

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

**Laboratorní biomarkery diagnostiky a monitorování průběhu
preeklampsie**

Tereza Kačírková

Bakalářská práce

2024

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Tereza Kačírková**
Osobní číslo: **C21187**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Laboratorní biomarkery diagnostiky a monitorování průběhu preeklampsie**
Téma práce anglicky: **Laboratory Biomarkers of Diagnosis and Monitoring of Preeclampsia**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Na základě informací z literatury uspořádejte současné poznatky o laboratorních biomarkerech včasné diagnostiky a monitorování průběhu preeklampsie, a to i těch aktuálně zkoumaných jako markery potenciální.
2. Pozornost věnujte také možnostem jejich stanovení, včetně nároků kladených na preanalytickou fázi.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucí bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Pavla Žáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Laboratorní biomarkery diagnostiky a monitorování průběhu preeklampsie jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne: 1.7.2024

Tereza Kačírková

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala mé vedoucí bakalářské práce Mgr. Pavle Žákové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady při konzultacích a připomínky při zpracování této práce. Dále bych velmi ráda poděkovala své rodině a přátelům za podporu během celého studia.

ANOTACE

Bakalářská práce se věnuje patogenezi, diagnostice, laboratornímu stanovení a léčbě preeklampsie. Také se zmiňuje o dalších souvisejících onemocněních jako je HELLP syndrom a eklampsie. Hlavní část je věnovaná laboratorním biomarkerům, které se používají při screeningových stanoveních nebo jsou potenciálními adepty pro budoucí diagnostiku.

KLÍČOVÁ SLOVA

Preeklampsie, diagnostika, biomarkery, laboratorní stanovení, těhotenství

TITLE

Laboratory biomarkers for the diagnosis and monitoring of preeclampsia

ANNOTATION

The bachelor thesis is focused on the pathogenesis, diagnosis, laboratory determination and treatment of pre-eclampsia. It also mentions other related diseases such as HELLP syndrome and eclampsia. The main part is devoted to laboratory biomarkers that are used in screening determinations or are potential candidates for future diagnosis.

KEYWORDS

Preeclampsia, diagnostics, biomarkers, laboratory determination, pregnancy

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK	10
SEZNAM ZKRATEK	11
ÚVOD.....	14
1 PREEKLAMPSIE.....	15
1.1 Patogeneze	15
1.2 Prevalence.....	16
1.3 Diagnostika	16
1.4 Diagnostická vyšetření.....	17
1.4.1 Krevní tlak a střední arteriální tlak	17
1.4.2 Dopplerovská analýza děložních tepen.....	17
1.5 Příznaky	18
1.6 Stádia nemoci.....	18
1.6.1 První fáze – abnormální placentace	19
1.6.2 Druhá fáze – patogeneze mateřského syndromu	19
1.7 Rizikové faktory	20
1.8 Preeklampsie a obezita.....	21
1.9 Preeklampsie a diabetes mellitus	21
1.10 Preeklampsie a imunitní systém	22
1.10.1 Vrozená imunita.....	22
1.10.2 Získaná imunita	22
1.10.3 Změny imunitního systému během preeklampsie	22
2 PREVENCE PREEKLAMPSIE	23
2.1 Modely prevence.....	23
2.2 Nízká dávka aspirinu	23
2.3 Současná invence pro prevenci preeklampsie	24
2.3.1 Metformin	24
2.3.2 Esomeprazol	24
3 LÉČBA PREEKLAMPSIE	24
3.1 Potencionální léčba preeklampsie pomocí extracelulárních vezikul	25
4 EKLAMPSIE	26
4.1 Patogeneze	26
4.2 Příznaky	26
4.3 Léčba.....	26
5 HELLP SYNDROM.....	27
5.1 Patogeneze	27
5.2 Léčba.....	27
6 BIOMARKERY	28
6.1 Role angiogenních a anti-angiogenních markerů	28

