

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI

Gynekologicko-porodnická klinika



Autoreferát dizertační práce

## **IMUNOLOGICKY RIZIKOVÁ ŽENA A JEJÍ DÍTĚ**

MUDr. Alice Mocková

Plzeň 2014

Doktorská dizertační práce byla vypracována v rámci doktorandského studijního programu na Gynekologicko-porodnické klinice Fakultní nemocnice v Plzni a Lékařské fakulty v Plzni, přednosta doc. MUDr. Zdeněk Novotný, CSc.

Uchazeč: MUDr. Alice Mocková, Neonatologické oddělení Fakultní nemocnice v Plzni a Lékařské fakulty v Plzni

Školitel: Prof. MUDr. Zdenka Ulčová-Gallová, DrSc., Gynekologicko-porodnická klinika Fakultní nemocnice v Plzni a Lékařské fakulty v Plzni

Oponenti:

.....

.....

Stanovisko k doktorské dizertační práci bylo vypracováno na Gynekologicko-porodnické klinice Fakultní nemocnice v Plzni a Lékařské fakulty v Plzni, přednosta doc. MUDr. Zdeněk Novotný, CSc.

Autoreferát byl rozeslán dne

Obhajoba dizertační práce se koná dne ....června 2014 v .... hod. před komisí pro obhajoby disertačních prací doktorandského studijního programu v oboru gynekologie a porodnictví na Gynekologicko-porodnické klinice FN a LF UK v Plzni, Alej Svobody 80, pavilon P, 3. patro.

S dizertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty v Plzni, Husova 3.

Předseda oborové komise

ve vědním oboru gynekologie a porodnictví

Doc. MUDr. Zdeněk Novotný, CSc.

Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN v Plzni

## Souhrn

Autoimunitní choroby (AD), spojené s přítomností antifosfolipidových protilátek (aPL) se vyskytují často u žen ve fertlím věku a mohou ovlivnit zdravotní stav jejich dětí. Úvodním cílem práce bylo zjistit přítomnost aPL proti  $\beta$ 2-glykoproteinu I (anti  $\beta$ 2GPI), kardiolipinu (aCL), fosfatidyl-L-serinu, fosfatidylinositolu, fosfatidylethanolaminu, fosfatidyl-DL-glycerolu, kyselině fosfatidové a annexinu V u matek s definovaným AD a jejich dětí po porodu, v 6 a 12 měsících života, a porovnat výskyt aPL se soubory zdravých matek a jejich dětí. Dalším cílem studie byla realizace 2 - letého follow - up aPL pozitivních a aPL negativních novorozenců matek s AD včetně vyšetření krevního obrazu, USG CNS a břicha, tranzientních evokovaných otoakustických emisí, elektrokardiografického a psychologického ve snaze odhalit možný dopad mateřské AD na zdravotní stav dětí. Z původně vyšetřených 82 aPL pozitivních žen s AD bylo do prospektivní studie zařazeno 31 matek a jejich 34 novorozenců, rovněž s pozitivními aPL. Druhý soubor tvořilo 23 žen s AD s negativními aPL a jejich 24 aPL negativních dětí. Soubor matek bez AD tvořilo 30 žen, soubor dětí matek bez AD byl sestaven z 30 dětí. Hladiny aPL byly vyšetřovány ELISA metodou. Statistické hodnocení výsledků bylo provedeno programem Statistika 9.

U matek s AD jsme detekovali nejčastěji aPL proti fosfatidyl-L-serinu, proti aCL a  $\beta$ 2GPI v subtypech IgG. Mezi skupinami aPL pozitivních a zdravých matek byl při kvantitativním stanovení aPL byl zjištěn signifikantní rozdíl ( $p < 0,01$ ) mezi všemi jednotlivými aPL v subtypech IgG ( $p < 0,01$ ) s výjimkou aPL proti fosfatidyl-DL-glycerolu, v subtypu IgM jsme našli významnou diferenci hladiny aCL ( $p < 0,05$ ) a v subtypu IgA u anti  $\beta$ 2GPI ( $p < 0,01$ ). U matek bez AD činila incidence aPL 3,3 %. Transplacentární přenos aPL subtypu IgG byl po porodu prokázán u 41,4 % novorozenců, nejčastěji detekovanou aPL byla aPL proti fosfatidyl-L-serinu IgG. U novorozenců zdravých matek byla prokázána přítomnost aPL IgG ve 3,3 %. V 6 měsících perzistovaly aPL u 38,2 % dětí aPL pozitivních matek, ve 12 měsících byly identické protilátky detekovány ještě u 5, 8 % zmíněných dětí. Novotvorba aPL v 6 a 12 měsících věku byla nejvyšší u souboru dětí aPL pozitivních matek ve srovnání se skupinou dětí aPL negativních matek a se skupinou zdravých dětí. Během 2 - letého sledování skupin dětí matek s AD nebyly nalezeny trombotické komplikace či příznaky neonatálního lupusu, rovněž vyšetření EKG a tranzientních otoakustických emisí bylo bez patologie. U dětí aPL pozitivních matek byl přítomný vyšší výskyt přechodné trombopenie a vyšší výskyt USG abnormit CNS, které ustoupily do 6 měsíců. Psychologické vyšetření ve 2 letech prokázalo u těchto dětí signifikantně nižší mentální vývojový index ( $p < 0, 01$ ), 17,6 % dětí mělo hodnotu MVI v pásmu středního poškození, rozdíl v četnosti tohoto parametru mezi oběma skupinami byl významný ( $p=0,03$ ). Parametr MVI u dětí aPL pozitivních matek negativně koreloval s hodnotou anti  $\beta$ 2GPI v IgG po narození ( $p < 0,0001$ ).

Domníváme, že u dětí matek s AD a pozitivními aPL, je žádoucí jejich dlouhodobé sledování včetně psychologického vyšetření ve 2 letech věku k detekci časných abnormit neuropsychického vývoje a k zahájení korekce pod odborným vedením.

## Summary

Women in childbearing age are often affected by autoimmune diseases (AD) associated with the presence of antiphospholipid antibodies (aPL) that may influence further development of their children.

The primary objective of our prospective study was to determine the presence of the following aPL: anti  $\beta$ 2 glycoprotein I (anti- $\beta$ 2GPI), anticardiolipin (aCL), antiphosphatidylserine, antiphosphatidylinositol, antihosphatidylethanolamine, antiphosphatidylglycerol, antiphosphatidic acid, antiannexin V in mothers with defined AD and their children after birth, at 6 and 12 months of life, and to compare the incidence of aPL with a control group. A secondary objective of the study was a 2-year follow-up of children born to aPL negative and aPL positive mothers with AD in order to detect the possible impact of maternal AD on the health of the offspring. In children, we analysed anthropometric data, blood cell count, cerebral and abdominal ultrasound examination, transient evoked otoacoustic emission test (TEOAE), electrocardiograph (ECG), the presence and kinetics of aPL. At the age of 2 years the Bayley Scales of Infant Development (BSID-II) were used for children's assessment of motor, language and cognitive development. 31 mothers from the total examined 82 aPL positive women with AD delivered 34 neonates that were also aPL positive and were included in the study. The second group consisted of 24 aPL negative newborns born to 23 aPL negative mothers with AD. The control group comprised of 30 mothers without AD and 30 children born to women without AD. Home - made and commercial ELISA kits were used for aPL detection. The statistic values were calculated using Statistica 9 software.

The most frequently detected aPL in mothers with AD were antiphosphatidylserine, aCL and anti  $\beta$ 2GPI IgG. The quantitative determination of aPL IgG differed significantly ( $p < 0.01$ ) between mothers with AD and mothers without AD except antiphosphatidylglycerol. The level of aCL IgM and anti- $\beta$ 2GPI IgA was significantly higher in mothers with AD ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ , respectively). The aPL incidence in mothers without AD was 3.3 %. The transplacental transfer of aPL IgG was detected at birth in 41.4 % of newborns. The antiphosphatidylserine IgG was the most frequently found aPL in newborns. In neonates born to healthy mothers, aPL presence was detected in 3.3 % of cases. At 6 months of age the aPL persisted in 38.2 % of children born to aPL positive mothers, the identical aPL were present in 5.8 % of those children even at 12 months of age. The de novo aPL production at 6 and 12 months of age was highest in the group of children of aPL positive mothers. Neither symptoms of neonatal lupus nor thrombotic event were found in any of children during follow-up. Evaluation of ECG and TEAOE didn't reveal any pathology. Higher incidence of transient thrombopenia and mild CNS abnormalities were observed in children of aPL positive mothers. Mental development index (MDI) of BSID - II was significantly lower in these children ( $p < 0.01$ ). The prevalence of the moderate damage differed significantly between the two groups ( $p=0.03$ ). MDI in children of aPL positive mothers negatively correlated with anti  $\beta$ 2GPI IgG at birth ( $p < 0.01$ ).

We believe that maternal AD with presence of aPL may negatively influence the mental development of their offspring. Therefore a long term follow-up of the children with BSID testing is required in order to detect early abnormalities of their neuropsychological development and to enable timely correction.

<b>Obsah</b>	
<b>1 Úvod</b> .....	7
<b>2 Cíl práce</b> .....	7
<b>3 Současný stav poznání</b> .....	8
<b>3.1 Změny v imunitním systému u těhotných žen</b> .....	8
<b>3.2 Imunitní změny v graviditě a infekce</b> .....	8
<b>3.3 Imunologické odchylky u těhotných žen</b> .....	9
3.3.1 <i>Imunodeficitní stavy u těhotných žen</i> .....	9
3.3.2 <i>Imunoproliferativní stavy u těhotných žen</i> .....	10
3.3.3 <i>Imunopatologické stavy</i> .....	10
<b>3.4 Autoimunitní choroby u žen</b> .....	10
3.4.1 <i>Vliv sexuálního dimorfismu pohlavních hormonů, genetických faktorů</i> .....	10
3.4.2 <i>Autoimunitní choroby u žen - infertilita a opakované ztráty gravidity</i> .....	11
<b>3.5 Možné mechanismy vzniku protilátkově vyvolaných autoimunitních onemocnění u plodu a novorozence</b> .....	12
3.5.1 <i>Autoimunitní onemocnění žen a antifosfolipidové protilátky</i> .....	13
<b>4 Vlastní řešení studie</b> .....	15
<b>4.1 Studované soubory</b> .....	15
<b>4.2 Protokol studie</b> .....	16
<b>4.3 Metodika studie</b> .....	17
4.3.1 <i>Stanovení hladin antifosfolipidových protilátek</i> .....	17
4.3.2 <i>Vyšetření krevního obrazu</i> .....	18
<b>4.4 Statistické zpracování</b> .....	18
<b>5 Výsledky</b> .....	19
<b>5.1 Soubory matek</b> .....	19
<b>5.2 Soubory novorozenců</b> .....	21
5.2.1 <i>Porodní údaje a poporodní adaptace</i> .....	21
5.2.2 <i>Hodnocení krevního obrazu novorozenců</i> .....	22
5.2.3 <i>Hodnocení vyšetření elektrokardiografického vyšetření (EKG) u novorozenců</i> .....	23
5.2.4 <i>Hodnocení vyšetření transientních evokovaných otoakustických emisí (TEOAE), ultrasonografie (USG) a klinického nálezu novorozenců při propuštění z porodnice</i> .....	23
5.2.5 <i>Hodnocení follow-up dětí ve věku 6, 12 a 24 měsíců</i> .....	24
5.2.6 <i>Hodnocení detekce antifosfolipidových protilátek u novorozenců po porodu</i> .....	25
5.2.7 <i>Hodnocení detekce antifosfolipidových protilátek u dětí ve věku 6 a 12 měsíců</i> .....	25
5.2.8 <i>Výsledky psychologického vyšetření dětí ve 24 měsících věku</i> .....	26
<b>6 Hodnocení výsledků studie a diskuze</b> .....	28
<b>6.1 Soubory matek</b> .....	28
<b>6.2 Soubory dětí</b> .....	29
<b>7 Závěr</b> .....	34
<b>8 Seznam použité literatury</b> .....	35
<b>9 Publikační a přednášková činnost spojená s tématem dizertační práce</b> .....	39
<b>9.1 Impaktované publikace</b> .....	39
<b>9.2 Recenzované publikace</b> .....	39
<b>9.3 Jiné publikace</b> .....	39
<b>9.4 Přednášková činnost</b> .....	39

