniciaci koagulace je nezbytná vnější tenáza. Vnitřní tenáza je nezbytná pro amplifikaci. Iniciace běží na povrchu monocytů, amplifikace a propagace na trombocytech. Průběh koagulačních reakcí nelze vnímat jako přísně kaskádovitý, dochází totiž k celé řadě zpětných vazeb.

inhibuje vnější tenázu (zablokuje aktivitu tkáňového faktoru). TFPI má schopnost vazby na cholesterol a přispívá tak rovněž k procesu aterosklerózy. Trombin (FIIa) se váže na transmembránový GP trombomodulin (TM). Vzniká komplex (FIIa-TM) s koagulačně neaktivním trombinem. Komplex FIIa-TM aktivuje protein C na aktivovaný protein C (APC). APC posléze má schopnost inhibice FVIIIa a Va, tím se inhibuje vnitřní tenáza a protrombináza, potažmo generace trombinu. Účinnost C proteinu potencuje protein S. APC vykazuje koagulačně inhibiční i profibrinolytickou aktivitu. APC zvyšuje uvolňování tkáňového aktivátoru plazminogenu (t-PA) z vazby na inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1) za tvorby komplexu (APC-PAI-1). AT inhibuje trombin, vyvazuje serinové proteázy, rychlost vzniku těchto komplexů je potencována heparinem. Vazba AT-heparin je reversibilní. Dojde-li současně k vazbě trombinu a AT na 1 molekulu heparinu, dojde k inaktivaci trombinu a tím zvyšuje účinnost AT až 1 000x. Molekuly heparinu kratší než 18 monosacharidových jednotek FIIa neinhibují, vykazují však anti-Xa aktivitu, což je principem působení LMWH. Při přítomnosti volného trombinu, vzniká komplex FIIa-AT, pod názvem TAT. TAT komplexu chybí koagulační aktivita trombinu i inhibiční aktivita AT. Je známkou hyperkoagulačního stavu. HCII inhibuje trombin (Šlechtová J., 2007).

Přirozené inhibitory fibrinolytického systému jsou inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1,2,3), alfa-2-antiplazmin a trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy (TAFI). PAI a alfa-2-antiplazmin patří mezi serpiny s významem lokalizace fibrinolýzy na místo fibrinového koagula, kde zabrání šíření fibrinolytických procesů do okolí. TAFI patří mezi metalokarboxypeptidázy, je důležitý pro prokoagulační, inhibiční a fibrinolytický systém. Aktivace TAFI je závislá na komplexu (TM-FIIa). Nízká hladina trombomodulinu vede k jeho aktivaci rovněž. TAFI snižuje hydrolytickým štěpením v koncových oblastech fibrinu počet vazebných míst pro plazminogen a t-PA. Při štěpení fibrinogenu a rozpustného fibrinu vznikají vysokomolekulární (X,Y) a nízkomolekulární (D,E) fragmenty. X a Y tvoří s monomery fibrinu rozpustné komplexy, čímž brání vzniku nerozpustné fibrinové sítě. Také brání agregaci trombocytů vazbou na GP receptory IIb/IIIa. Při degradaci nerozpustného fibrinu plazminem probíhá podobně, vznikají X a Y fragmenty, které se od sebe neoddělují, mluvíme o tzv. D-dimerech. D-dimer je jasným laboratorním markerem trombofilního stavu (Šlechtová J., 2007).

Získané inhibitory koagulace jsou vždy patologické. Patří sem APA. Antifosfolipidové protilátky, jakožto heterogenní protilátky nejčastěji třídy IgM a IgG, reagují s fosfolipidy (FL) nebo fosfolipoproteinovými (FLP) komplexy, v nichž se protein uplatňuje jako kofaktor např. i protein C, protein S, HMWK, FX. Vazba

antifosfolipidových protilátek na FL či FLP komplexy zablokuje vznik koagulačně nebo inhibičně aktivních komplexů, proto klinický projev může být prokoagulační i antikoagulační. APA je spojena s trombocytopenií, recidivujícími venózními i arteriálními trombózami, habituálním potracením formou autoimunitního typu APA protilátek. Aloimunitní forma je typická pro maligní a infekční onemocnění. V laboratorním nálezu je v přítomnosti APA typická patologie aPTT (Šlechtová J., 2007).

2.7.2. Hemostáza v graviditě

Flebotrombóza je jednou z nejzávažnějších komplikací gravidity a časného puerperia. Složitý hemostatický a fibrinolytický systém je těhotenstvím ovlivněn prokoagulačně, což potencuje význam hereditárních koagulopatií v etiopatogenezi již zmiňovaných těhotenských komplikací. V těhotenství se vyskytují všechny 3 složky Virchovy triády. Výsledkem je až šestinásobně vyšší riziko vzniku VTE u těhotných žen a žen po porodu vzhledem k ženám netěhotným (Binder T., 2002). Žilní trombembolická příhoda postihuje 1 z 1000 těhotných a dle Poula je nejčastější příčinou úmrtí v graviditě (Poul H., 2006). Riziko vzniku VTE u gravidních je 4-6x vyšší než u netěhotných věkově srovnatelných žen. Výskyt trombozy je srovnatelný ve všech trimestrech, vyšší je v období časného šestinedělí (Dulíček P., 2006).

Gravidita zvyšuje riziko venózního trombembolismu (VTE) nejen vlastním zpomalením krevního toku vlivem tlaku zvětšující se dělohy na pánevní žíly, ale i hyperkoagulací vyvolanou hormonálními změnami v těhotenství, uvolňováním faktorů ovlivňujících koagulační i fibrinolytický systém a v neposlední řadě aktivací endotelových buněk. A právě pochody doprovázející růst trofoblastu a placentární invazi významným způsobem ovlivňují aktivitu endotelových buněk. Vlivem hormonálních změn během gravidity se mění hladiny koagulačních faktorů i inhibitorů. Výsledkem je hyperkoagulační stav kulminující těsně před porodem. Dochází ke zvýšení hladin některých koagulačních faktorů (fibrinogen, FVIII, FIX), poklesu inhibitorů (protein S, individuálně i mírně AT) získanou rezistencí na aktivovaný protein C (APC-R) a snížení fibrinolytického potenciálu (pokles tPA, zvýšení PAI-I, PAI-II) (Dulíček P., 2006). K dramatickým koagulačním změnám dochází bezprostředně po porodu, klesá hladina F XII, prekalkreinu, kininogenu a stoupají markery trombocytární a koagulační aktivace. Normalizace fibrinolytické aktivity probíhá v horizontu hodin po porodu vlivem snížené hladiny PAI-2 po porodu placenty. Návrat koagulačních faktorů do stavu před těhotenstvím nastává v horizontu několika dnů od porodu.

Riziko VTE stoupá v přítomnosti hereditární trombofilie (v závislosti na jejím konkrétním typu) a přítomnosti dalších rizikových faktorů typu věk na 35 let, obezita, imobilizace, varixů (Dulíček P., 2006).

2.7.3. Trombofilní stavy

Trombofilie je definována jako vrozený, nebo získaný defekt hemostázy, který je s největší pravděpodobností příčinou zvýšeného sklonu k trombóze (Walker I. D., 2001). Některými autory je definice trombofilie podmíněna klinickou manifestací venózního trombembolismu (VTE). Jedná-li se o situaci, kdy je vyjádřen pouze laboratorní nález trombofilního defektu, bývá někdy tento stav označován za hyperkoagulační (Matýšková M., 2009). S výhodou se tedy v praxi zdá využití právě klinické definice trombofilie, protože současně identifikuje osoby vhodné k dovyšetření. Trombofilie lze na základě etiopatogeneze rozdělit na vrozené, získané a smíšené.

Klinická definice trombofilie (Matýšková M., 2009):

- trombózy v mladším věku
- žilní: před 45. rokem věku
- arteriální: před 35. rokem života
- trombózy arteriální i žilní
- recidivující trombózy
- atypická lokalizace trombóz
- pozitivní RA
- opakované těhotenské ztráty, placentární komplikace v graviditě

Osoby s vysokou pravděpodobností záchytu trombofilie (Kessler P., 2006):

- idiopatická VTE před 45. rokem
- recidivující VTE
- trombóza v neobvyklé lokalizaci (tj. mimo venózní systém DK a pánve)
- arteriální trombóza před 35. rokem
- VTE a pozitivní RA
- trombofilie u osob v I. příbuzenské linii
- VTE vzniklá při antikoagulační terapii

Osoby se střední pravděpodobností záchytu trombofilie (Kessler P., 2006):

- VTE nesplňující kritéria vysoké pravděpodobnosti
- přímí příbuzní osob s prodělanou VTE
- přímí příbuzní osob s vysokou pravděpodobností záchytu trombofilie

Formy klinické manifestace VTE

Nejčastější klinickou manifestací trombofilních stavů je VTE ve formě hluboké žilní trombózy (DVT) nebo plicní embolie (PE). Podstatou VTE je dysbalance mezi prokoagulačními, antikoagulačními a fibrinolytickými systémy. Vznik VTE je multifaktoriálním procesem s podílem dočasných získaných či zevních faktorů podmíněných rizik a hereditárních determinant.

Druhou možnou variantou klinické manifestace může být arteriální trombóza. V patogenezi arteriální trombózy dominuje aterosklerotické postižení, uplatňují se zde pouze některé trombofilní stavy (Kessler P., 2006).

Třetí klinická varianta je typická pro období těhotenství. Adekvátní placentace a suficientní placentární cirkulace závisí na rovnováze mezi faktory prokoagulačními a antikoagulačními. Hereditární trombofilie představují skupinu geneticky determinovaných koagulopatií, jež svou přítomností mohou tuto rovnováhu narušit a přispět k formování trombu v uteroplacentárním či intervilózním prostoru (Brenner B., 2003) (Murphy R. P., 2000). Etiologicky se tak mohou hereditární trombofilie v časně graviditě podílet na časném SA, či následovně na pozdních těhotenských komplikacích typu pozdní SA, intrauterinní růstové restrikci (IUGR), HELLP syndromu, preeklampsii, abrupci placenty či intrauterinní smrti plodu (IUFD) (Brenner B., 2003). Patogenetický mechanismus účinku spočívá v tvorbě fibrinových depozit, hypoxických změnách v endotelu a trofoplastu, trombózách v uteroplacentárním cévním řečišti (Hudeček R., 2009).

Rizikové faktory VTE

Existuje mnoho faktorů, jež se vyskytují častěji u osob s VTE, a jsou proto označovány jako tzv. rizikové (RF). Při jejich identifikaci se lze opětovně řídit principem Virchowovy triády (Matýšková M., 2009). Riziko VTE je vnímáno jako dynamický proces daný vnějšími získanými riziky během života v terénu vrozených trombofilních stavů (Karetová D., 2007). Za nejzávažnější rizikové faktory trombózy se považují homozygotní konstituce trombofilií a kombinace jednotlivých defektů (Matýšková M., 2009).

Obecné rizikové faktory („silné rizikové faktory“)

Obecné rizikové faktory zvyšují, každý sám o sobě, riziko VTE o 4 – 18 % (Greaves M., 2000). Patří mezi ně věk nad 45 let, obezita, imobilizace, operace, úraz, gravidita a šestinedělí, COC a HRT (Rosendaal F. R., 1999).

Silné RF VTE_(Poul H., 2006)

- věk
- obezita
- operace
- úrazy
- imobilizace delší než 3 dny
- malignita,
- sepse
- trauma
- kardiální či repirační insuficience
- chemoterapeutické režimy s vysokými dávkami kortikoidů

Ostatní rizikové faktory:

Dále existuje řada klinických stavů, jež jsou statisticky častěji doprovázeny DVT, mezi ně se řadí např. autoimunitní onemocnění (morbus Crohn, systémový lupus erytematodes), endokrinopatie (DM, morbus Cushing), myeloproliferativní syndrom, poruchy koagulace a fibrinolýzy, abnormality cévní stěny a reologie, neurologické poruchy doprovázené poruchami hybnosti, hepatopatie atd. Dále např. jedinci s krevní skupinou A, B, AB mají 2x vyšší riziko trombózy ve srovnání s KS 0, tento fenomén byl pozorován rovněž u arteriálních trombóz (Jick H., 1969).

Ostatní RF VTE (Poul H., 2006):

- sádrová fixace dolní končetiny
- imobilizace do 3 dnů
- let trvající déle než 6 hodin
- dlouhodobě zavedený centrální žilní katétr
- gravidita a šestinedělí
- COC terapie
- estrogenní terapie
- terapie antiestrogeny
- kortikoidní terapie

Hereditární trombofilie

Prevalence trombózy v jakékoliv její klinické variantě u nositelek jednotlivých hereditárních trombofilních mutací je velmi variabilní v závislosti na konkrétním typu trombofilie a na přítomnosti dalších rizikových faktorů, jež danou trombofilii dále potencují (Dulíček P., 2005).

Hereditární trombofilie se vyskytují v české populaci s minimální prevalencí 5 – 8 %. Jednotlivé hereditární trombofilní stavy se navzájem liší zejména svou prevalencí a mírou pohotovosti k rozvoji VTE (Dulíček P., 2012). Lze je rozdělit do dvou základních skupin.

První skupinu tvoří trombofilie podmíněné deficitem vrozených inhibitorů koagulace. Jejich prevalence je ve srovnání s druhou skupinou nižší při současně vyšší trombofilnosti, tj. pohotovosti k rozvoji VTE. Do první skupiny patří deficit AT popsáný v roce 1965 Egebergem (Egeberg O., 1965), deficit proteinu C publikovaný poprvé Griffinem (Griffin J. H, 1981) a deficit proteinu S popsáný v roce 1984 Schwarzem (Schwarz H. P., 1984) a Compem (Comp P. C., 1984).

Deficit AT

AT je nejsilnější inhibitor trombinu a inhibitor FIXa, FXa, FXIa, FXIIa a komplexu TF-F VIIa. Je syntetizován v játrech s biologickým poločasem 48 hodin. Prevalence této poruchy v populaci je udávána mezi 1 : 2 000 – 1 : 5 000. Relativní riziko VTE u nositele této mutace je 25 - 50x vyšší než u jedince bez trombofilního stavu (Rosendaal F. R., 1995).

Deficit proteinu C

Jedná se o K1 vitamin dependentní inhibitor syntetizovaný v játrech s biologickým poločasem rozpadu 5 - 7 hodin. Protein C je aktivován komplexem trombinu s trombomodulinem na povrchu endotelu. Aktivovaný protein C vede k selektivní proteolýze FVa a FVIIIa, je tak jedním z hlavních inhibitorů krevního srážení. Jeho prevalence v populaci se udává mezi 0.2 - 0.3 % (Miletich J. P., 1987). Riziko VTE u jedince s touto trombofilii je 10-15x vyšší oproti jedinci bez přítomnosti trombofilie (Rosendaal F. R., 1999).

Deficit proteinu S

Protein S je K1 vitamin dependentní protein sloužící jako kofaktor aktivovaného proteinu C při proteolýze FVa a FVIIIa. Je syntetizován v játrech a v menším množství i v endotelu. Jeho biologický čas je 48 hodin. V plasmě se vyskytuje ve volné frakci

přibližně v 40 % a vázaný v komplementu v 60 %. Prevalence není přesně známa (Dulíček P., 2005).

Deficity AT, proteinů C a S jsou diagnostikovány v 5 - 10 % všech nemocných s VTE (Malm J., 1992). V homozygotní konstituci mohou deficity proteinů C a S časně manifestovat formou neonatální purpuru fulminans (Lockwood C. J, 1999), později jako recidivující VTE. Mohou vyústit do warfarinem indukované kožní nekróze. Homozygotní forma deficitu AT 1. typu je neslučitelná se životem.

Druhou skupinu tvoří mutace faktoru V Leiden (FVL) a mutace protrombinu (PT G20210A). Jejich výskyt v populaci je naopak četný v závislosti na geografické distribuci (Dulíček P., 2005). Vedou k větší generaci trombinu a jsou řazeny mezi tzv. mírné rizikové faktory VTE. Jejich rizikovost stoupá v homozygotní konstituci, či koincidenci FVL s PT G20210A (Dulíček P., 2012).

FVL

Prevalence FVL je v ČR popisována mezi 2 - 5 % (Dulíček P., 2002).

PT G20210A

Mutace protrombinu je v české populaci uváděna s prevalencí okolo 1 – 2 % (Dulíček P., 2002).

Získané trombofilní stavy

Tzv. získané trombofilní stavy se v populaci vyskytují v podobě vysoké aktivity některých koagulačních faktorů (nejčastěji FVIII) či jako APA (antifosfolipidový syndrom).

- APA
- maligní nádory
- myeloproliferativí onemocnění
- sekundární trombocytóza
- autoimunitní onemocnění
- NYHA III a IV
- gravidita a šestinedělí
- estrogenní terapie
- nefrotický syndrom
- věk nad 60 let, obezita, kouření, varixy DK

Kombinované trombofilie

Hyperhomocysteinemie (hHc) je řazena k nehematologickým rizikovým faktorům VTE (Dangelo A., 1997). Homocystein (Hc) vzniká v organismu demethylací z esenciální aminokyseliny methioninu. K jeho transformaci jsou nezbytné kofaktory - vitamin B6 a B12, enzymy methionin syntetáza, gama-cystationáza, cystation-B-syntetáza (CBS), metyhel-n-tetrahydrofolát reduktáza (MTHFR) a donory metylových skupin 5-methylhydrofolát a betain (Vojáček J., 2004). Příčiny hyperhomocysteinemie mohou být vrozené či získané (Dangelo A., 1997). Z vrozených příčin se jedná o genové mutace vedoucí k defektům enzymů uplatňujících se v metabolismu homocysteinu. Nejčastější z nich je termolabilní varianta enzymu methylen-tetrahydrofolát-reduktázy - MTHFR C677T (Engbertsen A. M. T., 1995). Ze získaných příčin stojí v popředí nízký příjem vitamínů skupiny B - B6, B9, B12 (Rees M. M., 1993). Termolabilní MTHFR varianta podmíněná bodovou mutací C677T se v kavkazské populaci vyskytuje v heterozygotní variantě u více 40 % populace, v homozygotní variantě asi u 12 % (Penka M., 2009).

Zvýšení hladiny Hc není přítomno u všech heterozygotních jedinců, což ukazuje na další možnosti ovlivnění hladiny Hc. U získané formy HHc je nejčastější příčinou nedostatek vitamínů B6, B9 a B12 a dále léky interferující s metabolismem folátů (např. metotrexát, antikonvulziva), kobalaminu (oxid dusnatý), pyridoxinu (teofilin) a chronická renální nedostatečnost. Mezi pacienty s VTE do 45 let mělo 13 – 18 % středně závažnou hHc (Vojáček J., 2004).

Mechanismy, jimiž se hHc podílí na patogenezi aterogeneze či trombogeneze nejsou plně objasněny. Jako pravděpodobné se jeví poškození endotelu, proliferace buněk hladkého svalstva a ztlustění intimy (Penka M., 2009).

Mutací s nejvyšší prevalencí je MTHFR C677T, která se vyskytuje s frekvencí až 37 % v heterozygotní konstituci CT a u 12 % v homozygotní konstituci TT u bílé rasy (Karetová D., 2007). Mutace C677T v genu MTHFR vede k záměně alaninu za valin v poloze 222 proteinové sekvence enzymu MTHFR. Polymorfismus genu MTHFR C677T vede k termolabilitě, čímž snižuje aktivitu enzymu s možnou mírnou hyperhomocysteinemie.

Názory na rizikovost MTHFR C677T mutace se vyvíjely. Dříve byla považována jednoznačně za rizikový faktor VTE (Arruda V., 1997). Následující publikace rizikovost VTE u této poruchy vyvrátily (Salde A., 1997). Definitivní pochybnosti padly v práci Browna, který potvrdil, že MTHFR C677T bez současně zvýšené hladiny homocysteinu

není rizikovým faktorem pro VTE jak v heterozygotní, tak i v homozygotní konstituci (Brown K., 1998)

Dalším možným MTHFR polymorfismem je A1298C s prevalencí 10 - 20 %. Mutace A1298C genu MTHFR způsobuje substituci kyseliny glutamové za alanin v pozici 429 v proteinové sekvenci enzymu. Dědičnost v případě polymorfismů MTHFR je autozomálně recesivní. Na rozdíl od hHc se izolovaný polymorfismus MTHFR neukázal být rizikovým faktorem žilní ani arteriální trombózy. Je však otázkou, zda hyperhomocysteinemie není spíše následkem trombóz než její příčinou. Pro tuto možnost by svědčilo i to, že léčba vedoucí ke snížení hladiny homocysteinu nesnižuje riziko trombotické příhody (Karetová D., 2007).

Proto dle některých autorů analýza MTHFR by neměla být zahrnuta ve vyšetřovacím panelu na trombofilie (Matýšková M., 2009)

Pokud vyšetřovaná osoba prodělala žilní i arteriální trombózu, je dle Karetové et al. smysluplné stanovení hladiny Hc, i když má nejasný terapeutický dopad. Protože intervence následným podáním vitaminů skupiny B není podle výsledků dostupných studií opodstatněná (Karetová D., 2007).

- elevace hladiny FVIII familiárně podmíněná
 - asociace s krevní skupinou A, AB, B
 - protein akutní fáze
- hyperhomocysteinemie
 - MTHFR C677T, MTHFR A1298C
 - deficitem vitaminů B6, B9, B12
- hyperfibrinogenemie
- elevace hladin FIX

2.7.4. Vyšetřované hereditární trombofilní stavy

PT G20210A

V roce 1996 byl identifikován a popsán Poortem vrozený defekt s vyšší frekvencí u osob s TEN podmíněný mutací genu kódujícího koagulační FII. Jedná se o bodovou mutaci v 3' konci genu pro protrombin (20210G=A), jejíž podstatou je substituce glutaminu za arginin v pozici 20210. Dochází tak k poruše kontroly translace mRNA, jež vyústí ve zvýšenou syntézu protrombinu (Poort S. R., 1996). Laboratorně je

u části nositelů PT G20210A zastižena vyšší hladina protrombinu. Protrombin, vitamin K dependentní protein, jež je konvertován na trombin komplexem protrombinázy.

Prevalence této koagulopatie v české populaci je přibližně 1 – 2 %, u osob s VTE činí její frekvence 6 %. U gravidních žen s anamnézou TEN je udávaná prevalence v rozmezí 6 - 26 %. Riziko první ataky VTE je 2 - 3x vyšší oproti běžné populaci, riziko recidivy VTE až 6x vyšší (Penka M., 2009). Riziko není závislé na věku a pohlaví (Vojáček J., 2004). PT G20210A je rizikem nezávislým na přítomnosti FVL, jejich koincidence však zvyšuje riziko vzniku VTE (Karetová D., 2007). Vazba mezi mutací PT G20210A a arteriální trombózou nebyla prokázána (Penka M., 2009).

Mutace FVL (FV G1691A)

Dahlbäck et al. popsali v roce 1993 do té doby neznámý mechanismus vedoucí k vzniku VTE, jež je způsoben rezistencí na aktivovaný protein C (APC-R) (Dahlbäck B., 1997).

Aktivovaný protein C je klíčový enzym v systému proteinu C, do nějž patří trombomodulin, protein C, protein S, endoteliální receptor pro protein C (EPCR), FV a skupina inhibitorů APC. Systém proteinu C je řazen mezi přirozené antikoagulační mechanismy. Aktivovaný protein C způsobí proteolytickou inaktivaci FVa a FVIIIa. Ve většině případů je fenotypický nálezn APC-R způsoben bodovou mutací genu faktoru V (Arg506Gln) v exonu 10 (Bertina R. M., 1994). Její podstatou je zmíněná bodová mutace DNA na pozici 506, ta způsobí záměnu AMK Argininu za glutamin. Je nazývána Leidenskou mutací (FVL, F Q506). FV má u nositelů FVL normální prokoagulační aktivitu. Záměnou AMK v místě standardně rychlého štěpení aktivovaného FVa proteinem C je jeho štěpení zpomaleno. Především je tak postižena funkce FV jako kofaktoru aktivovaného proteinu C při štěpení FVIIIa komplexem FV-APC. To má za následek pokračující tvorbu trombinu spolu se zvýšeným rizikem trombózy (Penka M., 2009). Princip dědičnosti FVL je autozomálně dominantní (Svensson P. J., 1994).

Byly popsány další mutace, které mohou APC-R způsobit jako např. mutace FV Cambridge (G1091A) způsobující záměnu argininu za threonin v pozici 306 FV (Williamson D, 1998). Její výskyt je však sporadický (Penka M., 2009).

Získaná APC-R je typická např. pro období gravidity (Meinardi J.R., 1997), při užívání COC (Olivieri O., 1995), u nádorových onemocnění (Green D., 1997) , akutních zánětů (Mathonnet F., 1996), či v přítomnosti lupus antikoagulans (Dahlbäck B., 1997).

Nejspolehlivější diagnostickou metodou je molekulárně genetické vyšetření FV metodou PCR diagnostiky. PCR diagnostika však nezachytí APC-R získanou, tj.

nepodmíněnou FVL. Vlastní APC-R lze testovat pomocí nespecifického tzv. APC testu, který testuje schopnost aktivovaného proteinu C štěpit FV při aPTT testu (aktivovaný parciální tromboplastinový čas). Jeho specifita je udávána okolo 80 %. Normální APC test vylučuje přítomnost FVL. Pomocí APC testu lze odhalit APC-R způsobenou FVL i získanou variantu APC-R.

Prevalence FVL v české populaci se pohybuje v udávaném rozmezí 2 – 5 % (Dulíček P., 2002), u kavkazské rasy je obecně uváděna v rozmezí 3 - 15 %, u ostatních ras se vyskytuje spíše výjimečně (Vojáček J., 2004). Riziko VTE, první ataky i recidivy, zvyšuje přítomnost heterozygotní konstituce FVL 3 - 8x (Koster T., 1993). Přítomnost homozygotní konstituce zvyšuje riziko VTE přibližně 10x (Rosendaal F. R., 1995). APC-R získaná je provázena stejným rizikem VTE jako rezistence podmíněná FVL (De Visser M. C., 1999). Relativní riziko trombózy se zvyšuje s věkem (Vojáček J., 2004). FVL není rizikový faktor pro idiopatickou EP ani pro arteriální trombózu (Vojáček J., 2004). V graviditě u nositelek FVL riziko VTE stoupá (Dulíček P., 2005). TEN nejčastěji u FVL manifestuje v podobě žilních trombóz. Role FVL při vzniku arteriální trombózy byla též zkoumána a většina studií neprokázala tuto spojitost (Karetová D., 2007).

2.7.5. Maternální hereditární trombofilie v klinických studiích

I přes pokroky v oblasti výzkumu jednotlivých patofyziologických procesů zůstávají v oblasti porodnictví patologické stavy, jejichž podstata a poznání dosud nebyly kauzálně zcela objasněny. Asociace mezi hereditárními maternálními trombofilními stavy a porodnickými komplikacemi typu časný SA, pozdní SA, IUGR, HELLP syndrom, preeklampsie/eklampsie, abrupce placenty či IUFD jsou intenzivně řešeny posledních dvacet let. Histologické nálezy u některých pacientek s těmito těhotenskými komplikacemi potvrdily trombózy v placentě a navodily tak myšlenku, že dysbalance v hemokoagulaci se mohou etiologicky podílet v patogenezi výše popsaných těhotenských komplikací (Salafia C. M., 1995b). Tento fakt vzbudil velký zájem právě o problematiku hemokoagulace. Je třeba zmínit skutečnost, že doposud trombofilní mutace nebyly jednoznačně potvrzeny jako jediná kauzální příčina uvedených placentárních komplikací (Rodger M. A., 2008)

Řadou časných studií případů a kontrol byly potvrzeny asociace maternálních vrozených trombofilí u těhotenských komplikací typu recidivující SA (Younis J. S., 2000) (Grandone E., 1997), preeklampsie (Kupferminc M. J., 2000), IUGR (Martinelli P., 2001), abrupce placenty (Kupferminc M. J., 2000), IUFD (Preston F. E., 1996).

Ač byly později výsledky časných kontrolních případových studií některými autory mírněny a označeny za potenciálně zkreslující (Sibai, 2005) či tendenční (de

Vries JI, 2009), jejich síla spočívala v tom, že zkoumaly vztah mezi vrozenými maternálními trombofiliemi a časným, klinicky velmi těžkým nástupem porodnických komplikací.

Následovaly je pozdější studie případů a kontrol, jež zahrnovaly pacientky s klinicky mírnějšími formami a rovněž pozdějším nástupem komplikací. Velmi pravděpodobně právě to může být důvodem, proč výsledky předchozích časných kontrolních případových studií v této fázi a designu nepotvrdily (Infante-Rivard C., 2002). Validitu následných pozdějších studií případů a kontrol omezily i variální klinické definice vyšetřovaných stavů. Pro příklad: studie zkoumající vztah mezi SA a vrozenými trombofilními stavy mají variabilně definovány opakované těhotenské ztráty- jako dva a více časných SA (Younis J. S., 2000), Rai et al. jako tři a více časných SA (Rai R., 2001), nebo libovolný počet druhotrimestrálních SA (Raziel A., 2001). Podobně nebylo v některých z nich přísně specifikováno histopatologické vyšetření potraceného plodu vs. mrtvě porozeného plodu (IUFD) (Preston F. E., 1996). Významnou limitací těchto pozdějších studií mohla být i variace v etnické skladbě populace. Výsledky časných studií případů a kontrol potvrzující asociaci byly masivně publikovány, bez ohledu na právě probíhající meta-analýzy zkoumající možnou míru jejich zkreslení (Facco F., 2009) (Robertson L., 2006) (Lin J., 2005) (Alfirevic Z., 2002).

Jejich meta-analýzy, podobně jako samy časně studie případů a kontrol, zkoumají vztah mezi zděděnou trombofilní mutací a danou porodnickou komplikací s výsledným vyjádřením míry možné asociace. Jejich společným cílem je poskytnutí relevantních důkazů pro rozhodnutí o započítání vyšetření trombofilních mutací v oblasti porodnictví. Omezením řady meta - analýz byla heterogenita zahrnutých studií. Meta - analýzy, navazující na případové studie řešící míru asociace mezi vrozenou trombofilií a preeklampsií, došly k závěru, že míra asociace je variabilní v závislosti na době nástupu těhotenské komplikace- tzn. časně komplikace vykazovaly nejvyšší asociační vazbu (Lin J., 2005).

Rey et al. potvrdili ve své meta-analýze asociaci časných rekurentních SA a FVL (OR = 2.01 [95 % CI: 1.13 - 3.58]) a PT G20201A (OR = 2.05 [95 % CI: 1.18 - 3.54]). Pozdní izolovaný SA byl spojen s mutací FVL (OR = 3.26 [95 % CI: 1.82 - 5.83]) a PTG20201A (OR = 2.30 [95 % CI: 1.82 - 5.38]) (Rey E., 2003).

Případu asociace IUGR s vrozenou trombofilní mutací se věnovalo několik metaanalýz studií případů a kontrol (Robertson L., 2006) (Facco F., 2009). Facco et al. publikovali nízké OR v případě relace FVL (OR = 1.23 [95 % CI: 1.04 - 1.44]) a IUGR (Facco F., 2009). V meta -analýzách další průzkum zkoumaných dat potvrdil publikační

zkreslení z kontrolních případových studií v podobě signifikantního OR z časných 6 studií před rokem 2004 (OR = 2.04 [95 % CI: 1.05 – 3.96]), zatímco 8 publikací v letech 2004-2008 vyhodnotilo OR jako nesignifikantní (OR = 1.19 [95 % CI: 0.02 – 2.39]) (Facco F., 2009).