7	BIOMARKERY PREEKLAMPSIE.....	30
7.1	Lidský těhotenský paraprotein A.....	30
7.2	Vaskulární endotelový růstový faktor.....	31
7.3	Placentární protein 13	32
7.4	Růstový diferenciační faktor 15.....	32
7.5	Cystatin C	33
7.6	α 1-mikrotubulin.....	33
7.7	Neutrofilní, s galatinázou asociovaný lipokalin	34
7.8	Solubilní endoglin.....	35
7.9	A dezintegrin a metaloproteináza 12	36
7.10	Placentární růstový faktor.....	36
7.11	β - lidský gonadotropin.....	37
7.12	Inhibin A, Aktivin A.....	37
7.13	Solubilní tyrozinkináza-1 podobná FMS.....	38
7.14	Endotelový oxid dusnatý	40
7.15	Asymetrický dymethylarginin	40
7.16	Angiotensin II typ 1 receptor, autoprotilátky.....	40
7.17	Faktor 1 indukovatelný hypoxií.....	41
7.18	MikroRNA.....	41
7.19	Fetální hemoglobin	42
7.20	Hepatocytový růstový faktor	42
7.21	Homocystein	42
7.22	Neutrofilý.....	43
7.23	T – pomocné lymfocyty.....	43
7.24	Triacylglyceroly.....	43
7.25	Inzulinová rezistence	44
7.26	Placentou derivované exosomy	44
7.27	Biomarkery gestačního diabetes mellitus	44
7.27.1	Adiponektin	44
7.27.2	Leptin.....	45
7.27.3	C – reaktivní protein	46
7.28	Biomarkery výskytu preeklampsie u gestačního diabetes mellitus	46
7.28.1	Produkty pokročilé oxidace proteinů.....	46
7.28.2	Fibroblastový růstový faktor 21.....	47
7.28.3	Rezistin	47
7.29	Biomarkery HELLP syndromu.....	47
8	LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ PREEKLAMPSIE.....	48
8.1	Rutině stanovované parametry.....	48
8.1.1	Proteinurie.....	48
8.1.2	Hyperurikémie	48
8.1.3	Zvýšený kreatininu v séru.....	48
8.1.4	Hypoalbuminémie.....	49
8.1.5	Aminotransferázy.....	49
8.1.6	Trombocytopenie.....	49
8.1.7	Angiogenní faktory	49

8.1.8	sFlt-1/PIGF test.....	49
8.1.9	Poměr bílkoviny ku kreatininu v moči	51
8.2	Metody stanovení.....	51
	ZÁVĚR.....	53
	POUŽITÁ LITERATURA	54

SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Patogeneze PE, upraveno dle [4].	15
Rizikové faktory PE, upraveno dle [2]	20
Typy biomarkerů měřené v krvi nebo moči, upraveno dle [31]	29
Nízké hladiny PAPP-A při PE, upraveno dle [33].....	31
Životní cyklus A1M upraveno dle [37]	34
Mechanismus účinku angiogenních a anti-angiogenních faktorů upraveno dle [7]	35
Aktivin A a Inhibin A při PE, upraveno dle [33].....	38
Schématické znázornění endokrinní funkce placenty, upraveno dle [40]	39
Přehled hodnot sFlt-1/PlGF poměru [57]	50

SEZNAM ZKRATEK

β -hCG - β lidský gonadotropin

A1M – α 1-mikrotubulin

ADAM 12 – A dezingerin a metaloproteáza 12

ADMA – asymetrický dymethylarginin

ALT – alaninaminotransferáza

AOPP – produkty pokročilé oxidace proteinů

APN – adiponektin

AST – aspartátaminotransferáza

AT1-AA – Angiotenzin II typ 1 receptor, autoprotilátky

BMI – body mass index

CC – cystatin C

CRP – C-reaktivní protein

DM – diabetes mellitus

ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay

Eng – endoglin

eNOS – endoteliální syntáza oxidu dusnatého

ENT – extravilózní trofoblasty

ENVT – endovaskulární trofoblasty

ERY – erytrocyty

FGF-21 – fibroblastový růstový faktor 21

Flt-1 – tyrozinkináza -1 podobná FMS

GDF-15 – růstový diferenciační faktor 15

GDM – gestační diabetes mellitus

HbF – fetální hemoglobin

Hcy – homocystein

HELLP syndrom – hemolýza, zvýšení jaterních enzymů a nízká hladina trombocytů syndrom