## Seznam použitých zkratk

<b>aCL</b>	protilátka proti kardiolipinu (anticardiolipin)
<b>AIHA</b>	autoimunní hemolytická anemie (autoimmune hemolytic anemia)
<b>AD</b>	autoimunitní choroby (autoimmune diseases)
<b>AIDS</b>	syndrom získaného selhání imunity (acquired immunodeficiency syndrome)
<b>ANA</b>	antinukleární protilátka (antinuclear antibody)
<b>aPL</b>	antifosfolipidová protilátka (antiphospholipid antibody)
<b>APS</b>	antifosfolipidový syndrom (antiphospholipid syndrome)
<b>β2GPI</b>	β2 glykoprotein I
<b>BMI</b>	index tělesné hmotnosti (body-mass index)
<b>BPD</b>	bronchopulmonální dysplázie
<b>CNS</b>	centrální nervový systém
<b>CVID</b>	běžný variabilní imunodeficit (common variable immunodeficiency)
<b>c-PVL</b>	cystická periventrikulární leukomalácie
<b>ELISA</b>	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
<b>ENA</b>	extrahovatelný nukleární antigen
<b>FIRS</b>	syndrom systémové zánětlivé odpovědi plodu (fetal inflammatory response syndrome)
<b>HIV</b>	virus lidské imunitní nedostatečnosti (human immunodeficiency virus)
<b>HELLP</b>	hemolysis-elevated liver enzymes-low platelet count syndrome
<b>IL</b>	interleukin
<b>IFN γ</b>	interferon γ
<b>Ig G, A, M</b>	imunoglobulin třídy G, A, M
<b>ITP</b>	imunitní trombocytopenická purpura
<b>IUGR</b>	intrauterinní růstová retardace (intrauterine growth restriction)
<b>IVF</b>	in vitro fertilizace
<b>IVH</b>	nitrokomorové krvácení (intraventricular hemorrhage)
<b>LA</b>	lupus antikoagulans
<b>LMWH</b>	nízkomolekulární heparin (low-molecular-weight heparin)
<b>MG</b>	myastenie gravis
<b>MHC</b>	hlavní histokompatibilní komplex (major histocompatibility complex)
<b>MVI</b>	mentální vývojový index
<b>NAIT</b>	novorozenecká aloimunní trombopenie
<b>NLE</b>	novorozenecký lupus erythematosus
<b>POF</b>	předčasné ovariální selhání (premature ovarian failure)
<b>PROM</b>	předčasný odtok plodové vody (premature rupture of membrane)
<b>PVI</b>	psychomotorický vývojový index
<b>RDS</b>	syndrom dechové tísně (respiratory distress syndrome)
<b>ROP</b>	retinopatie z nezralosti (retinopathy of prematurity)
<b>SEPC</b>	subependymální pseudocysta (subependymal pseudocyst)
<b>SLE</b>	systémový lupus erythematosus
<b>TEOAE</b>	tranzientně evokované otoakustické emise
<b>USG</b>	ultrasonografie

## 1 Úvod

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

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

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

Důležitým rysem autoimunitních chorob je přítomnost celé řady autoprotilátek, ke kterým patří i antifosfolipidové protilátky. I když téma antifosfolipidových protilátek v adultním věku je v literatuře hojně diskutované, účinek těchto protilátek na nejranější období dětského věku není zcela objasněn. V rámci zlepšující se péče a nových strategií v léčbě končí gravidity matek s autoimunitním onemocněním, spojených s přítomností antifosfolipidových protilátek, stále častěji porodem živého dítěte. Do středu zájmu současného výzkumu se dostává tedy dopad autoimunitní choroby a možné konsekvence účinku antifosfolipidových protilátek na potomky těchto žen.

## 2 Cíl práce

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

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

Cílem naší práce bylo:

a) zjistit přítomnost osmi vybraných aPL (proti fosfatidyl-L-serinu, fosfatidylethanolaminu, fosfatidylinositolu, fosfatidyl-DL-glycerolu, kyselině fosfatidové, annexinu V, kardiolipinu a  $\beta$ 2-glykoproteinu I) po porodu u matek s diagnózou primárního antifosfolipidového syndromu a jiným definovaným autoimunitním onemocněním a porovnat tyto hladiny se souborem matek bez autoimunitního onemocnění;

b) detekovat přítomnost osmi vybraných antifosfolipidových protilátek (proti fosfatidyl-L-serinu, fosfatidylethanolaminu, fosfatidylinositolu, fosfatidyl-DL-glycerolu, kyselině fosfatidové, annexinu V, kardiolipinu a  $\beta$ 2-glykoproteinu I) v souborech novorozenců dětí těchto matek po porodu;

c) sledovat výskyt zmíněných aPL protilátek s odstupem 6 a 12 měsíců po porodu u dětí v souborech aPL pozitivních a aPL negativních matek s autoimunitním onemocněním a v souboru dětí matek bez autoimunitního onemocnění;

d) zhodnotit komplexní vyšetření (klinické, sonografické, vyšetření tranzientních evokovaných otoakustických emisí, vyšetření elektrokardiografické, vyšetření krevního obrazu, vyšetření psychologické) dětí matek s autoimunitním onemocněním po narození a při následném 2-letém follow-up ve snaze odhalit možné následky autoimunitního onemocnění matky na celkový vývoj dětí.

### **3 Současný stav poznání**

#### **3.1 Změny v imunitním systému u těhotných žen**

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

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

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

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

#### **3.2 Imunitní změny v graviditě a infekce**

I když je v současné době přehodnocena hypotéza, že gravidita může indukovat stav generalizované „netečnosti“ či imunodeficiencie u zdravých žen, na základě potlačení aktivity cytotoxických T lymfocytů byla v některých epidemiologických studiích prokázána zvýšená vnímavost gravidních žen k infekčním onemocněním [Jamieson, 2006].

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

Animální studie dále prokázaly, že placentární infekce mohou působit rovněž jako spouštěč syndromu fetální zánětlivé reakce (fetal inflammatory response syndrome - FIRS), který je charakterizován vysokou hladinou cirkulujících zánětlivých cytokínů IL - 1, IL - 6, IL - 8 a TNF  $\alpha$  u plodu. Prozánětlivé prostředí negativně ovlivňuje centrální nervový a oběhový systém fétu s následným možným rozvojem intrakraniálního krvácení a ventrikulomegalie mozkových komor.



Mimo morfologické změny fetálního CNS je FIRS za rizikový faktor při rozvoji dětské mozkové obrny, autismu a poruše kognitivních funkcí [Burd, 2012].

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

### **3.3 Imunologické odchylky u těhotných žen**

#### **3.3.1 Imunodeficitní stavy u těhotných žen**

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

Běžný variabilní imunodeficit (common variable immunodeficiency - CVID ) je nejčastěji se vyskytující symptomatickou primární poruchou humorální imunity u žen ve fertilním věku [Park, 2008]. Dominujícím laboratorním rysem onemocnění jsou nízké hladiny protilátek IgG, IgA a někdy i IgM, může být přítomen i defekt aktivace T- lymfocytů. Pro zachování gravidity pacientek s CVID je nezbytná adekvátní antibiotická terapie probíhajících infekcí. V případech se závažnou hypogamaglobulinémií je v graviditě nutné pokračování individualizované substituční léčby imunoglobuliny, navýšení substituční dávky imunoglobulinů v posledním trimestru gravidity o 50 % má za optimalizuje hladiny imunoglobulinů u novorozence a zajistí jeho imunitu v prvních šesti měsících postnatálně. U žen s CVID a přidruženými autoimunitními chorobami (artritida, ulcerózní kolitida aj.) je indikována kortikoidní a event. imunosupresivní terapie (cyklosporin A). Po porodu je nutné vyšetření hypofyzární - nadledvinové osy a monitorování hodnot krevního obrazu u novorozence [Kurecova, 2009].

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

Mezi nejznámější sekundární typ imunodeficiency patří infekce vyvolaná virem HIV (human immunodeficiency virus), vedoucí ke vzniku syndromu získaného imunodeficitu (Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS). U HIV pozitivních žen udávají někteří autoři vyšší výskyt spontánních potratů i obecně nižší incidenci gravidit než u stejně staré populace [Massad, 2004]. Uvedené odlišnosti ve fertilitě jsou rovněž následkem životního stylu velké části infikovaných žen a přidruženého vlivu jiných pohlavně přenosných nemocí (syfilis, herpes genitalis), malnutrice či abuzu drog či vyššímu výskytu, infekce virem hepatitidy C, lidským papilomavirem a cytomegalovirem. Prenatálně může dojít u HIV gravidní ženy k přímé infekci syncytiotrofoblastu a následně transplacentárnímu přenosu na plod (od 9. - 11. týdne gravidity). Intrapartálně se novorozenec nakazí krví, vaginálními sekrety matky či plodovou vodou. Možnost přenosu infekce na dítě zvyšují rizikové faktory (trvání HIV infekce nad 2 roky, nedostatek vitamínu A, nízký počet CD4 T- lymfocytů matky, virémie matky nad 100 000 kopií/ml, předčasný odtok plodové vody

déle než 4 hodiny, chorioamniitida aj.) Největší incidence vertikálního přenosu HIV infekce je peripartálně (mezi 50 - 80 %) [Mark, 2012].

Antenatální a peripartální aplikace antiretrovirotik (nukleosidové/ nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy, nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy, proteázové inhibitory nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy - zidovudin, lamivudin) těhotným ženám, preference elektivních císařských řezů, postnatální podávání zidovudinu novorozencům po dobu 6 týdnů a zástava laktace HIV pozitivním matkám významně snížily vertikální přenos viru z matky na dítě [Mcgowan, 2000; Nesheim, 2012]. I když benefit antiretrovirové terapie pro HIV exponované novorozence je dokázaný, v posledních letech byly publikovány práce, prokazující mitochondriální poškození léčených dětí a nezanedbatelný není ani potenciální mutagenní a karcinogenní efekt této léčby v pozdějším věku [Sturt, 2010; Thorne, 2007].

### **3.3.2 Imunoproliferativní stavy u těhotných žen**

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

Incidence malignit v graviditě je nízká (např. leukemie 1: 75000 - 100 000 porodů ročně, Hodgkinův lymfom 1: 6000 porodů ročně), ale zvyšuje se s přibývajícím věkem rodiček [Popp, 2009]. Vlastní gravidita nemá pravděpodobně vliv na průběh choroby, ale výsledek těhotenství je významně ovlivněn druhem a stadiem maligního onemocnění, dobou stanovení diagnózy, celkovým stavem ženy a zvoleným typem terapie, proto léčba každé gravidní ženy musí být individualizována. U nálezu malignit v časných stadiích těhotenství připadá v úvahu arteficiální abort, neboť podávání kombinované chemoterapie je spojováno s 15 - 25 % rizikem kongenitálních malformací či spontánních potratů. Při nutnosti aplikace chemoterapie v pozdějších stadiích gravidity byl pozorován dřevový útlum u novorozenců, ale při dlouhodobém sledování nebyl zjištěn efekt mateřské léčby na jejich neurologický vývoj, fertilitu či vznik malignit. Aktinoterapie by měla být v graviditě kontraindikována [Michieli, 2012]. Řešením pro pacientky s malignitami, plánujícími graviditu, je uchování fertility za použití metod asistované reprodukce. V případě závažných onkologických stavů může být využita tzv. náhradní matka.

### **3.3.3 Imunopatologické stavy**

Imunopatologické stavy vznikají na základě poruchy regulace imunitní reakce na zevní či vnitřní antigeny, při které dojde k poškození tkáně nebo funkce orgánu. Imunopatologické reakce na zevní antigen jsou podstatou alergií, reakce na vnitřní antigen jsou podkladem autoimunitních chorob. Mezi autoimunitní choroby (autoimmune diseases, AD) patří dle recentních prací více než 80 onemocnění, u 45 z nich byl objeven dobře definovaný autoantigen.

## **3.4 Autoimunitní choroby u žen**

### **3.4.1 Vliv sexuálního dimorfismu pohlavních hormonů, genetických faktorů**

Etiopatogeneze AD je komplexní a je ovlivněna genetickými faktory, abnormalitami imunitního systému, hormonálními faktory a faktory zevního prostředí, mezi které obecně řadíme infekce, stres, nikotinismus, vakcinace a chemická adjuvancia, hovoříme o mozaice autoimunity. Prokázanou skutečností u AD je vysoká prevalence u žen, dosahující až 80 % a začátek velké části chorob ve fertálním věku žen [Shoenfeld, 1989].

Ženské pohlaví je spojováno s odlišnostmi v klinických projevech, nástupu, progresi a výsledku určitých AD. Jedním z možných vysvětlení je sexuální dimorfismus v lidské imunitě, ženy mají silnější buněčnou a protilátkovou odpověď ve srovnání s muži. Nezanedbatelný je vliv

pohlavních hormonů. Vliv estrogenu, jehož koncentrace je v graviditě 3 - 8 x vyšší než u netěhotné ženy, byl v animálních modelech prokázán při stimulaci autoreaktivních B lymfocytů a sekreci autoprotilátek. Rovněž prolaktin, zvyšující produkci autoprotilátek, může ovlivnit vznik AD u žen. I když neexistuje jasná korelace mezi hladinou prolaktinu a aktivitou nemoci, hyperprolaktinemie byla pozorována u mnoha AD (systémový lupus, revmatoidní artritida, Sjögrenův syndrom, roztroušená skleróza) [Shelly, 2012].