Potencionální kauzalitu řeší prospektivní kohortové studie. Jsou závislé na dostatečném počtu vyšetřovaných osob před nástupem patologického stavu. Z toho důvodu jsou náročné časově i finančně. Jejich specifickou výhodou bylo relativně krátké pozorovací období gravidity a vysoká compliance těhotných žen. Prospektivní kohortové studie řešící asociaci mezi FVL a preeklampsii, abrupcí placenty, IUGR a IUFD statisticky signifikantní riziko nepotvrdily (Clark P., 2008) (Dizon-Townson D., 2005) (Linguist P. G., 1999). Podobně Dudding et al. vyšetřovali možnou souvislost FVL a PT G20201A ve vztahu k rozvoji IUGR a preeklampsie, ani u jedné mutace signifikantní kauzalitu neprokázali (Dudding T., 2008). Salomon et al. zkoumali možnou kauzalitu FVL, PT G20210A a MTHFR C677T s těhotenskými placentárními trombotickými poruchami, signifikantní korelaci podobně nepotvrdili (Salomon O., 2004). Silver et al. žádnou asociaci PT G20210A a abrupce placenty ve své práci neprokázali (Silver R. M., 2010).

Na rozdíl od těchto autorských kolektivů Karakantza et al. uveřejnili asociaci mezi FVL a MTHFR C677T a abrupcí placenty (Karakantza M., 2008). Said et al. potvrdili asociaci mezi FVL a IUFD (OR = 8.85 [95 % CI: 1.60 – 48.92]), PTG20201A a abrupcí placenty (OR = 12.15 [95 % CI: 2.45-60.39]) (Said J. M., 2010b).

Zásadní klinické zjištění všech prospektivních kohortových studií je fakt, že jedinci s vrozenou trombofilní mutací mohou mít zcela nekomplikované těhotenství (Rodger M. A., 2008) (Said J. M., 2010b). Dle Said et al. absence asociace trombofilie a těhotenských placentárních trombotických poruch v mnoha prospektivních kohortových studiích může být způsobena rovněž selháním testu pro širší škálu známých trombofilií, jejich koincidencí, málo trombogenními či zcela neznámými trombofiliemi (Said J. M., 2010b).

Meta - analýza prospektivních kohortových studií z roku 2010 publikovaná skupinou Rodger et al. zahrnovala 10 studií čítajících celkem 21 883 žen. Ve svých závěrech nezaznamenala však statisticky významné zvýšení rizika preeklampsie u nositelek FVL (OR = 1.23 [95 % CI: 0.89 - 1.70]) (Rodger M. A., 2008).

Stejně zjištění uveřejnila u žen s přítomnou PTG20201A (OR = 1.25 [95 % CI: 0.79-1.99]) v metaanalýze 6 prospektivních kohortových studií o počtu 14254 žen (Rodger M. A., 2008). Podobně nevýznamné závěry zveřejnili u PTG20201A a FVL ve

vztahu k riziku abrupce placenty. Jediným statisticky významným závěrem bylo signifikantní potvrzení rizika FVL a SA (Rodger M. A., 2008). Důležité je zde znovu připomenout jistou benevolentní heterogenitu definic SA v zavzatých studiích zahrnující mnohdy i diagnózu IUFD.

Interakce vrozené trombofilie a „vnímavého“ jedince může vyústit v akcentaci patologických procesů vedoucích ke stavům typu preeklampsie, IUGR u „akcentovaných vnímavých“ jedinců eskalujících časnějším a bouřlivějším nástupem nemoci. Tuto tezi, zdá se, podporuje i rozpor mezi výsledky časných studií případů a kontrol a prospektivních kohortových studií. Alternativou podporovanou výsledky studií případů a kontrol může být, že dosud nezjištěné trombofilie mohou mít za následek kumulaci účinku určující klinickou míru onemocnění. Stěžejním znakem asociace mezi hereditární trombofilii a komplikacemi v těhotenství publikovaný v prospektivních kohortových studiích je nedostatek specifity jednotlivé trombofilie a specifické komplikace.

2.7.6. Fetální trombofilie

Je velmi pravděpodobné, že fetální trombofilní status může být stěžejní prediktor nepříznivého průběhu gravidity, trombotické fetální vaskulopatie a placentárních lézí.

Pro fetální oběh je typický obraz tzv. trombotické vaskulopatie plodu (TVP), jež zahrnuje např. hemoragickou endovaskulitidu, obliterující endarteritidu, fibromuskulární sklerotizaci či fibrinoidní vaskulopatii. Tyto histologické obrazy vyústí v nález ostře ohraničených trojúhelníkovitých ložisek s trombotizovanou cévou, tzv. avaskulárních klků. Nález TVP bývá často spojován s přítomností trombofilních stavů plodu a vážnými klinickými důsledky (Procházka M., 2004). Redline et al. potvrdili statistickou významnou závislost mezi IUGR a asfyxií plodu s výskytem avaskulárních klků (Redline R. W., 1995). Kraus et al. popsali vyšší prevalenci postižení CNS u dětí s prokázanou trombotizací fetální části oběhu na podkladě trombofilie (Kraus F. T., 1999).

Trombotizace intervilózního prostoru je častým mikroskopickým nálezem trombů složených z elementů maternálních i fetálních. Často je nalézán zmnožený perivilózní fibrinoid bez většího klinického významu. Je-li přítomen v okolí klků při bazální ploténce, jedná se o tzv. infarzaci mateřského lůžka vs. na podkladě zvýšené apoptózy trofoblastických buněk (Procházka M., 2004).

U FVL a PT G20201A platí autozomální dědičnost (Svensson P. J., 1994). Tato skutečnost by teoreticky mohla objasnit, proč ne všechna těhotenství jsou přítomností maternální trombofilní mutace ovlivněna. Placentární trombofilní tendence mohou být zprostředkovány cestou maternálně, či paternálně zděděné trombofilie. Možnost, že fetální genotyp spíše než maternální přispívá ke vzniku IUGR, byl popsán poprvé v kazuistice těžkého disproporčního růstu dizygotických dvojčat autorů Khong et al. (Khong T. Y., 2001). Gemini klinicky demonstrovaly rozdílnou dědičnost paternálních MTHFR genů dysproporcí v růstu, u růstově retardovaného plodu s menší placentou s četnou trombotickou vaskulopatií.

Rodger et al. vyšetřovali potenciální podíl fetální trombofilie na histopatologickém stavu placenty a potvrdili vyšší frekvenci avaskulárních klků u placent 50 nositelek FVL, z nichž 40 bylo zděděno od matky a 10 od otce (Rodger M. A., 2008).

Gibson et al. publikovali signifikantní asociaci mezi fetální PT G20201A a IUGR pod 10. percentilem u dětí narozených před 28. gestačním týdnem (OR = 5.71 [95 % CI: 1.49 - 21.93]) (Gibson C. S., 2006). Dle Said placentární tkáň nese většinou stejný genotyp jako plod (Said J. M., 2010b).

2.7.7. Placentární vaskulopatie

Placentální vaskulopatie je často zjištěna u žen s trombotickými těhotenskými komplikacemi typu recidivující SA, IUFD, IUGR a preeklampsie/eklampsie, HELLP syndrom, abrupce placenty. Jedná např. se o tzv. akutní aterózu s charakteristickou přítomností pěnových buněk, fibrinoidní nekrózy a perivaskulárního lymfocytárního infiltrátu. Omezený průtok aa. spirales vyústí v infarzaci přilehlého placentárního okrsku. Obdobně byly pozorovány ve fetální části oběhu ve formě hemoragické endovaskulitis, arteritis obliterans, fibromuskulární sklerotizaci a fibrinoidní vaskulopatii. Výsledkem je obraz tzv. avaskulárních klků (Procházka M., 2004).

Za fyziologických podmínek vyvolává kontakt extravilózního trofoblastu s tkání mateřských spirálních arterií změny nezbytné pro fyziologický vývoj gravidity. V popředí stojí migrace endovaskulárního trofoblastu do stěny spirálních arterií, nahrazování endotelu a vznik čepů v těsné blízkosti jejich ústí do intervilózních prostor. Současně dochází k redukci tunica muscularis podílející se na regulaci tlaku krve v intervilózních prostorech. Porucha vaskulatury v oblasti uložení placenty může být omezena pouze na intramyometrální úseky spirálních arterií, což je typické pro abnormální průběh tzv. druhé vlny trofoblastické invaze mezi 16. - 22. gestačním týdnem. Nebo jsou změny přítomny po celé délce spirálních arterií (od jejich odstupu

z radiální arterie po ústí do intervilózních prostor), pak se jedná o poruchu migrace trofoblastu v první fázi, jež je datovaná mezi 6. - 12. gestačním týdnem. Insuficientní transformace spirálních arterií v nízkoodporové řečiště neumožní adekvátní cévní zásobení intervilózních prostor (Khong T. Y., 2001).

Akutní ateróza s charakteristickou přítomností pěnových buněk, fibrinoidní nekrózy a perivaskulárního lymfocytárního infiltrátu. Pěnové buňky mohou obliterovat lumen cév a iniciovat trombózu mateřských cév.

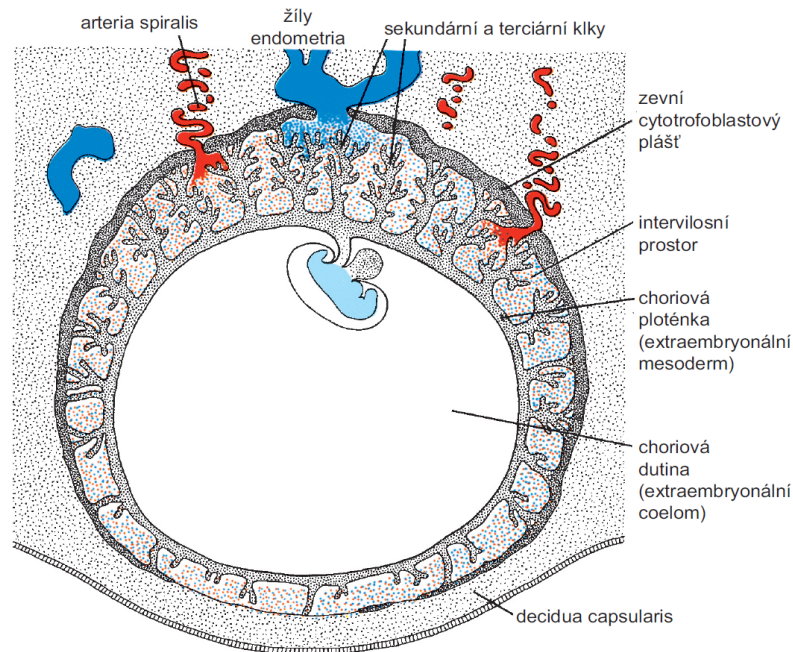
Redline et Pappin jako první zvěřejnili asociaci těchto specifických placentárních lézí a nepříznivých novorozeneckých výsledků a definovali patologická diagnostická kritéria pro tyto stavy (Redline R. W., 1995).

Exaktní patofyziologický mechanismus vedoucí k cévní trombóze a fibróze není popsán, přesto je pravděpodobné, že prokoagulační stavy typu trombofilii se zde mohou podílet. Many et al. publikovali výsledky studie, v níž zkoumali podíl maternálních trombofilních stavů na histopatologických rysech placenty u žen s těžkými těhotenskými komplikacemi. Placentární abnormality typu infarkty a fibrinoidní nekróza byly častější u žen s přítomnou vrozenou trombofilní mutací oproti ženám se stejnými komplikacemi bez ní (Many A. L., 2001). Současně potvrdili u těchto žen riziko předčasného porodu a nižší porodní hmotnosti plodů. Gogia et Machin zkoumali asociaci specifických placentárních lézí a přítomnost infarktů deciduálních cév, masivních perivilózních fibrinových depozit a fetální trombotické vaskulopatie. Identifikovali škálu jednotlivých maternálních trombofilních markerů u žen s těmito histopatologickými placentárními nálezy s vyšší prevalencí oproti běžné populaci, např. u PT G20210A s prevalencí 40 % (Gogia N., 2008). Rodger et al. histopatologicky vyšetřovali 105 placent nositelek FVL a porovnávali je s 225 kontrolami. Potvrdili vyšší frekvenci syncytiálních uzlů (korigované OR = 3.6 [95 % CI: 1.5 - 8.7]) a hypervaskulárních klků (korigované OR = 3.4 [95 % CI: 2.1 - 4.9]) u heterozygotních žen pro FVL (Rodger M. A., 2008). V kontrastu s výsledky předchozích studií se jim nepodařilo potvrdit vyšší přítomnost placentárních infarktů, IUGR či fetální trombotické vaskulopatie.

2.7.8. Regulace hemostázy v placentě

Mechanismy regulující hemostázu v placentě stále zůstávají méně objasněny (Lockwood C. J., 1999). Dle Higginse et al. existují důkazy zvýšené aktivace koagulace a fibrinolytického systému u žen s preeklampií v porovnání s ženami s fyziologickým průběhem těhotenstvím (Higgins J. R., 1998)

Obrázek 2: Lidské embryo v 5.-6. gestačním týdnu⁴



Dle Esmona je hemokoagulace úzce spjata in vivo se zánětlivou reakcí. Tkáňový faktor, hojně přítomný v buňkách deciduy a v I. trimestru v buňkách trofoblastu, spouští koagulační kaskádu. Invaze do deciduy v I. trimestru buňkami trofoblastu je provázena tvorbou lokální „trombinové populace“ aktivující trombocyty a katalyzující konverzi fibrinogenu na fibrin. Současně je spuštěn zánětlivý proces, ten vyústí v produkci zánětlivých cytokinů typu TNF - alfa, endotoxin, CD 40 ligand atd. Tyto cytokiny posléze indukují expresi tkáňového faktoru především na monocytech, čímž potencují koagulační kaskádu. Kromě toho zánětlivé mediátory jako interleukin 6 (IL - 6) potencují navýšení počtu i aktivaci trombocytů (Esmon C. T., 2005).

Weiler et al. potvrdili objemnou expresi trombodulinu v buňkách trofoblastu, kdy navázání trombinu na trombomodulin vyústí v aktivaci C proteinu (Weiler H., 2004)

Zkoumána byla i role placentárních proteoglykanů pro jejich antikoagulační vlastnosti, interakce s růstovými faktory (např. typu VEGF, PlGF) a taktéž protizánětlivé vlastnosti, proto byly označen za potenciálně kandidátní v regulaci placentární hemostázy (Schaefer L., 2008). Placentární proteoglykany obsahují buď heparansulfát (HS), nebo dermatansulfát (DS) (Swan B., 2010). Heparansulfátové řetězce váží AT, dermatansulfátové řetězce váží heparin kofaktor II, po jejich vazbě dochází ke konformačním změnám, jež katalyzují inhibici trombinu (Brinkmeyer S., 2004). Jejich

⁴ Zdroj: Sadler T. W. 2011. Langmannova lékařská embryologie. Překlad 10. vydání. Praha: Grada Publishing. s. 110. ISBN 978-80-247-2640-3

buněčná endoteliální lokalizace umožňující interakci s cirkulující krví naznačuje jejich potenciál v antikoagulačním lokálním působení. Studie Swan et al. prokázala snížení exprese mRNA dermatansulfátu decorinu v placentách žen s IUGR (Swan B., 2010). Podobně Warda et al. zachytili signifikantní snížení exprese proteoglykanů v placentách žen s preeklampsií (Warda M., 2008).

Důležitou roli mají proteoglykany v angiogenezi ve formě receptorů pro růstové faktory. Neřízená angiogeneze přispívá k těhotenským komplikacím typu preeklampsie a IUGR. Růstové faktory VEGF a PlGF jsou exprimovány buňkami trofoblastu cytotrofoblastem v rámci remodelace spirálních arterií. U preeklamptických žen jsou jejich hladiny značně sníženy ve srovnání s kontrolami (Young B. C., 2010)

Interakce mezi koagulačními ději a angiogenními procesy je taktéž potvrzena zjištěním, že trombin signifikantně zvyšuje expresi s-Flt-1 během I. trimestru (Lockwood CJ, 2011). Dysregulace hemostatického komplexu některého z řady možných mechanismů během I. trimestru má potenciální roli v iniciaci probíraných těhotenských patologií. Všechny tyto okolnosti přispívají k prokoagulačnímu stavu pozorovanému v době gravidity.

2.7.9. Indikační parametry vyšetření hereditárních trombofilií

Vzhledem k multifaktoriální etiopatogenezi VTE nelze při určení možné míry rizika VTE vycházet jen z určení molekulárně genetických znaků (Kvasnička J., 2010). Z molekulárně genetických vyšetření mají při pátrání po trombofilním stavu spojeném s VTE zásadní klinický význam pouze vyšetření FVL a PT G20210A (Wu O., 2006). Vyšetření jiných polymorfismů vyjma PT G20210A a FVL spojených s VTE je indikováno pouze „Centru pro trombózu a hemostázu“ (Kvasnička J., 2010).

Vyšetření FVL a PT G20210A je dle nejaktuálnějšího znění doporučeno zdravotnickým zařízením indikovat selektivně před zahájením farmakoterapie kombinované perorální hormonální kontracepce (COC) a/nebo hormonální substituční terapie (HRT) estrogeny u žen s pozitivní osobní anamnézou prodělané VTE, nebo s pozitivní rodinnou anamnézou výskytu VTE u příbuzného I. stupně. Dále u osob s pozitivní osobní anamnézou prodělané idiopatické VTE při dovyšetření etiologického faktoru a při rozhodování o délce koagulační terapie. U žen s habituálním potrácením nebo u každé pozdní těhotenské ztráty. V graviditě u žen s pozitivní osobní anamnézou VTE, nebo rodinnou anamnézou VTE u příbuzných v první linii, dále u žen s těhotenskými komplikacemi, tj. při těžké formě preeklampsie, IUGR a/nebo abrupci placenty. Z jiných indikací pouze po vyšetření v „Centru pro trombózu a hemostázu“ nebo „ÚHKT v Praze“. Je-li záchyt pozitivní, je vhodné dovyšetření FVL a PT G20210A

taktéž u příbuzných prvního stupně, vyskytují-li se u nich rizikové faktory trombofilie, u dětských pacientů vyšetřujeme nejdříve po 12. roce života, není-li určeno jinak (Kvasnička J., 2010)

Při stanovování jednotlivých vrozených trombofilních statusů je nutno pamatovat, za jakých okolností byly jejich hodnoty vyšetřovány. Hladina koagulačních faktorů a přirozeně působících antikoagulačních proteinů se mění vlivem akutní VTE, specifické medikace nebo gravidity. Hladiny AT a antikoagulačních proteinů klesají ve fázi akutní trombózy, AT klesá vlivem aplikace heparinu, proteiny C a S pak vlivem warfarinu (validně mohou být stanoveny až za 2 týdny od ukončení jeho podávání). Genetické testování FVL a PT G20210A. Screening hladin faktorů VIII a XI není běžnou součástí vyšetření. Vyšetření polymorfismů MTHFR je minimálně přínosné (Karetová D., 2007).

Pokud vyšetřovaná osoba prodělala žilní i arteriální trombózu, je smysluplné stanovení hladiny homocysteinu, i když má nejasný terapeutický dopad (Karetová D., 2007).

2.7.10. Tromboprolaxe

Kontroverzním faktem studií věnujících se prevenci časných SA pomocí nízkomolekulárních heparinových preparátů (LMWH) zůstává pestrá etiologie možných, někdy i vzájemně se kombinujících, kauzálních příčin SA. Navzdory protikladným závěrům studií věnujících se asociaci mezi maternálními trombofilními stavy a těhotenskými komplikacemi, antikoagulační terapie těhotných žen, nositelek vrozené trombofilie, byla přijata mnoho malými nerandomizovanými studiemi (Grandone E., 1997) (Kupfermanc M. J., 1999) a několika většími randomizovaných kontrolovaných studií (Brenner B., 2005) (Gris J. C., 2004). Důvody pro zahájení antikoagulační terapie se opírají o terapeutický efekt antikoagulantů při VTE.

Některé randomizované kontrolované studie zaměřené na roli LMWH heparinů v prevenci následného SA u žen s rekurentním potraty přinesly negativní výsledky (Clark P., 2010) (Visser J., 2011) (Kaandorp S. P., 2010).

Randomizovaná multicentrická studie, tzv. FRUIT study, u těhotných žen - nositelek trombofilie s anamnézou časně uteroplacentární insuficience před 34. gestačním týdnem -demonstrovala signifikantní redukci rizika rekurence časného nástupu preeklampsie a IUGR. V ní 139 těhotných žen nositelek vrozené trombofilní mutace obdrželo LMWH preparát (dalteparine) v dávce 5. 000 j. s.c. a Aspirin v denní

dávce 80 mg, nebo samotný Aspirin v totožné denní dávce. Celkově byla zaznamenána statisticky signifikantní redukce rizika preeklampsie či IUGR před 34. gestačním týdnem bez jakéhokoliv zvýšení rizika nežádoucího účinku u žen s LMWH a současně Aspirinem ($P = 0.012$) (de Vries J. I., 2012). Dle Askie et al. mnoho těchto žen by dosáhlo úspěšného zakončení těhotenství v termínu s finančně méně nákladnou prenatální péčí a současně nižší dávkou Aspirinu, což dokládá ve své meta-analýze s redukcí rizika rekurence preeklampsie a IUGR až k 10 % (Askie L. M., 2007).

Většina žen s probíraným typem těhotenských komplikací nemá rozpoznáný žádný z nám dosud známých trombofilních markerů. Exaktní mechanismus vedoucí ke vzniku trombotických placentárních lézí tak zůstává neznámý. Benefit tromboprolaxe u těchto pacientek, stejně tak u nositelek trombofilní mutace, je omezen nedostatečným poznáním principu mechanismu regulace hemostázy v placentě a potenciálním působením heparinů v tomto orgánu.

2.7.11. Antitrombotická profylaxe a péče o ženy v pre-, peri- a postkoncepčním období – praktická doporučení

Princip profylaxe vychází ze své definice, která je chápána jako soubor opatření nutných k zajištění nižšího výskytu trombotických příhod v souvislosti s graviditou, šestineděním a dalšími rizikovými dispozicemi.

Lze rozlišit 4 skupiny dle míry možného rizika vzniku trombotické komplikace v souvislosti s diferencovaným výskytem VTE. Opatření lze volit z řad medikamentózních či režimových. Medikamentózní terapie je možná užitím nízkomolekulárních heparinů (LMWH), nefrakcionovaných heparinů (UFH) či perorálních antikoagulancií (PAK). Dle způsobu aplikace perorální či subkutánní, krátkodobou či dlouhodobou, jednoduchou či kombinovanou. Režimová opatření jsou založena na časně vertikalizaci, cvičení a užití elastických kompresivních obinadel či punčoch.

Vlastní antikoagulační efekt heparinů je primárně založen na jejich schopnosti navázat se na AT, a tím akcelarovat inhibici hlavních koagulačních enzymů tj trombinu, FIXa, FXa, FXIa, FXIIa. Zcela klíčové jsou navzájem nezávislé anti - IIa a anti - Xa parametry. LMWH preparáty vykazují silný anti - Xa a minimální anti-IIa efekt. Na rozdíl od UFH, jejichž anti-IIa a anti - Xa efekt je symetrický, proto by UFH preparáty měly být 1. volbou u žen s akutní VTE v době gravidity. Vztah mezi UFH a aPTT je odlišný v době gravidity a mimo toto období. Prodloužení aPTT vlivem UFH je v graviditě menší vlivem vyšších hladin vazebných proteinů heparinu a faktoru VIII. Aby bylo dosaženo prodloužení aPTT, je třeba vyšších terapeutických dávek. LMWH jsou vázány na

plazmatické vazebné proteiny heparinu minimálně, i proto vykazují oproti UFH delší plazmatický poločas a lepší terapeutickou odpověď v závislosti na výši podané dávky.

Komplikace antikoagulační terapie závisí na volbě preparátu. UFH ani LMWH preparáty neprocházejí placentární bariérou, čímž jsou eliminována rizika teratogenního efektu. Teoreticky je u UFH a LMWH preparátu možné pouze riziko krvácení v oblasti uteroplacentární junkce. Jiná situace je v případě kumarinů, ty placentou procházejí, z toho důvodu je nutná jejich záměna za hepariny nejpozději do 6. gestačního týdne. Riziko embryopatie u kumarinů je reálné od 6. do 12. gestačního týdne. Klinicky se mohou projevit jako hypoplazie kosti nosní, poruchy vývoje kosti v epifyzární oblasti, poruchy CNS atd. Plod je ohrožen krvácivými komplikacemi nejvíce v období peripartálním a časně postnatálním. Pro matku je nejzávažnější komplikací krvácení s přibližným výskytem 2 % při terapii heparinem, při dlouhodobé terapii se mohou objevit osteoporóza a tromboctopenie, u kumarinů navíc kožní nekrózy. V peripartálním období je s výhodou korigovat terapeutické dávkování heparinu s ohledem na možné riziko silné haemoragie peripartálně, u LMWH preparátů je riziko závažné peripartální hemoragie nízké.

Cílem těchto opatření je prevence a včasná adekvátní léčba VTE u žen v závislosti na míře rizika TEN, modifikace farmakoterapie u žen na dlouhodobé antikoagulační terapii pre- a postkoncepčně, prevence VTE v graviditě nezávisle na přítomnosti vrozené trombofilie, zajištění žen s trombofilním rizikem a omezení možných komplikací během gravidity či peripartálně. VTE je adekvátním profylaktickým režimem eliminovatelné onemocnění, z toho důvodu je nutné dbát na stratifikaci jedinců dle míry možného rizika VTE s cílem zabránit vzniku či alespoň minimalizovat komplikace VTE.

Schéma běžné profylaxe (Dulíček P., 2006):

- nízké riziko VTE: medikamentózní prevence TEN není běžně doporučována
- střední riziko VTE: většinou doporučen UFH s. c. á 12 hod (nebo LMWH)
- vysoké riziko VTE: většinou doporučen UFH s. c. á 8 hodin (nebo LMWH)
- velmi vysoké riziko VTE: většinou doporučen LMWH a dále PAK

Profylaktická opatření v konkrétních perikoncepčních a postkoncepčních situacích (Dulíček P., 2006)

Doporučené postupy prevence TEN v gynekologii a porodnictví upravují pravidla podání LMWH vydaná ve spolupráci s Českou gynekologicko-porodnickou společností a Českou hematologickou společností (Dulíček P., 2006). Pravidla se týkají

načasování LMWH terapie v graviditě a v puerperiu. Podnětem byla klinická zkušenost, kdy po průkazu prokoagulačního vlivu trombofilních mutací byly těhotné diagnostikované nosičky trombofilní mutace zajištěny LMWH po celou dobu gravidity i šestinedělí.

I. Ženy na dlouhodobé antikoagulační terapii vstupující do gravidity na PAK

Ženy prekoncepčně terapeuticky udržované na dlouhodobé antikoagulační terapii perorálními antikoagulancii je nutné do 6. gestačního týdne převést na **adjustovanou dávku či plnou léčebnou dávku LMWH**, nebo **adjustovanou dávku UFH**.

II. Ženy s doposud jedinou idiopatickou epizodou VTE bez zavedené dlouhodobé antikoagulační terapie

Je doporučeno profylaktické dávkování LMWH, nebo miniheparinizace UFH, nebo středně dávkovaný UFH od 20. gestačního týdne, nebo jen sledování s peripartálním středně dávkovaným zajištěním LMWH a poporodním PAK.

III. Ženy vstupující do gravidity s anamnézou jednorázové ataky VTE spojené s přechodnou pominuvší protrombotickou dispozicí

Je obecně doporučeno sledování, peripartální zajištění **profylaktickým dávkováním LMWH, nebo miniheparinizace UFH** peripartálně s následným převedením postpartálně na PAK s cílovým INR 2-3.

Vznikla-li VTE v souvislosti s graviditou či užíváním COC, výše uvedené profylaktické opatření je doporučeno zahájit již od 20. gestačního týdne.

IV. Ženy vstupující do gravidity s jedinou epizodou VTE a současně laboratorně potvrzenou trombofilií a/nebo pozitivní RA závažné VTE bez dlouhodobé léčby PAK

Nejpozději od 20. gestačního týdne je doporučen LMWH v profylaktickém režimu dávkování. Peripartálně je vhodné zajištění LMWH v profylaktickém, nebo středně dávkovém režimu, nebo miniheparinizace UFH, nebo středně dávkovaný UFH. Postpartálně je následně převedena na PAK s cílovou INR 2 - 3.

V. U žen s recidivující VTE a/nebo u žen vstupujících do těhotenství s dlouhodobou terapií PAK

Je doporučena adjustovaná dávka UFH, nebo adjustovaná dávka LMWH, nebo plná léčebná dávka LMWH a postpartálně převod na PAK.

VI. Ženy s trombofiliemi bez anamnézy VTE ve spojitosti

U žen s hematologicky nevýznamnou trombofilií FVL či PT G20210A v heterozygotní konstituci je vedena profylaxe v režimu **profylaktickém, nebo středně-**

dávkováném LMWH, nebo v režimu středně dávkovaného UFH, či adjustované dávky UFH doporučena peripartálně tj. od 38. ukončeného týdne těhotenství a postpartálně převedení na PAK. Platí pouze, nejsou-li přítomny další transitorní rizika.

U žen s významnými trombofiliemi typu deficit AT, proteinu S, proteinu C, FVL v homozygotní konstituci nebo kombinaci trombofilních stavů je doporučena předchozí varianta profylaxe po celé těhotenství a postpartálně převod na PAK s cílovými INR 2 - 3.

VII. Ženy s prokázanou trombofilií a těhotenskými komplikacemi

a. U žen s prokázanou trombofilní mutací a habituálním potrácením

Do 8. gestačního týdne je doporučeno vedení antiagregační terapie kyselinou acetylsalicylovou – k. ASA (100 mg Anopyrinu denně), poté je vhodný převod na **profylaktický režim LMWH**

b. U žen s prokázanou trombofilní mutací a anamnézou preeklampsie, HELLP syndromu, abrupce placenty, IUGR, či jinak nevysvětlitelné IUFD

K. ASA (Anopyrin 100 mg denně) do 20. gestačního týdne, poté od 20. gestačního týdne **LMWH v profylaktickém, nebo středním režimu dávkování**

c. U žen s APA a recidivujícím či habituálním potrácením do 10. gestačního týdne

K. ASA (Anopyrin 100 mg denně) a od 12. gestačního týdne **UFH miniheparinizace, nebo středně dávkovaný UFH nebo profylaktický režim LMWH.**

d. U žen s APA a anamnézou pozdní SA, nebo preeklampsie, HELLP syndromu, abrupce placenty, IUGR, či jinak nevysvětlitelné IUFD

Od 20. gestačního týdne profylaxe LMWH v adjustované, nebo plné léčebné dávce

e. U žen s APA a anamnézou VTE na dlouhodobé prekoncepčně terapii PAK

Během gravidity adjustovaná, či plně léčebná dávka LMWH, nebo adjustovaná dávka UFH s Anopyrinem s výhledem dlouhodobé antikoagulační terapie

f. U žen s APA bez anamnézy SA, nebo VTE

K. ASA (Anopyrin 100 mg denně) od počátku gravidity, dle dalšího klinického a laboratorního nálezu přecházíme na **miniheparinizaci UFH, nebo profylaktickou dávku LMWH**

g. Ženy se systémovým onemocněním

K. ASA (Anopyrin 100 mg denně) do 12. gestačního týdne, poté převod na LMWH v **profylaktických dávkách LMWH** do 8. týdne po porodu, postpartálně možný i převod na PAK

Kortikoidní terapii indikuje revmatolog, při vysoké aktivitě lze podat imunoglobuliny i. v.

h. U ženy s MTHFR mutací v homozygotní konstituci

Acidum folicum 800 ug denně prekoncepčně, od 12. gestačního týdne 400 ug denně po celé těhotenství

Režimy podávání heparinů UFH či LMWH (upraveno dle doporučení 7. konference ACCP) (Dulíček P., 2006)

I. Miniheparinizace UFH

- 5 000 j s. c. á 12 hodin

II. Středně dávkovaný UFH

- subkutánní aplikace dvou denních dávek dosahujících cílového nastavení anti - Xa 0.1 - 0.3 IU / ml

III. Adjustovaná dávka UFH

- subkutánní aplikace dvou denních dávek dosahujících cílového nastavení terapeutických hodnot aPTT

IV. profylaktické dávkování LMWH

- dalteparin 5 000 j. s. c. á 24 hodin denně
- enoxaparine 40 mg s. c. á 24 hodin
- nadroparine 0.3 ml s. c. á 24 hodin
- eventuálně modifikace dávky zmíněných LMWH přepočtem na kg tělesné hmotnosti (100 j. / kg hmotnosti á 24 hodin)

V. středně-dávkovaný LMWH

- dalteparin 5 000 j. s. c. á 12 hodin denně
- enoxaparine 40 mg s. c. á 12 hodin
- nadroparine 0.3 ml s. c. á 12 hodin
- eventuálně modifikace dle tělesné hmotnosti 100-150 j / kg tělesné hmotnosti á 24hod

VI. adjustovaná, či plná léčebná dávka LMWH

- dalteparin 200 j. / kg tělesné hmotnosti s. c. za 24 hodin
- enoxaparin 100 j. / kg tělesné hmotnosti s. c. za 12 hodin
- nadroparin 100 j. / kg tělesné hmotnosti s. c. za 12 hodin

2.8. Determinace SA - tyreoidální funkce v graviditě

Ačkoliv je nekomplikovaně probíhající gravidita považována za zcela fyziologický stav, znamená pro celý organismus, včetně štítné žlázy, období velmi vysokých nároků na organismus ženy. Sama gravidita, ať již zakončená úspěšně porodem, nebo zakončena potratem, může iniciovat vznik tyreoidální dysfunkce.

Poruchy štítné žlázy se vyskytují u významné části žen v reprodukčním věku. V graviditě trpí přibližně 5 % žen hypothyreózou a 10 % má pozitivní protilátky proti tyreoidálním antigenům (a-TPO). V České republice se každoročně jedná asi o 5 000 těhotných s hypothyreózou a 10 000 těhotných a-TPO pozitivních žen (Potluková E., 2012).

Pokud tyreoidální dysfunkce nejsou adekvátně terapeuticky řešeny, mohou být příčinou nejen sterility, ale i četných poruch v těhotenství s důrazem na spontánní potraty, poruch vývoje embrya, plodu a novorozence (Stagnaro-Green A., 2011) (Thangaratinam S., 2011). Tyreopatie se přitom řadí mezi lehce diagnostikovatelná i léčitelná onemocnění navzdory minimálním či nespecifickým klinickým projevům (Jiskra J., 2014).

Vztah mezi abnormální funkcí štítné žlázy a SA je znám dlouhodobě. Největší klinický dopad lze očekávat od neléčené manifestní tyreopatie (patologická hladina TSH i fT4), dále pak subklinické hypothyreózy (elevace hladin TSH při normální hladině fT4) a autoimunitní eufunkční tyreoiditidy (normální hladina TSH i fT4 při současné pozitivitě antityreoidálních protilátek a-TPO a/nebo přítomných UZ známek autoimunitního onemocnění tyreoidy, AITD). Negativní dopad na intelekt a psychomotorický vývoj dětí klinicky manifestních hypothyreózních matek byl jednoznačně prokázán (Abalovich M., 2007) (Stagnaro-Green A., 2011).

U subklinické hypothyreózy a eufunkční tyreoidy s pozitivitou a-TPO se studie ve svých závěrech na negativní dopad rozcházejí. Ghassabian et al. negativní dopad jednoznačně potvrzují (Ghassabian A., 2012). Naopak Lazarus et al. klinickou souvislost subklinické hypothyreózy a eufunkční tyreoidy s pozitivitou a-TPO jednoznačně nepotvrdili (Lazarus J. H., 2012).

Nedostatek jódu je obecně považován za klíčový faktor mentální a růstové retardace ve světě (Potluková E., 2013). Dříve byla intenzivně řešena právě problematika dostatečného příjmu jódu. Dnes je struma z nedostatku jódu spíše raritním nálezem, protože naše lokalita patří do oblasti s přiměřeným zásobením jódu (Zamrazil V., 2004). Doporučená denní dávka jódu pro běžnou populaci je 150 ug denně, pro gravidní ženy 250 - 500 ug denně (De Groot L., 2012). Je proto doporučeno substituovat u gravidní ženy pomocí Jodidu 100ug v dávce 1.5 - 2 tablety denně per os, nebo formou multivitaminových preparátů pro těhotné. Výjimkou, kdy jódomovou suplementaci nepodáváme, je vysoce aktivní Graves-Basedowa toxikóza (GB) a karcinom štítné žlázy diagnostikovaný v graviditě (Potluková E., 2013). Dostatečná suplementace jódem v perikoncepčním období, v průběhu vlastní gravidity a v době výhradní laktace je velmi důležitá a každá těhotná by měla být svým gynekologem standardně edukována.

Porodnická rizika tyreopatií v graviditě (Ghassabian A., 2012) (Glinioer D., 1991) (Thangaratinam S., 2011) (Haddow J. E., 99):

- infertilita
- předčasný porod
- sterilita
- gestační hypertenze
- preeklampsie/eklampsie
- abrupce placenty
- porod per sectionem caesaream
- hypotrofie plodu (IUGR)
- vyšší perinatální morbidita a mortalita (včetně neonatální respirační distress)
- poruchy vývoje embrya, plodu, novorozence
- poporodní tyreoiditida (PPT)
- anémie
- poporodní haemorrhagie

2.8.1. Štítná žláza a gravidita

Tyreoidální hormony jsou zásadní pro vývoj embrya/plodu, zejména pro vývoj nervové soustavy a růst organismu.

Ve svém účinku zasahují do všech základních orgánových systémů včetně metabolismu, růstu a diferenciací tkání. Stopové množství fetálního tyroxinu bylo

zachyceno mezi 10. a 12. týdnem těhotenství. Dle většiny autorů do 16. gestační týdne je embryo/plod plně dependentní na maternální produkci tyroxinu (Límanová Z., 2013) (Potluková E., 2013).

Embryonální a „časná“ fetální fáze je proto nejkritičtějším obdobím s nejhoršími důsledky při nedostatku tyreoidálních hormonů vůbec (Morreale D. E., 2004). Dle Obregon et al. samostatná produkce fetálního tyroxinu dokonce začíná od 20. gestačního týdne (Obregon M. J., 2007).

Produkce maternálního tyroxinu je však nezbytná po celé období gravidity, protože fyziologický vývoj nervové soustavy plodu je závislý na dostatečné hladině tyroxinu. Deficit tyreoidálních hormonů v době intrauterinního vývoje plodu většinou vyústí v irreversibilní změny plodu ve smyslu poruch diferenciacie neuronů a nedostatečného vývoje CNS, srdečních vad a poruch skeletálního vývoje (Morreale D. E., 2004).

V iniciální fázi těhotenství stoupá nárok tyreoidy na dostatečnou saturaci jódem přibližně na 150 % původní hodnot. Především díky elevaci hladiny estrogenů zvyšují hladiny tyreoglobulinu (TGB) a koncentrace celkového tyroxinu (TT4). Nárůst TGB začíná v době od 5. týdne těhotenství a kulminuje okolo 20. týdne těhotenství (Glinoe D., 1997).

Přechodně klesá volná frakce fT4. V době gravidity je 75 % tyroxinu transportováno ve vazbě na TBG na rozdíl od netěhotných žen, u nichž je to 66 % (Alexander E., 2004). Afinita T3 k TGB je ve srovnání s T4 asi 20x nižší, proto jsou dominantní změny především u tyroxinu. Stoupající hladina hCG koreluje v prvním trimestru s poklesem TSH díky synergickému účinku hCG na receptor pro TSH (R-TSH). Za fyziologického stavu tyroidea zvyšuje produkci TT4, a navozuje tak zpětnovazebně rovnováhu. Pokud však není štítná žláza plně funkční, nereflektuje v této situaci adekvátně navýšením produkce fT4, vzniká hypotyreóza ve své subklinické, či manifestní podobě (Abalovich M., 2007).

Pro II. trimestr je typický počínající pokles frakcí fT3 a fT4. Tento trend pokračuje až do porodu. Množství tyroxinu a trijodtyroninu prostupujících placentou je regulováno dejodázami 2. a 3. typu, a to ze dvou důvodů. Prvním je zajištění dostatečné hladiny T3 a T4 pro plod, druhým současná ochrana před nadměrnou stimulací plodu hladinami fT3 a fT4 (Morreale D. E., 2004)

V I. trimestru promptně elevují hladiny hCG v séru gravidní ženy. Svého maxima dosahují v období 8. - 14. týdne těhotenství, poté hladina hCG klesá. Fylogenetickým

pozadím je zabezpečení dostatečné produkce mateřského tyroxinu v rizikovém období, kdy je embryo/plod na mateřské produkci zcela závislý (Morreale D. E., 2004). Markantnější je situace tzv. TSH-like efektu, kdy je v případě vícečetné gravidity podmíněna vyšší produkce hCG. Ve většině případů bývá tento efekt v klinickém projevu mírný, ale až u 10 - 20 % těhotných dochází k supresi produkce TSH a u přibližně 2 % manifestuje tento jev v podobě transientní gestační tyreotoxikózy.

Placentární bariéra je propustná pro jodid a protilátky třídy IgG, tedy i pro protilátky a-TPO, a-Tg, a-TSH (tzv. TRAK). TSH placentou neprochází. TT4 prostupuje v regulované míře, pro TT3 je placenta takřka nepropustná. Aktivita regulujících enzymů, dejodázy 2. a 3. typu, se v průběhu gravidity mění. Do nástupu adekvátní fetální tyreoidální produkce dominuje aktivita dejodázy 2. typu. Poté převažuje funkce dejodázy 3. typu jako dominantní ochrana embrya resp. fétu před nadměrnou mateřskou stimulací. V 2. polovině gravidity je většina mateřského TT3 a TT4 inaktivována v placentě, dochází k transformaci v reverzní rT3 a diiodthyronin. Tím je zajištěno, že přístup volných hormonů do fetálního oběhu bude uskutečněn ve skutečně potřebném množství (Morreale D. E., 2004).

2.8.2. Diagnostika tyreopatií

Diagnostika tyreopatií v době gravidity je založena především na laboratorních krevních testech. Je to zapříčiněno obvykle nespecifickými klinickými příznaky probíhající dysfunkce štítné žlázy, či jejich úplnou absencí. Minimální nebo chybějící klinické projevy nevylučují velmi závažnou tyreoidální poruchu. Správná diagnóza tyreopatií v graviditě a poporodní tyreoiditidy (PPT) usnadní nejen terapii, ale hlavně umožňuje předejít komplikacím v následující graviditě (Límanová Z., 2007).

Laboratorní normy pro tyreoidu se v důsledku výše popsaných hormonálních změn liší v období těhotenství a v období mimo něj. Zvýšená potřeba tyreoidálních hormonů v graviditě a adaptace štítné žlázy na tyto vyšší nároky navozují změny v hladinách tyreoidálních markerů. Proto bylo třeba vytvořit specifické referenční intervaly pro štítnou žlázu v období gravidity. Laboratorní metody nejsou dosud standardizované. Je doporučeno řídit se normami arbitrárně stanovenými v guidelineech nebo ev. normami od výrobce. Pro základní zhodnocení stavu štítné žlázy u gravidních je doporučován odběr TSH, fT4 a a-TPO (Hudeček R., 2009).

Nejspolehlivějším laboratorním parametrem je TSH, oproti normám pro fT4 a a-TPO, jež podléhají použité metodě (Springer D., 2009). Interpretace výsledků musí být vždy v individuálním režimu v korelaci s klinickým nálezem (Jiskra J., 2012).

TSH

Nejpřesnějším a nejspolehlivějším laboratorním parametrem v graviditě je sérová koncentrace TSH. Je vnímána jako klíčový marker tyreoidální funkce. Tyreotropní aktivita rostoucí sérové hladiny hCG způsobí snížení hladiny TSH v období I. trimestru, od II. trimestru se hladina TSH zvyšuje. Horní hranice normy pro TSH v celém těhotenství je nižší oproti běžné populaci (Springer D., 2009).

Doporučuje se uvádět jeho referenční interval jako hodnotu 2.5–97.5 percentilu ve skupině zdravých dobrovolníků, kteří nemají v rodinné ani osobní anamnéze onemocnění štítné žlázy a kteří nemají pozitivní protilátky proti štítné žláze. Referenční limity se vyjadřují s 95 % intervalem spolehlivosti. Pro těhotné v jódově dobře zásobených oblastech byly stanoveny pro TSH zvláštní referenční intervaly, které se však liší podle užívané metodiky stanovení. Významně nápadnější propad hladin TSH je typický pro vícečetné gravidity díky několikanásobně vyšší produkci hCG. U malé části těhotných, ačkoliv se jedná o zcela fyziologická těhotenství, lze detekovat jen velmi nízké izolované hladiny TSH menší než 0.01mIU/l obvykle do 12. gestačního týdne. Většinou pod typickým klinickým obrazem hyperemesis gravidarum. TSH ve svých hladinách vykazuje signifikantní etnické rozdíly (Springer D., 2009).

Referenční intervaly pro TSH dle doporučení American Thyroid Association (ATA) jsou specifické pro každý trimestr. Dle doporučení ATA z roku 2011 jsou doporučené hodnoty sérové koncentrace TSH prekoncepčně u hypotyreózních žen či žen s AITD (eufunkčních i na terapii LTX) do 2.5 mIU/l, v I. trimestru v referenčních hodnotách 0.1 - 2.5mIU/l, v II. trimestru 0.2 – 3.0 mIU/l, v III. trimestru 0.3 - 3.0 mIU/l (Stagnaro-Green A., 2011).

Tabulka 1: Referenční intervaly pro TSH dle ATA

Parametr	prekoncepčně	I. trimestr	II. trimestr	III. trimestr
TSH	0.5 – 2.5 mIU/l	0.1 - 2.5 mIU/l	0.2 - 3.0 mIU/l	0.3 - 3.0 mIU/l

Vyšší hodnoty v rámci horní meze normy TSH jsou spojeny s nízkou senzitivitou, tedy falešnou negativitou. Pro TSH v I. trimestru Benhadi et al. potvrdili, že i „vyšší normální“ hodnoty TSH (s mediánem 1.48 mIU/l) jsou již spojeny se zvýšeným rizikem SA, úmrtí plodu či úmrtí novorozence (Benhadi N., 2009).

Vzhledem k diurnální variabilitě s pulzní sekrecí TSH, je vhodné uskutečnit odběr krve v době mezi 7. - 13. hodinou, kdy je hladina TSH nejnižší. Maximální hladiny

TSH dosahuje mezi 24. - 4. hodinou, a naopak minimální hladiny mezi 7. - 13. hod (Springer D., 2009).

fT4

Stanovení sérové koncentrace fT4 je v těhotenství spolehlivé nejméně ze tří základních vyšetřovaných tyreoidálních markerů. I přesto je však upřednostněno stanovení volné frakce fT4 před parametrem TT4. Parametr fT4 umožňuje zjistit množství biologicky dostupného tyroxinu pro budoucí matku i plod. Hladina fT4 závisí na množství jódu, gestačním týdnem, použité laboratorní metodě a na tom, zda během analýzy zůstane zachovaný poměr vázané a volné frakce T4 in vivo (Springer D., 2009).

Do průkazu viability embrya v době okolo 6. gestačního týdne se zvyšuje hladina TBG o 50 %, proto elevuje i celkový TT4. Hladina fT4 v těhotenství je odrazem vlivu koncentrace sérových proteinů. V I. trimestru je hladina fT4 podobná jako u běžné populace, poté hladina fT4 během II. a III. trimestru mírně klesá. Pro fT4 jsou vyžadovány trimestr specifické referenční intervaly, liší se dle použitých laboratorních metod, ale interpretace výsledných hodnot vyžaduje referenční intervaly pro těhotenství. Nejvhodnější pro stanovení fT4 v graviditě se jeví stanovení tyroxinu v dialyzátu nebo ultrafiltrátu s použitím online extrakce. Jejich nevýhodou je vysoká finanční nákladnost a časová náročnost. Rutinně pro běžnou diagnostiku v době gravidity se tak používají imunoanalytické techniky. Pro fT4 existují specifické trimestrální referenční intervaly, hodnocení jejich výsledných hladin je však velmi problematické (Springer D., 2009).

Existují však stavy, kdy při ještě normální hladině TSH, je fT4 jediným patologickým nálezem, jedná se o jódový deficit, reakce na vyšší sekreci v graviditě při vzestupu TGB. Pokud je již žena na zavedené suplementaci levotyroxinem (LTX), odběr krevního vzorku na fT4 je doporučeno vždy provést před požitím léku (Hudeček R., 2009).

a-TPO

Vyšetření sérové koncentrace a-TPO je nezbytné pro komplexní zhodnocení stavu štítné žlázy (Zástupný_text1). Je vnímána jako marker autoimunitního procesu probíhajícího ve štítné žláze. Pozitivita autoprotilátek nastiňuje možné riziko vzniku tyreopatie v graviditě či rozvoje PPT v postpartálním období. Jedná se o heterogenní protilátky, jež v průběhu gravidity mohou přechodně klesat. Mezi výsledky jednotlivých použitých laboratorních metod mohou vznikat velké rozdíly díky odlišné vazebné schopnosti a antigenům v používaných imunoanalytických metodách. Proto je doporučeno sekvenovat výsledky do semikvantitativních skupin, a to na negativní,

slabě pozitivní, silně pozitivní. Za klinicky významné je zvýšení na minimálně dvojnásobek horní meze (Hudeček R, 2004). Nižší hodnotu lze doplnit sonografickým vyšetřením štítné žlázy a doporučeno laboratorní odběr v časovém odstupu zkontrolovat (Jiskra J., 2012).

Přítomnost a-TPO bez poruchy funkce je dle Thangaratinam et al. asociována se sterilitou, infertilitou či selháním asistované reprodukce (Thangaratinam S., 2011). Eutyreózní gravidní a-TPO pozitivní ženy by proto měly během gravidity monitorovány z uvedeného rizika možného rozvoje subklinické, či manifestní hypotyreózy u více než 20 % z nich (Jiskra J., 2012).

Protilátky proti tyreoglobulinu (A-Tg) se v graviditě dle Abaloviche et al. rutinně nevyšetřují pro jejich malý klinický přínos (Abalovich M., 2007).

Protilátky proti TSH receptoru (tzv. TRAK) jsou vysoce specifické a citlivé autoimunitní protilátky proti TSH-R obsažené v buněčných membránách tyreocytů. Podle charakteru účinku mohou prostřednictvím TSH-R stimulovat či blokovat činnost štítné žlázy. Vyšetření tzv. TRAK se využívá při diferenciální diagnostice etiologie hypertyreózy (při odlišení autoimunitního od non-autoimunitního původu či rezistenci vůči tyreoidálním hormonům) a monitoringu vlastního terapeutického efektu. Jsou hlavním markerem Graves-Basedovy tyreotoxikózy (GB). Gravidita sama o sobě hladinu TRAK neovlivní. Na rozdíl od aktivity GB, kdy při relapsu nemoci se hladiny TRAK zvyšují, při remisi naopak klesají (Zástupný_text1).

U žen s anamnézou GB je proto vhodné provést kontrolu hladin TRAK okolo 20. - 24. gestačního týdne, protože i po totální tyreoidektomii (TTE) se u žen s GB dle McKenzie et al. mohou nacházet TRAK protilátky se schopností transplacentárního přestupu a indukce dysfunkce tyreoidy (McKenzie J. M., 1992).

2.8.3. Jednotlivé tyreopatie v graviditě

Onemocnění štítné žlázy v graviditě jsou častá. Nejvyšší prevalenci tyreopatií v graviditě má autoimunitní onemocnění štítné žlázy (AITD), mezi něž náleží chronická lymfocytární tyreoiditida (CLT) s udávanou frekvencí 10 - 15 % a GB s frekvencí 0.1 – 0.4 %. CLT nemusí být provázena funkční poruchou, ale při zatížení těhotenstvím se u více než 20 % hypotyreóza laboratorně objeví (Límanová Z., 2013).

V některých případech manifestuje po skončení vlastní gravidity v podobě postpartální tyreoiditidy (PPT). Činnost zdravé tyreoidy se v době gravidity zvyšuje přibližně od 4. - 6. gestačního týdne a stoupá do 16. - 20. gestačního týdne, poté navozuje plateau až do peripartálního období (Alexander E., 2004).

Se správnou funkční aktivitou štítné žlázy matky i plodu úzce souvisí dostatečná suplementace jódem, jehož spotřeba během těhotenství stoupá ze 150 ug na 250 – 500 ug denně (De Groot L., 2012). Je to dáno navýšením produkce hormonů štítné žlázy asi o třetinu, změnou vazebných proteinů, ale i vyššími ztrátami jódu močí díky vyšší glomerulární filtraci v tomto období. Embryo/fetus je v prvních týdnech gravidity závislé/ý na dodávce mateřských tyreoidálních hormonů, vlastní syntéza tyreoidálních hormonů plodu se datuje v období mezi 12. - 16. gestačním týdnem (Límanová Z., 2013), podle některých autorů dokonce mezi 16. - 20. gestačním týdnem (Obregon M. J., 2007). Dle Auso et al. je za kritické období vývoje fetálního CNS považováno období okolo 11. gestačního týdne, kdy dochází k radiální migraci neuronů do mozkové kůry (Auso E., 2004).

Vzhledem k tomu, že tyroxin pro genezi nervové soustavy fetu byl studiemí nezpochybnitelně potvrzen (Morreale D. E., 2004) (Williams G. R., 2008), by diagnostika tyreopatií měla být směřována do co nejčasnějšího období gravidity z důvodů možnosti případného terapeutického zásahu. Ideálně by měla být provedena již prekoncepčně. Dle doporučení České endokrinologické společnosti (ČES ČLS JEP) by ideálně u všech těhotných měly být mezi 5. a 6. gestačním týdnem laboratorně vyšetřeny hladiny TSH, a-TPO a fT4 (Potluková, 2013). Ve zcela ideální situaci by se měl screening tyreopatií odehrát plošně již v prekoncepčním období u žen plánujících graviditu z rukou obvodního gynekologa.

Tyreopatie v graviditě (Jiskra J., 2014):

1. **Rozvinutá hypothyreóza** (0.3 - 0.5 %): elevace TSH, deprese fT4
2. **Subklinická hypothyreóza** (2 – 5 %): elevace TSH, fT4 norma
3. **Izolovaná pozitivita tyreoidálních protilátek** (10 %): TSH, fT4 norma, elevace a-TPO, a-Tg
4. **Izolovaná hypothyroxinémie** (1.3 – 2 %): TSH. A-TPO, a-Tg norma, deprese fT4
5. **Hypertyreóza** (0.1 - 0.4 %): TSH deprese, elevace fT4 a/nebo fT3
6. **Tyreoidální uzly** (3-21 %): solitární či mnohočetné uzly jakékoliv etiologie bez ohledu na laboratorní výsledky

Hypothyreóza

V graviditě se téměř vždy jedná o periferní hypothyreózu. Velmi vzácně může jít o centrální poruchu v rámci Sheehanova syndromu. Nejčastější příčinami hypothyreózy v graviditě jsou CLT, nezvýšení substituční dávky LTX či relativní nedostatek jódu. Hypothyreóza je spojena se sníženou fertilitou ženy, pokud i přesto dojde k otěhotnění,

je gravidita spojena s řadou rizik jak pro ženu, tak i pro plod (Poppe K., 2008). Pro plod postnatálně zejména v oblasti CNS a psychomotorických funkcí, kde hypotyroxinémie matky může vyústit v ADHD, autismus, poruchy kognitivních funkcí, poruchy učení, i vady řeči až mentální retardací a jiné neurologickým defekty (Morreale D. E., 2004) (Pop V., 2003). Míra těchto irreverzibilních poruch je v přímé souvislosti se závažností hypotyroxinémie. Pro subklinickou hypotyreózu byla uvedená rizika také publikována, ale asociace těchto rizik je méně jednoznačná a patrně kvantitativně méně významná (Stagnaro-Green A., 2011). Pro správný neuropsychický vývoj plodu je důležité celé období těhotenství, za kritický je považován však první trimestr těhotenství (Negro R., 2006). Specificky v I. trimestru není tyreoida schopna navýšit produkci tyroxinu nezbytného pro fyziologický vývoj embrya/plodu.

Klinicky probíhá hypotyreóza v době těhotenství pod obrazem zcela nespecifických příznaků, či zcela asymptomaticky. Klinický obraz však neodpovídá míře závažnosti tyreoidálních onemocnění. Všechny tyto rizikové těhotné by měly být identifikovány ideálně prekoncepčně, dispenzarizovány a patřičně terapeuticky zajištěny (Límanová Z., 2007).

CLT je zjištěna s prevalencí 10 – 15 % při cíleném vyšetřování těhotných žen, do té doby může být klinicky zcela asymptomatická bez známek dysfunkce štítné žlázy. V graviditě se manifestuje ve více než 20 % formou subklinické či klinické hypotyreózy, nebo po porodu formou PPT (Potluková E., 2013).

Pro stanovení diagnózy hypotyreózy v graviditě jsou využívány z laboratorních parametrů především TSH a fT4 s typickým nálezem zvýšené hladiny TSH jako kompenzace klesající hladiny fT4 při manifestní formě, či normální hladině fT4 při subklinické variantě hypotyreózy. Protilátky a-TPO určují etiologií onemocnění (a v případě hraničního nálezu přispívají k zahájení terapie) či vyhledávají rizikové ženy pro potenciální rozvoj PPT.

Ženy s již zavedenou terapií hypotyreózy na substituci LTX či ženy s CLT při eufunkci dosud neléčené mají být edukovány o vyšších nárocích štítné žlázy v graviditě a nutnosti zvýšení příjmu jódu po dobu gravidity a minimálně ještě v období výhradní laktace. Ideálně by tyto ženy měly být v péči endokrinologa s prekoncepčně cílovou laboratorní hodnotou sérové hladiny TSH do 2.5 mIU/l a méně zvýšením terapeutické dávky, či zahájením suplementace LTX.

Substituční terapie LTX (preparáty Euthyrox, Letrox) je snadná, levná a bezpečná. Cílem LTX substituce je častěji normalizace původně zvýšené TSH hladiny u

periferní hypotyreózy, nebo normalizace snížené hladiny fT4 u centrální hypotyreózy. Strategie LTX substituce v graviditě se liší od běžné populace.

Manifestní hypotyreóza v graviditě musí být léčena vždy, substituce se zahajuje plnou dávkou a TSH měla být udržována do 2.5 mIU/l v I. trimestru. Vstupuje-li žena do gravidity s již preexistující hypotyreózou, je třeba zvýšit dávku LTX o 25-50 % co nejdříve po zjištění gravidity, obvykle se v graviditě substituují manifestní hypotyreóza v plné dávce 1.5 – 2 ug LTX/kg tělesné hmotnosti. V praxi se s výhodou osvědčilo doporučení obvyklé substituční dávky na den užití LTX 9x týdně, čímž se průměrná denní dávka zvyšuje o 29 %. Následně se dávka zkoriguje dle hladiny TSH v 5. - 6. gestačním týdnu (Jiskra J., 2014).

V graviditě platí doporučení vyhnout se poddávkování, protože i mírná elevace TSH je spojena s komplikacemi v graviditě (Jiskra, 2014). Oproti hodnotám TSH v dolní části rozmezí či mírně pod ním, tyto hodnoty jsou z hlediska dalšího vývoje těhotenství považovány za bezpečné (Casey B. M., 2006).

Podle Potlukové i Jiskry při subklinické formě je spíše doporučena okamžitá terapie v dávce nižší oproti manifestní formě (Potluková E., 2013) (Jiskra J., 2014). Obvykle se podává 0,5-1ug/kg tělesné hmotnosti (Jiskra J., 2014). Někteří autoři doporučují zahájit suplementaci u subklinické varianty pouze v přítomnosti pozitivní a-TPO (Negro R., 2006). Pohled endokrinologů na terapeutický management subklinické varianty hypotyreózy tak není plně jednotný.

Otěhotní-li žena s eufunkční CLT neplánovaně, tyreoida těchto žen nedokáže akceptovat zvýšené nároky v této době (Yassa L., 2010). Doporučuje se iniciační terapeutická dávka 50ug denně a další terapeutické korekce endokrinologem jsou směřovány k cílové hodnotě TSH v I. trimestru menší než 2.5 mIU/l.

U žen v programu IVF substituční terapie hypotyreózy LTX zvyšuje úspěšnost (Kim C., 2011). Dle Negro et al. při substituční terapii LTX dochází k redukcí počtu SA (Negro R., 2006). Iniciační dávka závisí na vstupní hladině TSH, obvykle se pohybuje v rozmezí 25 – 150 ug denně a koriguje se dále v odstupu 6 - 8 týdnů dle zjištěných hladin TSH.

Kontrolní odběry TSH nově zachycených i preexistujících dystyreóz se obecně provádí v 5 - 6., 10., 14., 20. a eventuálně 30. týdnu gravidity. Koncentrace TSH by se měly pohybovat v příslušné normě pro každý trimestr pro těhotné. Po porodu změnou imunotolerance nastává akcentace autoimunitního procesu, je vhodné postupovat vždy individuálně v souladu s doporučeným postupem.

Substituce LTX preexistující formy se snižuje na velikost dávky před otěhotněním (Stagnaro-Green A., 2011). Zatímco ženy s medikací zavedenou až v graviditě jsou na substituční terapii ponechány a korekce výše substituční dávky LTX by měla být prováděna s poporodními kontrolami TSH. Současně je nutné zajistit dostatečný příjem jódu v období těhotenství, porodu, šestinedělí i v období výhradní laktace v denní dávce 150 – 200 ug jodu na den všem těhotným ve formě Jodid 100 ug denně 1.5 - 2 tablety perorálně či formou multivitaminových preparátů (Jiskra J., 2012).

Mimo výše zmíněné období není rutinní suplementace jódem vhodná pro riziko akcentace AITD (Potluková E., 2013). Je-li funkce tyreoidy v graviditě stabilní, po porodu je první kontrola načasována po ukončení šestinedělí, poté každé 3 měsíce do 1. roku, a každých 6 měsíců v době mezi 1. a 2. rokem od porodu (Jiskra J., 2014).

Po porodu, je-li v anamnéze ženy CLT přítomna, do 3 měsíců obvykle přetrvává hyperfáze PPT. Následuje v období 3 - 6 měsíců od porodu hypofáze PPT, jež pokračuje dále, nebo se vrací k normě. Hyperfázi PPT je někdy nutno řešit snížením dávky LTX, ev přechodně suplementaci LTX přerušit úplně (Jiskra J., 2014). Tyreostatika zde nejsou indikována. Přechodně lze využít nízkých a krátkodobých dávek betablokátorů i při laktaci (Jiskra J., 2014).