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

### **3.4.2 Autoimunitní chodoby u žen - infertilita a opakované ztráty gravidity**

AD nebývají běžně považovány za hlavní příčinu snížené fertility žen, avšak řada těchto chorob je provázena neschopností žen koncipovat nebo donosit plod. Během fyziologicky probíhající gravidity je adekvátní mateřská imunitní odpověď na antigeny trofoblastu, spojená s přechodným potlačením buněčné imunitní reakce, predominantním mechanismem k udržení těhotenství. V případě následných rekurentních 2 a více spontánních potratů do 10. týdne gravidity připadá v úvahu po vyloučení endokrinologických, anatomických a genetických příčin u žen s AD imunitní etiologie.

Autoprotilátková teorie předpokládá přímé poškození trofoblastu samotnými protilátkami či toxickými imunitní komplexem. Dle novějších studií se autoprotilátky a imunokomplexy spíše podílejí na poškození endotelu cév deciduy či placenty mechanismem trombotizace a následné ischemizace tkání. Důležitou roli zde hrají i snížené hladiny prostacyklinu s vazokonstrikčními vlastnostmi [Norwitz, 2001; Stephenson, 2007]. Tyto patologické kroky jsou popisovány rovněž při vzniku preeklampsie. Nejvíce prozkoumanou skupinou protilátky v těchto procesech jsou antifosfolipidové protilátky. Opakované potracení u žen s antifosfolipidovým syndromem může předcházet manifestní AD onemocnění i o řadu let.

U 10 - 30 % žen s AD (thyreopatie, hypoadrenalismus, myastenie gravis, systémový lupus, revmatoidní artritida, Crohnova choroba) bývá jednou z mnoha příčin neplodnosti předčasné ovariální selhání (premature ovarian failure - POF) [Cervera, 2008; Yan, 2000]. U adrenálních autoimunitních chorob s POF je nalézána přítomnost autoprotilátek proti buňkám produkujícím steroidy (folikulární buňky membrána granulosa, buňky theca folliculi interna a luteální buňky) a zánětlivá infiltrace ovariálních folikulů.

Část žen s autoimunitním POF má přítomné antizonální protilátky, které mohou ovlivnit přichycení spermií k vajíčku, její průnik do oocyty a tím být příčinou selhání přirozené či umělé fertilizace [Calongos, 2009; Ulcova-Gallova, 2010]. Mezi další protilátky, spojené s infertilitou, patří protilátky proti spermiím, detekované v řadě tělesných tekutin (sérum, sperma, cervikální hlen, folikulární a peritoneální tekutina). Tyto protilátky mohou mít negativní vliv na transport spermatozoí ženským genitálním traktem, interferovat s fertilizací oocytů či mít postfertilizační efekt na zygotu. Dle dalších prací je důraz kladen rovněž na patologickou buněčnou imunitu, namířenou proti trofoblastu a plodu [Madar, 2002]. K terapii opakovaných těhotenských ztrát nejen u žen s AD se řadí imunologická léčba (prednisolon, intravenózní imunoglobuliny, plazmaferéza, paternální lymfocytární terapie), podávání antiagregačních látek (aspirin) a antikoagulačních preparátů (nefrakcionovaný nebo nízkomolekulární heparin). Nověji je zvažován vliv aplikace granulocytární a makrofágové kolonie stimulujících faktorů (GM - CSF) u žen s rekurentními potraty a abnormální placencí, které podporují adhezi, diferenciaci a invazivitu embryonálních struktur.

### 3.5 Možné mechanizmy vzniku protilátkově vyvolaných autoimunitních onemocnění u plodu a novorozence

Působení AD matky na plod a novorozence je ovlivněno řadou faktorů, zahrnujících aktivitu mateřské nemoci, závažnost orgánového poškození, přítomnost cirkulujících protilátek a medikamentózní terapii matky. Protilátky vyvolávající zmíněné choroby jsou většinou třídy IgG a jejich transplacentární přenos do fetální cirkulace může způsobit fetální či neonatální onemocnění cestou mnohočetných patogenních mechanismů.

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

Další typ mateřských protilátek může způsobit poškození fetálních buněk prostřednictvím vazby na jejich povrch, které vyvolá následný rozpad prostřednictvím komplementem aktivované lytické reakce, protilátkově vyvolané buněčné cytotoxicity, odstraněním v retikoendotelovém systému či indukci apoptózy. Tímto způsobem jsou vyvolány neonatální cypopenie. Velmi zřídka se jedná o pravé mateřské autoprotilátky, které postihují matku i plod. Většinou jsou detekovány aloprotilátky, které reagují s paternálními antigeny, exprimovanými u plodu. Pokud matka nemá antigenní cíle pro dané aloprotilátky, je postižen pouze plod. Aloprotilátky mohou být antierytrocytární, antitrombocytární, antineutrofilní a antilymfocytární. V nejtěžších případech mohou způsobit i úmrtí fétu.

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

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

Příklady onemocnění vzniklých ve fetálním a novorozeneckém období, které mají kauzální souvislost s transplacentárním přenosem mateřských protilátek, jsou zobrazeny v **tabulce 1**.

**Tabulka 1 - Onemocnění novorozenců vyvolaná transplacentárním přenosem protilátek**

Neonatální auto /aloimunní trombocytopenie	Neonatální auto /aloimunní neutropenie
Hemolytické onemocnění novorozence	
Neonatální lupus erythematosus	Neonatální antifosfolipidový syndrom
Neonatální hypo/hypertyreóza	Neonatální glomerulonefritida
Tranzitorní myasthenia gravis novorozence	Neonatální pemfigus
Artrogryposis multiplex congenita	Neonatální hematochromatóza

### 3.5.1 Autoimunitní onemocnění žen a antifosfolipidové protilátky

aPL patří mezi heterogenní skupinu protilátek, podílející se mnohočetnými mechanismy na rozvoji autoimunitních procesů. Působí proti plazmatickým a buněčným proteinům, navázaných na fosfolipidový povrch. Trombofilní aPL potřebují k navázání na fosfolipidy protein jako plazmatický kofaktor, představovaný sérovým proteinem  $\beta 2$  glykoprotein I ( $\beta 2$ GPI). Vlastní fosfolipidy, které jsou součástí všech buněčných membrán a participují na řadě buněčných procesů, jsou na základě své molekulové velikosti neimunogenní. Část aPL má trombogenní účinek: ovlivňují expresi prokoagulačních faktorů (např. tkáňového faktoru), tlumí přirozené inhibitory koagulace (antitrombin III, protein C, S) a omezují efekt komplexních inhibitorů hemostázy [Horstman, 2009].

Na základě klasifikace aPL podle antigenního cíle rozlišujeme protilátky proti kardiolipinu,  $\beta 2$ GPI a proti jednotlivým fosfolipidům: fosfatidyl-L-serinu, fosfatidylcholinu, fosfatidylinositolu, fosfatidylethanolaminu, fosfatidyl-DL-glycerolu, annexinu V a kyselině fosfatidové. aPL proti protrombinu méně korelují s klinickými projevy trombóz. aPL in vitro působí jako inhibitor koagulace, ale in vivo paradoxně vykazují silnou asociaci s trombotickými příhodami.

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

**Tabulka 2 - Choroby a léčiva asociovaná s přítomností antifosfolipidových protilátek**

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

Antifosfolipidový syndrom (APS) v adultním věku byl objeven před 33 lety na základě nálezu inhibitorů koagulace imunoglobulinové povahy (lupus antikoagulans) u pacientů s anamnézou trombózy a opakovaných potratů ve třetím trimestru gravidity. Později byla nalezena korelace mezi aPL a porodnickými komplikacemi u pacientek se SLE a u zdravých pacientek s opakovanými aborty. APS je považován za autoimunitně podmíněný prokoagulační stav a k jeho definici je nutno splnění minimálně jednoho klinického a laboratorního kritéria.

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

Mezi laboratorní kritéria patří průkaz lupus antikoagulans nebo antikardiolipinových protilátek či aPL proti  $\beta 2$ GPI v séru či plazmě v IgG či IgM izotopu dva a vícekrát v časovém odstupu 12 a více týdnů měřením dle doporučeného postupu [Miyakis, 2006]. Mimo zmíněných příznaků má

APS řadu dalších klinických projevů (trombopenie, hemolytické anemie, livedo retikularis, srdeční valvulopatie, cévní mozkové příhody, katastrofický APS aj.).

Patogenní úloha aPL v těhotenství byla jednoznačně dokázána v animálních pokusech, kdy infuze aPL gravidním myším měla za následek vyšší resorpční index embryí a růstovou retardaci plodů. Zpočátku byly za hlavní patogenetický mechanismus porodnického APS považovány placentární trombózy a infarkty s následným zhoršením krevního zásobování fétu, avšak dle novějších teorií jsou trombotické příhody na placentární úrovni spojovány s aktivací endoteliálních buněk a komplementu, inhibicí antikoagulačního systému proteinu C/S, fibrinolýzou a odhalením anexinu V [Shamonki, 2007]. Annexin V, placentární antikoagulační protein I, je považován za hlavní faktor v udržení placentární integrity. V současné době je dále zdůrazňována úloha protilátek proti  $\beta$ 2GPI, které jsou schopny vázat se na buňky trofoblastu a jsou spojeny s abnormální proliferací trofoblastu, poruchou placentace a zánětlivými procesy v oblasti placenty [Meroni, 2008]. Zánik gravidity do 10. gestačního týdne může být vyvolán množstvím příčin (genetických, anatomických aj) a proto spojitost APS u žen a terminací gravidity je popisována hlavně až v tzv. fetálním období (od 10. týdne gestace). Tyto ženy mají také vysoké procento porodu mrtvého dítěte.

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

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

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

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

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

Ačkoliv jednoznačný mechanismus, který by jednoznačně vysvětlil patogenezi neurokognitivních patologií u AD není jednoznačně objasněn, předpokládá se, že jednu z hlavních rolí hraje protilátková a cytokinová aktivita. Z protilátek, podílejících se na poškození CNS, jsou nejčastěji zmiňovány protilátky antineuronální, proti podjednotce glutamátového N-methyl-D-aspartátového (NMDA) receptoru a aPL.

aPL mohou v mozkových cévách indukovat nejen prokoagulační pochody s následnými mikrotrombózami, mohou způsobovat aktivaci komplementu s následným zánětlivým stavem a

lokální ischemizaci tkáně CNS a tím zvyšovat propustnost hematoencefalické bariéry [Trysberg, 2003]. Influx periferně produkovaných patologických protilátek a cytokinů (zejména IL - 6) se dále podílí na neurotoxicitě. aPL vázající  $\beta$ 2GPI mohou rovněž negativně ovlivnit inhibici cerebrovaskulární aterogeneze. V experimentálních modelech protilátky proti  $\beta$ 2GPI vytváří vazbu na neuronální a astrocytární membrány, způsobují depolarizaci membrán a redukuje viabilitu těchto buněk. aPL mohou způsobit hyperaktivaci glutamátových receptorů a tím indukovat neurotoxicitu či přímo reagovat s lipidy CNS. Zajímavým poznatkem je závěr studií prokazujících, že ke vzniku poruch chování dochází při prolongované expozici aPL. Jednoznačné behaviorální poruchy u zvířat byly pozorovány po uplynutí 4-5 měsíců po jednorázové aplikaci protilátek [Katzav, 2001; Kent, 1997; Shrot, 2002].

## 4 Vlastní řešení studie

### 4.1 Studované soubory

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

Mezi vybraná autoimunitní onemocnění matek jsme zahrnuli:

- a) primární antifosfolipidový syndrom ;
- b) systémová onemocnění pojiva s opakovanou přítomností aPL (systémový lupus, Sjögrenův syndrom, revmatoidní artritida, systémová sklerodermie)
- c) autoimunitní choroby, provázené opakovanou přítomností aPL (autoimunitní hemolytická anémie, sklerosis multiplex)

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

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

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

Z etického hlediska byly hladiny aPL v 6 a 12 měsících vyšetřovány u jiných dětí matek bez AD v rámci plánovaného odběru krve z jiných důvodů v Centru vývojové péče Neonatologického oddělení.

Před vstupem do studie byly ženy podrobně informovány o průběhu studie a svůj souhlas se zařazením sebe a svého dítěte potvrdily podpisem informovaného souhlasu. Studie byla schválena lokální Etickou komisí FN Plzeň a byla vedena dle zásad správné klinické praxe v rámci Helsinského protokolu. Rozložení všech probandů ve studii ukazuje **tabulka 3**.