Izolovaná hypotyroxinémie

Pro izolovanou hypotyroxinémii (IH) svědčí laboratorní nález nízké hladiny fT4 při současné normální hladině TSH a negativitě protilátek a-TPO. Zde je vhodné znovu zmínit diagnostický problém v podobě nízké spolehlivosti běžně užívaných metod stanovení fT4 v graviditě (Negro R., 2006) a také absenci norem referenčního intervalu fT4 v graviditě. V etiologickém zákulisí této nosologické jednotky se spekuluje o velmi pravděpodobném deficitu jódu s relativně vyšší tvorbou T3 než T4 (Lazarus J. H., 2012).

V ČR je tato porucha vzácnější (Springer D., 2009) Velmi pravděpodobně je to dáno vlivem lokace ČR s lepší saturací jódem (Zamrazil V., 2004). Pop et al. potvrdili asociaci mezi izolovanou hypotyroxinémií a horším psychomotorickým vývojem dítěte (Pop V., 2003), což je důsledkem závislosti vývoje mozku plodu na mateřském tyroxinu (Morreale D. E., 2004).

Význam IH v graviditě je nejistý. Terapeutický zásah v podobě suplementace LTX nemá prokázaný přínos, tudíž dle ATA suplementace LTX v tomto případě není indikována (Stagnaro-Green A., 2011). Některé uvedené studie ovšem nevyšetřovaly pozitivitu protilátek a-TPO. V případě současné positivity a-TPO a nálezu hypotyroxinémie by substituce již indikována byla (Potluková E., 2013). Velký důraz je kladen na zajištění dostatečné jodové suplementace v dávce 150 – 200 ug denně (De

Groot L., 2012) Opatrnost se doporučuje u vegetariánů či veganů, u nichž může být i v rámci ČR přítomen jódový deficit (Potluková E., 2013).

Hypertyreóza

Je obecně označována za stav, kdy produkované množství hormonů tyreoidy převyšuje aktuální potřebu organismu. V graviditě se jedná o méně častou tyreoidální poruchu s prevalencí okolo 0.1 – 0.4 % (Jiskra J., 2014).

Řada žen s tyreotoxikózou (Tx) neotěhotní, a je diagnostikována v rámci vyšetřování etiologických příčin sterility. Otěhotní-li však, je případná aktivita onemocnění většinou utlumena „imunosupresivním“ laděním v době gravidity spontánně či malou dávkou tyreostatik. Nejčastěji se etiologicky jedná o GB. Ačkoliv její prevalence u těhotných je nízká, klinické důsledky pro graviditu, vývoj plodu, samotný průběh porodu i postnatální vývoj novorozence jsou nezanedbatelné (Dulíček P., 2002).

Z tyreoidálních etiologických příčin se dále méně často jedná o hyperfunkční fázi AITD, nadbytek jódu, autonomní tyreoidální uzly, nebo situaci iniciovanou předávkováním tyreoidálními hormony. Vyskytuje se ve formě manifestní a vzácně i subklinické.

Pro její diagnózu svědčí laboratorní nález snížené hladiny TSH a zvýšených hodnot fT3 a/nebo fT4. Supresi TSH v I. trimestru je nutno diferencovat od transienční gestační hypertyreózy (TGH), kdy je většinou přítomna pouze izolovaná suprese TSH způsobená zvýšenou tvorbou stimulačních proteinů v placentě. Někteří autoři proto samotnou supresi TSH v I. trimestru nepovažují za spolehlivou diagnostickou známku (R., 2010).

Hodnoty fT4 se v průběhu fyziologického těhotenství nezvyšují, takže hodnoty fT4 a/nebo fT3 nad normu svědčí spíše pro diagnózu hyperfunkce. Vhodné je rovněž současné dovyšetření hladin TRAK, elevace TRAK svědčí pro přítomnost GB. V průběhu farmakoterapie hladiny TRAK obvykle klesají, lze tak jimi současně monitorovat remisi onemocnění. Ke kompletizaci diagnostiky je doporučeno sonografické vyšetření štítné žlázy (Jiskra J., 2014).

Subklinická varianta Tx nepředstavuje závažnou zdravotní komplikaci a není potřeba ji léčit (Casey B. M., 2006) (Abalovich M., 2007). Na rozdíl od subklinické hypertyreózy není terapie subklinické hypertyreózy indikována (Jiskra J., 2014).

Její nebezpečnost spočívá pouze v riziku manifestace, jež se ale v graviditě děje raritně (Brent G. A., 2007). Nasazení tyreostatické terapie při depresi TSH bez současné elevace fT4 a/nebo fT3 (méně často) a bez současných klinických známek Tx v graviditě není přípustné (Russo M. W., 2006)

Je-li Tx známa prekoncepčně, je ideální situací, aby žena vstupovala do gravidity ve stádiu remise. S tím souvisí nutnost prekoncepčního klinického, laboratorního (TSH, fT4, TRAK) i sonografického vyšetření. Je-li stav Tx vyhodnocen jako remise, nasazuje se u žen s Tx rutinní jodidová suplementace Jodidu v dávce 150 – 200 ug denně. Otěhotní-li žena neplánovaně v průběhu tyreostatické terapie, má zvýšené riziko těhotenských komplikací v graviditě.

Farmakoterapie je vedena v I. trimestru tyreostatikem propyltiouracylového typu (PTU) při nižších a středních dávkách, tzn. do 150 – 200 mg denně. Po zklidnění metabolické aktivity Tx a snížení fT4 je třeba snižovat dávku tyreostatik k dosažení ideální hodnoty fT4 v horním pásmu normy. Předávkování tyreostatiky v těhotenství způsobí hypotyreózu plodu se všemi výše zmíněnými negativními dopady. V souvislosti s tyreostatikou imidazolového typu (MMI) byla publikována vyšší incidence vrozených vývojových vad plodu, proto nejsou zařazena do léčby v I. trimestru (Jiskra J., 2014).

Od II. trimestru se preferuje podání 15 – 20 mg MMI. Dle de Groota byla zjištěna po terapii PTU zvýšená incidence hepatopatií v graviditě (De Groot L., 2012). Kontroly jsou v závislosti na klinickém stavu a laboratorních výsledcích nejméně však jednou měsíčně. Hodnota TSH je určující pro případné předávkování tyreostatiky a současně markerem iatrogenní hypotyreózy, jež může indukovat vznik fetální strumy (Zamrazil V., 2012). TSH standardně zůstává dlouho suprimován (Jiskra J., 2014).

Je-li Tx diagnostikována v iničiální fázi gravidity, je doporučeno zahájení terapie PTU do maximální výše 200ug denně. Tx se obvykle zklidňuje v průběhu II. trimestru. Současně je nutný monitoring klinického a laboratorního obrazu, především hladiny fT4 po 2 - 4 týdnech. Hladinu fT4 je optimálně udržovat na hladině 15 - 20 pmol/l, neměla by klesnout pod 12 pmol/l (Zamrazil V., 2012).

V případě dekompenzace Tx vyžadující vysoké dávky tyreostatik, kdy se již objevují známky farmakoterapeutické intolerance, je indikována totální tyreoidektomie (TTE) v období konce II. nebo začátku III. trimestru (Zamrazil V., 2012). Předtím to zákrokem je nutná stabilizace hladiny fT4. Po zákroku je žena na plné substituci LTX. Léčba radiojódem je v graviditě kontraindikována (Jiskra J., 2014).

U žen s GB v osobní anamnéze je nutné v období mezi 30. - 32. gestačním týdnem provést kontrolu sérové koncentrace TRAK. TRAK protilátky procházejí placentární bariérou a mohou způsobit ve vysokých koncentracích hypothyreózu i hypertyreózu (De Groot L., 2012).

U autoimunitních forem Tx po porodu často nastává relaps, doprovázený mimo jiné poruchami laktace. Je-li dávka tyreostatik do 20 mg/den, není kojení kontraindikováno. Při dávkách vyšších, je vhodné kojení přerušit. MMI přechází do mateřského mléka, je rutinně doporučeno jeho užití až po nakojení (Jiskra J., 2014).

Transientní gestační hypertyreóza (TGH)

Stav hyperfunkce štítné žlázy navozený stimulací placentárními hormony s laboratorním nálezem snížené hladiny TSH, kdy hormony fT3 i fT4 bývají v normě a TRAK protilátky jsou nezvýšené (Jiskra J., 2014). Při sonografickém vyšetření štítné žlázy nejsou přítomny známky autoimunitního onemocnění. V klinickém obraze dominují příznaky hyperemesis gravidarum.

Spontánně tento stav odezní koncem I. trimestru bez nutnosti terapeutického zásahu. TGH není indikací k zahájení thyreostatické farmakoterapie. V případě velmi výrazných klinických obtíží je možno přechodně podávat betablokátory v I. trimestru (Jiskra J., 2014).

Eufunkční pozitivita a-TPO

Na tuto nosologickou jednotku poukazují laboratorní nálezy normální hladiny TSH i fT4 spolu s pozitivitou protilátek a-TPO a/nebo a-Tg (Jiskra J., 2014). Glinoer et al. publikovali 20 % riziko elevace TSH u neléčených žen s CLT, jež byly dosud eutyroidní (Glinoer D., 1991). Obdobné výsledky v průběhu gravidity zaznamenali Negro et al. u žen s a-TPO pozitivitou a normální hladinou TSH ve 12. gestačním týdnu (Negro R., 2006). Eufunkční a-TPO pozitivní ženy dle výsledků metaanalýzy 31 observačních studií skupiny Thangaratinam et al. mají 3x vyšší riziko SA (Thangaratinam S., 2011). Toto riziko není závislé na klinickém obraze (Glinoer D., 1997) a lze jej eliminovat včasným podáním LTX (Negro R., 2006)

O substituční léčbě LTX (tzv. eutyroxinemická terapie) u a-TPO pozitivních těhotných s normální vstupní hladinou TSH se rozhoduje obvykle na podkladě výše titru protilátek s přihlédnutím k anamnéze, sonografickému vyšetření a hladině fT4. Léčba je doporučována v dávce 25 – 75 ug LTX denně a korigována dle dalších výsledných hodnot TSH pro příslušný trimestr (Jiskra J., 2014). Dle Horáčka et al. vysoce pozitivní a-TPO těhotné se doporučuje spíše léčit, v pozadí je snaha zabránit rozvoji

hypotyreózy během gravidity, protože riziko progresse do hypotyreózy je až 20 % (Horáček J, 2010). Ve studii Negro et al. pozorovali redukcí SA o 36 % a předčasných porodů o 69 % při zavedení suplementace LTX u eufunkčních a-TPO pozitivních těhotných (Negro R., 2006). V případě žen podstupujících IVF léčbu dosáhla hodnota redukce SA při suplementaci LTX až 75 % (Negro R., 2006). Terapeutický přínos eutyroxinémické léčby je zjevný při současném minimálním riziku (Dosiou C., 2008).

V praxi se postpartálně zcela obecně doporučuje, aby ženy léčené před graviditou byly vráceny na stejnou výši dávky jako před graviditou. U žen s nově diagnostikovanou tyreopatií je vhodné léčbu ponechat v dosavadní podobě a korigovat ji dle hladin TSH po šestinedělí (Jiskra J., 2014).

Dle Galofre et al. u více než poloviny žen s CLT je však v poporodním období potřebné navýšení substituční dávky oproti dávce původní (Galofre J. C., 2010). Doporučena je i četnější frekvence kontrol po ukončení šestinedělí, dále v rozmezí 3, 6 a 12 měsíců po porodu s cílem včasné diagnostiky ev. nástupu PPT. U žen s pozitivitou a-TPO eutyroidních před graviditou je riziko rozvoje PPT až 40 %, u 20 % těchto žen přetrvává hypotyreóza 1 rok po porodu a plynně přechází do CLT (Stagnaro-Green A., 2011).

Hyperfunkční fáze postpartální tyreoiditidy (PPT) si může vyžádat snížení dávky, či vysazení substituční terapie LTX. Případně se krátkodobě nasazují betablokátory v malých dávkách s možností pokračování laktace. Tyreostatika zde však indikována nejsou (Jiskra J., 2014).

V graviditě probíhající AITD může vzácně vyústit v transientní hypothyreózu, nebo hyperthyreózu novorozence. Díky novorozeneckému screeningu na kongenitální hypothyreózu je jejich diagnostika efektivní a časná.

Postpartální tyreoiditis (PPT)

Je variantou AITD. Jedná se přechodnou, nebo trvalou poruchu funkce štítné žlázy vzniklou v průběhu prvního roku po porodu s prevalencí 5 – 15 % v lokaci s dostatečným jódovým zásobením (Lazarus J. H., 2008).

Byla publikována rovněž indukce této poruchy po SA (Špitálníková S., 2011). Příčinou zvýšené incidence v poporodním období je tzv. rebound fenomén imunotolerance v těhotenství (Jiskra J., 2011). Rizikovým faktorem vzniku PPT je přítomnost protilátek a-TPO a/nebo a-Tg kdykoliv během gravidity. Titry antityreoidálních protilátek se po porodu zvyšují, jako všechny imunoglobuliny třídy

IgG, ztrácí specifitu při rozpoznání epitopů, přibližně u poloviny z nich se vyvine PPT (Negro R., 2006) (Potluková E., 2013).

Ženy, u nichž se již AITD objevila v předchozí graviditě, mají riziko rekurence PPT až 70 %. Těhotné s anamnézou DM I. typu mají riziko vzniku PPT 25 % (Špitálníková S., 2011).

Chudá klinická symptomatologie PPT přispívá k nízkému diagnostickému záchytu. Ke klinickým projevům patří palpitace, únava, nespavost, ev. depresivní porucha, jedná se o symptomatologii často splývající s běžným poporodním obdobím. Klinicky 33 % PPT manifestuje hyperfunkcí s přechodem do hypofunkce, 33 % PPT dočasnou hyperfunkcí vedoucí k eutyreóze a 33 % PPT pouze formou hypofunkce (Jiskra J., 2012).

U hyperfunkční PPT tyreostatika indikována nejsou. Lze podávat krátkodobě a pouze v malých dávkách betablokatory, protože přecházejí do mateřského mléka a mají vliv i na srdeční frekvenci dítěte. Spontánně odezní hyperfunkce v rámci PPT 4 - 6 týdnů. U žen s PPT je potřebná dlouhodobá dispenzarizace z důvodu rizika trvalé hypotyreózy. Hypotyreóza by měla být substituována LTX za současné jódové suplementace v době výhradní laktace (Jiskra J., 2012).

2.8.4. Screening tyreoidálních dysfunkcí v graviditě

Problematika zavedení screeningu tyreoidálních dysfunkcí v graviditě je v ČR diskutována dlouhodobě. Vyžaduje úzkou mezioborovou spolupráci mezi gynekology, endokrinology a praktickými lékaři.

Přestože většinový názor je, že neléčené formy tyreoidálních dysfunkcí mají spíše negativní dopad, jak na průběh těhotenství, tak na samotný vývoj embrya/plodu i na postnatální vývoj jedince, upevnění screeningu v poskytované péči o těhotné a konkretizace jeho podoby nadále není jednotná. Hlavní rozpory panují v rozsahu provedení screeningu, zda univerzální, nebo cílený na rizikové ženy „case finding“, ve vyšetřovaných parametrech, v timingu, v provádějícím specialistovi, finančním zajištění screeningu a též v postoji k terapii žen s pozitivním záchytem (Jiskra J., 2012).

Česká endokrinologická společnost ČES ČLS JEP doporučuje screening tyreopatií formou krevního odběru ve vyšetřovaném rozsahu TSH, a-TPO a fT4 co nejdříve po zjištění gravidity, nebo prekonceptčně (v tomto směru doposud není podporována vyhláškou MZ).

Existují obdobné názory v zahraničí, že ideálním screeningovým modelem z důvodu eliminace možného negativního dopadu nepoznaných tyreoidálních dysfunkcí pro matku i plod by byl prekoncepční screening u žen plánujících graviditu, nebo screening v časně fázi gravidity mezi 5. a 6. týdnem těhotenství (Morreale D. E., 2004) (De Groot L., 2012) . Autory Surks et al. toto tvrzení bylo publikováno již v roce 2004 (Surks M. I., 2004).

Univerzální screening je zřejmě nejefektivnější, ale byl dosud prosazen v pouze v několika zemích světa (včetně např. Slovenska). Odpůrci univerzálního screeningu kontruují nedostatkem randomizovaných kontrolních studií prokazujících benefit při terapii těhotných se subklinickou hypotyreózou nebo eufunkčních a-TPO pozitivních těhotných jak pro průběh gravidity, tak i pro vývoj dítě.

V roce 2011 publikovala American Thyroid Association (ATA) nové směrnice pro terapii tyreoidálních dysfunkcí v graviditě, v němž opětovně potvrdila doporučení tzv. case-finding screeningu u vysoce rizikových žen. Plošný screening dle ATA nelze ani doporučit, ani ho zamítnout. Současně však ATA uvedla, že tyreoidální dysfunkce naplňují řadu kritérií, jež shledávají jako vhodné pro zavedení celoplošného screeningu (Stagnaro-Green A., 2011).

Case finding screening je podporován například Abalovichem et al. (Abalovich M., 2007). Ověřeným a známým nedostatkem je, že při režii case finding screeningu uniká minimálně 25 – 50 % těhotných žen s abnormalitami v tyreoidálních laboratorních testech (Vaidya B., 2007). I přes zmíněné rozpory byly publikovány práce, které vyhodnotily univerzální screening jako nákladově efektivní (Dosiou C., 2008). V ČR obdobné studie provedeny zatím nebyly.

U vysoce rizikových žen doporučuje ATA vyšetřit pouze TSH u žen s vysokým rizikem manifestní hypotyreózy v graviditě. Vyšetření by měla být indikována obvodním gynekologem. Jedná se o 12 rizikových faktorů, mezi nimiž je ale i paradoxně pozitivita a-TPO protilátek. Jako kompromisní prvek mezi cíleným a univerzálním screeninem byl přidán indikační parametr věk nad 30 let (Stagnaro-Green A., 2011).

Dle výsledků publikace tuzemských autorů Potluková et al. ženy mladší 30 let mají stejné riziko AITD jako ženy starší (Potluková E., 2011)

Indikační parametry case-finding screeningu tyreoidálních poruch v graviditě (Stagnaro-Green A., 2011):

- tyreopatie v OA či RA
- DM I. typu nebo jiná AI onemocnění v OA nebo RA

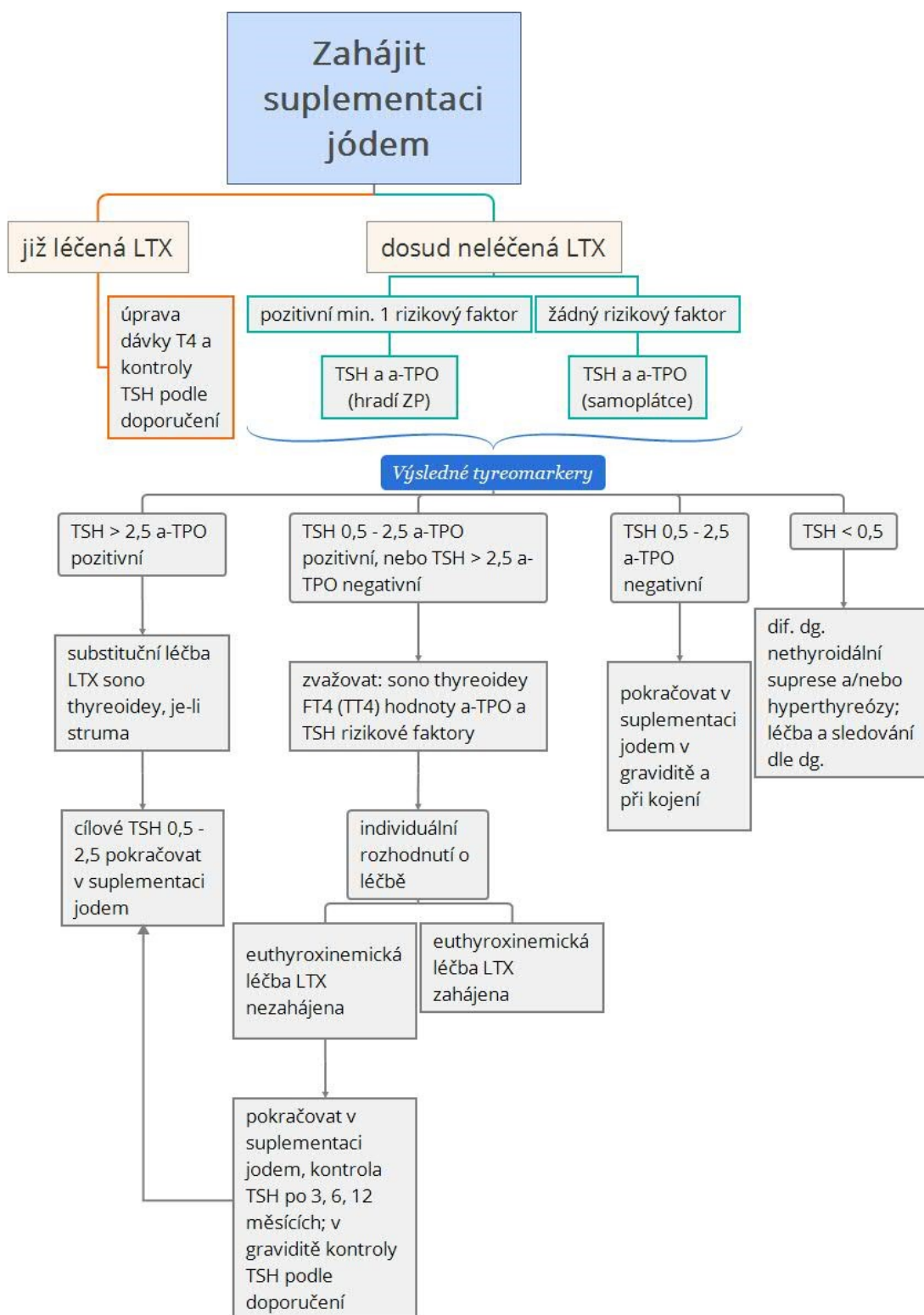
- příznaky tyreoidální dysfunkce nebo struma
- sterilita
- pozitivita a-TPO
- věk nad 30let
- BMI nad 40 kg/m²
- st. p. potratu, předčasném porodu
- st. p. operaci tyreoidy
- st. p. radioterapii hlavy a/nebo oblasti krku
- farmakoterapie lithiem, amiodaronem, nedávná aplikace jodové kontrastní látky
- rezidence v oblasti středního či těžkého jodového deficitu

Načasování screeningu vychází ze skutečnosti, že embryo/fetus je minimálně do 12. gestačního týdne plně a do 20. gestačního týdne parciálně závislé/lý na maternální produkci tyroxinu. Proto je většinou autorů doporučován ideálně prekoncepčně, v období mezi 5. - 6. gestačním týdnem, nebo nouzově v době krevního odběru na I. trimestrální kombinovaný screening (9. - 11. gestační týden) (Jiskra J., 2014). U a-TPO pozitivních žen je doporučeno při prekoncepčním laboratorním vyšetření a jeho opětovné zopakování mezi 5. - 6. gestačním týdnem (Límanová Z., 2013).

Univerzální screening je zřejmě nejefektivnější strategií k záchytu klinicky významných tyreopatií v graviditě, přesto se doposud v ČR nepodařilo prosadit ani case finding variantu. Byly publikovány cost effective analýzy, jež potvrdily nákladovou efektivitu univerzálního screenování žen v graviditě (Dosiou C., 2008) (Thung S. F., 2009)

V ČR obdobné studie provedeny nebyly. Zjednodušené schéma pro screening a terapii tyreopatií v graviditě vychází z národních doporučení ČES ČLS JEP, jež pro ČR vypracovala Límanová et al. (viz obrázek č. 3: Schéma doporučeného postupu screeningu a terapie tyreopatií v graviditě). Při pozitivitě alespoň jednoho rizikového faktoru je vhodné vyšetřit TSH a a-TPO, jež jsou plně hrazeny ze zdravotního pojištění (Límanová Z., 2013).

Obrázek 3: Schéma doporučeného postupu pro screening a terapii tyreopatií v graviditě



Ženám, které nesplňují indikační kritéria case finding screeningu, by měla být řádně vysvětlena problematika tyreopatií v době gravidity a nabídnuta alternativa vyšetření tyreoidální laboratorních parametrů v rozsahu dle ČES ČLS JEP za přímou

úhradu obvodním gynekologem při plánování gravidity, či v době ultrazvukové verifikace viability plodu v období raného těhotenství.

3. Experimentální část

3.1. Determinace SA - úloha genu pro APO E

3.1.1. Úvod

Embryonální vývoj je popisován jako složitý komplexní proces, do nějž zasahuje řada genetických i negenetických faktorů, které mohou potenciálně vyústit v jeho poruchu, či úplnou zástavu vývoje jedince. Za jednu z hlavních determinant je považován právě genetický faktor, jež je typickou determinantou především pro období časně gravidity (Zhang Y. X., 2009) (Garcia Enguidanos A., 2002).

Dle Cauleyho et al. v populaci dochází k selekci jedinců s APO E4 alelou (Cauley J. A., 1993). Navzdory publikované převážně negativní roli alely APO E4 v nedědičných analyzovaných patologiích se prevalence APO E4 v populaci pohybuje stále relativně vysoko v rozmezí 2 % (Panza F., 1999) – 36.8 % (Kamboh M. I., 1990) v závislosti na konkrétní populaci. Na příkladu několika málo studií, které publikovaly možný benefit přítomnosti alely APO E4 jako např. (Keltikangas-Järvinen L., 1993) nelze spolehlivě vysvětlit, proč je prevalence alely E4 v populaci stále tak vysoká (Stakias N., 2006).

Jedna z diskutovaných možností je asociace alely E4 a doposud nerozpoznaného faktoru v průběhu prenatálního vývoje, jež by mohl fungovat jako protektivní činitel v průběhu ontogeneze (Zetterberg H., 2002).

3.1.2. Cíl projektu

Porovnat frekvence APO E polymorfismů ve skupině spontánně potracených embryí/ plodů do ukončeného 12. gestačního týdne a porovnat ji s kontrolní skupinou zdravých dospělých s cílem prověřit domnělou asociaci APO E4 v genetické determinaci časného SA.

3.1.3. Pracovní hypotéza

Prevalence alely APO E4 jako možný protektivní faktor ve skupině spontánně potracených embryí/fétů do 12. gestačního týdne by měla být signifikantně nižší ve srovnání s kontrolní skupinou.

3.1.4. Vyšetřované subjekty a metody

Sledovaný soubor SA (SA 1 - izolovaný spontánní potrat, SA 2 - recidivující a habituální potrat)

Sledovaný soubor SA byl vytvořen ze 410 vzorků spontánně potracené embryonální/ fetální tkáně získaných od kavkazských žen ve věku 15 - 44let. Ty byly dále rozčleněny do 2 příslušných skupin podle koncepční anamnézy ženy na SA 1 (334 vzorků embryonální/fetální tkáně od žen s izolovaným potratem) a SA 2 (76 vzorků embryonální/fetální tkáně od žen s recidivujícím nebo habituálním potracením).

Výzkum se uskutečnil v letech 2008 - 2010 na Gynekologicko-porodnické klinice VFN a 1. LF UK v Praze. Ženy byly na kliniku odeslány obvodním gynekologem z důvodu neprosperující gravidity do ukončeného 12. gestačního týdne včetně. Diagnóza SA v klinické variantě missed abortion byla ověřena vaginálním sonografickým vyšetřením (v individuálních případech doplněna laboratorním vyšetřením hodnotou hCG). Vždy byla histologicky verifikována vstupní diagnóza SA potraceného embryonálního/ fetálního materiálu. Ženy podstoupily evakuaci dutiny děložní spojenou s instrumentální revizí v celkové anestezii, při níž byly získány vzorky potraceného embryonálního/ fetálního materiálu na histologické a genetické vyšetření. Genetické vyšetření proběhlo na pracovišti IKEM.

Kontrolní skupina K

Kontrolní skupinu K tvořili účastníci tzv. post-MONICA studie (Cifkova R, 2010), v níž byly získány vzorky DNA od 2 606 kavkazských jedinců ve věku 25 - 65 let. Jednalo se o soubor 1 223 mužů a 1 368 žen.

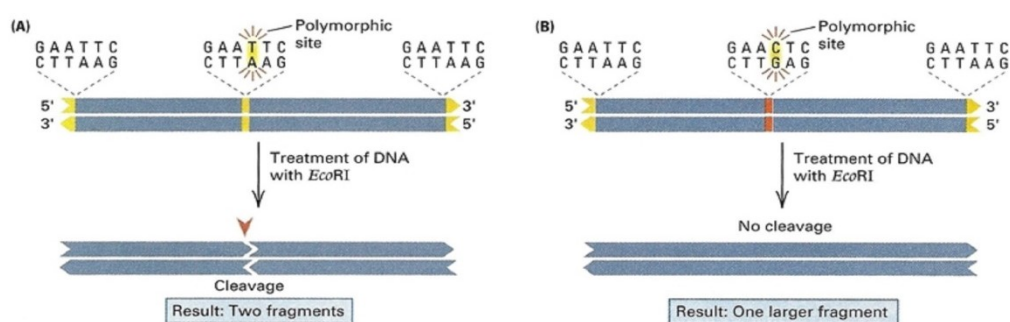
Studie byla schválena etickou komisí Institutu pro klinickou a experimentální medicínu (IKEM) v souladu s Helsinskou deklarací z roku 1975. Všechny participující objekty potvrdily svou dobrovolnou účast v projektu podepsáním informovaného souhlasu.

3.1.5. Materiál a metodika

Získané vzorky embryonální/ fetální tkáně byly uchovány při teplotě minus 20 °C. DNA byla extrahována modifikovanou třídící metodou (Miller S. A., 1988). Ke genotypizaci polymorfismů APO E byla využita metoda využívající principu polymorfizmu délky restričních fragmentů (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP).

RFLP je metoda, jejíž podstatou je enzymatické štěpení molekul DNA ve specifickém restričním místě enzymem, který se nazývá restriční endonukleáza. Biochemickou aktivitou restričních endonukleáz je hydrolyza fosfodiesterové vazby. Tyto hydrolytické enzymy štěpí cílovou DNA v různých místech v závislosti na sekvenci DNA – obvykle jde o cílová místa o 4 – 6 nukleotidů, která mají charakter palindromických sekvencí (tzn. mají stejné pořadí nukleotidů čtené ve směru od 5' konce na obou komplementárních vláknech DNA). DNA je tak rozštěpena na různě dlouhé fragmenty podle individuálního pořadí bazí a podle rozpoznané sekvence viz Obrázek 4: Štěpení DNA restriční endonukleázou EcoRI.

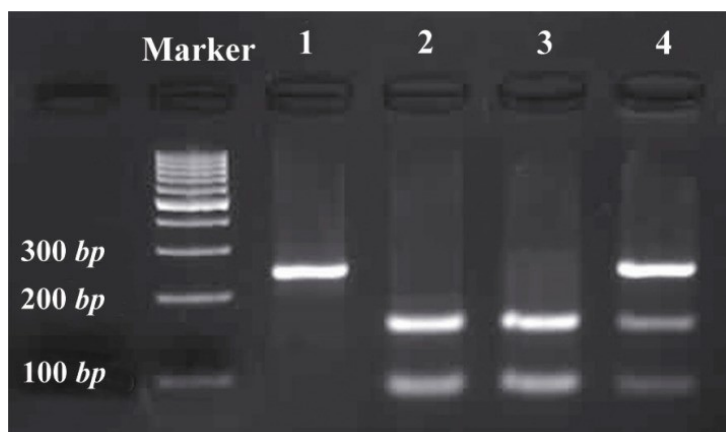
Obrázek 4: Štěpení DNA restriční endonukleázou EcoRI⁵



Po rozdělení amplifikovaných fragmentů pomocí gelové elektroforézy lze na základě velikosti a počtu fragmentů sledovat rozdíly ve studovaných sekvencích - polymorfizmy a mutace viz Obrázek 5: Ukázka elektroforézy v agarózovém gelu. Polymorfizmy/mutace v délkách restričních fragmentů jsou způsobeny substitucemi bází, insercemi a delecemi ve studované sekvenci, které způsobí změnu počtu restričních míst.

⁵ Zdroj: <https://www.youtube.com/watch?v=UcA9W7BbacQ>

Obrázek 5: Ukázka elektroforézy v agarózovém gelu⁶



Polymerázová řetězová reakce proběhla za použití primerů 5'- CGC GCA GGC CCG GCT GGG CGC GGA - 3' a 5'- CGG ATG GCG CTG AGG CCG CGC TCG - 3' a restričního enzymu Hin6I (Hixson J. E., 1990). Restriční fragmenty byly separovány za použití vertikální elektroforézy s 10 % polyacrimid gelem.

Statistické zpracování:

Pro statistickou analýzu byly vyšetřeny a porovnány všechny individuální genotypy a z důvodu nízké prevalence genotypů byly sloučeny genotypy APO E2/E2 spolu s APO E2/E3 a také dále APO E4/E4 spolu s APO E3/E4. Pro testování významnosti rozdílů v prevalenci alel byl použit Pearsonův Chí-kvadrát test, případně Fisherův exaktní test. Byl použit Poissonův regresní model s poissonovsky rozdělenou závislou veličinou. Hladina statistické významnosti P byla stanovena na 0.05. Data byla zpracována programem R (R Core Team, 2014, version 3.1.2) a (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3.1.6. Výsledky

Všech šest genotypových variant APO E bylo prokázáno jak ve sledovaném souboru SA, tak i v kontrolní skupině (viz Tabulka 2).

⁶ Zdroj: https://www.researchgate.net/figure/262382540_fig1_PCR-RFLP-analysis-by-NSi-I-restriction-enzyme-digestion-To-determine-the-samples

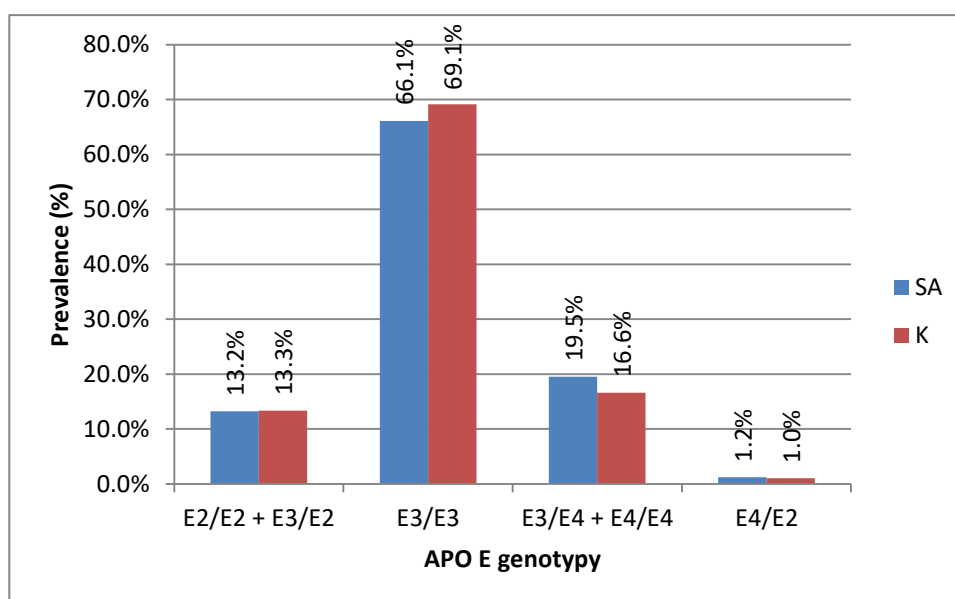
Tabulka 2: Distribuce polymorfismů apolipoproteinů E (APO E) v analyzovaných souborech

APO E	SA		SA1		SA2		kontrola	
	N (počet)	frekvence (%)	N (počet)	frekvence (%)	N (počet)	frekvence (%)	N (počet)	frekvence (%)
E2/E2	6	1.5	5	1.5	1	1.3	20	0.8
E3/E2	48	11.7	36	10.8	12	15.8	324	12.4
E3/E3	271	66.1	225	67.3	46	60.5	1 787	68.6
E4/E3	75	18.3	59	17.7	16	21.1	406	15.6
E4/E2	5	1.2	5	1.5	0	0.0	36	1.4
E4/E4	5	1.2	4	1.2	1	1.3	33	1.3
Total	410		334		76		2 606	

Nejvyšší prevalence byla zjištěna u varianty alely APO E3 (81.1 %), následovaná alelou APO E4 (11.0 %) a nejnižší prevalence měla alela APO E2 (7.9 %).

Výsledné APO E genotypy ve sledovaném SA souboru (APO E2/E2 + E3/E2 = 13.2 %; APO E3/E3 = 66.1 %; APO E3/E4 + E4/E4 = 19.5 %; APO E4/E2 = 1.2 %) se významně neliší ($P = 0.653$) od kontrolní skupiny K (APO E2/E2 + E3/E2 = 13.3 %; APO E3/E3 = 69.1 %; APO E3/E4 + E4/E4 = 16.6 %; APO E4/E2 = 1.0 %) viz Graf 3.

Graf 3: Distribuce APO E genotypů u infertilních žen (SA) a kontroly (K)



Distribuce genotypů APO E v souboru žen s izolovaným potratem (APO E2/E2 + E3/E2 = 12.3 %; APO E3/E3 = 60.5 %; APO E3/E4 + E4/E4 = 18.9 %; APO E4/E2 = 1.5 %) a souboru žen s recidivujícím a habituálním potracením (APO E2/E2 + E3/E2 = 17.1 %; APO E3/E3 = 60.5 %; APO E3/E4 + E4/E4 = 22.4 %; APO E4/E2 = 0 %) se signifikantně neliší ($P = 0.507$).

Zastoupení jednotlivých APO E genotypových variant je v souladu s distribucí alel APO E publikovaných ve studiích APO E variant u středoevropské populace (Gerdes L. U., 1992) (Hubáček J. A., 2010).

3.1.7. Diskuze

Potenciální role APO E polymorfismů byla analyzována v několika studiích s odlišným designem. Všechny tyto studie byly tvořeny relativně nízkým počtem případů a kontrol. To zvyšuje riziko vzniku falešně pozitivních a falešně negativních výsledků.

Zetterberg et al. potvrdili signifikantně nižší frekvenci APO E4 u spontánně potracených embryí v porovnání s kontrolním souborem tvořeným 110 dospělými (Zetterberg H., 2002). Nezávisle byla navržena možná protektivní role APO E4 dalšími dvěma studiemi. APO E4 alela byla nalezena ve vyšší prevalenci u zdravých novorozenců ve srovnání s mrtvě narozenými (Becher J. C., 2006). Nález alely APO E4 byl signifikantně nižší u dětí s časným IDS (IDS-infant death syndrom, syndrom náhlého úmrtí) (Becher J. C., 2008).

Přítomnost APO E genotypů u žen s rekurentním SA byla řešena v několika studiích. Některé z nich nepotvrdily asociaci mezi přítomností maternálního APO E polymorfismu a rekurentního SA (Goodman C., 2010) (Bianca S., 2010) (Agarwal M., 2010) (Zhang H. L., 2010).

Následně však několika studiemi byla popsána asociace maternálního APO E genového polymorfismu a rekurentního SA, kdy maternální APO E4 alelu označili někteří autoři jako potenciální rizikový faktor rekurentního SA (Asgari N., 2013) (Menq H. X., 2013) (Li J., 2014).

Je diskutováno, že role APO E polymorfismu v embryonálním vývoji a v problematice infertility je primárně zprostředkována prostřednictvím role v nervovém systému, resp. ve vývoji centrálního nervového systému. Byla publikována studie potvrzující pozitivní efekt přítomnosti alely APO E4 v dětství, kdy kojenci - nositelé APO E4 alely - měli lepší psychomotorický vývoj a možnost vyšší úrovně dosaženého vzdělání v dospělosti (Hubáček J. A., 2001).

U starších dospělých byla prokázána negativní role APO E4 alely v oblasti neuronálních komplikací (Parkinsonova nemoc, časný nástup Alzheimerovy choroby) a její přítomnost označena za jasně negativní.

Námi nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v genotypových/alelických frekvencích APO E polymorfismů mezi vzorky spontánně potracených embryí/plodů a adultními subjekty. APO E polymorfismus proto nelze označit za determinující faktor v roli časného SA.

3.1.8. Závěr

Nejvyšší frekvence polymorfismů apolipoproteinu E (APO E) byla zjištěna u alely APO E3 (81.1 %), následovaná alelou APO E4 (11.0 %), nejnižší prevalenci měla alela APO E2 (7.9 %). Zastoupení jednotlivých APO E genotypových variant je v souladu s výsledky studií APO E variant u středoevropské populace (Gerdes L. U., 1992) (Hubáček J. A., 2010).

Distribuce genotypů APO E se významně neliší při porovnání sledovaného souboru infertilních žen a kontrolní skupiny ($P = 0.653$), souboru žen s izolovaným potratem a souboru žen s recidivujícím a habituálním potracením ($P = 0.507$).

APO E polymorfismus nelze označit za determinující faktor v roli časného SA.

3.2. Determinace SA - význam vybraných trombofilních stavů

3.2.1. Úvod

Spektrum možných kauzálních příčin časného SA je pestré. Další z možných příčin SA mohou být právě hereditární trombofilní mutace. Dle řady studií (Grandone E., 1997) (Ridker P. M., 1998) (Sarig G., 2002) jsou hereditární trombofilní mutace statisticky významným limitujícím faktorem u žen s recidivujícím a habituálním potracením. Jiné studie hereditární trombofilie jako limitující faktor v etiologii SA nepotvrdily (Linguist P. G., 1999). Nejvyšší prevalenci v české populaci mají hereditární trombofilie mutace faktoru V (FVL) a mutace faktoru II (PT G20210A) (Dulíček P., 2005).

3.2.2. Cíl projektu

Zjistit maternální prevalenci hereditárních trombofilních mutací FVL a PT G20210A ve sledovaném souboru žen s minimálně jedním časným spontánním abortem (SA) do 12. gestačního týdne po předchozí eliminaci základních etiologických organických příčin SA.

3.2.3. Pracovní hypotéza

Ženy s recidivujícím (2 SA v anamnéze) a habituálním (3 a více konsekutivních SA) potracením mají vyšší prevalenci hereditárních trombofilií FVL a PT G20210A.

3.2.4. Vyšetřované subjekty a metody

Soubor SA (SA 1 - izolovaný potrat, SA 2 - recidivující a habituální potrat)

První část výzkumu proběhla v letech 2008 - 2010 na Gynekologicko-porodnické klinice 1. LF UK a VFN v Praze. Do vyšetřovaného souboru bylo zařazeno 100 žen české národnosti s anamnézou SA v klinické variantě missed abortion. Z nich 75 žen (75 %) potratilo právě jednou (SA 1- izolovaný spontánní potrat), 17 (17 %) žen potratilo dvakrát (recidivující potrat) a 8 (8 %) žen 3 a vícekrát (habituální potrat). Z důvodů statistické validity dat byly ženy s 2 a 3 a více potraty sloučeny do skupiny SA 2 (recidivující a habituální potrat).

Soubor SA tvoří ženy, které byly na Gynekologicko-porodnickou kliniku referovány obvodním gynekologem z důvodu neprospívající intrauterinní gravidity do ukončeného 12. gestačního týdne. Na zdejším pracovišti proběhl veškerý sběr anamnestických dat, klinická gynekologická, laboratorní, sonografická a vaginální vyšetření včetně vlastního odběru krevního vzorku na vyšetření obou zjišťovaných trombofilních mutací. Ženy po sonografické verifikaci vstupní diagnózy (v individuálních případech doplněnou o hladiny choriového gonadotropinu - hCG) podstoupily evakuaci dutiny děložní v celkové anestezii. Získaný embryonální/ fetální materiál byl podroben histologickému (i cytogenetickému) vyšetření. Pacientky s histologicky verifikovanou diagnózou SA byly po ověření nepřítomnosti vylučujících vstupních kritérií a podpisu informovaného souhlasu (včetně souhlasu s odběrem a zpracováním genetického materiálu) přijaty do sledovaného souboru. Vlastní analytická fáze genetického vyšetření odebraného krevního vzorku na přítomnost hereditárních trombofilních stavů proběhla v rámci grantového projektu na pracovišti genetiky GHC kliniky metodou HRM.

Vylučující kritéria:

- známé geneticky podmíněné onemocnění v RA či OA
- abnormální výsledek cytogenetického vyšetření potraceného embryonálního/ fetálního materiálu
- abnormální ultrazvukový nález
 - vrozená vývojová vada děložní

- polypus corporis uteri
- uterus myomatosus: submukózní myom, intramurální myom s průměrem větším než 50 mm, transmurální myom
- autoimunitní onemocnění v OA či RA
- BMI nad 29.9 kg/m²
- abnormální výsledky krevního vyšetření:
 - TSH vyšší než 2.5 mIU/l
 - a-TPO vyšší než 143 IU/ml
 - glykémie nalačno vyšší než 5,0 mM
 - CRP více než 10 ug/l
 - PRL více než 800 mIU/l
- abusus drog či alkoholu v OA
- infekce v I. trimestru v aktuální sledované graviditě
- pozitivita HIV, HBsAg, anti-HCV, syfilis
- riziková sociálně pracovní anamnéza s možným negativním dopadem na I. trimestr gravidity

Kontrolní skupina (K)

Kontrolní skupinu tvoří soubor 76 českých žen, které dosud nepotratily. Všechny s minimálně jednou fyziologickou graviditou zakončenou úspěšně termínovým porodem a uzavřenými koncepčními plány. Sběr anamnestických dat, klinické gynekologické vyšetření a sonografické vaginální vyšetření žen z kontrolní skupiny bylo po podepsání informovaného souhlasu uskutečněno na soukromém gynekologickém ambulantním pracovišti v Praze 8 v letech 2012-2015. Zde byla provedena preanalytická fáze vyšetření obou zjišťovaných hereditárních trombofilních markerů. Vlastní analytická fáze metodou HRM na oddělení genetiky kliniky GHC. Ženy absolvovaly vstupní vyšetření zahrnující sběr anamnestických dat, podepsaly informovaný souhlas s genetickým vyšetřením a účastí ve studii.

Vstupní kritéria:

- podepsaný informovaný souhlas s odběrem genetického materiálu a účastí ve studii
- žádná těhotenská ztráta v anamnéze (časná ani pozdní)
- minimálně jedna fyziologická gravidita zakončena úspěšně termínovým porodem
- uzavřené reprodukční plány

3.2.5. Materiál a metodika

Laboratorní vyšetření

Preanalytická fáze

Odběr žilní krve na molekulárně genetické vyšetření nevyžaduje žádnou speciální přípravu. K odběru periferní krve byl použit uzavřený vakuový systém Vacuteiner se sterilní plastovou zkumavku s dobře těsnícím šroubovatelným víčkem s náplní EDTA s fialovým uzávěrem. Byla odebrána venózní krev v množství 2 - 5 ml. Odebraná krev byla uchována v lednici při teplotě 4 – 8 °C. Transport do laboratoře byl uskutečněn dle laboratorních stanov nejpozději do 5dnů ode dne odběru.

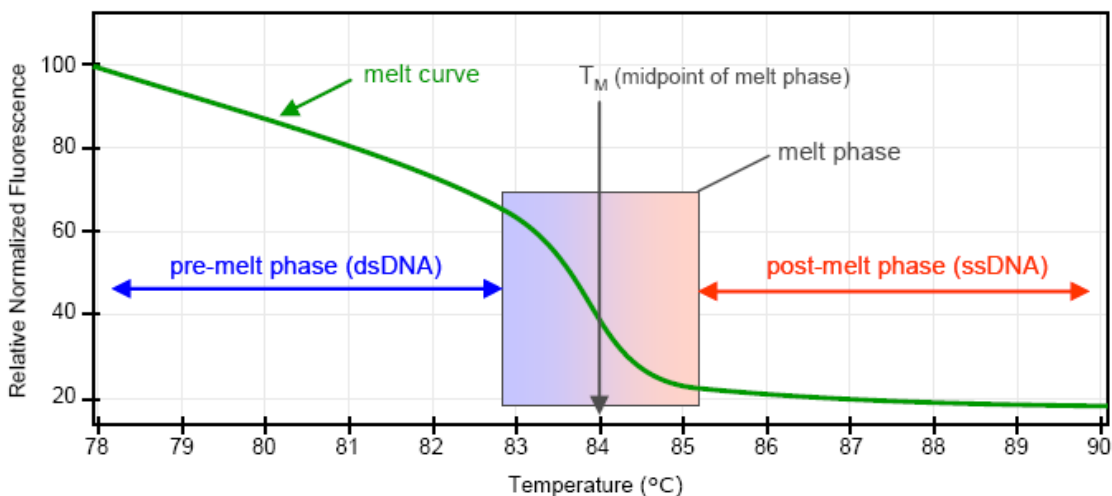
Analytická fáze

High Resolution Melting (HRM)

K detekci mutací v genech FV a FII byla na pracovišti GHC použita metoda HRM (Wittwer C. T., 2003) (Erali M., 2008). Princip metody spočívá v analýze křivek tání s vysokým rozlišením. Vlivem postupně se zvyšující teploty se původně dvouřetězcová molekula DNA přeměňuje na jednořetězcovou. Přítomnost mutace v heterozygotní formě v sekvenci DNA je reprezentována přítomností nekomplementárních bází, čímž je tato molekula méně stabilní a denaturuje při nižší teplotě. Postupným táním dvouřetězcové DNA se uvolňuje fluorescenční barvivo, jehož intenzita je snímána a zaznamenána přístrojem s citlivým fluorescenčním detektorem. Výsledkem je tzv. křivka tání popisující závislost intenzity fluorescence na teplotě.

Křivka tání se skládá ze třech částí. Z tzv. pre melt fáze, kdy je v reakci přítomna DNA pouze ve dvouřetězcové formě a intenzita fluorescence je nejvyšší. Postupným zvyšováním teploty dochází k denuraci dvouřetězcových molekul, což se projeví prudkým poklesem intenzity fluorescence. Tato fáze se nazývá melt fáze, tj. fáze tání. Inflexní bod křivky je označován jako T_m (teplota tání, melting temperature). Poslední fáze, označovaná jako post melt, je charakteristická přítomností pouze jednořetězcových molekul DNA, a tedy minimální fluorescencí.

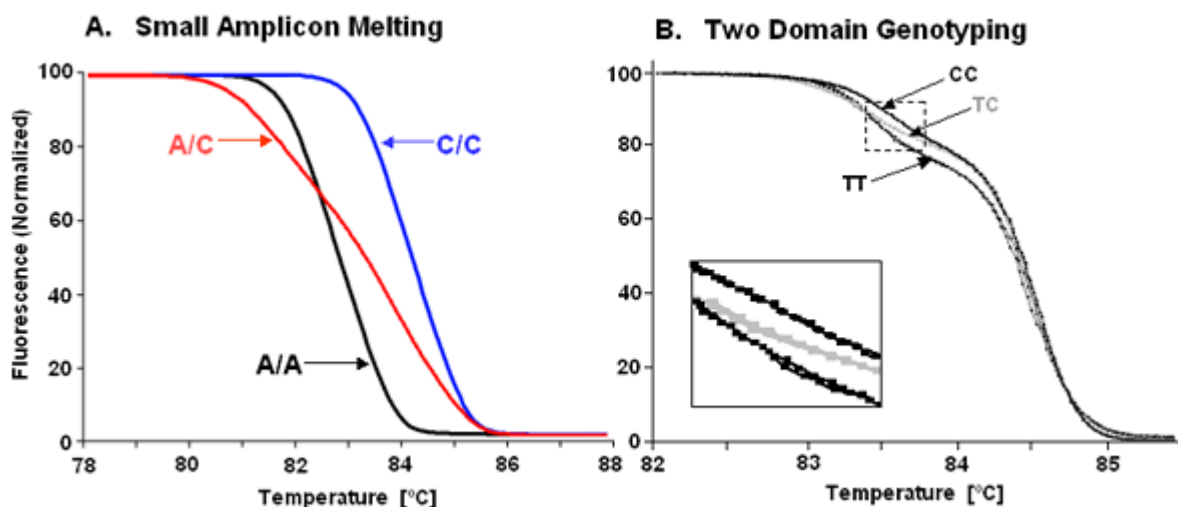
Graf 4: Křivka tání⁷



HRM je vysoce senzitivní metoda, která umožňuje detekovat jednonukleotidové varianty i menší delece a inzerce (White H., 2006) HRM využívá principu analýzy heteroduplexů. Po amplifikaci heterozygotního vzorku, který nese dvě alely téhož genu lišící se v jediné bázi, se provede tepelná denaturace s následnou reasociací jednotlivých řetězců. Vzniknou tak čtyři různé produkty: dva homoduplexy vykazující klasické Watson-Crickovo párování bází a dva heteroduplexy s „mismatch“ párováním bází. Všechny čtyři duplexy mají odlišné fyzikální vlastnosti, zejména se liší v teplotě, při níž dvouřetězce disociují (tj. „tají“). Vzorek se standardní „wildtype“ sekvencí či s mutací v homozygotní formě bude vytvářet pouze jeden typ homoduplexů, kde všechny báze budou párovat. Po HRM analýze bude každý duplex produkovat charakteristický disociační profil, tj. křivku tání. Přítomnost heteroduplexů v reakci se projeví snížením T_m a změnou tvaru křivky tání (Graf 5: Změna tvaru křivky tání). Naproti tomu vzorek s mutací v homozygotní formě se projeví pouze posunem T_m oproti křivce standardní.

⁷ Zdroj: Manuál CorPotocol 6000, High Resolution Melt Assay Design and Analysis. Corbett, 2006.

Graf 5: Změna tvaru křivky tání⁸



Statistické zpracování dat:

Ke statistickému zpracování získaných dat byl použit Poissonův regresní model, kdy počet SA je modelován jako poissonovsky rozdělená závislá veličina. Výstupem tohoto modelu je odhad regresních koeficientů. Poměr rizik je roven exponenciálu (odhad regresního koeficientu) pro daný prediktor a referenční kategorií. Takto se používá kategoriální prediktor. V případě spojitého prediktoru platí, že s každou jednotkou roste riziko pro danou událost násobkem exponenciálu (odhad regresního koeficientu). Pro testování významnosti rozdílů v prevalenci byl použit Pearsonův chí-kvadrát test, případně Fisherův exaktní test. Pro testování shody rozdělení věků byl použit dvouvýběrový t-test. Byl použit Poissonův regresní model s poissonovsky rozdělenou závislou veličinou. Hladina statistické významnosti byla stanovena na 0.05. Data byla zpracována programem R (R Core Team, 2014, version 3.1.2) a statistickým balíkem SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3.2.6. Výsledky

Ve sledovaném souboru 100 potrativších žen bylo zjištěno anamnesticky celkem 136 časných SA. Prevalence žen s izolovaným potratem (SA 1) byla 75 %, s recidivujícím potracením 17 % a habituálním potratem 8 %. Ženy s anamnézou 2 a více SA byly z důvod statistické validity dat sloučeny do skupiny SA 2, která finálně čítala celkovou prevalenci opakovaných SA (SA 2) 25 %.

⁸ Zdroj: https://dna.utah.edu/Hi-Res/5_Hi-Res_Genotyping.html

Mutace faktoru V Leiden (FVL)

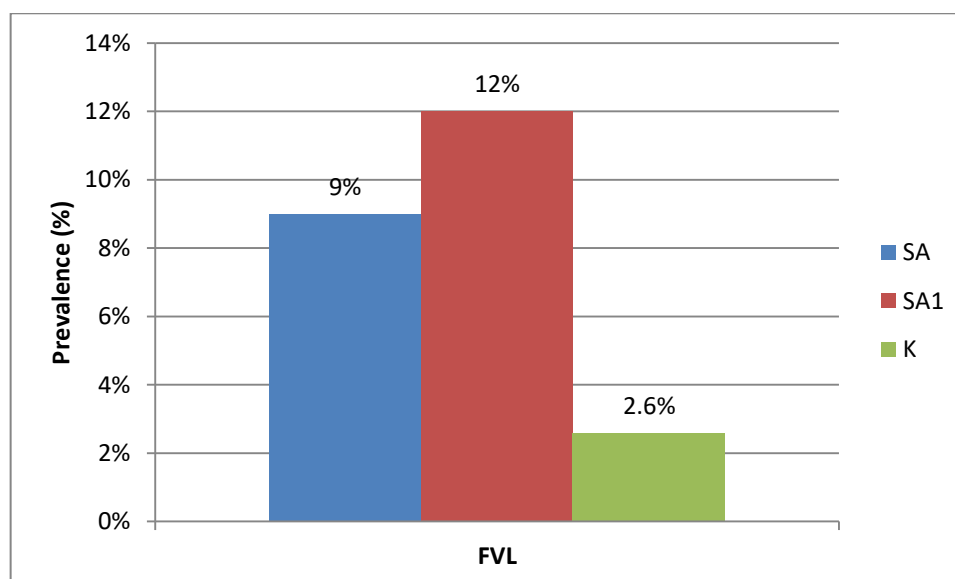
FVL v heterozygotní konstituci byla ve sledovaném souboru bez ohledu na počet SA diagnostikována u 9 % potrativších žen. V souboru žen s izolovaným SA (SA 1) byla FVL v heterozygotní konstituci přítomna u 9 žen (12 %). V souboru žen s recidivujícím a habituálním potracením (SA 2) nebyla FVL zastižena vůbec. V kontrolní skupině byla diagnostikována u 2 žen (2.6 %) viz Tabulka 3. Homozygotní konstituce FVL nebyla v souboru zjištěna.

Tabulka 3: Prevalence FVL

FVL		
Soubor	N (počet)	Prevalence (%)
K	76	2.6
SA 1	75	12.0
SA 2	25	0

Při porovnání prevalencí FVL byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi soubory žen s izolovaným SA (SA 1) a kontrolou (12 % vs. 2.6 %, $P = 0.031$) viz Graf 6. Signifikantní rozdíly mezi soubory žen s recidivujícím a habituálním potracením (SA 2) a kontrolou (0 % vs. 2.6 %, $P = 1.0$), ani mezi soubory žen s izolovaným (SA 1) a žen s recidivujícím a habituálním potracením (SA 2) nebyly zjištěny (12 % vs. 0 %, $P = 0.107$).

Graf 6: Prevalence FVL u infertilních žen (SA; 9/100), žen s jedním izolovaným SA (SA1; 9/75) a u kontrol (K; 2/76)



Mutace protrombinu (PT G20210A):

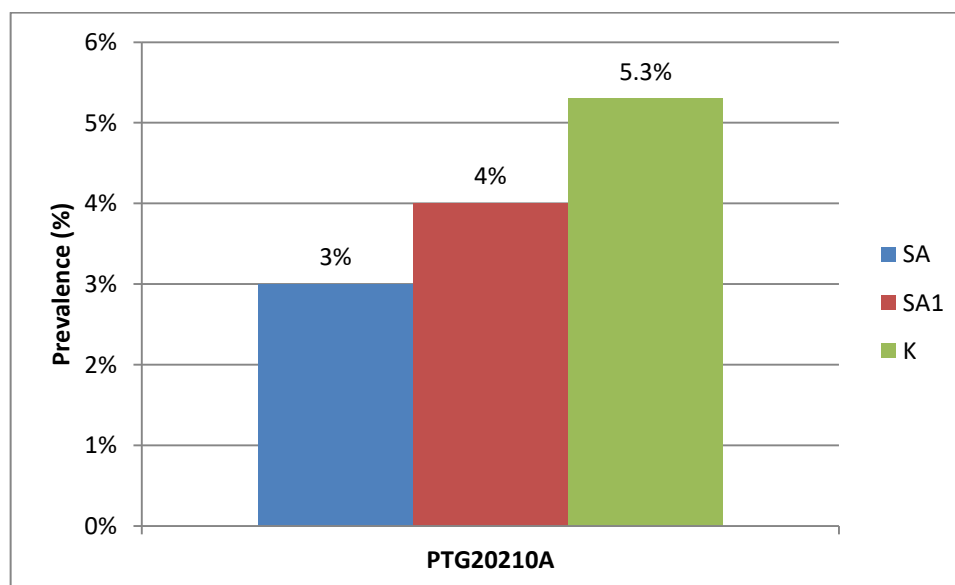
PT G20210A v heterozygotní konstituci byla ve sledovaném souboru bez ohledu na počet SA diagnostikována u 3 % potrativších žen. V souboru žen s izolovaným SA (SA 1) byla PT G20210A přítomna u 4 % žen, v souboru žen s recidivujícím a habituálním potrácením (SA 2) nebyla zastižena vůbec. V kontrolní skupině byla PT G20210A diagnostikována u 4 žen (5.3 %) viz Tabulka 4. Homozygotní konstituce PT G20210A nebyla v souboru zjištěna ani u jedné z žen.

Tabulka 4: Prevalence PT G20210A

PT G20210A		
Soubor	N (počet)	Prevalence (%)
K	76	5.3
SA 1	75	4.0
SA 2	25	0

Při statistickém porovnání prevalencí mezi soubory žen s izolovaným SA (SA 1), s recidivujícím a habituálním potrácením (SA 2) a kontrolní skupinou (viz Graf 7) nebyl zjištěn statisticky signifikantní rozdíl (4 % vs. 5.3 % vs. 0 %, P hodnota nesignifikantní) viz Tabulka 5.

Graf 7: Prevalence PT G20210A u infertilních žen (SA; 3/100), žen s 1 izolovaným SA (SA 1; 3/75) a u kontrol (K; 4/76)



Tabulka 5: Porovnání prevalencí PT G20210A

PT G20210A	SA 1 vs. K	SA 2 vs. K	SA1vs SA 2
P-hodnota	1	0.570	0.571

3.2.7. Diskuze

Prevalence SA je obvykle v literatuře uváděna s hodnotou okolo 15 – 20 % ze všech klinicky verifikovaných těhotenství. Adekvátní placentace a suficientní placentární cirkulace závisí na křehké rovnováze mezi faktory prokoagulačními a antikoagulačními. Hereditární trombofilie představují skupinu geneticky determinovaných koagulopatií, jež svou přítomností mohou tuto rovnováhu narušit a přispět k formování trombu v uteroplacentárním či intervilózním prostoru (Brenner B., 2003) (Murphy R. P., 2000). Etiologicky se tak mohou v časně graviditě podílet nejen na časném SA, ale i následovně na pozdních těhotenských komplikacích typu pozdní SA, intrauterinní růstové restrikcí (IUGR), HELLP syndromu, preeklampsii, abrupci placenty či intrauterinní smrti plodu (IUFD) (Brenner B., 2003).

Hereditární trombofilie se vyskytují v české populaci s minimální prevalencí 5-8 % (Dulíček P., 2012), z toho nejčastěji se jedná o klinické jednotky FVL (2 – 5 %) a PT G20210A (1 – 2 %) v heterozygotních konstitucích.