**Tabulka 3 - Rozložení probandů ve studii**

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

#### 4.2 Protokol studie

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

U všech novorozenců jsme zaznamenali perinatální anamnézu a antropometrické údaje. Jako nedonošené novorozence jsme označili děti, porozené v týdnu gestace od 24 + 0 do 36 + 6. Porodní hmotnost a obvod hlavy jsme hodnotili podle grafů dle gestačního stáří, jako hypotrofický novorozenec byl označen novorozenec s hmotností pod 10. percentil pro daný gestační věk a pohlaví. Skóre dle Apgarové jsme hodnotili v 1., 5., a 10. minutě.

Porucha poporodní adaptace jsme definovali následujícími kritérii: Apgar skóre nižší než 7 v 1. minutě, pupečnickové pH v umbilikální arterii nižší než 7,15 a nutnost resuscitace na porodním sále. První vyšetření novorozenců se zhodnocením somatického a neurologického nálezu proběhlo v rámci jejich hospitalizace po porodu na Neonatologickém oddělení FN Plzeň. Mezi 2.- 5. dnem po porodu jsme novorozencům odebrali venózní krev na vyšetření aPL a krevního obrazu (cca 1ml venózní krve), dětem matek bez AD byla na detekci aPL odebrána pupečnicková krev.

Při hodnocení krevního obrazu jsme jako anemii hodnotili hodnotu hemoglobinu pod 2 SD pod normální střední hodnotu pro gestační stáří. Za leukopenii jsme považovali hodnotu leukocytů pod  $5,0 \times 10^9/l$ , v případě nálezu absolutního počtu neutrofilních granulocytů pod  $1,5 \times 10^9/l$  byl nález hodnocen jako agranulocytóza. Trombocytopenii jsme diagnostikovali jako počet trombocytů pod  $150 \times 10^9/l$ .

Ve stejném období jsme dále u dětí provedli elektrokardiografické vyšetření v končetinových a hrudních svodech přístrojem MAC 1200ST (GE Medical Systems, Germany) a ve svodu II změřili interval PR, QT a RR interval v 5 nenásledných stazích, korigovaný QT interval (vztažený k srdeční frekvenci, QTc) jsme vypočítali dle Bazettova vzorce. Za patologický nález jsme považovali hodnotu PR intervalu delší než 0,14 msec, při měření QTc intervalu hodnotu vyšší než 0,46 msec.

U novorozenců jsme ve 24 - 48 hodinách života provedli sonografické (USG) vyšetření mozku přes velkou fontanelu ve standartizovaných rovinách pomocí přístroje Siemens při užití ultrazvukových sond s frekvencí 5 a 7,5 MHz. Patologické nálezy jsme hodnotili podle klasifikace dle Papile a Volpe [Hadač, 2000][Papile, 1978; Volpe, 1989]. Mimo subependymálních a



intraventriculárních hemoragií jsme monitorovali další abnormální nálezy (chorioideální cysty, lentikulostríatová vaskulopatii, kalcifikace, dilatace mozkových komor). Současně jsme vyšetřovali USG nitrobráňních orgánů (ledvin, močového měchýře, nadledvin, jater, sleziny) ve standartizovaných projekcích.

U donošených novorozenců jsme standartním způsobem provedli vyšetření tranzientně evokovaných otoakustických emisí (TEOAE) mezi 3. - 5. dnem, u nedonošených dětí bylo toto vyšetření provedeno před dimisí z porodnice [Horník, 1999]. K vyšetření jsme užili přístroj Echo - Screen (Natus, Medical Inc., USA). Vyšetření sluchu jsme považovali za pozitivní v případě detekce TEOAE a za negativní při opakované nevybavitelnosti TEOAE s odstupem 24 hodin od prvního vyšetření. V případě negativního výsledku bylo vyšetření opakováno na spádovém foniatrickém oddělení .

V den dimise z porodnice jsme opětovně zhodnotili somatický a neurologický nález novorozenců. Mezi sledované komplikace patřily přítomnost arteriální či venózní trombózy, projevy neonatálního lupusu a abnormální neurologické nálezy, které jsme definovali jako poruchy novorozeneckých reflexů či svalového napětí.

Jako ukazatele časně závažné morbidity jsme zařadili následující diagnózy novorozenců: syndrom dechové tísně (respiratory distress syndrom - RDS), bronchopulmonální dysplazii (BPD), perinatální poškození mozku - intraventriculární hemorhagie (IVH) III. a IV. stupně, cystickou periventriculární leukomalacii (cPVL), sepsi, nekrotizující enterokolitis (NEC) a retinopatii nedonošených (ROP) 3. a vyššího stupně.

Ambulantní sledování dětí probíhalo v ambulantní části Neonatologického oddělení FN Plzeň. Pro stanovení termínu kontrol u nedonošených dětí jsme použili postkoncepční (tzv. korigovaný) věk, vypočítaný snížením hodnoty chronologického věku o počet týdnů, o které se dítě narodilo dříve. V 6 a 12 měsících jsme zhodnotili klinický a psychomotorický stav dětí a odebrali cca 1 ml venózní krve na detekci aPL.

Závěrečné zhodnocení klinického stavu a psychomotorického vývoje dětí bylo provedeno ve 24 měsících korigovaného věku života, při kterém byl vyšetřen i psychomotorický vývoj dětským psychologem dle vývojové škály autorky Nancy Bayleyové [Bayley,1983;1993.]. Děti byly hodnoceny podle tří škál: mentální (178 položek), motorické (111 položek) a ve škále chování. Ve škálách jsou zmíněné položky seřazeny dle věku, ve kterém je většina dětí daného věku schopna tyto položky splnit. Sečtením splněných položek bylo vypočítáno hrubé skóre (HS), podle kterého byl pomocí tabulek stanoven tzv. mentální vývojový index (MVI) a psychomotorický vývojový index (PVI). Průměrná hodnota obou indexů byla 100 bodů, jedna standardní odchylka (SD) byla  $\pm 15$  bodů. Děti byly dle zmíněných indexů zařazeny do následujících kategorií: nadprůměr - index 115 a více bodů; v mezích normy 114 - 85 bodů; mírné opoždění 84 - 70 bodů; střední opoždění 69 - 50 bodů, závažné opoždění méně než 50 bodů [Sobotková, 2003].

Za komplikace vývoje byly považovány následující parametry: odchylky hmotnosti, délky (výšky) a frontooccipitálního obvodu lbi pod 2 SD pro daný věk, hodnoty vývojových indexů (MVI, PVI) pod 69 bodů, přítomnost poruchy sluchu, projevy neonatálního lupusu a výskyt trombotické komplikace.

## **4.3 Metodika studie**

### ***4.3.1 Stanovení hladin antifosfolipidových protilátek***

Po odebrání vzorku 2 ml srážlivé venózní krve matkám (u dětí 1 ml) byla získaná odseparovaná séra uchovávána při teplotě 18 °C stupňů do doby stanovení aPL. Pro zjištění aPL proti fosfatidyl - L - serinu, fosfatidylethanolaminu, fosfatidylinositolu, fosfatidyl - DL - glycerolu a kyselině fosfatidové byl zvolena home - made metoda ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay), která byla standartizována podle doporučení Evropského fóra antifosfolipidových protilátek z r. 2004 pro detekci aPL (bez ohledu na způsob kalibrace detekční soupravy). Vyšetření byla

prováděna v dubletu, k výpočtu cut - off byl použit 95 % interval spolehlivosti a byly použity dvě externí kontroly-jedna nižší nežli cut - off a druhá středně pozitivní.

Pro detekci a kvantifikaci sérových antiannexinových protilátek v izotopech IgG a IgM byl použit komerčně vyráběný ELISA testy Anti - Annexin V(GA Generic Assays GmbH, Dahlewitz, Germany), výsledky byly vyjádřeny v U/ml. Antikardiolipinové protilátky (aCL) v izotopech IgG a IgM byly stanovovány pomocí komerčně vyráběného testu Anti - Cardiolipin IgG / IgM (Organtec Diagnostika GmbH, Mainz, Germany), výsledky byly vyjádřeny v jednotkách GPL a MPL U/ml pro aCL. Anti  $\beta$ 2 glykoproteinové protilátky (anti  $\beta$ 2GPI) v izotopech IgG a IgA byly detekovány a kvantifikovány pomocí komerčně vyráběného testu Anti  $\beta$ 2 - glykoprotein 1 ELISA (Euroimmun, Lubeck, Germany). Výsledky byly vyjádřeny v U/ml pro anti  $\beta$ 2GPI.

**Tabulka 4 - Referenční cut - off hodnoty v delta optical density u jednotlivých aPL v IgG a IgM izotopu, vyšetřovaných home - made metodou ELISA**

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

**Tabulka 5 - Referenční cut-off hodnoty jednotlivých aPL v IgG, IgM a IgA izotopech, vyšetřovaných komerčně vyráběnými sety**

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

#### 4.3.2 Vyšetření krevního obrazu

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

#### 4.4 Statistické zpracování

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

## 5 Výsledky

### 5.1 Soubory matek

Soubor aPL pozitivních matek s AD tvořilo 31 žen, soubor aPL negativních žen byl sestaven z 23 matek. Zastoupení jednotlivých diagnóz v souborech matek s AD ukazuje **tabulka 6**.

**Tabulka 6 - Diagnózy matek s autoimunitním onemocněním**

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

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

Základní charakteristika obou souborů matek s AD a souboru zdravých žen je sumarizována v **tabulce 7**. Statistickým porovnáním zjišťovaných parametrů, mezi které jsme zařadili: průměrný věk, BMI, dosažené vzdělání, rodinný stav, délka choroby, přítomnost antinukleárních protilátek (ANA), pozitivita protilátek proti extrahovatelným nukleárním antigenům (ENA panel), medikací v graviditě, způsob porodu, indikaci k operativnímu porodu, se oba soubory matek s AD nelišily. Hodnota průměrného počtu potratů / 1 ženu byla statisticky signifikantně zvýšena u souboru aPL pozitivních žen ( $p < 0,01$ ). Při hodnocení medikace mezi oběma soubory matek s AD jsme zjistili statisticky významný rozdíl v podávání kyseliny acetylsalicylové u aPL pozitivních žen ( $p < 0,01$ ). Demografické údaje žen bez AD jsou uvedeny ve stejné tabulce. Ve srovnání se souborem aPL pozitivních matek jsme u žen bez AD prokázali signifikantně nižší průměrný počet potratů / 1 ženu ( $p < 0,01$ ) a nižší incidenci ukončení gravidity císařským řezem ( $p < 0,01$ ).

**Tabulka 7 - Základní charakteristika jednotlivých souborů matek**

	aPL pozitivní matky n-31	aPL negativní matky n-23	<i>p</i>	zdravé matky n-30	<i>p</i> vs. aPL pozit.	<i>p</i> vs. aPL negat.
<b>Průměrný věk (roky)</b>	31,9 ± 4,3 (23-37)	32,9 ± 4,4 (26-47)	0,70 *	30,1 ± 4,1 (20-40)	< 0,05*	< 0,01*
<b>BMI (kg / m<sup>2</sup>)</b>	27,3 ± 4,9	28,3 ± 4,2	0,52 *	26,5 ± 2,7	0,17*	0,1*
<b>Vzdělání</b>						
základní	3 (9,6 %)	5 (21,7 %)	0,42 *	7 (23,3 %)		
střední	16 (51,6 %)	13 (56,5 %)	0,37 *	17 (56,6 %)		
vysokoškolské	12 (38,7 %)	5 (21,7 %)	0,30 *	4 (13,3 %)		
<b>Stav</b>						
vdané	25 (65,8 %)	18 (78,3 %)	0,62 *	20 (66,6 %)		
svobodné	12 (31,6 %)	3 (13,0 %)	0,57 *	6 (20,0 %)		
rozvedené	1 (2,6 %)	2 (8,7 %)	0,40 *	4 (13,3 %)		
Průměrný počet potratů /1 ženu	2,67	0,25	< 0,01*	0,06	< 0,01*	0,40*
<b>Diagnóza</b>						
APS	17 (54,8 %)	0		0		
ostatní AD	14 (45,2 %)	23 (100 %)		0		
délka onemocnění (roky)	6,6 ± 2,3 (2-12)	7,1 ± 2,1 (2-12)	0,51***	0		
<b>ANA protilátky</b>	6 (19,3 %)	4 (17,4 %)	0,64 ***	-		
<b>Pozitivní ENA panel</b>	4 (12,9 %)	1 (4,3 %)	0,71 ***	-		
<b>Léčba</b>						
LMWH	16 (51,6 %)	10 (43,4 %)	0,27 ***	0		
kys. acetylsalicylová	8 (25,8 %)	0	< 0,01***	0		
kortikoidy	12 (38,7%)	8 (34,7%)	0,24 ***	0		
imunosupresiva	1 (2,6%)	1 (4,3 %)	0,51 *	0		
hydroxychlorochin	1 (2,6%)	1 (4,3 %)	0,64 *	0		
<b>Způsob porodu</b>						
spontánní	16 (51,6 %)	11 (47,8%)	1,0 **	22 (73,3 %)	0,11**	0,09**
per sectio Caesarea	15(48,3 %)	12 (52,1%)	0,52 **	8 (26,6 %)	< 0,01**	0,26**
<b>Indikace porodu per s c.</b>						
PROM	4 (26,6 %)	2 (16,6 %)	1,0 ***	0	0,11**	0,18**
hrozící hypoxie plodu	6 (40,3 %)	3 (25,2 %)	0,7 ***	1(3,3 %)	0,71**	0,30**
preeklampsie	4 (26,6 %)	2 (16,6 %)	1,0 ***	0	< 0,01**	0,08**
jiné	1 (6,5 %)	5 (41,6 %)	0,40 *	7 (23,3%)	0,03**	1,0**

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

Při hodnocení hladin aPL jsme u aPL pozitivních matek nejčastěji detekovali aPL proti fosfatidyl-L-serinu (13 žen; 42 %), a proti  $\beta$ 2GPI (12 žen; 38,7 %) v subtypu IgG, naopak nejméně často jsme našli byla aPL proti annexinu V (3 ženy; 9,6 %). V testované skupině zdravých žen bez AD byla zastižena aPL proti fosfatidyl-DL-glycerolu v subtypu IgG a IgM u jedné ženy (3,3 %), ostatní ženy byly negativní. Výsledky jsou uvedeny v **tabulce 7**.

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

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

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

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

## 5.2 Soubory novorozenců

### 5.2.1 Porodní údaje a poporodní adaptace

Do skupiny novorozenců aPL pozitivních matek jsme zařadili celkem 34 dětí, u kterých byla po porodu detekována nejméně jedna aPL. Soubor tvořilo 13 dívek (38,2 %) a 21 chlapců (61,7 %).

Soubor novorozenců aPL negativních matek jsme sestavili z 10 dívek (41,6 %) a 14 chlapců (58,3 %). V níže uvedených demografických údajích jsme nenalezli mezi soubory statisticky významné rozdíly. Soubor novorozenců žen bez AD byl tvořen 30 donošenými novorozenci, z nichž 14 bylo dívek (46,6 %) a 16 chlapců (53,3 %). Jejich porodní antropometrické údaje jsou spolu s údaji dětí matek s AD sumarizovány v **tabulce 9**.

**Tabulka 9 - Základní charakteristiky jednotlivých souborů dětí**

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

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

### 5.2.2 Hodnocení krevního obrazu novorozenců

Při hodnocení krevního obrazu ve skupině novorozenců aPL pozitivních matek splnili kritéria pro anémii 3 novorozenci (8,8 %), pro leukopenii 1 novorozenec (2,9 %) a u 4 (11,7 %) novorozenců jsme detekovali trombopenii pod  $150 \times 10^9/l$ . U dětí matek aPL negativních tato kritéria nesplnil žádný novorozenec. Výsledky hematologických parametrů, u kterých jsme nenalezli statisticky signifikantní rozdíly mezi oběma skupinami novorozenců, jsou sumarizovány v **tabulce 10**.

**Tabulka 10 - Parametry krevního obrazu u novorozenců**

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

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

### 5.2.3 Hodnocení vyšetření elektrokardiografického vyšetření (EKG) u novorozenců

Při hodnocení EKG u obou skupin novorozenců nebyl mezi průměrnými hodnotami srdeční frekvence, PR a QTc intervalu v obou souborech nalezen signifikantní rozdíl; u žádného novorozence nebyla zaznamenána bradykardie či detekovány patologické hodnoty zmiňovaných parametrů PR a QTc. Výsledky ukazuje **tabulka 11**.

**Tabulka 11 - Hodnoty elektrokardiografických parametrů (srdeční frekvence, intervalu PR a intervalu QTc) u novorozenců**

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

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

### 5.2.4 Hodnocení vyšetření tranzientních evokovaných otoakustických emisí (TEOAE), ultrasonografie (USG) a klinického nálezu novorozenců při propuštění z porodnice

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

Abnormální USG vyšetření CNS jsme našli u 6 dětí (17, 6 %) aPL pozitivních matek. U 1 pacienta jsme prokázali intraventrikulární krvácení II. stupně bilaterálně, u 3 dětí jsme našli subependymální hemoragie a u 2 novorozenců byly prokázány subependymální cysty. Ve skupině novorozenců aPL negativních matek jsme v 1 případě (12,5 %) našli subependymální cysty. USG vyšetření nitrobršních orgánů u obou skupin dětí neprokázalo patologický nález.

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

V rámci hodnocení časné závažné morbidity novorozenců jsme prokázali v obou skupinách shodný výskyt RDS, sepse a nekrotizující enterokolitidy. BPD jsme diagnostikovali pouze u 1 novorozence aPL pozitivních matek. Další monitorované klinické jednotky - IVH III. a vyššího stupně, cystická PVL a retinopatie nedonošených - jsme nenalezli u žádného z novorozenců.

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

V 6 měsících v souboru dětí aPL pozitivních matek měli 4 probandi (11,7 %) hmotnost pod 2 SD a 3 dětí (8,8 %) hodnoty tělesné délky a frontookcipitálního obvodu lbi pod 2 SD. V souboru dětí aPL negativních matek jsme ve 2 případech (8,4 %) prokázali všechny sledované parametry pod 2 SD. V tomto věku jsme u 8 dětí (23,5 %) z 1. skupiny diagnostikovali centrální tonusovou poruchu, v 2. skupině mělo zmíněnou poruchu 5 dětí (20,8 %). Porucha sluchu nebyla prokázána u žádného z dětí v obou vyšetřovaných skupinách. Kontrolní USG CNS u 7 dětí se zjištěnými abnormálními nálezy po porodu bylo již bez patologie. U 3 (8,8 %) dětí aPL pozitivních matek byla indikována rehospitalizace (1x pro neprospívání, 2x pro respirační infekci s febriliemi). Projevy atopie byly v obou skupinách shodné ( 1 dítě v každé skupině).

Při kontrole v 12 měsících věku jsme v první skupině detekovali 3 děti (8,8 %) s tělesnou hmotností a délkou pod 2 SD, obvod lbi nižší než 2 SD byl potvrzen u 2 (5,8 %) dětí. V skupině dětí aPL negativních matek jsme hodnoty hmotnosti a tělesné délky pod 2 SD zaznamenali u 1 dítěte (4,2 %), frontookcipitální obvod lbi nižší než 2 SD měly 2 děti (8,4 %). Centrální tonusová porucha, vyžadující přechodně celkovou rehabilitaci, byla v 1. skupině přítomna u 4 dětí (11,7 %), v 2. skupině u 3 dětí (12,5 %). V daném období byly rehospitalizovány 3 (8,8 %) děti z aPL pozitivní skupiny pro respirační infekty. Projevy atopie /alergie byly v 1. skupině přítomny u 2 dětí (5,8 %), v 2. skupině u 5 dětí (20,5 %).

Při hodnocení antropometrických údajů v 24 měsících byly shodně v obou skupinách přítomny 2 děti (5,8 %; 8,4 %) s tělesnou hmotností a délkou pod 2 SD. Měřením obvodu lbi jsme prokázali u 6 dětí (17,6 %) pouze v aPL pozitivní skupině hodnoty pod 2 SD. Žádné z dětí v obou skupinách nemělo centrální tonusovou poruchu. V aPL pozitivní skupině muselo být rehospitalizováno 1 dítě pro obstruktivní bronchitidu, u 3 dětí (8,8 %) byly přítomny projevy alergie/atopie. V aPL negativní skupině nebylo být v celém sledovaném období hospitalizováno žádné dítě a projevy alergie / atopie byly nalezeny u 5 stejných dětí (20,5 %) jako v předchozím období. Během 24 měsíčního sledování jsme u žádného z dětí neobjevili trombotickou příhodu ani projevy neonatálního SLE. Výše uvedená data jsou přehledně zobrazena v **tabulce 13**.

**Tabulka 13 - Výsledky follow-up dětí v 6, 12 a 24 měsících**

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

**Legenda:** čísla u parametrů hmotnost, tělesná délka, obvod hlavy vyjadřují počty pacientů, jejichž antropometrické údaje se lišily o 2 SD od hodnoty pro daný věk (v závorce procentuální zastoupení).



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

Hodnocení vývoje tělesné délky neprokázalo statisticky signifikantní rozdíly v hodnocených obdobích (v době porodu  $p = 0,43$ , v 6 měsících věku  $p = 0,56$ , ve 12 měsících  $p = 0,33$ , a ve 24 měsících  $p=0,44$ ).

Při analýze vývoje obvodu lbi jsme v 6 měsících objevili statisticky významný rozdíl ( $p = 0,03$ ), avšak v dalším vývoji se hodnoty sledovaného parametru již signifikantně nelišily (ve 12 měsících  $p = 0,25$ , ve 24 měsících  $p = 0,07$ ).

### 5.2.6 Hodnocení detekce antifosfolipidových protilátek u novorozenců po porodu

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

V souboru dětí aPL pozitivních matek jsme nejčastěji detekovali aPL proti fosfatidyl-L-serinu IgG u 11 dětí (32,3 %), následovaly aPL proti  $\beta$ 2GPI v subtypu IgG u 10 dětí (29,4%) a aPL proti kardiolipinu a fosfatidylinositolu v subtypu IgG - shodně u 7 dětí (20,5%). První stanovení hladin aPL po porodu v jednotlivých souborech novorozenců je přehledně zobrazeno v **tabulce 14**.

**Tabulka 14 - Počet novorozenců v jednotlivých souborech s pozitivními hladinami analyzovaných aPL nad arbitrážně stanovenou hodnotu cut - off**

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

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

V 6 měsících jsme v souboru dětí aPL pozitivních matek detekovali perzistující aPL v subtypu IgG u 13 dětí (38,2 %). Nejčastěji jsme našli protilátku proti  $\beta$ 2GPI (6 dětí; 17,6 %), ve 12 měsících perzistovaly stejné aPL ještě u 2 dětí (5,8 %). Novotvorbu aPL v subtypu IgG jsme prokázali u 6 dětí (17,6 %) v 6 měsících a u 9 dětí (26,5 %) ve 12 měsících.

V subtypu IgM jsme v daných obdobích neprokázali žádnou pozitivitu vyšetřovaných aPL. Protilátky proti  $\beta$ 2GPI v subtypu IgA jsme nově detekovali u 4 dětí (11,7 %) v 6 měsících a u 2 dětí (5,8 %) ve 12 měsících věku.

Při hodnocení vývoje protilátek v souboru dětí aPL negativních matek jsme v 6 měsících věku nově detekovali u 3 dětí (12,5 %) pozitivní aPL v subtypu IgG a ve 12 měsících byla novotvorba

protilátek nalezena u 4 dětí (16,8 %). Nejčastěji se jednalo o protilátku proti  $\beta$ 2GPI. V subtypech IgM a IgA jsme nenalezli pozitivitu aPL v žádném věkovém období u tohoto souboru dětí.

Vyšetřením hladin aPL v subtypu IgG po porodu u dětí matek bez AD jsme u 1 novorozence (3,3 %) prokázali aPL proti fosfatidyl-DL-glycerolu, stejná aPL byla detekována u matky. V souboru dětí matek bez AD jsme v 6 měsících u 2 dětí (6,6 %) našli pozitivní hladiny aPL proti  $\beta$ 2GPI v IgA a ve 12 měsících jsme prokázali pozitivitu u 4 dětí (13,3 %) rovněž u aPL proti  $\beta$ 2GPI v IgG a IgA subtypech. Hladiny aPL protilátek v subtypu IgM byly ve zmíněných souborech negativní ve všech časových obdobích.

### 5.2.8 Výsledky psychologického vyšetření dětí ve 24 měsících věku

Závěrečnou ambulantní kontrolu dětí ve 24 měsících korigovaného věku jsme doplnili psychologickým vyšetřením, provedeným klinickým psychologem. **Tabulka 15** ukazuje průměrné hodnoty průměrného mentálního indexu (MVI) a psychomotorického indexu (PVI) u obou skupin dětí. U dětí aPL pozitivních matek byl průměrný MVI 86,3 a rozdíl v tomto parametru ve srovnání s 2. skupinou dětí byl statisticky signifikantní ( $p < 0,01$ ). V parametru PVI jsme neprokázali mezi oběma skupinami potomků matek s AD statisticky významný rozdíl.

**Tabulka 15 - Průměrný MVI a PVI dětí v 24 měsících korigovaného věku**

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

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

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

V pásmu středního opoždění bylo v aPL pozitivní skupině přítomno 6 (17,6 %) dětí, v aPL negativní skupině tato kritéria nesplnil žádný proband. Dle Fisherova exaktního testu jsme našli statisticky významný rozdíl v četnosti zkoumaného parametru mezi sledovanými skupinami jen v pásmu středního opoždění ( $p < 0,03$ ). Hodnotu MVI pod 50, signalizující vážné opoždění, jsme nezjistili u žádného probanda z obou sledovaných skupin.