Prevalence PT G20210A uváděná pro českou populaci je přibližně 1 – 2 %. Ve sledovaném souboru infertilních žen byla PT G20210A přítomna bez ohledu na počet SA s prevalencí 3 %, tedy 1.5x vyšší než uvádí Penka (Penka M., 2009). U žen s izolovaným SA byla diagnostikována prevalence PT G20210A 4 %, což je 2x vyšší než její obvyklá prevalence v lokalitě České republiky (Penka M., 2009). U žen s recidivujícím či habituálním potrácením nebyla PT G20210A zastižena. Nejvyšší zjištěná hodnota prevalence PT G20210A byla u žen v kontrolní skupině a sice 5.3 %. To je v souladu s tezí, že i nositelky hereditární trombofilie mohou mít zcela fyziologický průběh gravidity (Said J.M., 2010). Při vzájemném statistickém porovnání zjištěných prevalencí mezi soubory žen s izolovaným SA, žen s recidivujícím a habituálním potrácením a kontrolní skupinou nebyl zjištěn signifikantní rozdíl (4 % vs. 5.3 % vs. 0 %, P hodnoty nesignifikantní).

Nejvyšší prevalenci z hereditárních trombofilií v české populaci má heterozygotní varianta FVL, jejíž hodnota se zde pohybuje obvykle v uváděném rozmezí 2 – 5 % (Penka M., 2009). Ve sledovaném souboru žen bez ohledu na počet SA byla FVL mutace zjištěna v heterozygotní konstituci s prevalencí 9 %, což je 1.8x vyšší hodnota,

než je obvykle udávaná frekvence FVL v české populaci (Dulíček P., 2005). Mnoho studií prokázalo signifikantně vyšší prevalenci FVL u žen s rekurentním SA (Brenner B., 1997) (Grandone E., 1997) (Ridker P. M., 1998) (Wrambsy M. L., 2000). U žádné z námi vyšetřených 25 žen s recidivujícím a habituálním potrácením (SA 2) nebyla FVL zastižena. FVL námi nebyla potvrzena jako možný rizikový faktor recidivujícího a habituálního SA ($P = 0.107$).

Všechny diagnostikované mutace FVL v heterozygotní konstituci byly zjištěny u žen s izolovaným SA. Její prevalence v souboru SA 1 činila 12 %, tedy 2.4x více než uvádí Dulíček (Dulíček P., 2005). Prevalence FVL v souboru žen s izolovaným časným SA byla signifikantně vyšší oproti kontrolní skupině (12 % vs. 2.6 %, $P = 0.031$), lze ji tak označit za možný rizikový faktor časného izolovaného SA po předchozí eliminaci základních etiologických agens v problematice SA.

Vysoká prevalence (klinická i preklinická) časného SA, dostupnost časně „domácí“ detekce gravidity a přetrvávající trend odkládání mateřství v kontextu s časově omezenými reprodukčními schopnostmi ženy zvyšují tlak pacientek na vyšetření etiologických příčin ideálně každého časného SA. Z klinického pohledu je nutno zmínit fakt, že k ženám s anamnézou izolovaného SA je vhodné přistupovat jako ke klinicky asymptomatickému nositeli hereditární trombofilie. Žádná z diagnostikovaných nositelek hereditární trombofilie nesplnila do uzavření studie kritéria habituálního SA. Vyšetření maternálního trombofilního statutu mutací FVL a PT G20210A je, a mělo by tak být, standardně indikováno po třetím časném SA, není-li do té doby splněno jiné indikační kritérium (Kvasnička J., 2010).

Výsledná data nepotvrdila role FVL či PT G20210A jako možných rizikových faktorů recidivujícího či habituálního potrácení, což je do jisté míry možným odrazem velikosti a skladby sledovaného souboru, či možností nediodagnostikovaných tranzitorních rizikových faktorů VTE.

Jako potenciálně limitující faktor je možno vnímat neznámý trombofilní status embrya/plodu. U obou vyšetřovaných hereditárních trombofilních stavů platí autozomálně dominantní dědičnost (Svensson P. J., 1994), jež může protrombogenní „ladění“ organismu v graviditě formou paternálně zděděné trombofilie dále potencovat.

Další ne zcela rutinně řešenou problematikou při recidivujícím a habituálním potrácení je právě otázka paternity, tedy zda za všemi neúspěšnými graviditami stojí paternálně jeden či více partnerů (resp. genetických identit).

Sledovaný soubor byl podroben genetickému vyšetření zaměřenému pouze na dva hereditární trombofilní stavy s nejvyšší prevalencí v Česku. Nelze tak zcela etiologicky eliminovat uplatnění raritnějších hereditárních trombofilí, další tranzitorních rizikových faktorů VTE, či nám dosud neznámých genetických variant trombofilních mutací. A to cestou maternální, tak i paternálně zděděnou prostřednictvím embryonálního/ fetálního trombogenního statutu.

3.2.8. Závěr

Ženy s izolovaným SA po eliminaci základních etiologických příčin SA mají 2.4x vyšší prevalenci FVL heterozygotů (12 %) a 1.5x vyšší prevalenci PT G20210A heterozygotů (3 %) oproti obvykle uváděným hodnotám jejich prevalencí v české populaci (Penka M., 2009).

Prevalence FVL v heterozygotní konstituci v souboru žen s izolovaným časným SA byla signifikantně vyšší oproti kontrolní skupině (12 % vs. 2.6 %, $P = 0.031$). FVL v heterozygotní konstituci lze po eliminaci základních etiologických kauzálních příčin SA označit za možný rizikový faktor izolovaného časného SA.

V kontextu vysoké prevalence SA, pokračujícího trendu odkládání mateřství a časově omezenému reprodukčnímu období ženy potencuje každý časný SA u pacientek disstres a zesiluje snahu zjistit příčinu těhotenského neúspěchu. I přes možnou negativní roli FVL v heterozygotní konstituci v etiologii izolovaného SA by vyšetření maternálního hereditárního trombofilního statutu vzhledem k širokému a pestrému etiologickému spektru možných příčin časného SA, multifaktoriální etiopatogenezi trombembolické nemoci a existenci dalších nevyšetřovaných hereditárních koagulopatií by mělo být standardně zahájeno až po třetím časném SA, není-li splněno jiné indikační kritérium.

3.3. Determinace SA - význam funkce štítné žlázy

3.3.1. Úvod

U žen s poruchami tyreoidální funkce či eufunkční autoimunitní tyreopatií (AITD) může být zjištěna porucha fertility. Někteří autoři publikovali u žen s tyreoidální dysfunkcí či eutyroidní AITD zvýšené riziko spontánního potratu (SA) (Glinoe D., 1991) (Negro R., 2006) (Poppe K., 2008) (Benhadi N., 2009). Zmiňovaným nedostatkem většiny výše zmíněných studií, je stanovení diagnózy AITD pouze na podkladě positivity tyreoidálních protilátek bez ohledu na sonografický nále. Některé studie nebyly kontrolované.

3.3.2. Cíle projektu

Cílem studie je komplexním vyšetřením zjistit prevalenci AITD a funkčních tyreopatií u žen po SA a porovnat ji s kontrolní skupinou těhotných žen, jež byly vyšetřeny v prvním trimestru fyziologické gravidity ukončené spontánním termínovým porodem bez anamnestického záznamu SA.

3.3.3. Pracovní hypotéza

U žen po časném SA by měla být vyšší prevalence tyreopatií. Jejich přítomnost může mít negativní vliv na následnou fertilitu, což je možné efektivně ovlivnit terapií.

3.3.4. Vyšetřované subjekty a metody

Soubor SA (SA 1 - izolovaný potrat, SA 2 - recidivující a habituální potrat)

Do sledovaného souboru SA bylo zařazeno 188 žen odeslaných na Gynekologicko-porodnickou kliniku VFN a 1. LF UK obvodním gynekologem s diagnózou neprosperující gravidity v I. trimestru. Ze 188 potrativších žen jich 134 (71.3 %) potratilo právě jednou (soubor SA 1- izolovaný spontánní potrat) a 54 (28.7 %) potratilo dva a/nebo vícekrát (soubor SA 2- recidivující nebo habituální potrat). Žádná z těchto žen nebyla doposud sledována, ani léčena pro tyreopatii. U žádné ženy z vyšetřovaného souboru nebyl obvodním gynekologem ani praktickým lékařem proveden screening tyreopatií prekoncepčně, ani v časně fázi gravidity.

Na Gynekologicko-porodnické klinice VFN byla sonograficky potvrzena vstupní diagnóza SA do ukončeného 12. gestačního týdne (v individuálních případech doplněna o stanovení hladin lidského choriového gonadotropinu - hCG) a provedena instrumentální revize dutiny děložní v celkové anestezii. Získaný embryonální/fetální materiál byl histologicky vyšetřen, čímž byla definitivně potvrzena diagnóza SA.

Všechny ženy byly bezprostředně poté referovány na III. interní kliniku VFN a 1. LF UK v Praze, kde bylo provedeno komplexní vyšetření stavu štítné žlázy, tj. klinické, laboratorní a sonografické. Po odběru anamnézy s důrazem na tyreopatie či jiná autoimunitní onemocnění v rodinné anamnéze a další rizikové faktory dle ATA následovalo laboratorní vyšetření tyreoidálních markerů TSH, fT4 a a-TPO. Laboratorní vyšetření bylo provedeno dle standardu ráno nalačno metodou chemiluminiscence. Byly stanoveny sérové koncentrace výše uvedených tyreoidálních laboratorních markerů. Do 2 měsíců od laboratorního odběru byla sonograficky vyšetřena štítná žláza přístrojem EnVisor Ultrasound Systém značky Phillips jediným vyšetřujícím lékařem.

Kontrolní skupina (K)

Jedná se o skupinu 172 těhotných žen, které doposud nepotratiley. Všechna jejich těhotenství byla jednočetná, po celou dobu jejich trvání byla fyziologická, zakončena spontánním nekomplikovaným termínovým porodem eutrofického plodu. Vylučujícím kritériem z kontrolní skupiny byl anamnestický záznam SA v anamnéze a/nebo tyreopatie v dispenzarizaci či již léčená. U těhotných žen byly v rámci prvotrimestrálního kombinovaného screeningu vyšetřeny rovněž tyreoidální laboratorní markery TSH, fT4 a a-TPO v rozmezí mezi 10. a 12. ukončeným týdnem gravidity na pracovišti ÚKBLD VFN a 1. LF UK v Praze v letech 2006 - 2007. Informace a anamnestická data byly získány na endokrinologickém oddělení III. interní kliniky a Gynekologicko-porodnické kliniky VFN a 1. LF UK v Praze.

Všechny použité metody podléhají akreditaci ČSN EN ISO/IEC 17025 a 15189.

3.3.5. Materiál a metodika

Bylo vyšetřeno 188 žen s anamnézou minimálně jedné těhotenské ztráty do ukončeného 12. gestačního týdne. Kontrolní skupinu tvoří 172 zdravých těhotných žen bez anamnézy těhotenské ztráty. Všem ženám byl proveden odběr venózní krve a vyšetřeny hladiny TSH, fT4 a a-TPO. U infertilních žen proběhlo do 8 týdnů od krevního odběru sonografické vyšetření štítné žlázy.

Laboratorní vyšetření:

Preanalytická fáze

Všechny vyšetřované parametry TSH, fT4, a-TPO byly stanoveny v krevním séru imunanalytickými metodami. Separace vzorků proběhla do 48 hodin od odběru krevního vzorku. Odběr byl vzhledem ke známému cirkadiánnímu rytmu TSH proveden vždy mezi 7. -13. hodinou.

Analytická fáze

Použité přístroje

Laboratorní tyreoidální markery byly stanoveny na automatickém analyzátoru ADVIA CENTAUR Siemens Healthcare Diagnostics využívající chemiluminiscenční imunanalýzu. Analyzátor zahrnuje dávkování vzorků a reagentů, inkubaci. Detekci a automatické vyhodnocení výsledků.

Stanovení TSH v séru

TSH, glykoproteinový hormon, produkováný adenohypofýzou prostřednictvím TRH. V graviditě se navíc uplatňuje mimo jiné např. suprese TSH prostřednictvím hCG. Vysoce citlivá a specifická metoda stanovení TSH rozliší eutyreoidní a dystyreoidní ženy s minimálním detekčním limitem 0.01 mIU/l.

Popis metody

Pro kvantitativní stanovení TSH byla využita sendvičová imunoanalýza s přímou chemiluminometrickou technologií využívající konstantního množství dvou protilátek. Separace komplexu protilátek a stanovovaného antigenu se provádí magneticky. Metoda spočívá v detekci chemiluminiscenčního signálu vzniklého rozpadem acridiniového esteru působením H₂O₂ po přidání alkalického roztoku. Naměřené relativní světelné jednotky naměřené analyzátozem jsou v přímé úměře s koncentrací TSH ve vzorku o minimálním objemu 200 ul krevního séra. Reagencie jsou přítomny v kazetách s dvěma typy roztoků. Buď ve formě „solid phase“, jedná se o polyklonální ovčí anti-TSH protilátku s kovalentní vazbou na paramagnetické částice ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory a ochrannými činidly. Nebo jako „lite reagent“, monoklonální myší anti-TSH protilátku značenou acridiniovým esterem ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory a ochrannými činidly.

Referenční rozmezí

Pro běžnou populaci je referenční rozmezí TSH stanoveno dle výrobce soupravy na 0.55 - 4.78 mIU/l. Pro populaci těhotných v 10. - 12. gestačním týdnu byl dle doporučení ATA a Endocrine Society nastaven interval 0.1 - 2.5 mIU/l včetně (Jiskra J., 2014) (Benhadi N., 2009) (Springer D., 2009).

Stanovení fT4

T4 je hlavní hormon produkováný štítnou žlázou. Produkce T4 je asi 4x vyšší než T3. Stanovením fT4 lze stanovit množství biologicky aktivního hormonu T4, fT4 tvoří přibližně 0.04 % TT4, bez ovlivnění koncentrací vazebných bílkovin. fT4 znamená základní analytický postup při monitorování funkce štítné žlázy. Využívá se k stanovení subklinické/manifestní varianty poruchy ve smyslu hypofunkce i hyperfunkce diagnostikovaných na podkladě hladiny TSH. Dále je využíván k terapeutickému monitoringu při tyreostatické terapii, kdy se jako první marker normalizuje.

Popis metody

Ke stanovení fT4 byla použita kompetitivní imunoanalýza s přímou chemiluminometrickou technologií. fT4 ve vzorku soutěží s T4 značeným kridiniovým

esterem o omezené množství anti-T4 polyklonální králičí protilátky kovalentně vázané na paramagnetické částice. Separace komplexu antigen-protilátka se provádí magneticky. Detekuje se chemiluminiscenční signál vzniklý rozpadem acridiniového esteru působením H₂O₂ po přidání alkalického roztoku. Mezi koncentracemi fT4 ve vzorku a relativními světelnými jednotkami naměřenými analyzátozem je nepřímá úměra. Minimální objem vzorku je 25 ul. Reagencie jsou ve dvou typech kazet, jako „solid phase“ polyklonální králičí anti-T4 protilátka kovalentně vázaná na paramagnetické částice v barbitalovém pufru s proteinovými stabilizátory EDTA a azidem sodným.

Referenční rozmezí

Pro běžnou populaci bylo stanoveno 12 - 22 pmol/l, pro těhotné ženy v prvním trimestru 11.5 - 18.1 pmol/l (Springer D., 2009).

Stanovení a-TPO

Znamená diagnostický i prognostický marker autoimunitního procesu ve štítné žláze. Přináší informaci o etiologii funkční poruchy, v graviditě odhalí zvýšené riziko rozvoje tyreopatie u eutyreózních žen.

Popis metody

Ke stanovení a-TPO se využívá kompetitivní imunoanalýza s přímou chemiluminometrickou technologií. Protilátky proti peroxidáze ze vzorku soutěží s monoklonální myší a-TPO protilátkou kovalentně vázanou na paramagnetické částice o omezené množství lidské TPO, jež je vázaná na monoklonální myší protilátku značenou acridiniovým esterem. Separace komplexu antigen-protilátka se provádí magneticky. Detekuje se chemiluminiscenční signál vznikající rozpadem acridiniového esteru. Působením H₂O₂ po přidání alkalického roztoku. Mezi koncentrací a-TPO ve vzorku a relativními světelnými jednotkami naměřenými analyzátozem existuje nepřímá úměra. Minimální objem vzorku je 30 ul.

Reagencie jsou v kazetách s několika typy vzorků jako „solid phase“, tedy monoklonální myší a-TPO protilátka kovalentně vázaná na paramagnetické částice ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory. Jako „lite reagent“, lidská TPO spojená s monoklonální myší protilátkou značenou acridiniovým esterem ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory. Nebo konečně jako „anti-TPO diluent“, lidská plazma se stabilizátory a azidem sodným.

Referenční rozmezí

Pro běžnou populaci je referenční rozmezí a-TPO stanoveno dle výrobce soupravy na 0 - 60 IU/ml. Pro populaci těhotných byl na základě studie Springer nastaven interval fyziologické hladiny a-TPO 0 - 143 IU/ml (Springer D., 2009).

Sonografické vyšetření štítné žlázy

Ultrazvukové vyšetření štítné žlázy bylo provedeno do 8 týdnů od vyšetření laboratorních tyreoidálních markerů na ultrazvukovém přístroji EnVisor Ultrasound Phillips pomocí 8 - 12 MHz lineární sondy (model PLF-805ST). Hodnocen byl celkový objem štítné žlázy (podle vzorce délka (mm) x šířka (mm) x hloubka (mm) x 0.479), její textura, vaskularizace a přítomnost nodulů. Ultrazvuková diagnostika AITD byla vyhodnocena na základě nálezu hypoechogenity, nepravidelné struktury a hypervaskularizace. Echogenita byla hodnocena jako "normální" (0 bodů, nález rovnoměrně hyperechogenní ve srovnání s krčnými svaly), „mírně snížená“ (1 bod, nález fokálně hypoechogenních oblastí ve srovnání s krčnými svaly), „středně snížená“ (2 body, nález isoechogenní struktury v porovnání s krčnými svaly) a „silně snížená“ (3 body, nález hypoechogenní struktury ve srovnání s krčnými svaly). Struktura byla hodnocena jako „pravidelná“ (0 bodů) nebo „nepravidelná“ (1 bod) a v barevném Dopplerovském obrazu vaskularizace jako "normální" (0 bodů) nebo nález „hypervaskularizace“ (1 bod). Součet bodů určí tzv. „tyreoidální ultrazvukové skóre“ (TUS): 0 - normální tyreoidiea, 1 - hraniční nález, 2 - lehký stupeň tyreoiditidy, 3 - střední stupeň tyreoiditidy, 4 - těžký stupeň tyreoiditidy. Z důvodu vyloučení možné interindividuální variability hodnocení byla všechna sonografická vyšetření provedena jedním vyšetřujícím lékařem.

Statistické zpracování

Statistické zpracování bylo provedeno s využitím metody ANOVA (Analysis of variance, Analýza rozptylu). Jedná se o metodu, která slouží k ověření, zda na hodnotu náhodné veličiny pro určitého jedince má statisticky významný vliv hodnota některého znaku, který se u jedince dá pozorovat. Hladina statistické významnosti P byla stanovena na 0,05. Pokud je hodnota testu nižší, lze učinit závěr, že studované skupiny pacientek se liší. Pro zjištění, které skupiny se liší, se používají metody mnohonásobného porovnávání. V našem případě jsme používali metodu Fisher's LSD (Fisher's least significant difference). Porovnání statistické významnosti prevalencí jednotlivých pásem sledovaných hladin vyšetřovaných parametrů (normální, zvýšená, snížená hladina) mezi soubory bylo provedeno za pomoci chí kvadrát testu při očekávaných četnostech větších než 5. Při četnostech vyšších než 1 byl použit Fisherův exaktní test.

3.3.6. Výsledky

TSH

Průměrná hodnota TSH v sledovaném souboru potrativších žen byla 1.93 mIU/l, ve souboru SA 1: 1.88 mIU/l, v souboru SA 2: 2.06 mIU/l. V kontrolní skupině zdravých těhotných činil průměr hodnoty TSH 1.63 mIU/l (viz Tabulka 6: Vztah hladiny TSH k SA (průměrné hodnoty)). Při porovnání průměrných hodnot hladiny TSH jednotlivých souborů byla zjištěna signifikantně vyšší hladina TSH ve skupině SA 1 vs. kontrola (P = 0.028) a SA 2 vs. kontrola (P = 0.006). Soubory SA 1 a SA 2 nelze spolehlivě rozlišit (P = 0.271)

Tabulka 6: Vztah hladiny TSH k SA (průměrné hodnoty)

Soubor	Mean	N	Std. Deviation
K	1.62609	172	0.960039
SA 1	1.87905	134	0.818235
SA 2	2.05606	54	1.426126
Total	1.78474	360	1.006857

V souboru SA 1 mělo 81 % žen normální hladinu TSH, 17 % zvýšenou hladinu TSH (nad 2.5 mIU/l) a 2 % sníženou hladinu TSH (nižší než 0.1 mIU/l). V souboru SA 2 74 % žen mělo normální hladinu TSH, 24 % zvýšenou hladinu TSH (nad 2.5 mIU/l) a 2 % sníženou hladinu TSH (nižší než 0.1 mIU/l). V kontrolní skupině K byla prevalence normální hladiny TSH 90 %, zvýšené hladiny TSH (nad 2.5 mIU/l) 8 % a snížené hladiny TSH (nižší než 0.1 mIU/l) 2 % (viz Tabulka 7: Prevalence jednotlivých pásem TSH).

Tabulka 7: Prevalence jednotlivých pásem TSH

Soubor	nTSH ⁱ (%)	hTSH ⁱⁱ (%)	uTSH ⁱⁱⁱ (%)
K	90	8	2
SA 1	81	17	2
SA ≥2	74	24	2

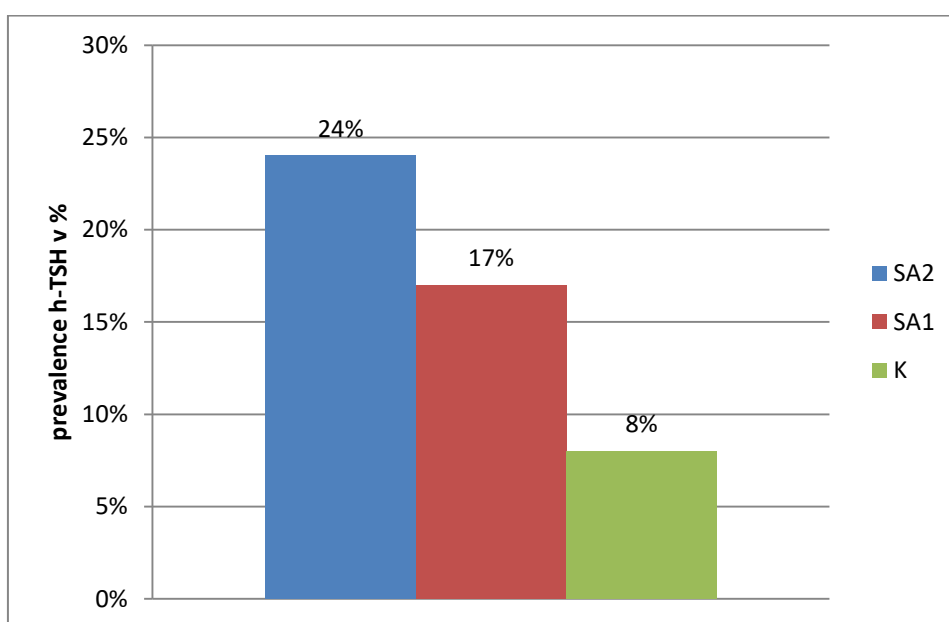
ⁱ nTSH – normální pásmo hladiny TSH v graviditě

ⁱⁱ hTSH – zvýšená hladina TSH v graviditě

ⁱⁱⁱ uTSH – snížená hladina TSH v graviditě

V pásmu se zvýšenou hladinou TSH (nad 2.5 mIU/l) se významně lišily soubory SA 1 (17 % vs. 8 % P = 0.026) a SA 2 (24 % vs. 8 % P = 0.004) při porovnání s kontrolní skupinou viz Graf 8. Soubory SA1 a SA2 od sebe nelze signifikantně odlišit. Prevalence pásma zvýšené hladiny TSH (nad 2.5 mIU/l) v souborech žen s potraty byly signifikantně vyšší (P = 0.005) ve srovnání s kontrolním souborem bez ohledu na počet potratů. U snížené hladiny TSH (nižší než 0.1 mIU/l) nelze nalézt významný rozdíl pro malý počet pozitivních pozorování (P hodnota nesignifikantní).

Graf 8: Prevalence zvýšené hladiny TSH nad 2.5 mIU/l (h-TSH) u žen s izolovaným SA (SA 1), s recidivujícím nebo habituálním SA (SA 2) a u kontrol (K)



ft4

Průměrná hodnota ft4 ve sledovaném souboru byla 14.87 pmol/l, v souboru SA 1: 14.35 pmol/l, v souboru SA 2: 14.21 pmol/l. V kontrolním souboru činila průměrná hodnota ft4 14.54 pmol/l, která se signifikantně nelišila ani od SA 1, ani od SA 2 viz Tabulka 8.

Tabulka 8: Vztah hladiny ft4 k SA (průměrné hodnoty)

Soubor	Mean	N	Std. Deviation
K	14.543	172	1.6417
SA 1	14.350	133	1.6799
SA 2	14.206	54	1.5444
Total	14.421	359	1.6423

V souboru SA 1 mělo 99 % žen normální hladinu fT4 a 1 % sníženou hladinu fT4 (méně než 11.5 pmol/l). V souboru SA 2 byla u 96 % žen normální hladina fT4 a u 4 % snížená hladina fT4 (méně než 11.5 pmol/l). V kontrole mělo 97 % normální hladinu fT4 a 3 % sníženou hladinu fT4 (méně než 11.5 pmol/l) (viz. Tabulka 9: Prevalence jednotlivých pásem fT4).

Tabulka 9: Prevalence jednotlivých pásem fT4

Soubor	nfT4 ⁱ (%)	hfT4 ⁱⁱ (%)	ufT4 ⁱⁱⁱ (%)
K	97	0	3
SA 1	99	0	1
SA 2	96	0	4

ⁱ nfT4 – normální pásmo hladiny fT4 v graviditě

ⁱⁱ hfT4 – zvýšená hladina fT4 v graviditě

ⁱⁱⁱ ufT4 – snížená hladina fT4 v graviditě

Při porovnání prevalencí snížené hladiny fT4 (méně než 11.5 pmol/l) se kontrola signifikantně nelišila ani od SA1 ani od SA2 (P hodnota nesignifikantní).

a-TPO:

Průměrná hodnota hladiny protilátek a-TPO ve sledovaném souboru bez ohledu na četnost těhotenských ztrát byla 105.68 IU/ml, v souboru SA 1: 87.73 IU/ml a v SA 2: 150.22 IU/ml. V kontrolním souboru K byla průměrná hladina a-TPO 69.09 IU/ml viz Tabulka 10.

Průměrné hodnoty hladiny a-TPO byly signifikantně vyšší u SA 1 (87.73 vs. 69.09 P = 0.001) a SA 2 (150.22 vs. 69.09 P = 0.000) oproti kontrolní skupině.

Tabulka 10: Vztah zlogaritmovaných průměrných hodnot hladin a-TPO a SA

Soubor	Mean	N	Std. Deviation
K	3.5539	172	0.93091
SA 1	3.8860	134	0.72865
SA 2	4.0995	54	1.03573
Total	3.7593	360	0.90081

V souboru SA 1 činila prevalence pásma normální hladiny a-TPO 95 % a prevalence zvýšené hladiny a-TPO (vyšší než 143 IU/ml) 5 %. V souboru SA 2 mělo 85 %

žen normální hladinu a-TPO a 15 % zvýšenou hladinu a-TPO (vyšší než 143 IU/ml). V kontrolním souboru bylo zjištěna u 91 % kontrol normální hladina a-TPO a u 9 % zvýšená hladina a-TPO (vyšší než 143 IU/ml) (viz Tabulka 11: Prevalence jednotlivých pásem hladiny a-TPO).

Tabulka 11: Prevalence jednotlivých pásem hladiny a-TPO (ha-TPO: a-TPO vyšší než 143 IU/ml), na-TPO: a-TPO menší nebo rovno vyšší než 143 IU/ml)

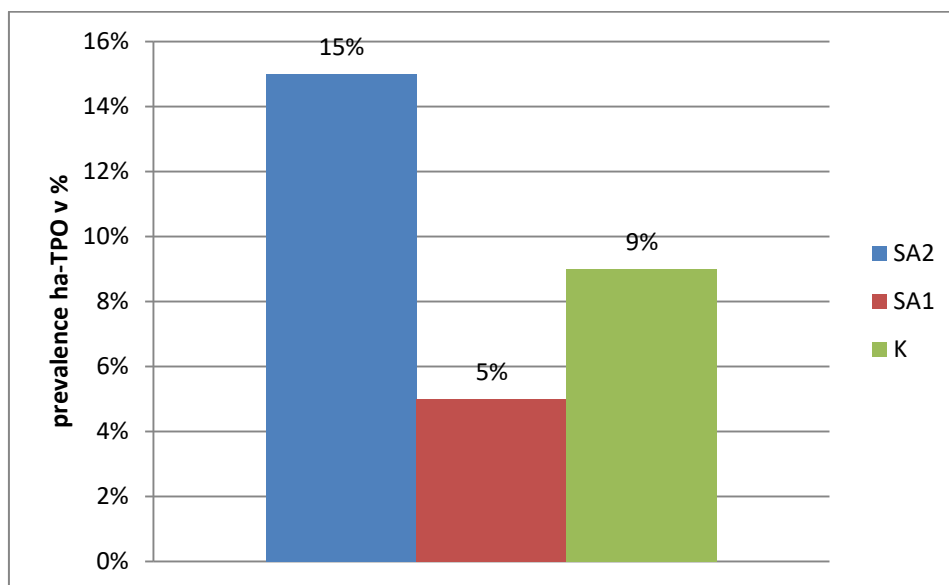
Soubor	na-TPO ⁱ (%)	ha-TPO ⁱⁱ (%)
K	91	9
SA 1	95	5
SA 2	85	15

ⁱ n a-TPO – normální pásmo hladiny a-TPO v graviditě

ⁱⁱ h a-TPO – zvýšená hladina a-TPO

Při statistickém porovnání pásma prevalence zvýšené hladiny a-TPO (viz Graf 9) byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi soubory SA 1 a SA 2 (5 % vs. 15 % P = 0.003). Soubory SA 1 a SA 2 od kontrolní skupiny nelze signifikantně odlišit (P nesignifikantní).

Graf 9: Prevalence zvýšené hladiny a-TPO vyšší než 143 IU/ml (ha-TPO) u žen s izolovaným SA (SA 1), s recidivujícím nebo habituálním SA (SA 2) a u kontrol (K)



Prevalence funkčních tyreopatií

Subklinická hypothyreóza (TSH vyšší než 2.5 mIU/l & fT4 11.5 - 18.1 pmol/l) byla zjištěna s prevalencí v souboru SA 1: 17 %, v souboru SA 2: 22 %. V kontrolní souboru

byla přítomna u 7 % žen (viz Tabulka 12). Při porovnání prevalencí subklinické hypotyreózy byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi soubory SA 1 a kontrolou (17 % vs. 7 % $P = 0.009$) a soubory SA 2 a kontrolou (22 % vs. 7 % $P = 0.004$). Mezi soubory SA 1 vs. SA 2 navzájem statisticky významný rozdíl zjištěn nebyl.