Při vyšetřování psychomotorického vývojového indexu (PVI) splnilo jen 22 (64,7 %) dětí aPL pozitivních matek podmínky pro zařazení do pásma normy. Rozdíl mezi skupinami nebyl statisticky významný ( $p = 0,26$ ), totéž platí i pro hodnocení PVI dětí v pásmu lehkého a středního opoždění. Kritéria pro zařazení do pásma vážného poškození při vyšetření PVI nesplnil z obou skupin žádný proband. Uvedená data jsou sumarizována v **tabulce 16**.

**Tabulka 16 - Distribuce dětí ve 4 kategoriích při hodnocení mentálního a motorického vývoje**

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

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

Hodnocením obou skupin dětí ve 3 kategoriích chování, které zobrazuje **tabulka 17**, jsme zjistili, že ve faktoru orientace / zájem spadalo ze skupiny dětí aPL pozitivních matek 88, 2 % do pásma normy a 11, 8 % dětí bylo hodnoceno jako hraničních. Ve skupině dětí aPL negativních matek splnilo normu ve zmíněném faktoru 91,7 % dětí, 8,3 % bylo hraničních.

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

V celkovém hodnocení chování bylo 85, 3% dětí aPL pozitivních matek zařazeno do pásma normy, v souboru aPL negativních matek splnilo tuto normu 95,8 % probandů. Ostatní děti byly ve sledovaných faktorech v hraničním pásmu, do kategorie pod normou nebylo zařazeno žádné děti v obou sledovaných souborech. Uváděné hodnoty byly zhodnoceny pomocí Fisherova exaktního testu jako statisticky nesignifikantní.

**Tabulka 17 - Distribuce dětí aPL pozitivních a aPL negativních matek ve 3 kategoriích hodnocení chování**

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

**Legenda:** Čísla udávají počty pacientů v jednotlivých kategoriích, v závorkách je uvedeno procentuální zastoupení, n-počet celkově vyšetřených pacientů;

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

## 6 Hodnocení výsledků studie a diskuze

### 6.1 Soubory matek

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

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

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

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

U 6 (19,3 %) žen (4 ženy primárním APS, 2 ženy s SLE) byly detekovány protilátky proti  $\beta$ 2GPI v subtypu IgA. I když průkaz protilátek proti  $\beta$ 2GPI v tomto subtypu není součástí laboratorních kritérií pro APS, izolovaný průkaz anti  $\beta$ 2GPI IgA byl nalezen v souvislosti s APS, SLE, recidivujícími aborty a preeklampií [Danowski, 2006; Hradecky, 2009]. Prevalence anti  $\beta$ 2GPI IgA u pacientů s SLE a APS je udávána až v 61 %. Předpokládá se, že stanovením anti  $\beta$ 2GPI IgA dojde ke zvýšení senzitivity imunoeseje [Bruce, 2000; Subrt, 2008]. Existují však i práce, které udávají naopak nízkou frekvenci izotypu IgAu žen s těhotenskými komplikacemi, navíc většinou spojenou se současnou pozitivitou anti  $\beta$ 2GPI v izotypu IgG či IgM [Carmo-Pereira, 2003].

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

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

Zajímavým bylo zjištění nízké incidence protilátek proti annexinu V. Ve skupině aPL pozitivních matek, byly nalezeny pouze u 4 žen (12,9 %) v subtypech IgG a IgM. V této skupině žen byla nejvyšší incidence spontánních abortů v předchozích graviditách (1,35 potrat / 1 žena) v porovnání se skupinou aPL negativních matek (0,25 potrat / 1 žena). Dle literárních údajů participuje annexin V ve formaci tzv. protektivního antikoagulačního štítu na cévním endotelu či syncytiotrofoblastu a tím zabraňuje zmíněným tkáním podílet se na fosfolipid-dependentních koagulačních reakcích [Ulcova-Gallova, 2006]. Po narušení ochranného štítu pomocí aPL dojde expresi anionických fosfolipidů s jejich trombogenními vlastnostmi, což může vést k trombózám a potratům. I při vyšší incidenci potratů ve aPL pozitivní skupině matek jsme v hladinách zmíněné aPL nezjistili signifikantní rozdíly mezi skupinami matek s AD.

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

## 6.2 Soubory dětí

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

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

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

Druhá vzácná příčina detekce aPL v krvi novorozence je jejich tvorba de novo v organismu dítěte. V našem souboru jsme podobnou novotvorbu protilátek nezaznamenali.

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

Při hodnocení transplacentárně přenesených aPL v 6 měsících byla perzistence aPL v 38,2 % dětí aPL pozitivních matek, ve 12 měsících již jen u 2 (5,9 %) dětí. Jedním z nich byl původně extrémně nezralý hypotrofický chlapec, u kterého byly detekovány progredující vysoké titry aCL (68 GPL/ml), anti  $\beta$ 2GPI (120 GPL/ml) a aPL proti fosfatidyl-L-serinu nad 99. percentil normy v izotopu IgG. I když u námi sledovaných dětí nebylo zatím prokázáno onemocnění autoimunitní povahy, dle některých studií existuje předpoklad, že přítomnost perzistujících aPL může působit jako trigger, spouštějící autoimunitní aktivitu [Frauenknecht, 2005]. Vysoké perzistující titry aPL jsou nalézány u méně než 2 % zdravých dospělých, u dětí nejsou údaje známy. I přes nízké riziko vzniku APS s postinfekčními aPL, byly popsány případy dětí, u kterých došlo ke vzniku purpury fulminans a trombotické příhody, spojené s aPL a deficiencí proteinu S po infekci virem varicella zoster [Josephson, 2001; Kurugol, 2000].

Sledováním aPL vzniklých de novo jsme u souboru dětí aPL pozitivních matek zjistili vyšší výskyt aPL v 6 měsících i ve 12 měsících ve srovnání se skupinou dětí aPL negativních matek a se skupinou zdravých dětí. Tento náález by mohl svědčit o vyšší aktivní autoimunitní odpovědi dětí aPL pozitivních matek. Podobný závěr učinil již i Motta a kol. ve své práci, popisující vyšší hladinu anti  $\beta$ 2GPI u ročních dětí aPL pozitivních matek v porovnání s dětmi narozenými aPL negativním matkám či zdravým ženám [Motta, 2006]. Nejčastěji jsme našli anti  $\beta$ 2GPI v izotopech IgG a IgA. Vyšší incidence aPL v prvních 12 měsících života dětí je vysvětlována expozicí vakcinačním antigenům. Transientní vyšší titry netrombogenních aPL mohou být způsobeny rovněž vlivem potravinových alergenů či provázet projevy atopie [Ambrozic, 2002].

V obou sledovaných souborech dětí jsme nezaznamenali během 2 let sledování žádnou trombotickou příhodu. Role aPL u neonatálních a pediatrických pacientů při vzniku trombózy či mozkového infarktu není zcela jasná. Předpokládá se, že raritní výskyt zmíněných náálezů je dán menším výskytem jiných protrombotických rizikových faktorů u populace této věkové kategorie.

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

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

Další možné vysvětlení nízké incidence trombóz u dětí s aPL přinesla identifikace jednotlivých specifických domén v jednoduchém řetězci  $\beta$ 2GPI. U dětí s aPL může být zvýšená přítomnost specifických anti  $\beta$ 2GPI protilátek, namířených proti doméně D 4/5  $\beta$ 2GPI, která není spojována s trombózami. Naopak anti  $\beta$ 2GPI proti doméně D1 jsou asociovány s trombotickými komplikacemi [Andreoli, 2011]. V naší práci však nebylo vyšetřeno bližší specifikace anti  $\beta$ 2GPI protilátek dostupné.

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

SEPC a SEH se vyskytují u donošených zdravých novorozenců pouze v 0,5 - 5,2 %. Jsou považovány za následek intrauterinního poškození vulnerabilní terminální matrix v periventrikulární subependymální oblasti. K patogenním mechanismům SEPC se řadí lokální hemorhagický infarkt a postvirová lokální germinolýza, jsou zvýšeně nalézány u nedonošených a růstově retardovaných novorozenců, u dětí matek s preeklampií, u novorozenců s asfyxií, fetálními infekcemi (cytomegalovirus, rubeola) či chromozomálními a jinými malformacemi. Jiným možným vysvětlením pro vznik těchto USG abnormit může být protilátkami mediovaná zánětlivá reakce, podobná hypotéza je uvažována při vzniku lentikulostriatální vaskulopathie, která však námi nebyla prokázána u žádného z vyšetřovaných dětí. Domníváme se, že vyšší incidence těchto tranzitorních cerebrálních abnormalit ve studijní skupině dětí může být následek zhoršené placentární perfuze, často pozorované u žen s autoimunitami. Izolované SEPC a izolovaná drobná krvácení v germinální matrix mají dobrou prognózu a regredují spontánně do několika měsíců. Při hodnocení mentálního a motorického indexu těchto 6 dětí nebyly prokázány významnější odchylky.

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

Při hodnocení EKG záznamu dětí matek s AD je pozitivita anti-Ro a anti-La matek spojena s přítomností kongenitálního srdečního bloku ve 2 - 5 % případů. Monitorování novorozenců v naší studii nezachytilo přítomnost bradykardie či jiné srdeční arytmie. V obou sledovaných souborech novorozenců jsme nenalezli prolongovaný PR interval nad 140 ms, střední hodnoty sledovaného parametru se v obou souborech rovněž nelišily. Jedním z vysvětlení může být velmi nízká pozitivita ENA panelu u matek v obou sledovaných skupinách.

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

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

Mezi hematologické abnormality, citované ve spojitosti s přítomností aPL, patří nejčastěji trombopenie. V našem souboru jsme prokázali mírnou tranzientní trombopenii u 4 aPL pozitivních dětí (11,7 %). Depozita antigenických komplexů aPL a  $\beta$ 2GPI na trombocytech, již exprimujících negativně nabitě fosfolipidy, mohou vést k další aktivaci trombocytů a následné zvýšené tvorbě trombinu. K trombopenii dochází pravděpodobně odstraňováním trombocytů se zmíněným komplexem prostřednictvím monocytů - makrofágového systému, zejména ve slezině. Další mechanismus zahrnuje přeměnu trombocytů na mikropartikule s obsahem fosfolipidů, zvyšujících protombotickou tendenci [Bulíková, 2010].

Z ostatních hematologických patologií byla přítomna mírná anémie u 3 silně nedonošených dětí s pozitivními aPL, 1 z těchto novorozenců měl i výraznou neutropenii a granulocytopenii. Vzhledem ke gestačnímu věku zmíněných pacientů se na této hematologické odchylce podílely jistě i faktory, způsobující anémii z nezralosti (např. kratší přežívání erytrocytů, snížená hodnota erytropoetinu). U aPL negativních novorozenců nebyly přítomny žádné patologie krevního obrazu.

Hodnoty všech vyšetřovaných parametrů krevního obrazu se v obou skupinách novorozenců statisticky nelišily.

Mezi další sledované parametry dětí matek s AD patřil psychomotorický vývoj. K neurologickým projevům, spojených s přítomností aPL, patří mozkový infarkt a tranzientní ischemické ataky, označované jako neurologické komplikace APS [Miyakis, 2006]. V literatuře jsou popsány i další asociace aPL s neurologickými projevy: transverzní myelopathie, chorea, křeče, migréna, syndrom připomínající roztroušenou sklerózu a poruchy kognitivních funkcí.

Studie, které se zabývaly dlouhodobým kognitivním a psychologickým vývojem dětí matek s AD se většinou týkají potomků žen se SLE. U těchto dětí byla až u 45 % popsána dyslexie, vyšší preference levorukosti a poruchy s učením zejména u chlapců, inteligence dětí nebyla snížena [Ross, 2003]. Vyšší incidence kognitivních poruch u dětí byla asociována s přítomností aPL. Nacicovich et al., kteří sledovali neuropsychologický vývoj u školních dětí matek s APS, našli u 26,7 % dětí odchylky vývoje [Nacinovich, 2008]. Problematická asociace kognitivních poruch a vlivu aPL je však většinou vyšetřována u starších dětí.

Zatím největší studie, která se zabývala dětmi matek s APS a SLE, vyšetřila 134 novorozenců po porodu a po 5 - letém sledování jejich vývoje prokázala více 2 x vyšší incidenci neuropsychických abnormalit než v obecné populaci [Motta, 2012]. V naší studii jsme zhodnotili psychomotorický vývoj probandů obou skupin pomocí vývojových škál, zpracovaných Bayleyovou (Bayley Scales of Infant Development - Second Edition). Tyto vývojové škály jsou považovány za časnou a účinnou metodu k rozpoznání dětí s psychomotorickým opožděním ve stáří od 1 - 42 měsíců. I když je mentální a motorický vývoj v nejranějším období života dítěte těsně spjat, je vhodné hodnotit zmíněné oblasti odděleně, neboť vyvíjející se jedinec nemusí dosahovat stejné vývojové úrovně v daných sférách rovnoměrně.

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

Důležitým zjištěním bylo, že dle hodnocení MVI pouze 65 % aPL pozitivních dětí splnilo pásmo normy (MVI nad 85) a u 17,6 % dětí z aPL pozitivní skupiny byla hodnota MVI v pásmu středního poškození (MVI 69-50), rozdíl v četnosti tohoto parametru mezi oběma skupinami jsme prokázali jako statisticky významný ( $p = 0,03$ ). Při vyhodnocování parametru chování ve 4 subkategoriích (orientace/zájem, emoční regulace a kvalita motoriky) u obou skupin probandů jsme nenalezli významné rozdíly. Při posuzování motorického vývoje, charakterizovaném parametrem PVI, se obě skupiny dětí statisticky nelišily. Srovnáním výsledků PVI obou skupin s populační normou (průměrný MVI 100, SD 15) jsme nezjistili statisticky významnou odchylku.

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

Vysoké procento prematurit v obou souborech se jistě podílelo na vývoji antropometrických parametrů dětí. Přestože jsme při závěrečném vyšetření ve 24 měsících nenalezli statistické rozdíly v hmotnosti, výšce a obvodu lbi mezi oběma skupinami, je zajímavý údaj, že v tomto věku byl u 17,6 % probandů z aPL pozitivní skupiny obvod lbi stále pod 2 SD pro daný věk.

Dalším důležitým faktorem, ovlivňujícím psychomotorický vývoj dětí, je výskyt onemocnění, která jsou v České republice zařazena pod termín časná morbidita v novorozeneckém věku, tzn. syndrom respirační tísně novorozenců, bronchopulmonální dysplazie, intraventrikulární



hemorhagie III. a IV. stupně, cystická periventrikulární leukomalacie, závažné infekční komplikace včetně meningitid a retinopatie nedonošených (ROP) 3. a vyšších stupňů.

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

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

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

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

Recentní práce poukazují na další důležitý aspekt vlivu aPL na neuropsychický vývoj dětí. U potomků matek s AD, spojeným s přítomností aPL, byl detekovaný 2 x vyšší výskyt autismu než v obecné populaci [Abisror, 2013]. I když v naší studii nebyl podobný případ zachycen, je zřejmé, že poruchy autistického spektra u dětí mají multifaktoriální příčiny (genetické, infekční, imunitní) a že přítomnost aPL by mohla hrát jednu z významných rolí při vzniku této choroby. Další vývoj dětí je ovlivněn rovněž vzděláním matek, avšak námi získaná data neumožnila verifikaci této hypotézy, neboť obě skupiny matek se v zmíněných parametrech signifikantně nelišily.

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

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

## 7 Závěr

Z výsledků předložené práce vyplývají následující závěry:

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

b) Transplacentární přenos aPL subtypu IgG jsme po porodu prokázali u 41,4 % novorozenců aPL pozitivních matek. U novorozenců jsme nejčastěji detekovali protilátku proti fosfatidyl-L-serinu IgG (32,3%), dále aPL proti  $\beta$ 2 glykoproteinu I (29,4%) a aPL proti kardiolipinu a fosfatidylinositolu (shodně 20,5 %). U novorozenců zdravých matek byla prokázána přítomnost aPL IgG pouze u jediného dítěte (3,3 %). Tvorba aPL de novo nebyla u novorozenců po porodu detekována.

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

d) V obou souborech dětí byla významně zvýšena incidence prematurity a hypotrofie oproti obecné populaci. Vyšetření EKG a tranzientních otoakustických emisí bylo v obou souborech dětí normální. U dětí aPL pozitivních matek byl přítomný vyšší výskyt přechodné trombopenie a sonograficky byl u nich detekován vyšší výskyt abnormit CNS (subependymální hemoragie, cysty), které rezolvovaly do 6 měsíců. Během 2 - letého sledování nebyly u obou sledovaných skupin dětí nalezeny trombotické komplikace či příznaky neonatálního lupusu.

Hodnocením psychomotorického vývoje ve 2 letech jsme u dětí aPL pozitivních matek našli statisticky signifikantně nižší mentální vývojový index ( $p < 0,01$ ), 17,6 % dětí mělo hodnotu MVI v pásmu středního poškození, rozdíl v četnosti tohoto parametru mezi oběma skupinami byl rovněž statisticky významný ( $p = 0,03$ ). U dětí aPL pozitivních matek jsme u parametru mentální vývojový index ve 2 letech prokázali statisticky signifikantní středně silnou negativní korelaci s hodnotami protilátky proti  $\beta$ 2GPI v subtypu IgG po narození (korelační koeficient 0,67,  $p < 0,0001$ ).

Na základě uvedených údajů navrhuje realizovat u potomků matek s AD spojenými s pozitivní titry aPL psychologické vyšetření ve 2 letech věku k detekci časných abnormit neuropsychického vývoje (např. poruchy aktivity, pozornosti, zpomalení řečového vývoje) k zahájení časné korekce. Nezbytným předpokladem pro správný vývoj dětí matek s AD zůstává v případě potřeby specializovaná multidisciplinární péče (neurologická, rehabilitační, speciálního pedagoga, logopedická, hematologická aj.) i s ohledem na možný vývoj AD v budoucnu, zejména u dětí s vysokými titry perzistujících aPL.

## 8 Seznam použité literatury

- ABISROR, N., MEKINIAN, A., LACHASSINNE, E., et al. Autism spectrum disorders in babies born to mothers with antiphospholipid syndrome. *Semin Arthritis Rheum*, 2013, 43(3), p. 348-351.
- ALSHEKAILI, J., REYNOLDS, G. a COOK, M.C. De novo infantile primary antiphospholipid antibody syndrome. *Lupus*, 2010, 19(13), p. 1565-1568.
- AMBROZIC, A., AVICIN, T., ICHIKAWA, K., et al. Anti-beta(2)-glycoprotein I antibodies in children with atopic dermatitis. *Int Immunol*, 2002, 14(7), p. 823-830.
- ANDREOLI, L., NALLI, C., MOTTA, M., et al. Anti-beta(2)-glycoprotein I IgG antibodies from 1-year-old healthy children born to mothers with systemic autoimmune diseases preferentially target domain 4/5: might it be the reason for their 'innocent' profile? *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(2), p. 380-383.
- AVCIN, T., AMBROZIC, A., KUCHAR, M., et al. Anticardiolipin and anti-beta(2) glycoprotein I antibodies in sera of 61 apparently healthy children at regular preventive visits. *Rheumatology (Oxford)*, 2001, 40(5), p. 565-573.
- AVCIN, T., CIMAZ, R., SILVERMAN, E.D., et al. Pediatric antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic features of 121 patients in an international registry. *Pediatrics*, 2008, 122(5), p. e1100-1107.
- BAYLEY, N., Bayley Scales of Infant Development. 2nd ed 1993, New York: The Psychological Corporation.
- BECK, S., WOJDYLA, D., SAY, L., et al. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ*, 2010, 88(1), p. 31-38.
- BERTOLACCINI, M.L., AMENGUAL, O., ATSUMI, T., et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. *Lupus*, 2011, 20(2), p. 191-205.
- BRAMHAM, K., HUNT, B.J., GERMAIN, S., et al. Pregnancy outcome in different clinical phenotypes of antiphospholipid syndrome. *Lupus*, 2010, 19(1), p. 58-64.
- BULIKOVÁ, A., HARUŠTIAKOVÁ, D., ZAVŘELOVÁ, J., et al. Trombocytopenie u pacientů s průkazem antifosfolipidových protilátek nebo s antifosfolipidovým syndromem. *Vnitr Lek*, 2010, 56, p. 81-90.
- BURD, I., BALAKRISHNAN, B. a KANNAN, S. Models of fetal brain injury, intrauterine inflammation, and preterm birth. *Am J Reprod Immunol*, 2012, 67(4), p. 287-294.
- CARMO-PEREIRA, S., BERTOLACCINI, M.L., ESCUDERO-CONTRERAS, A., et al. Value of IgA anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibody testing in patients with pregnancy morbidity. *Ann Rheum Dis*, 2003, 62(6), p. 540-543.
- CERVERA, R. a BALASCH, J. Bidirectional effects on autoimmunity and reproduction. *Hum Reprod Update*, 2008, 14(4), p. 359-366.
- CERVERA, R., PIETTE, J.C., FONT, J., et al. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(4), p. 1019-1027.
- COHEN, S.B., GOLDENBERG, M., RABINOVICI, J., et al. Anti-cardiolipin antibodies in fetal blood and amniotic fluid derived from patients with the anti-phospholipid syndrome. *Hum Reprod*, 2000, 15(5), p. 1170-1172.
- COSTEDOAT-CHALUMEAU, N., AMOURA, Z., LUPOGLAZOFF, J.M., et al. Outcome of pregnancies in patients with anti-SSA/Ro antibodies: a study of 165 pregnancies, with special focus on electrocardiographic variations in the children and comparison with a control group. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(10), p. 3187-3194.
- COTTLE, T.E., FIER, C.J., DONADIEU, J., et al. Risk and benefit of treatment of severe chronic neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *Semin Hematol*, 2002, 39(2), p. 134-140.

- FRANKLIN, R.D. a KUTTEH, W.H. Effects of unfractionated and low molecular weight heparin on antiphospholipid antibody binding in vitro. *Obstet Gynecol*, 2003, 101(3), p. 455-462.
- FRAUENKNECHT, K., LACKNER, K. a VON LANDENBERG, P. Antiphospholipid antibodies in pediatric patients with prolonged activated partial thromboplastin time during infection. *Immunobiology*, 2005, 210(10), p. 799-805.
- GEROSA, M., CIMAZ, R., STRAMBA-BADIALE, M., et al. Electrocardiographic abnormalities in infants born from mothers with autoimmune diseases--a multicentre prospective study. *Rheumatology (Oxford)*, 2007, 46(8), p. 1285-1289.
- HADAČ, J., *Ultrazvukové vyšetření mozku přes velkou fontanelu*. 1. ed2000, Praha: Triton. 194.
- HAREL, L. Neuropsychiatric manifestations in pediatric systemic lupus erythematosus and association with antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol*, 2006, 33.
- HORNÍK, P., KLIMEŠOVÁ, P. a REITKNECHTOVÁ, M. Screeningové vyšetření sluchu pomocí otoakustických emisí v novorozeneckém věku. *Otorinolaryngologie a foniatrie*, 1999, 48(3), p. 136-143.
- HORSTMAN, L.L., JY, W., BIDOT, C.J., et al. Antiphospholipid antibodies: paradigm in transition. *J Neuroinflammation*, 2009, 6, p. 3.
- HRADECKY, L., SUBRT, I. a ULCOVA-GALLOVA, Z. Urgent termination of pregnancy in pre-eclampsia and panel of antiphospholipid antibodies. *Am J Reprod Immunol*, 2009, 62(6), p. 412-417.
- JAMIESON, D.J., THEILER, R.N. a RASMUSSEN, S.A. Emerging infections and pregnancy. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(11), p. 1638-1643.
- JOSEPHSON, C., NUSS, R., JACOBSON, L., et al. The varicella-autoantibody syndrome. *Pediatr Res*, 2001, 50(3), p. 345-352.
- KURECOVA, B., JANKU, P. a LITZMAN, J. [Common variable immunodeficiency in pregnancy (set of case reports)]. *Ceska Gynekol*, 2009, 74(3), p. 197-201.
- MADAR J, N.D., NOVÁKOVÁ D. Imunologické aspekty habituálního potrácení. *Mod Gyn porod*, 2002, 11 (4), p. 621-627.
- MARK, S., MURPHY, K.E., READ, S., et al. HIV mother-to-child transmission, mode of delivery, and duration of rupture of membranes: experience in the current era. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 2012, 2012, p. 267969.
- MARTIN, D.A. a ELKON, K.B. Mechanisms of apoptosis. *Rheum Dis Clin North Am*, 2004, 30(3), p. 441-454, vii.
- MASSAD, L.S., SPRINGER, G., JACOBSON, L., et al. Pregnancy rates and predictors of conception, miscarriage and abortion in US women with HIV. *AIDS*, 2004, 18(2), p. 281-286.
- MEDAWAR, P. Some immunological and endocrinological problems raised by evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol*, 1953, 7, p. 320-338.
- MERONI, P.L., GEROSA, M., RASCHI, E., et al. Updating on the pathogenic mechanisms 5 of the antiphospholipid antibodies-associated pregnancy loss. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2008, 34(3), p. 332-337.
- MICHIELI, M., PECCATORI, F.A., LLESHI, A., et al. Antiplastic treatment of haematological malignancies during pregnancy: a crucial decision. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2012, 25(2 Suppl), p. 21S-32S.
- MIYAKIS, S., LOCKSHIN, M.D., ATSUMI, T., et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*, 2006, 4(2), p. 295-306.
- MOTTA, M., BOFFA, M.C., TINCANI, A., et al. Follow-up of babies born to mothers with antiphospholipid syndrome: preliminary data from the European neonatal registry. *Lupus*, 2012, 21(7), p. 761-763.
- MOTTA, M., CHIRICO, G., REBAIOLI, C.B., et al. Anticardiolipin and anti-beta2 glycoprotein I antibodies in infants born to mothers with antiphospholipid antibody-positive autoimmune disease: a follow-up study. *Am J Perinatol*, 2006, 23(4), p. 247-251.