Tabulka 12: Prevalence subklinické hypotyreózy

	K	SA = 1	SA ≥ 2
Prevalence (%)	7	17	22
Počet	172	134	54

Manifestní hypotyreóza (TSH vyšší než 2.5 mIU/l & fT4 méně než 11.5 pmol/l) byla diagnostikována u 1 % žen, v souboru SA 1 u 0 %, v souboru SA 2 u 2 %. V kontrolním souboru K byla zjištěna s prevalencí 1 % (viz Tabulka 13). Prevalence manifestní hypotyreózy v souborech SA 1 a SA 2 se od kontrolního souboru signifikantně nelišily.

Tabulka 13: Prevalence manifestní hypotyreózy

	K	SA = 1	SA ≥ 2
Prevalence (%)	1	0	2
Počet	172	134	54

Eutyreoidní AITD (TSH 0.1 - 2.5 včetně mIU/l & fT4 11.5 - 18.1 pmol/l & a-TPO vyšší než 143 IU/ml) byla ve sledovaném souboru zjištěna s prevalencí 4 %, v souboru SA 1 u 4 %, v souboru SA 2 u 6 %. V kontrolní souboru K byla přítomna u 5 % (viz Tabulka 14). Prevalence AITD v souborech SA 1 a SA 2 se od kontrolního souboru signifikantně nelišily.

Tabulka 14: Prevalence eutyreoidní a-TPO positivity

	K	SA = 1	SA ≥ 2
Prevalence (%)	5	4	6
Počet	172	134	54

Subklinická hypertyreóza (TSH vyšší než 2.5 mIU/l & fT4 11.5 - 18.1 pmol/l). Subklinická hypertyreóza byla přítomna v souboru SA 1 u 2 %, v souboru SA 2 u 2 %. V

kontrolním souboru K byla přítomna u 2 % žen (viz Tabulka 15). Prevalence subklinické hypertyreózy v souborech SA 1 a SA 2 se od kontrolního souboru signifikantně nelišily.

Tabulka 15: Prevalence subklinické hypertyreózy

	K	SA = 1	SA ≥ 2
Prevalence (%)	2	2	2
Počet	172	134	54

Manifestní hypertyreóza (TSH nižší než 0.1 mIU/l & fT4 vyšší než 18.1 pmol/l) nebyla diagnostikována u žádné ženy ve sledovaném či kontrolním souboru (viz Tabulka 16).

Tabulka 16: Prevalence manifestní hypertyreózy

	K	SA = 1	SA ≥ 2
Prevalence (%)	0	0	0
Počet	172	134	54

Isolovaná hypotyroxinémie (TSH 0.1 - 2.5 včetně mIU/l & fT4 nižší než 11.5 pmol/l & a-TPO 0 - 143 IU/ml) byla diagnostikována u 1 % žen, v souboru SA 1 u 1 % žen, v souboru SA 2 u 0 % žen. V kontrolním souboru K byla zjištěna s prevalencí 2 % (viz Tabulka 17). Prevalence izolované hypotyroxinémie v souborech SA 1 a SA 2 se od kontrolního souboru signifikantně nelišily.

Tabulka 17: Prevalence izolované hypotyroxinémie

	K	SA = 1	SA ≥ 2
Prevalence (%)	2	1	0
Počet	172	134	54

Význam výše hladiny a-TPO a sonografického nálezu tyreoiditidy

Sonografický nález „normálního obrazu tyroidey“ (TUS 0) a/nebo jejího „hraničního nálezu“ (TUS 1) byl zjištěn v souboru SA 1 s prevalencí 79 %, v souboru SA 2 s prevalencí 72 % (Tabulka 18: Korelace hladiny a-TPO s ultrazvukovým nálezem tyreoidálního ultrazvukového skóre (TUS)). Prevalence „TUS 0“ a/nebo „TUS 1“ v souborech SA 1 a SA 2 se navzájem signifikantně nelišily. Nález „mírného stupně tyreoiditidy“ (TUS 2) byl přítomen v souboru SA 1 s prevalencí 6 % a v souboru SA 2 13 % (tabulka č. 14). Soubory od sebe nelze signifikantně odlišit. Nález „středního stupně

tyreoiditidy“ (TUS 3) a/nebo „těžkého stupně tyreoiditidy“ (TUS 4) byl vyhodnocen v souboru SA 1 u 15 % žen a v souboru SA 2 u 15 % žen, což se nelišilo (viz Tabulka 18).

Sonograficky pozitivní nález „mírného až těžkého stupně tyreoiditidy“ (TUS 2 a/nebo TUS 3 a/nebo TUS 4) byl v souboru přítomen v souboru SA 1 21 % a v souboru SA 2 28 % (viz Tabulka 18). Soubory od sebe nelze signifikantně odlišit.

Normální hladina a-TPO (0 - 143 IU/ml) byla zjištěna u žen se sonografickým závěrem „TUS 0“ a/nebo „TUS 1“ s prevalencí 82 %, u žen s nálezem „TUS 2“ s prevalencí 8 % a u žen s nálezem „TUS 3 „ a/nebo „TUS 4“ s prevalencí 10 %.

Zvýšená hladina a-TPO (vyšší než 143 IU/ml) byla nalezena s prevalencí 7 % u žen s nálezem „TUS 0“ a/nebo „TUS 1“, u žen s nálezem „TUS 2“ s prevalencí 7 % a s prevalencí 86 % u žen s nálezem „TUS 3“ a/nebo „TUS 4“.

U žen se sonografickým nálezem tyreoiditidy ve stupni „TUS 2-4“ byla zvýšená hladina a-TPO (vyšší než 143 IU/ml) přítomna s prevalencí 93 %.

Tabulka 18: Korelace hladiny a-TPO s ultrazukovým nálezem tyreoidálního ultrazukového skóre (TUS)

TUS		Prevalence (%)			
		Stupeň 0+1	Stupeň 2	Stupeň 3+4	Stupeň 2-4
Počet pac. v soub. S	188	77	8	15	23
SA 1	134	79	6	15	21
SA 2	54	72	13	15	28
naTPO=1	173	82	8	10	18
haTPO=1	15	7	7	86	93

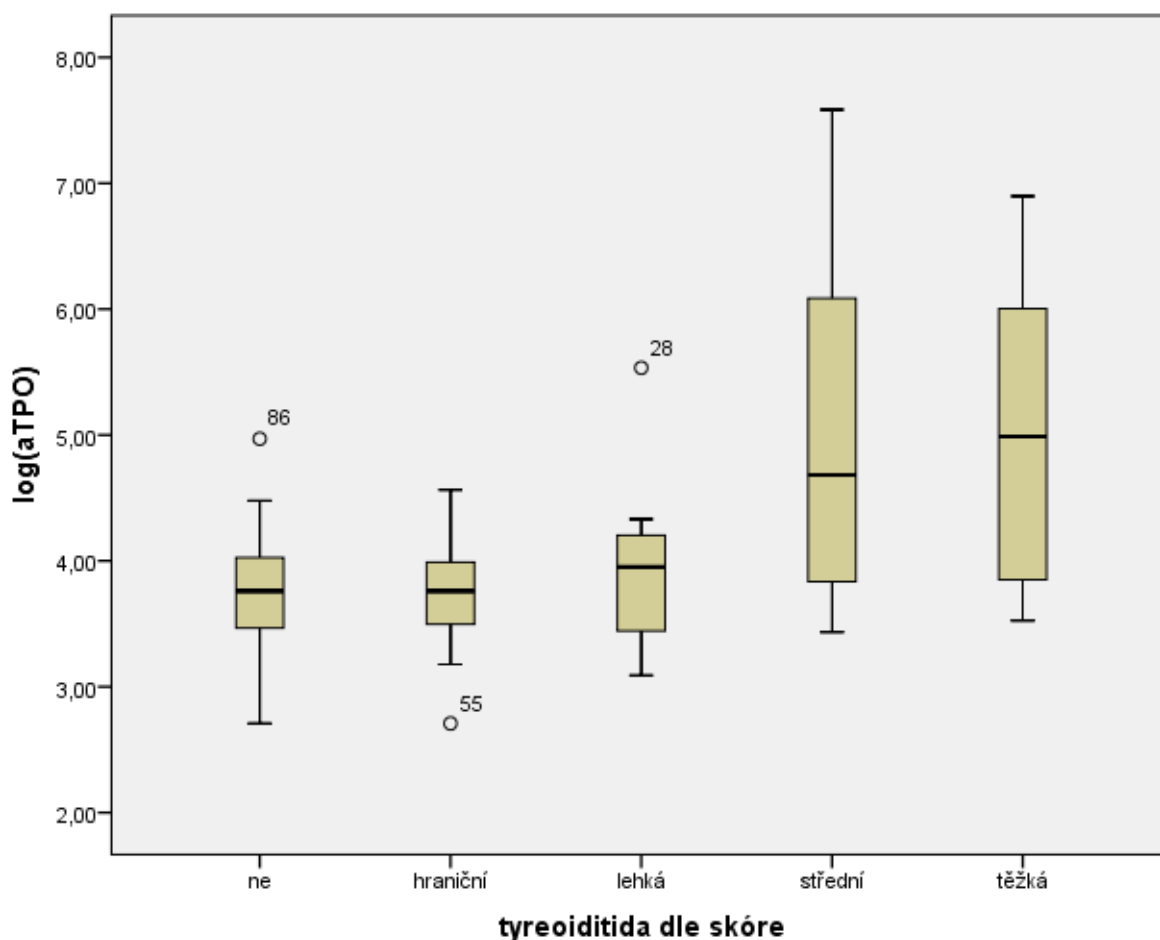
Při porovnání zlogaritmovaných průměrů hladin a-TPO viz Graf 10 byly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi soubory se závěry „TUS 0“ a/nebo „TUS 1“ vs. „TUS 3“ a/nebo „TUS 4“ (P = 0.000) a současně mezi soubory s nálezy „TUS 2“ vs. „TUS 3“ a/nebo „TUS 4“ (P = 0.001).

Tabulka 19: Korelace zvýšené hladiny ha-TPO (a-TPO vyšší než 143 IU/ml) s ultrazvukovým nálezem tyreoidálního ultrazvukového skóre (TUS)

	a-TPO vyšší než 143 IU/ml		Celkem
	0	1	
TUS 0 / TUS 1	143	1	144
TUS 3 / TUS 4	16	13	29
Celkem	159	14	173

Pro modifikovanou tabulku: Tabulka 19, lze za pomoci Fisherova exaktního testu s Yatesovou korekcí (P méně 0.001) vyjádřit hodnotu $OR = 116.2$. OR se významně liší od 1. Při hodnotě a-TPO vyšší než 143 mIU/l je 116x vyšší riziko přítomnosti sonografických známek zánětlivých změn „TUS 3“ nebo „TUS4“ než zjištění nálezu „TUS 0“ nebo „TUS 1“.

Graf 10: Korelace hladiny a-TPO s ultrazukovým nálezem hyreoidity dle skóre (TUS)



3.3.7. Diskuze

Tyreopatie postihují významnou část žen v reprodukčním věku. V ČR se udává přibližně 10-15 % těhotných žen s funkční poruchou štítné žlázy (Jiskra J., 2014). Diagnostika tyreopatií v období gravidity je díky nespecifickému klinickému obrazu založena především na laboratorních testech. Rozhodující pro diagnostiku je proto stanovení referenčních intervalů pro vyšetřované parametry TSH, fT4 a a-TPO, jež se liší v době gravidity a mimo ni (Springer D., 2009).

TSH je pro svou přesnost a spolehlivost vnímán jako klíčový tyreoidální marker v období těhotenství. V naší práci vycházíme z doporučení ATA z roku 2011 (Abalovich M., 2007), výsledků studie Benhadi et al., kteří pro TSH v I. trimestru podali důkaz, že i „vyšší normální“ hodnoty (s mediánem 1.48 mIU/l) jsou spojeny se zvýšeným rizikem SA a úmrtí plodu či novorozence (Benhadi N., 2009) a výsledků studie Casey et al., že hodnoty TSH v dolní části rozmezí či mírně pod ním jsou z hlediska vývoje těhotenství bezpečné (Casey B. M., 2006).

Průměrná hodnota hladin TSH sledovaných souborů vykazovala vzrůstající tendenci v závislosti na počtu SA (K: 1.63 mIU/l, SA 1: 1.88 mIU/l, SA 2: 2.06 mIU/l). Hladina TSH byla signifikantně vyšší u žen s izolovaným potratem ($P = 0.028$) a žen s recidivujícím a habituálním potracením ($P = 0.006$) ve srovnání s kontrolní skupinou.

Prevalence zvýšené hladiny TSH (vyšší než 2.5 mIU/l) vzrůstala v reakci na rostoucí počet SA (K: 8 %, SA 1: 17 %, SA 2: 24 %). Prevalence zvýšené hladiny TSH (vyšší než 2.5 mIU/l) v souborech žen s přítomností SA byly signifikantně vyšší ve srovnání s kontrolou bez ohledu na počet potratů ($P = 0.005$). Hodnotu TSH nad 2.5 mIU/l v I. trimestru lze tak označit za potenciální rizikový faktor pro časný SA ($P = 0.005$).

Vyšetření hladiny a-TPO je nezbytné pro komplexní zhodnocení stavu štítné žlázy. Dle Jiskry přibližně 10 % českých gravidních žen má zvýšenou hladinu a-TPO (vyšší než 143 IU/ml) (Abalovich M., 2007). Ženy s anamnézou recidivujícího a habituálního potratu měly prevalenci a-TPO positivity 15 %, tedy 1.5x vyšší, než je její obvykle udávaná prevalence v graviditě.

Průměrné hodnoty hladin a-TPO vykazovaly vzrůstající tendenci v závislosti na počtu SA (K: 69.09 IU/ml, SA 1: 87.73 IU/ml, SA 2: 150.22 IU/ml). Hladina a-TPO byla v souborech žen s izolovaným potratem ($P = 0.001$) a žen s recidivujícím a habituálním potracením ($P = 0.000$) signifikantně vyšší než v kontrolním souboru.

Prevalence zvýšené hladiny a-TPO (vyšší než 143 IU/ml) byla signifikantně vyšší u žen s recidivujícím a habituálním potracením ve srovnání se souborem žen s izolovaným potratem (15 % vs. 5 % $P = 0.003$). Hladinu a-TPO nad 143 IU/ml je možné považovat za potenciální rizikový faktor pro recidivující a habituální časně těhotenské ztráty ($P = 0.003$). Což je v souladu s Jiskrovým doporučením vyšetření laboratorních tyreoidálních parametrů po izolovaném SA při plánování další gravidity prekoncepčně, či v období okolo 5. - 6. gestačního týdne (Jiskra J., 2014).

Hladina a-TPO byla signifikantně vyšší u žen s tyreoidálním ultrazvukovým skóre (TUS) středního „TUS 3“ nebo těžkého stupně „TUS 4“ oproti ženám s nálezem žádné „TS 0“ nebo hraniční tyreoiditidy „TUS 1“ ($P = 0.000$). U 87 % infertilních žen s laboratorně prokázanou elevací hladiny a-TPO nad 143 IU/ml byl při provedeném sonografickém vyšetření současně zjištěn obraz tyreoiditidy ve středním- „TUS 3“ nebo těžkém - „TUS 4 stupni“ zánětlivých změn. Prevalence zvýšené hladiny a-TPO (nad 143 IU/ml) byla signifikantně vyšší u žen s ultrazvukovým nálezem středního „TUS 3“ nebo těžkého „TUS 4“ stupně tyreoiditidy oproti ženám s žádným „TS 0“ či hraničním „TS 1“

nálezem (P méně než 0.001). Lze tak říci, že výsledná hodnota tyreoidálního ultrazvukového skóre závisí na sérové koncentraci a-TPO.

Při hodnotě a-TPO nad 143 IU/ml je 116x vyšší riziko současné přítomnosti sonografických známek středního a/nebo těžkého stupně tyreoiditidy, než přítomnosti žádných a/nebo hraničních zánětlivých změn štítné žlázy (OR = 116.2 [95 % CI: 14,2 - 947,4]).

Subklinická hypotyreóza je častou příčinou infertility v České republice s obvykle udávanou prevalencí okolo 5 % gravidních (Jiskra J., 2014). U infertilních žen bez ohledu na četnost těhotenských ztrát byla přítomna s prevalencí 19 %, tj. v 3.8x vyšší hodnotě. Prevalence subklinické hypotyreózy vykazovala vzestupnou tendenci v reakci na počet potratů (K: 7 %, SA 1: 17 %, SA 2: 22 %). Subklinická hypotyreóza byla signifikantně častější u žen s potraty oproti kontrolní skupině (19 % vs. 7 % $P = 0.003$).

Přístup specialistů k managementu subklinické hypotyreózy není plně jednotný (Límanová Z., 2013). U žen se subklinickou hypotyreózou by substituční terapie levotyroxinem (LTX) měla být v graviditě spíše zahájena (Jiskra J., 2014) (Potluková E., 2011). Námi zjištěná vyšší koncentrace TSH (vyšší než 2.5 mIU/l) a vyšší prevalence subklinické hypotyreózy u žen s jedním nebo více potraty oproti kontrolní skupině tento přístup podporují.

3.3.8. Závěr

Průměrné hodnoty sérových koncentrací TSH signifikantně stoupaly s počtem SA a byly u žen s potraty signifikantně vyšší než u kontroly ($P = 0.028$), resp. ($P = 0.006$). Subklinická hypotyreóza byla signifikantně častější u žen s potraty oproti kontrolní skupině ($P = 0.003$). Její prevalence byla vyšší u žen s recidivujícími a habituálními potraty (22 %) oproti ženám s izolovaným potratem (17 %). Hodnotu TSH vyšší než 2.5 mIU/l lze považovat za rizikový faktor časného SA ($P = 0.005$).

Průměrné hodnoty sérových koncentrací a-TPO vykazovaly vzrůstající tendenci v závislosti na počtu potratů a byly signifikantně vyšší u žen s potraty ve srovnání s kontrolní skupinou ($P = 0.001$), resp. ($P = 0.000$). Laboratorní nález hladiny a-TPO vyšší než 143 IU/ml lze označit za rizikový faktor pro recidivující a/nebo habituální potrácení v období I. trimestru ($P = 0.003$).

Výsledná hodnota tyreoidálního ultrazvukového skóre (TUS) závisí na sérové koncentraci a-TPO. Při hodnotě a-TPO nad 143mIU/l bylo 116x vyšší riziko současné přítomnosti sonografických známek „středního“ nebo „těžkého“ stupně tyreoidity (OR = 116.2 [95 % CI: 14.2-947.4]).

Zavedením a především důslednou realizací tyreoidálního screeningu v graviditě dle doporučení ČES ČLS JEP by bylo možné včas tyto rizikové těhotné zachytit. Vzhledem ke snadné, dostupné a levné terapii levotyroxinem a vysoké compliance žen v období gravidity by bylo možné tímto postupem pravděpodobně efektivně snížit nejen počet následných potratů, ale mnohých dalších těhotenských komplikací.

4. Závěr

Časný spontánní abort (SA) je nejčastější komplikací v graviditě. Etiologické spektrum kauzálních příčin infertility v období prvního trimestru je pestré. Standardně bývá diagnostický algoritmus zahájen po třetí časně klinické těhotenské ztrátě, tedy jsou-li splněny podmínky habituálního potrácení. Díky pokračujícímu trendu vzrůstající prevalence infertility v období prvního trimestru a odkládání reprodukčních plánů je a do budoucna zdá se bude problematika infertility stále více aktuální a tíživá pro ženy po stránce fyzické, psychické i sociální. Preventivní opatření mohou přispět ke zkvalitnění a zefektivnění lékařské péče, snížení nákladů na péči spojenou s potrativší ženou a v neposlední řadě k psychické pohodě těhotných žen především v období prvního trimestru, jež je mnohými specialisty stále považováno za tzv. „šedou zónu“ gravidity s minimální možností terapeutické intervence.

Z vyšetřovaných kauzálních genetických faktorů infertility APO E polymorfismus a PT G20210A nelze označit za determinující faktory v roli časného SA. I přes možnou negativní roli FVL v heterozygotní konstituci v etiologii časného izolovaného SA (12 % vs. 2.6 % $P = 0.031$) vzhledem k pestrému etiologickému spektru možných příčin časného izolovaného SA, multifaktoriální etiopatogenezi tromboembolické nemoci a existenci dalších nevyšetřovaných hereditárních koagulopatií by vyšetření maternálního hereditárního trombofilního statutu mělo být standardně zahájeno až po třetím časném SA, není-li splněno jiné indikační kritérium.

Z negenetických maternálních kauzalit byl prověřován význam tyreoidální funkce v roli determinujícího faktoru časně infertility. Subklinická hypotyreóza byla signifikantně častější u infertilních žen oproti kontrolní skupině (19 % vs. 7 % $P = 0.003$). Hodnotu TSH vyšší než 2.5 mIU/l lze považovat za rizikový faktor časného SA ($P = 0.005$). Průměrné hodnoty sérových koncentrací a-TPO vykazovaly vzrůstající tendenci v závislosti na počtu SA a byly signifikantně vyšší u infertilních žen ve srovnání s kontrolní skupinou ($P = 0.001$), resp. ($P = 0.000$). Laboratorní nález hladiny a-TPO vyšší než 143 IU/ml lze označit za rizikový faktor pro recidivující a/nebo habituální potrácení v období prvního trimestru ($P = 0.003$). Výsledná hodnota tyreoidálního ultrazvukového skóre (TUS) závisí na sérové koncentraci a-TPO. Při hodnotě a-TPO nad 143 mIU/l bylo 116x vyšší riziko současné přítomnosti sonografických známek „středního“ nebo „těžkého“ stupně tyreoidity (OR = 116.2 [95 % CI: 14.2 - 947.4]). Zavedením a především důslednou realizací tyreoidálního screeningu v graviditě dle doporučení ČES ČLS JEP by bylo možné včas tyto rizikové těhotné zachytit. Vzhledem ke snadné, dostupné a levné terapii levotyroxinem a vysoké compliance žen v období

gravidity by bylo možné tímto postupem pravděpodobně efektivně snížit nejen počet následných potratů, ale mnohých dalších těhotenských komplikací.

5. Bibliografie

Abalovich M., et al. 2007. Clinical Practise Guideline. Management of Thyroid Dysfunction during Pregnancy and Postparturtum. *J Clin Endocrinol Metab.* 92, 2007, Sv. 8, stránky 41-47.

Agarwal M., et al. 2010. Recurrent pregnancy loss and apolipoprotein E gene polymorphisms: a case-control study from north India. *Am J Reprod Immunol.* 64, 2010, Sv. 3, stránky 172-178.

Alexander E., et al. 2004. Timining and Magnitude of increase Levothyroxin Requirements during Pregnancy in Women with Hypothyroidism. *NEJM.* 351, 2004, stránky 241-249.

Alfirevic Z., et al. 2002. How strong is the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcome? A systematic rewiev. *Eur J. Obst Gyn Reprod Biol.* 101, 2002, Sv. 1, stránky 6-14.

Arruda V., et al. 1997. The mutation Ala 677 Val in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease nad venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 77, 1997, stránky 818-821.

Asgari N., et al. 2013. Positive association of apolipoprotein E4 poylmorphism with recurrent pregnancy loss in Iranian patients. *J Assist Reprod Genet.* 30, 2013, Sv. 2, stránky 265-268.

Askie L. M., et al. 2007. Antiplatelet agents for prevention of preeclampsia: a meta-analysis of individual patient data. *The Lancet.* 369, 2007, Sv. 9575, stránky 1791-1798.

Auso E., et al. 2004. A moderate and transient deficiency of maternal thyroid function at the beginning of fetal neocorticoogenesis alters neuronal migration. *Endocrinology.* 145, 2004, stránky 4037-4044.

Bajekal N., Li T. C. 2000. Fibroids, infertility and pregnancy wastage. *Hum. Reprod.* 6, 2000, str. 614.

Becher J. C., et al. 2008. Apolipoprotein E4 and its prevalence in early childhood death due sudden infant death syndrome or to recognised causes. *Early Hum Dev.* 84, 2008, stránky 49-54.

— . **2006.** The distribution of apolipoprotein E alleles in scottish perinatal deaths. *J Med Genet.* 43, 2006, stránky 414-418.

Benhadi N., et al. 2009. Higher maternal TSH levels in pregnancy are associated with increased risk for miscarriage, fetal and neonatal death. *Eur J Endocrinol.* 160, 2009, stránky 985-991.

Benson C.B., et al. 2001. Outcome of pregnancies in women with uterine leiomas identified by sonography in the first trimester. *J. Clin. Ultrasound.* 29, 2001, str. 261.

Bertina R. M., et al. 1994. Mutation in bloodcoagulation factor V associated with resistanceto activated protein c. *Nature.* 369, 1994, stránky 64-77.

Bianca S., et al. 2010. No association between apolipoprotein E polymorphisms and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 93, 2010, str. 276.

Bick R.L., et al. 1998. Recurrent misscarriages: causes, evaluation and treatment. *Medscape Womens Health.* 3, 1998, Sv. 3, str. 2.

Binder T. 2008. Infertilita a opakované potrácení. *Moderní gynekologie a porodnictví.* 17, 2008, Sv. 4, stránky 372-387.

— **2002.** Možnosti terapie opakovaného potrácení. *Moderní gynekologie a porodnictví.* 11, 2002, Sv. 4, stránky 628-634.

Brachtlová T., et al. 2005. Preimplantační genetické vyšetření embryí- nový pohled na lidská embrya a léčbu neplodnosti. *Sanquis.* 39, 2005, str. 30.

Brenner B., et al. 1997. Activated protein Cresistance can be associated with recurrent fetal loss. *Brit J Haemol.* 97, 1997, stránky 551-554.

— **2005.** Efficacy and safety of two doses of enoxaparin in women withthrombophilia and reccurent pregnancy loss: the LIVE-ENOX study. *J Thomb Haemost.* 3, 2005, Sv. 2, stránky 227-229.

Brenner B., Kupferminc B. 2003. Inherited thrombophilia and poor pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet gynecol.* 3, 2003, stránky 427-439.

Brent G. A. 2007. Editorial: Diagnosis Thyroid Dysfunction in Pregnant Woman, is Case Findig enough? *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 92, 2007, stránky 39-41.

Brinkmeyer S., et al. 2004. Reformable intramolecular crosslinking of the N-terminal domin of heparin cofactor II. *Eur J Bioch.* 271, 2004, Sv. 21, stránky 4275-4283.

Brown K., et al. 1998. Effect of the MTHFR C677T variant on the risk of venous thromboembolism: interaction with factor FV Leiden and prothrombin mutations. *Br J Haematol.* 103, 1998, stránky 42-44.

Calda P., et al. 2013. Doporučení k posouzení komplikací vývoje plodu v I. trimestru. *Actual. Gyn.* 5, 2013, stránky 78-80.

Carrington B., et al. 2005. Recurrent miscarriage: pathophysiology and outcome. *Curr. Opin Obst Gynecol.* 17, 2005, Sv. 6, stránky 591-597.

Casey B. M., et al. 2006. Subclinical hyperthyroidism and pregnancy outcomes. *Obstet Gynecol.* 107, 2006, stránky 337-341.

Cauley J. A., et al. 1993. Apo E allele frequencies in younger (age 42-50) vs older (age 65-90) women. *Genetic Epidemiol.* 10, 1993, Sv. 1, stránky 27-34.

Cedazo-Minguez A. 2007. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease: molecular mechanism and therapeutic opportunities. *J Cell Mol Med.* 2007, Sv. 11, stránky 1227-1238.

Cifkova R, et al. 2010. Longitudinal trends in major cardiovascular risk factors in the Czech population between 1985 and 2007/08. Czech MONICA and Ctech post-MONICA. *Atherosclerosis.* 211, 2010, stránky 676-681.

Clark P., et al. 2010. SPIN study: a multicenter randomised controlled trial of low molecular weight heparin and low dose aspirin in women with recurrent miscarriage. *Blood.* 115, 2010, Sv. 21, stránky 4162-4167.

— **2008.** The goal study: a prospective examination of the impact of the factor V Leiden and ABO(H) blood groups on haemorrhagic and thrombotic pregnancy outcomes. *British Journal of Hematology.* 140, 2008, Sv. 2, stránky 236-240.

Comp P. C., et al. 1984. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *J Clin Invest.* 74, 1984, stránky 2082-88.

Česko. 2017. Zákon č. 372/2011 Sb. *Zákony pro lidi.* [Online] 7. 1 2017. [Citace: 17. 1 2017.] <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2011-372>.

Dahlbäck B, et al. 1993. Familial thrombophilia due a to previously unrecognised mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C, prediction of a cofactor to activated protein C. *Proct Natl Acad Sci USA.* 90, 1993, stránky 1004-1008.

Dahlbäck B. 1997. Resistance to activated protein C caused by the R506Q mutation in the gene for FV is a common risk for venous thrombosis. *J Int Med.* 242, 1997, Sv. 740, stránky 1-8.

Dangelo A., Selhub J. 1997. Homocysteine and thrombotic disease. *Blood.* 90, 1997, stránky 1-11.

De Groot L., et al. 2012. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: An endocrine Society practice guidelines. *J Clin Endocrinol Metab.* 97, 2012, stránky 2543-2565.

De Visser M. C., et al. 1999. A reduced sensitivity for activated protein C in absence of FV Leiden increases the risk of venous thrombosis. *Blood.* 93, 1999, stránky 1271-1276.

de Vries J. I., et al. 2012. Low-molecular-weight heparin added to aspirin in the prevention of recurrent early-onset pre-eclampsia in women with inheritable thrombophilia: the FRUIT-RCT. *J Thromb Haemost.* 10, 2012, Sv. 1, stránky 64-72.

de Vries JI, et al. 2009. Confounded thrombophilia studies in preeclampsia. *Am J Obst Gyn.* 201, 2009, Sv. 5, stránky 11-12.

Dizon-Townson D., et al. 2005. The relationship of the Factor V Leiden mutation and pregnancy outcomes for the mother and fetus. *Obstet Gynecol.* 106, 2005, Sv. 3, stránky 517-524.

Dosiou C., et al. 2008. Screening pregnant women for autoimmune thyroid disease: a cost effective analysis. *Eur J Endocrinol.* 158, 2008, Sv. 6, stránky 841-851.

Dudding T., et al. 2008. Factor V Leiden is associated with pre-eclampsia but not with fetal growth restriction: a genetic association study and meta-analysis. *J Thromb Haemost.* 11, 2008, Sv. 6, stránky 1868-1875.

Dulíček P. 2012. Možnosti antikoncepce u pacientek s trombofilií. *Practicus.* 1, 2012, stránky 31-34.

—. 2005. Trombofilní stavy. www.vnitrnilekarstvi.cz. [Online] 2005.

Dulíček P., et al. 2002. Hormonální antikoncepce a tromboembolická nemoc- jak je to ve skutečnosti. *Prakt Med.* 8, 2002, stránky 6-9.

Dulíček P., et al. 2006. Návrh antitrombotické profylaxe a péče o trombofilní stavy v gynekologii a porodnictví: souhrn. www.thrombosis.cz/doporuceniproklinickoupraxi. [Online] 2006.

—. **2005.** Výskyt venózního trombembolismu u žen s Leidenskou mutací v souvislosti s graviditou a šestineděním. *Čes Gyn.* 70, 2005, Sv. 2, stránky 133-138.

Egeberg O. 1965. Inherited antiThrombin III deficiency causing thrombophilia. *Thromb Diath Haemorrh.* 13, 1965, stránky 516-530.

Eichner J. E., et al.: 2002. Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a huge review. *Am J Epidemiol.* 155, 2002, stránky 487-495.

Engbertsen A. M. T., et al. 1995. Thermolabile 5,10-methylen tetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. *Am J Hum Genet.* 10, 1995, stránky 111-113.

Erlebacher A., et al. 2004. Ovarian insufficiency and early pregnancy loss. *J Clin Inves.* 114, 2004, Sv. 1, stránky 39-48.