- MOTTA, M., TINCANI, A., FADEN, D., et al. Follow-up of infants exposed to hydroxychloroquine given to mothers during pregnancy and lactation. *J Perinatol*, 2005, 25(2), p. 86-89.
- MOTTA, M., TINCANI, A., MERONI, P.L., et al. Follow-up of children exposed antenatally to immunosuppressive drugs. *Rheumatology (Oxford)*, 2008, 47 Suppl 3, p. iii32-34.
- NACINOVICH, R., GALLI, J., BOMBA, M., et al. Neuropsychological development of children born to patients with antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum*, 2008, 59(3), p. 345-351.
- NESHEIM, S., TAYLOR, A., LAMPE, M.A., et al. A framework for elimination of perinatal transmission of HIV in the United States. *Pediatrics*, 2012, 130(4), p. 738-744.
- NORWITZ, E.R., SCHUST, D.J. a FISHER, S.J. Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med*, 2001, 345(19), p. 1400-1408.
- OSTENSEN, M., KHAMASHTA, M., LOCKSHIN, M., et al. Anti-inflammatory and immunosuppressive drugs and reproduction. *Arthritis Res Ther*, 2006, 8(3), p. 209.
- PARK, M.A., LI, J.T., HAGAN, J.B., et al. Common variable immunodeficiency: a new look at an old disease. *Lancet*, 2008, 372(9637), p. 489-502.
- PIERANGELI, S.S., GHARAVI, A.E. a HARRIS, E.N. Experimental thrombosis and antiphospholipid antibodies: new insights. *J Autoimmun*, 2000, 15(2), p. 241-247.
- POPP, H., SPIEKERMANN, K., WOLLENBERG, A., et al. [Hematologic neoplasias and solid tumors in pregnancy. Part 1: diagnosis and principal treatment options]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2009, 134(7), p. 311-315.
- RUBTSOV, A.V., RUBTSOVA, K., KAPPLER, J.W., et al. Genetic and hormonal factors in female-biased autoimmunity. *Autoimmun Rev*, 2010, 9(7), p. 494-498.
- SANMARCO, M., GAYET, S., ALESSI, M.C., et al. Antiphosphatidylethanolamine antibodies are associated with an increased odds ratio for thrombosis. A multicenter study with the participation of the European Forum on antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost*, 2007, 97(6), p. 949-954.
- SEBIRE, N.J., REGAN, L. a RAI, R. Biology and pathology of the placenta in relation to antiphospholipid antibody-associated pregnancy failure. *Lupus*, 2002, 11(10), p. 641-643.
- SEDLMAYR, P. a BLASCHITZ, A. Placental expression of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Wien Med Wochenschr*, 2012, 162(9-10), p. 214-219.
- SHAMONKI, J.M., SALMON, J.E., HYJEK, E., et al. Excessive complement activation is associated with placental injury in patients with antiphospholipid antibodies. *Am J Obstet Gynecol*, 2007, 196(2), p. 167 e161-165.
- SHELLY, S., BOAZ, M. a ORBACH, H. Prolactin and autoimmunity. *Autoimmun Rev*, 2012, 11(6-7), p. A465-470.
- SHOENFELD, Y. a ISENBERG, D.A. The mosaic of autoimmunity. *Immunol Today*, 1989, 10(4), p. 123-126.
- SHOENFELD, Y., NAHUM, A., KORCZYN, A.D., et al. Neuronal-binding antibodies from patients with antiphospholipid syndrome induce cognitive deficits following intrathecal passive transfer. *Lupus*, 2003, 12(6), p. 436-442.
- SHROT, S., KATZAV, A., KORCZYN, A.D., et al. Behavioral and cognitive deficits occur only after prolonged exposure of mice to antiphospholipid antibodies. *Lupus*, 2002, 11(11), p. 736-743.
- SIMCHEN, M.J., GOLDSTEIN, G., LUBETSKY, A., et al. Factor v Leiden and antiphospholipid antibodies in either mothers or infants increase the risk for perinatal arterial ischemic stroke. *Stroke*, 2009, 40(1), p. 65-70.
- SOBOTKOVÁ, D.: Psychometrické ověření a národní standardizace metody Bayleyové (BSID-II) pro hodnocení vývoje dětí raného věku, 2003, IGA MZ ČR.
- STEPHENSON, M. a KUTTEH, W. Evaluation and management of recurrent early pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol*, 2007, 50(1), p. 132-145.

- STOCKMAN, L.J., LOWTHER, S.A., COY, K., et al. SARS during pregnancy, United States. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10(9), p. 1689-1690.
- STURT, A.S., DOKUBO, E.K. a SINT, T.T. Antiretroviral therapy (ART) for treating HIV infection in ART-eligible pregnant women. *Cochrane Database Syst Rev*, 2010(3), p. CD008440.
- SUBRT, I., ULCOVA-GALLOVA, Z., BIBKOVA, K., et al. Recurrent pregnancy loss and frequency of eight antiphospholipid antibodies and genetic thrombophilic factors in Czech women. *Am J Reprod Immunol*, 2008, 59(3), p. 193-200.
- TEBO, A.E., JASKOWSKI, T.D., HILL, H.R., et al. Clinical relevance of multiple antibody specificity testing in anti-phospholipid syndrome and recurrent pregnancy loss. *Clin Exp Immunol*, 2008, 154(3), p. 332-338.
- TRYSBERG, E., NYLEN, K., ROSENGREN, L.E., et al. Neuronal and astrocytic damage in systemic lupus erythematosus patients with central nervous system involvement. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(10), p. 2881-2887.
- TUTHILL, J.I. a KHAMASHTA, M.A. Management of antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun*, 2009, 33(2), p. 92-98.
- ULCOVA-GALLOVA, Z. Immunological and physicochemical properties of cervical ovulatory mucus. *J Reprod Immunol*, 2010, 86(2), p. 115-121.
- ULCOVA-GALLOVA, Z., KRAUZ, V., NOVAKOVA, P., et al. Anti-phospholipid antibodies against phosphatidylinositol, and phosphatidylserine are more significant in reproductive failure than antibodies against cardiolipin only. *Am J Reprod Immunol*, 2005, 54(2), p. 112-117.
- ULCOVA-GALLOVA, Z., TUREK, J., BIBKOVA, K., et al. [Serum antibodies against annexin V and other phospholipids in women with fertility failure]. *Ceska Gynekol*, 2006, 71(3), p. 200-203.
- WANG, J.G., XIE, Q.B., YANG, N.P., et al. Primary antiphospholipid antibody syndrome: a case with bilateral sudden sensorineural hearing loss. *Rheumatol Int*, 2009, 29(4), p. 467-468.

## 9 Publikační a přednášková činnost spojená s tématem dizertační práce

### 9.1 Impaktované publikace

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

### 9.2 Recenzované publikace

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

### 9.3 Jiné publikace

- MOCKOVÁ, A., LUKÁŠOVÁ, V., DORT, J. a LUCKOVÁ, Z., 2011. **Depresivní choroba matek - rizikový faktor pro novorozence?** Plzeňský lékařský sborník (Plzeň Medical Reports.) 2011, 77(77), s. 73-82.
- TOBRMANOVÁ, H., MOCKOVÁ, A. **Rizika léčby epilepsie gravidních žen-fetální valproátový syndrom.** Vox pediatrice, 2013, 13, č. 5, s. 26-28

### 9.4 Přednášková činnost

- MOCKOVÁ, A., ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z., NAHLOVSKÝ, J. et al. **Occurrence of selected antiphospholipid antibodies in offspring born from mothers with autoimmunity.** 8th Meeting of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies-29th September-1st October 2011, Padua, Italy, přednáška, *abstrakta*
- MOCKOVÁ, A., LUCKOVÁ, Z., LUKÁŠOVÁ, V., DORT, J. **Vliv antidepresivní terapie matek během gravidity na výskyt vrozených vývojových vad a poruchy poporodní adaptace novorozenců.** XXVI. Neonatologické dny, 10.-12. 11. 2010, Olomouc, poster, *abstrakta*

- MOCKOVÁ, A., LUKÁŠOVÁ, V., DORT, J., LUCKOVÁ, Z. **Vliv antidepressivní terapie matek během gravidity na výskyt vrozených vývojových vad a poruchy poporodní adaptace novorozenců.** Konference: Diagnostika, léčba a prevence závažných civilizačních onemocnění, 25. 11. 2010, Plzeň, *abstrakta*.
- MOCKOVÁ, A., ULČOVA-GALLOVA, Z., NAHLOVSKY, J., LUKASOVA, V., DORT, J., BIBKOVA, K., MICANOVA, Z. **Presence of eight antiphospholipid antibodies in children born to mothers with autoimmune diseases-preliminary results.** Medicina a antifosfolipidové protilátky, Plzeň, 23.- 25. 6. 2011, přednáška, *abstrakta*
- NAHLOVSKY, J., MOCKOVA, A., MATAS, M., DORT, J., DORTOVA, E., ULCOVA-GALLOVA, Z. **Premature infant from a mother with APS secondary to SLE – a case study.** Medicina a antifosfolipidové protilátky, Plzeň, 23.- 25. 6. 2011, poster, *abstrakta*
- HRADECKY, L., MOCKOVA, A., ULČOVA-GALLOVA, Z., SUBRT, I. **Preeclampsia and selected immunogenetic factors.** Medicina a antifosfolipidové protilátky, Plzeň, 23. -25. 6. 2011, přednáška, *abstrakta*
- MOCKOVÁ, A., ULČOVA-GALLOVA, Z., NAHLOVSKY, J., LUKASOVA, V., DORT, J. **Ovlivní antifosfolipidové protilátky matek s autoimunitními chorobami postnatální vývoj dětí?** Konference Experimentální výzkum v medicíně a jeho klinická aplikace, Plzeň, 3. 11. 2011, poster, *abstrakta*
- MOCKOVÁ, A., ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z., NAHLOVSKÝ, J., LUKASOVÁ, V., DORT, J. **Výskyt antifosfolipidových protilátek u matek s autoimunitními chorobami a jejich novorozenců.** XXVII. Neonatologické dny s mezinárodní účastí, Plzeň, 23. – 25. listopadu 2011, poster, *abstrakta*
- MOCKOVÁ, A., HUML, P., DORT, J., VONDRÁKOVÁ, R., ČERNÁ, Z. **Prípad závažné venózní trombózy u novorozence.** Večer Neonatologického oddelení, Spolek lékařů ČLS JEP, Plzeň, 25. 1.2012, přednáška
- ULČOVÁ-GALLOVÁ, HRADECKÝ, L., BIBKOVA, K., MIČANOVÁ, Z., UHER, P., MOCKOVÁ, A. **Antifosfolipidový syndrom a geneticky poškozená embrya u opakovaného potrácení-kazuistika.** Postgraduální lékařské dny Plzeň, 14.-16. 2. 2012, sborník, *abstrakta*, s. 24.
- MOCKOVÁ, A., ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z. **Matky s antifosfolipidovými protilátkami a jejich dítě.** Pracovní schůze České společnosti alergologie a klinické imunologie a České imunologické společnosti. Praha, 13. 9. 2012, přednáška
- MOCKOVÁ, A., LUKÁŠOVÁ, V., DORT, J., LUCKOVÁ, Z. **Deprese a antidepressivní léčba matek jako rizikový faktor pro novorozence.** Regionální neonatologický seminář, Plzeň, 22. 11. 2012, přednáška
- MOCKOVÁ, A., ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z., LUKÁŠOVÁ, V., DORT, J. **Imunologicky riziková žena a její dítě.** Večer Neonatologického oddelení, Spolek lékařů ČLS JEP, Plzeň, 22. 1. 2013, přednáška
- MOCKOVÁ, A., TOBRMANOVÁ, H., DORT, J. **Syndrom maternální fenylketonurie u novorozence- stále aktuální problém.** XXIX. NEONATOLOGICKÉ DNY, Ústí nad Labem, 6.-8. listopadu 2013, poster, *abstrakta*