Esmon C. T. 2005. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haem.* 131, 2005, Sv. 4, stránky 417-430.

Facco F., et al. 2009. Genetic Thrombophilias and intrauterine growth restriction: A meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 113, 2009, Sv. 6, stránky 1206-1216.

Gaillyová R. 2006. Genetické příčiny poruch reprodukce. *Brno.* 2006.

Galofre J. C., et al. 2010. Increased postpartum thyroxine replacement in Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid.* 20, 2010, stránky 901-908.

Garcia Enguidanos A., et al. 2002. Risk factors in miscarriage: a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 102, 2002, Sv. 20, stránky 111-119.

Garcia-Enguinados A., et al. 2002. Risk factors in miscarriages: a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 102, 2002, Sv. 20, stránky 111-119.

Gerdes L. U., et al. 1992. Apolipoprotein E polymorphism in a danish population compared to findings in 45 other studied populations around the world. *Genet Epidemiol.* 9, 1992, stránky 155-167.

Ghassabian A., et al. 2012. Maternal Thyroid Autoimmunity during Pregnancy and the Risk of Attention Deficit/ Hyperactivity Problems in Children. *Thyroid*. 22, 2012, Sv. 2, stránky 178-186.

Gibson C. S., et al. 2006. Association between fetal inherited thrombophilia and adverse pregnancy outcomes. *Am J Obs Gyn*. 194, 2006, stránky 947-994.

Glinoe D. 1997. The Regulation of Thyroid Function in Pregnancy Pathways of Endocrine Adaptation from Physiology to Pathology. *Endocrine Reviews*. 18, 1997, stránky 404-433.

Glinoe D., et al. 1991. Pregnancy in patients with mild thyroid abnormalities: Maternal and neonatal repercussions. *J Clin Endocrinol. Metab*. 71, 1991, stránky 421-427.

Gogia N., Machin G. A. 2008. Maternal Thrombophilias are associated with specific placental lesions. *Pediatric Development Pathology*. 11, 2008, Sv. 6, stránky 424-429.

Goodman C., et al. 2010. Association of apolipoprotein E polymorphisms and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 93, 2010, Sv. 4, str. 19.

Grandone E., et al. 1997. Factor V Leiden is associated with repeated and recurrent unexplained fetal losses. *Thromb Haemost*. 77, 1997, Sv. 5, stránky 822-824.

Greaves M., Baglin T. 2000. Laboratory testing for heritable Thrombophilia: Impact to clinical Management of Thrombotic Disease. *Br Haematol*. 109, 2000, stránky 699-703.

Green D., et al. 1997. Activated protein C in cancer patients. *Thromb Haemost*. suppl. 316, 1997.

Griffin J. H., et al. 1981. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J Clin Invest*. 68, 1981, stránky 370-373.

Gris J. C., et al. 2004. Low-molecular-weight heparin versus low dose aspirin in women with one fetal loss and constitutional thrombophilic disorder. *Blood*. 103, 2004, Sv. 10, stránky 3695-3699.

Haddow J. E., et al. 99. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of child. *NEJM*. 341, 99, stránky 549-555.

Higgins J. R., et al. 1998. Haemostasis in uteroplacental and peripheral circulations in normotensive and preeclamptic pregnancies. *Am J Obst Gyn.* 179, 1998, Sv. 2, stránky 520-526.

Horáček J, et al. 2010. Umoversal screenig detects two times more thyroid disorders in early pregnancy than targeted high risk case finding. *Eur J Endocrinol.* 163, 2010, stránky 645-650.

Hubacek JA, et al. 2009. Apolipoprotein E polymorphism in hemodialyzed patients and healthy controls. *Biochem Genet.* 47, 2009, stránky 688-693.

Hubáček J. A., et al. 2001. A possible role of apolipoprotein E polymorphism in predisposition to higher education. *Neuropsychology.* 43, 2001, stránky 200-203.

Hubáček J. A., et al. 2010. APO E polymorphism and its effect on plasma C-reactive protein levels in a large general population sample. *Hum Immunol.* 71, 2010, stránky 304-308.

Hudeček R, et al. 2004. Terapeutické možnosti asistované reprodukce u perimenopauzálních žen. *Prakt. Gyn.* 6, 2004, stránky 6-9.

Hudeček R., et al. 2009. Farmakologické možnosti embryoprotektivní terapie u infertilních žen. *Klinická farmakologie a farmacie.* 2009, Sv. 23, 2, stránky 76-82.

—. **2007.** Imunologické aspekty habituálního potrácení a sterility. *Prakt. Gyn.* 11, 2007, Sv. 6, str. 255.

—. **2004.** Terapeutické možnosti asistované reprodukce u perimenopauzálních žen. *Prakt. Gyn.* 6, 2004, stránky 6-9.

Hughes G. R., et al. 1992. The anticardiolipin antibodies. *Thromb Haemost.* 68, 1992, str. 217.

Infante-Rivard C., et al. 2002. Absence of Association of Thrombophilia Polymorphisms with Intrauterine Growth Restriction. *N Eng Jour Med.* 347, 2002, Sv. 1, stránky 19-25.

Jick H., et al. 1969. Venous Thrombembolic Disease and ABO Blood group Type. A cooperative Study. *Lancet.* 1, 1969, stránky 539-542.

Jiskra J. 2014. Farmakoterapie nemoci štítné žlázy v graviditě, po porodu a u infertilních žen. [autor knihy] Zikán M, Mašata a kol. Fait T. *Moderní farmakoterapie v gynekologii a porodnictví.* místo neznámé : Maxdorf Jessenius, 2014, stránky 243-252.

—. **2014.** Farmakoterpie nemocí štítné žlázy v graviditě, po porodu a u infertilních žen. [autor knihy] Zikán M., Mašata J. et al. *Fait. T. Moderní farmakoterapie v gynekologii a porodictví.* místo neznámé : Maxdorf, 2014.

—. **2012.** Choroby štítné žlázy v graviditě. *Medicína pro praxi.* 9, 2012, Sv. 5, stránky 233-237.

Jiskra J., et al. 2011. Low concordance between positive antibodies to thyroperoxidase and thyroid ultrasound autoimmune pattern in pregnant women. *Endocr J.* 29, 2011, Sv. 10, stránky 849–859.

Jiskra, J. 2014. Farmakoterpie nemocí štítné žlázy v graviditě, po porodu a u infertilních žen. [autor knihy] Zikán M., Mašata J. et al. *Fait. T. Moderní farmakoterapie v gynekologii a porodictví.* místo neznámé : Maxdorf, 2014.

Kaandorp S. P., et al. 2010. Aspirin plus Heparin or Aspirin alone in women with recurrent Misscarriage. *NEJM.* 362, 2010, Sv. 17, stránky 1586-1596.

Kamboh M. I., et al. 1990. Apolipoprotein E polymorphism in a Danish population compared to findings in papua New Guinea. *Am J Hum Bio.* 2, 1990, stránky 17-23.

Karakantza M., et al. 2008. Inheritance nad perinatal consequences of inherited thrombophilia in Greece. *Int J Gynecol Obstet.* 100, 2008, Sv. 2, stránky 124-129.

Karetová D. 2007. Trombofilní stavy - indikace vyšetření interpretace výsledků, dopady na preventivně-léčebné postupy. *Postgrad Med.* 4, 2007.

Kauffman R. P., et al. 2003. Syndrom polycystických ovarií. *Gynekologie po promoci.* 3, 2003, Sv. 6, stránky 39-47.

Keltikangas-Järvinen L., et al. 1993. Dependence between apolipoprotein E phenotypes and temperament in children, adolescents and young adults. *Psychosom Med.* 55, 1993, Sv. 2, stránky 155-63.

Kessler P. 2006. Trombofilní stavy. *Interní Med.* 9, 2006, stránky 374-379.

Khong T. Y., Hague W. M. 2001. Biparental contribution to fetal thrombophilia in discordant twin intrauterine growth restriction. *Am J Obst Gyn.* 185, 2001, Sv. 1, stránky 244-45.

Kim C., et al. 2011. Effects of levothyroxine treatment on in vitro fertilisation and pregnancy outcomes in infertile women with subclinical hypothyroidism undergoing in vitro fertilisation/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 95, 2011, Sv. 5, stránky 1650-1654.

Koryntová D. 2002. Psychosomatika sterility. *Moder. Gyn. a Porod.* 11, 2002, Sv. 4, stránky 635-636.

Koryntová D., Čepický P. 2002. Luteální insuficience a LUF. *WWW.levret.cz.* [Online] 2002.

Koster T., et al. 1993. Venous thrombosis due to a poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden thrombophilia study. *Lancet.* 342, 1993, Sv. 12, stránky 1503-1506.

Krajčovičová R., et al. 2007. Diferenciální diagnostika a terapie opakovaných těhotenských ztrát - II. část. *Prakt. Gyn.* 11, 2007, Sv. 5, stránky 200-205.

— **2004.** Diferenciální diagnostika a terapie opakovaných těhotenských ztrát-1.část. *Praktická gynekologie.* 4, 2004, stránky 164-169.

Kraus F. T., Acheen V. I. 1999. Fetal thrombotic vasculopathy in the placenta: cerebral thrombi and infarcts, coagulopathies and cerebral palsy. *Hum pathology.* 98, 1999, stránky 1195-9.

Kupfermanc M. J., et al. 1999. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complication of pregnancy. *NEJM.* 340, 1999, Sv. 1, stránky 9-13.

— **2000.** Severe preeclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. *Obstet Gynecol.* 96, 2000, Sv. 1, stránky 45-9.

Kvasnička J. 2010. Doporučený postup pro indikaci molekulárně genetických vyšetření v rámci diagnostiky trombofilních stavů v žilním systému. *Vnitř Lék.* 56, 2010, Sv. 12, str. 1.

Lazarus J. H. 2008. Postpartum thyroid disease. *The Thyroid and Reproduction.* 2008, stránky 105-113.

Lazarus J. H., et al. 2012. Antenatal Thyroid Screening and Childhood Cognitive Function. *NEJM.* 9, 2012, Sv. 6, stránky 493-501.

Li J., et al. 2014. Apolipoprotein E (Apo E) gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss: a metaanalysis. *J Asist Reprod Genet.* 31, 2014, Sv. 2, stránky 139-148.

Li T.C., et al. 2000. Endocrinological and endometrial factor in recurrent miscarriage. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 107, 2000, stránky 1471-9.

Li Y. J., et al. 2004. Apolipoprotein E controls the risk and age at onset of parkinson disease. *Neurology.* 62, 2004, stránky 2005-2009.

Límanová Z., et al. 2013. Doporučení pro diagnostiku a léčbu onemocnění štítné žlázy v těhotenství a pro ženy s poruchou fertility. *DMEV.* 16, 2013, Sv. 1, stránky 38-61.

— **2013.** Doporučení pro diagnostiku a léčbu onemocnění štítné žlázy v těhotenství a pro ženy s poruchou fertility. *Prakt Gyn.* 17, 2013, Sv. 2, stránky 173-199.

Límanová Z., Potluková E. 2007. Význam preventivního vyšetření funkce štítné žlázy v graviditě. *Prakt Gyn.* 11, 2007, Sv. 3, stránky 120-124.

Lin J., et al. 2005. Genetic thrombophilias and preeclampsia: a metaanalysis. *Obstet Gynecol.* 105, 2005, Sv. 1, stránky 182-192.

Linquist P. G., et al. 1999. Activated protein C resistance and pregnancy. *Thromb Haemost.* 81, 1999, Sv. 4, stránky 532-537.

Lockwood C. J. 1999. Heritable coagulopathies in pregnancy. *Obstet and Gynecol Survey.* 54, 1999, Sv. 12, stránky 754-765.

Lockwood CJ, et al. 2011. Decidual haemostasis, inflammation and angiogenesis in preeclampsia. *Semin Thromb Haemost.* 37, 2011, Sv. 2, stránky 158-164.

Malm J., et al. 1992. Thrombotic disease- critical evaluation of laboratory investigation. *Thromb Haemost.* 740, 1992, stránky 9-15.

Many A. L., et al. 2001. Pathologic features of the placenta in women with severe pregnancy complications and thrombophilia. *Obst Gyn.* 98, 2001, Sv. 6, stránky 1041-4.

Mardésič T. 2013. Geneticky podmíněné poruchy plodnosti. [autor knihy] T Mardésič. *Diagnostika a léčba poruch plodnosti.* 53-72 : Grada Publishing, 2013.

Mardešić, T. 2013. Diagnostika a léčba poruch plodnosti. *Diagnostika a léčba poruch plodnosti.* 53-72 : autor neznámý, 2013.

Martinelli P., et al. 2001. Familial Thrombophilia and the Occurrence of fetal growth restriction. *Haematologica*. 86, 2001, Sv. 4, stránky 428-31.

Mathonnet F., et al. 1996. Role of FVIII on activated protein C resistance ratio in inflammatory diseases. *Br J Haematol*. 95, 1996, stránky 423-425.

Matýšková M., et al. 2009. Kdy vyšetřovat trombofilní stavy. *Inter Med*. 11, 2009, Sv. 7, stránky 355-357.

McKenzie J. M., Zakarija M. 1992. Fetal and neonatal hyperthyroidism and hypothyroidism due to maternalTSH receptor antibodies. *Thyroid*. 2, 1992, stránky 155-125.

Meinardi J.R., et al. 1997. Aquired APC resistance related to oral contraceptives and pregnancy and its possible implications for clinical practise. *Blood Coag Fibrinol*. 8, 1997, stránky 152-154.

Menq H. X., et al. 2013. Association between apolipoprotein E gene polymorphisms and the risk of recurrent pregnancy loss: a metaanalysis. *J Asist Reprod Genet*. 30, 2013, Sv. 12, stránky 1547-1552.

Miletich J. P., et al. 1987. Absence of thrombosis in subjects with heterozygous protein C deficiency. *NEJM*. 317, 1987, stránky 991-996.

Miller S. A., et al. 1988. A simple salting out procedure for DNA extraction from humannucleated cells. *Nucleic Acid Res*. 16, 1988, str. 1215.

Morreale D. E., Escobar F.,. 2004. Maternal Thyroid Hormones Early in Pegnancy and Fetal Brain Development. *Best Practise and Research Clinical Endocrinology Metabolism*. 18, 2004, stránky 225-248.

Murphy R. P., et al. 2000. Prospective Evaluation of the Risk Conferred by Factor V Leiden and ThermolabileMethylenetetrahydrofolate Reductase polymorphisms in Pregnancy. *Am. Heart Association*. 20, 2000, Sv. 1, str. 266.

Negro R., et al. 2006. Levothyroxine Treatment in Euthyroid Pregnant Women with Autoimunité Disease: \effecz on Obstetrical Complications. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 91, 2006, stránky 2587-2591.

Nouza K., et al. 2000. Prevence a léčba imunologicky podmíněného habituálníhoho potrácení. *Medicína*. 6, 2000, Sv. 7, str. 21.

Obregon M. J., et al. 2007. Ontogenesis of Thyroid Function and Interactions with Maternal Function. *Endocr Dev.* 10, 2007, stránky 86-98.

Olivieri O., et al. 1995. Resistance to activated protein C in healthy women taking oral contraceptives. *Br. J. Haematol.* 91, 1995, stránky 465-470.

Panza F., et al. 1999. Decreased frequency of allele from apolipoprotein E Northern to Southern Europe in Alzheimer's disease patients and centenarians. *Neurosci Lett.* 277, 1999, stránky 53-56.

Penka M., et al. 2009. *Neonkologická hematologie.* 150-163 : Grada Publishing, 2009.

Poort S. R., et al. 1996. A common genetic variation in the 3' untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and increase in venous thrombosis. *Blood.* 88, 1996, stránky 3698-3703.

Pop V., et al. 2003. Maternal hypothyroxinemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3 years follow up study. *Clin Endocrinol.* 59, 2003, stránky 282-288.

Poppe K., et al. 2008. The Role of Thyroid Autoimmunity in Fertility and Pregnancy. *Nature Clinical Practice Endocrinology and Metabolism.* 4, 2008, stránky 394-405.

Potluková E. 2013. Poruchy štítné žlázy a těhotenství. *Prakt. lékař.* 9, 2013, Sv. 4, stránky 157-160.

Potluková E., et al. 2012. Is age a risk factor for hypothyroidism in pregnancy? An analysis of 5223 pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab.* 97, 2012, stránky 1945-1952.

— **2011.** Positivita protilátek proti tyreoidální peroxidáze u euthyreózních žen jako rizikový faktor pozdějšího rozvoje dystyreózy. *Diabetes, Metabolismus, Endokrinologie, Výživa.* 14, 2011, stránky 27-32.

Potluková, E. 2013. Výběr z doporučení České endokrinologické společnosti pro léčbu tyreopatií v těhotenství: část první. *www.prolekare.cz.* [Online] 2013.

Poul H. 2006. Trombofilní stavy významné v patogenezi žilní tromboembolické nemoci: souhrn. *www.thrombosis.cz.* [Online] 16. 03 2006.

Preston F. E., et al. 1996. Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *The Lancet*. 348, 1996, stránky 913-916.

Procházka M., et al. 2004. Trombofilní stavy v porodnictví II.část. *Prakt Gyn.* 6, 2004, stránky 18-23.

R., Niebyl J. 2010. Clinical practise. Nausea an pregnancy. *N Engl J Med*. 363, 2010, stránky 1544-1550.

Rai R., et al. 2001. Factor V Leiden and aquired activated protein C resistance among 1000 women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod*. 16, 2001, Sv. 5, stránky 961-965.

Raziel A., et al. 2001. Hypercoagulate thrombophilic defects and hyperhomocysteinemia in patients with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol*. 45, 2001, Sv. 2, stránky 65-67.

Redline R. W., Pappin A. 1995. Fetal thrombotic vasculopathy: the clinical significance of extensive avascular villi. *Hum pathol*. 26, 1995, stránky 80-85.

Rees M. M., Rodgers G. M. 1993. Homocysteinemia: association of a metabolic disorder with vascular diseaseand thombosis. *Thrombosis Reserch*. 57, 1993, stránky 47-53.

Rey E., et al. 2003. Thrombophilic disorders and fetal loss: a metaanalysis. *Lancet*. 361, 2003, stránky 901-908.

Ridker P. M., et al. 1998. Factor V Leiden mutation as a risk factor for recurrent pregnancy loss. *Ann Intern Med*. 128, 1998, stránky 1000-1003.

Robertson L., et al. 2006. Thrombophilia in pregnancy: a systematic rewiev. *Br. J. Haematol*. 132, 2006, Sv. 2, stránky 171-196.

Rodger M. A., et al. 2008. Inherited Thrombophilia and Pregnancy Complication Revisited. *Obs Gyn*. 112, 2008, Sv. 2, stránky 320-324.

Rosendaal F. R. 1999. Risk factors for venous thrombotic disease. *Thromb Haemost*. 82, 1999, stránky 610-619.

Rosendaal F. R., et al. 1995. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated proetin C resistance). *Blood*. 85, 1995, stránky 1504-1508.

Roztočil A. 2007. Opakované těhotenské ztráty: negenetické příčiny. *Gynekologie po promoci*. 5, 2007, stránky 20-23.

— **2011.** Poruchy délky trvání těhotenství. [autor knihy] et al. Roztočil. *Moderní gynekologie*. Praha : Grada Publishing a.s., 2011, stránky 204-9.

— **2007.** Vyšetření páru s opakovaným potrácením. *Moderní gynekologie a porodnictví*. 11, 2007, Sv. 4, str. 22.

Russo M. W., et al. 2006. Subclinical hyperthyroidism and pregnancy outcomes. *Obstet Gynecol*. 107, 2006, stránky 337-341.

Sadler T.W. 2010. Třetí až osmý týden: embryonální období. [autor knihy] Sadler T.W. *Langmannova lékařská embryologie. Překlad 10. vydání*. místo neznámé : Grada Publishing a.s., 2010, str. 100.

Said J. M., et al. 2010b. Altered reference ranges for protein C and protein S during early pregnancy: Implications for the diagnosis of protein C and protein S deficiency during pregnancy. *Thromb Haemost*. 103, 2010b, Sv. 5, stránky 875-1108.

Said J.M., Higgins J.R. et al. 2010. Inherited thrombophilia polymorphism and pregnancy outcomes in nuliparous women. *Obstet Gynecol*. 115(1), 5-13, 2010.

Salafia C. M., et al. 1995b. Placental pathologic features of preterm preeclampsie. *Am J Obs Gyn*. 173, 1995b, Sv. 4, stránky 1097-1105.

Salde A., et al. 1997. The C677T MTHFR variant and the risk of venous thrombosis. *Br J Haematol*. 99, 1997, str. 472.

Salomon O., et al. 2004. he common prothrombotic factors in nulliparous women do not compromise blod flow in the feto-maternal circulation and are not associated with preeclampsia or intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 191, 2004, Sv. 6, stránky 2002-9.

Sarig G., et al. 2002. Thrombophilia is common in women with pregnancy loss and is associated with late pregnancy wastage. *Fertil Steril*. 77, 2002, stránky 342-347.

Schaefer L., Iozzo R. V. 2008. Biological functions of the small Leucine-rich Proteoglycans: From Genetics to signal Transduction. *J Biol Chem*. 283, 2008, Sv. 31, stránky 21305-21309.

Schwarz H. P., et al. 1984. Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. *Blood*. 64, 1984, stránky 1297-1300.

Sibai, B. 2005. Thrombophilia and severe preeclampsia. Time to screen and treat in future pregnancies? *Hypertension*. 46, 2005, stránky 1252-1253.

Silver R. M., et al. 2010. prothrombin gene G20210A mutation and obstetrics complications. *Obstet Gynecol*. 115, 2010, Sv. 1, stránky 14-20.

Springer D., et al. 2009. Reference Intervals in Evaluation of Maternal Thyroid Function during the first Trimester of Pregnancy. *Eur. J. Endocrinol*. 160, 2009, stránky 791-797.

Springer D., Zima T., Limanova Z. 2009. Reference Intervals in Evaluation of Maternal Thyroid Function during the first Trimester of Pregnancy. *Eur. J. Endocrinol*. 160, 791-797, 2009.

Stagnaro-Green A., et al. 2011. American Thyroid Disease during Pregnancy and Postpartum. Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease during Pregnancy and Postpartum. *Thyroid*. 21, 2011, Sv. 10, stránky 1081-1125.

Stakias N., et al. 2006. Lower prevalence of epsilon 4 allele of apolipoprotein E gene in healthy longer-lived individuals of Hellen origin. *J Gerontol A Biol Sci Med*. 61, 2006, stránky 1228-1231.

Stephenson M.D. 2009. Opakované časné těhotenské ztráty - Je vyšetřování spontánního potratu důležité? *Gynekologie po promoci*. 2009, Sv. 1, str. 6.

Surks M. I., et al. 2004. Subclinical Thyroid Disease: Scientific Review and Guidelines for Diagnosis and Management. *Journal of the American Medical Association*. 291, 2004, stránky 228-238.

Svensson P. J., Dahlbäck B. 1994. Resistance to activated protein C as a basis for thrombosis. *NEJM*. 330, 1994, stránky 517-522.

Swan B., et al. 2010. Decorin expression is decreased in human idiopathic fetal growth restriction. *Reprod Fert Develop*. 22, 2010, Sv. 6, stránky 949-955.

Šlechtová J. 2007. Hemostáza- jak ji možná neznáme. *Klin Biochem Metab*. 15, 2007, Sv. 2, stránky 97-101.

Špitálníková S., et al. 2011. Tyreopatie v těhotenství (plošný screening nebo vyšetřování rizikových skupin). *Postgraduální medicína*. 13, 2011, Sv. 9, stránky 1033-1039.

Thangaratinam S., et al. 2011. Association between thyroid autoantibodies and miscarriage and preterm birth, metaanalysis of evidence. *BMJ*. 29, 2011, Sv. 10, stránky 849-859.

Thung S. F., et al. 2009. The cost-effectiveness of universal screening in pregnancy for subclinical hypothyroidism. *Am J Obstet Gynecol*. 267, 2009, Sv. 3, stránky 1-7.

ÚZIS. 2016. www.uzis.cz. [Online] 2016.

Vaidya B., et al. 2007. Detection of Thyroid Dysfunction in early Pregnancy: Universal Screening or Targeted high-risk Finding? *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 92, 2007, stránky 203-207.

Valli E., et al. 2001. Hysteroscopy findings in 344 women with recurrent spontaneous abortion. *Am. Assoc. Gynecol. Laparosc*. 8, 2001, str. 398.

Van Calster B., et al. 2013. M4 Triage Protocol to Classify Pregnancies of Unknown Location as Low or High Risk. *Hum Reprod*. 28, 2013, stránky 609-616.

Ventruba P., et al. 2002. Embryoprotektivní imunomodulace. *Asist. Reprod*. 12, 2002, Sv. 1, str. 8.

Visser J., et al. 2011. Thromboprophylaxis for recurrent miscarriage in women with or without thrombophilia HABENOX: A randomised multicentre trial. *Thromb Haemost*. 105, 2011, Sv. 2, stránky 295-301.

Vojáček J., et al. 2004. *Arteriální a žilní trombóza v klinické praxi*. Praha : Grada Publishing, 2004.

Walker I. D., et al. 2001. Haemostasis and Thrombosis Task Force British Comitee for Standards in Haematology. Investigation and Management of heritable Thrombophilia. *Br J Haematol*. 114, 2001, stránky 512-528.

Warda M., et al. 2008. Is human placenta proteoglycan remodeling involved in pre-eclampsia? *Glycon J*. 25, 2008, Sv. 5, stránky 441-450.

Weiler H. 2004. Mouse models of thrombosis: thrombomodulin. *Thromb Haemost*. 92, 2004, Sv. 3, stránky 467-477.

Williams G. R. 2008. Neurodevelopment and neurophysiological actions of thyroid hormone. *J Neuroendocrinol*. 20, 2008, Sv. 6, stránky 784-794.

Williamson D, et al. 1998. Factor V Cambridge: a new mutation (Arg 306-Thr) associated with resistance to activated Protein C. *Blood*. 91, 1998, stránky 1140-1144.

Wramsby M. L., et al. 2000. Primary habitus abortions are associated with high frequency of factor V Leiden mutation. *Fertil Steril*. 74, 2000, stránky 987-991.

Wu O., et al. 2006. Screening for Thrombophilia in high risk situations: systematic review and cost-effective analysis. The Thrombosis Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS). *Health Technol Assess*. 10, 2006, Sv. 11, stránky 1-100.

Yassa L., et al. 2010. Thyroid hormone early adjustment in pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 95, 2010, stránky 3234-3241.

Young B. C., et al. 2010. Pathogenesis of pre-eclampsia. *An Rev Path: Mechanisms of disease*. 5, 2010, Sv. 1, stránky 173-192.

Younis J. S., et al. 2000. Activated protein C resistance and factor V Leiden mutation can be associated with first as well as second trimester recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol*. 43, 2000, Sv. 1, stránky 31-35.

Zamrazil V. 2012. Doporučení pro diagnostiku a léčbu onemocnění štítné žlázy v těhotenství a pro ženy s poruchou fertility. *DMEV*. 4, 2012, stránky 242-264.

Zamrazil V., et al. 2004. The elimination of Iodine Deficiency in Czech Republic: the Steps toward the Success. *Thyroid*. 14, 2004, stránky 49-56.

Zetterberg H., et al. 2002. Influence of the apolipoprotein E4 allele on human embryonic development. *Neurosci Lett*. 324, 2002, stránky 189-192.

Zhang H. L., Wu J. 2010. Apolipoprotein E4 allele and recurrent pregnancy loss: is it time to draw conclusion? *Fertil Steril*. 4, 2010, Sv. 1, str. 20.

Zhang Y. X., et al. 2009. Genetic analysis of first trimester miscarriages with a combination with cytogenetic karyotyping, microsatellite genotyping and array CGH. *Clin Genet*. 2009, 75, stránky 133-140.

Zwinger A. 2004. Opakované potrácení. *Porodnictví*. Praha: Galen, 2004, stránky 173-183.

—. 2000. Spontánní a opakovaný potrat. *Moder. Gynek. Porod*. 2000, 9, str. 367.

Seznam obrázků

Obrázek 1: Schéma koagulační kaskády	37
Obrázek 2: Lidské embryo v 5.-6. gestačním týdnu.....	54
Obrázek 3: Schéma doporučeného postupu pro screening a terapii tyreopatií v graviditě	80
Obrázek 4: Štěpení DNA restriční endonukleázou EcoRI.....	84
Obrázek 5: Ukázka elektroforézy v agarózovém gelu.....	85

Seznam tabulek

Tabulka 1: Referenční intervaly pro TSH dle ATA	66
Tabulka 2: Distribuce polymorfismů apolipoproteinu E (APO E) v analyzovaných souborech	86
Tabulka 3: Prevalence FVL	94
Tabulka 4: Prevalence PT G20210A	95
Tabulka 5: Porovnání prevalencí PT G20210A.....	96
Tabulka 6: Vztah hladiny TSH k SA (průměrné hodnoty).....	104
Tabulka 7: Prevalence jednotlivých pásem TSH	104
Tabulka 8: Vztah hladiny fT4 k SA (průměrné hodnoty).....	105
Tabulka 9: Prevalence jednotlivých pásem fT4	106
Tabulka 10: Vztah zlogaritmovaných průměrných hodnot hladin a-TPO a SA.....	106
Tabulka 11: Prevalence jednotlivých pásem hladiny a-TPO (ha-TPO: a-TPO vyšší než 143 IU/ml), na-TPO: a-TPO menší nebo rovno vyšší než 143 IU/ml).....	107
Tabulka 12: Prevalence subklinické hypotyreózy	108
Tabulka 13: Prevalence manifestní hypotyreózy.....	108
Tabulka 14: Prevalence eutyroidní a-TPO positivity.....	108
Tabulka 15: Prevalence subklinické hypertyreózy.....	109
Tabulka 16: Prevalence manifestní hypertyreózy	109
Tabulka 17: Prevalence izolované hypotyroxinémie	109

Tabulka 18: Korelace hladiny a-TPO s ultrazvukovým nálezem tyreoidálního ultrazvukového skóre (TUS)	110
Tabulka 19: Korelace zvýšené hladiny ha-TPO (a-TPO vyšší než 143 IU/ml) s ultrazvukovým nálezem tyreoidálního ultrazvukového skóre (TUS)	111

Seznam grafů

Graf 1: absolutní počet evidovaných potratů a procentuální zastoupení jednotlivých druhů potratu	14
Graf 2: průměrný věk žen v době SA	23
Graf 3: Distribuce APO E genotypů u infertilních žen (SA) a kontroly (K).....	86
Graf 4: Křivka tání	92
Graf 5: Změna tvaru křivky tání	93
Graf 6: Prevalence FVL u infertilních žen (SA; 9/100), žen s jedním izolovaným SA (SA1; 9/75) a u kontrol (K; 2/76)	94
Graf 7: Prevalence PT G20210A u infertilních žen (SA; 3/100), žen s 1 izolovaným SA (SA 1; 3/75) a u kontrol (K; 4/76)	95
Graf 8: Prevalence zvýšené hladiny TSH nad 2.5 mIU/l (h-TSH) u žen s izolovaným SA (SA 1), s recidivujícím nebo habituálním SA (SA 2) a u kontrol (K)	105
Graf 9: Prevalence zvýšené hladiny a-TPO vyšší než 143 IU/ml (ha-TPO) u žen s izolovaným SA (SA 1), s recidivujícím nebo habituálním SA (SA 2) a u kontrol (K)	107
Graf 10: Korelace hladiny a-TPO s ultrazvukovým nálezem tyreoiditidy dle skóre (TUS)	112