HGF – hepatocytový růstový faktor

HIF-1 – faktor 1 indukovatelný hypoxií

iNOS – indukovatelná syntáza oxidu dusnatého

IUGF – intrauterinní růstová restrikce

LD – laktátdehydrogenáza

LEU – leukocyty

MAP – krevní tlak a střední arteriální tlak

miRNA – mikroRNA

NET – neutrofilní extracelulární past

NEU – neutrofily

NGAL – neutrofilní, s galaktinázou asociovaný lipokalin

NIH – Národní instituce zdraví

NO• – radikál oxidu dusnatého

PAPP-A – lidský těhotenský paraprotein A

PE – preeklampsie

PI – pulzační index

PIGF – placentární růstový faktor

PP-13 – placentární protein 13

sEng – solubilní endoglin

sFlt-1 - solubilní tyrozinkináza-1 podobná FMS

TAG – triacylglyceroly

TGF-β - transformující růstový faktor β

Th – pomocné lymfocyty

UPCR – poměr bílkovin a kreatininu v moči

Ut-A – Dopplerovská křivka

UtAD – Dopplerovská analýza děložních tepen

VEGF – vaskulární růstový faktor

ÚVOD

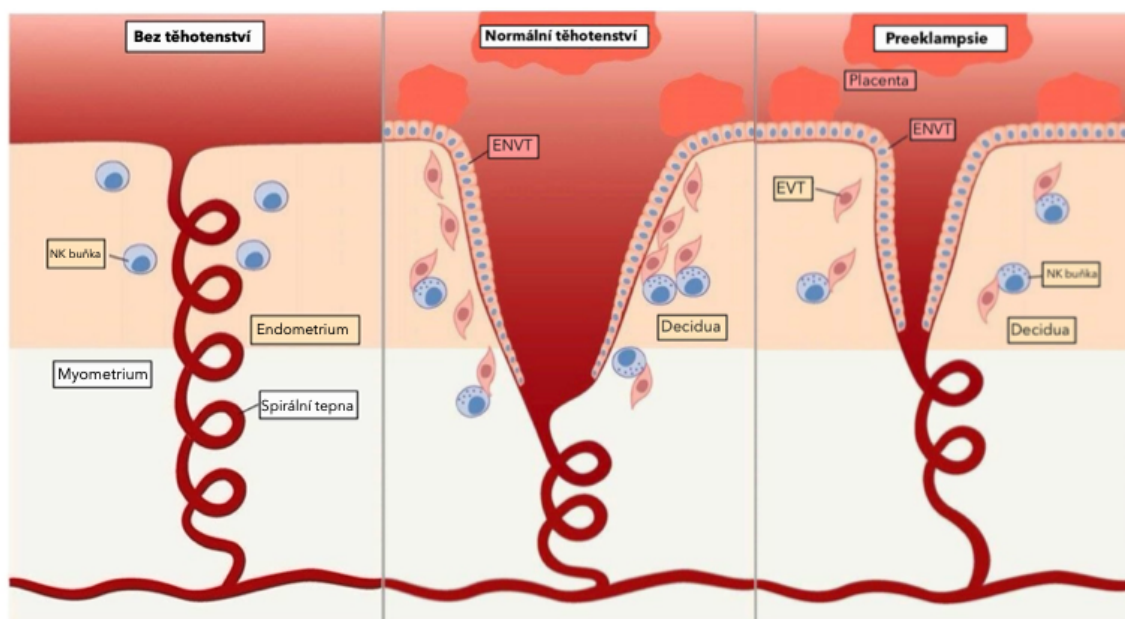
Tato bakalářská práce se zabývá biomarkery preeklampsie, které napomáhají při její diagnostice. Mimo jiné preeklampsii také popisuje, jedná se o závažnou nemoc těhotných žen, která je spojená hlavně s hypertenzí a má mnoho klinických projevů a rizikových faktorů. Patogeneze není stále zcela jasná, ale nejspíše se jedná o abnormální placentaci. Preeklampsie je stále velmi rozšířená a podílí se na velké části morbidit a mortalit plodu i matky. Z preeklampsie se může rozvinout eklampsie, ta je další formou této nemoci a vyznačuje se klonicko-tonickými záchvaty. Poslední onemocnění, které se většinou objevuje s preeklampsii, a je zmíněno v této práci, je HELLP syndrom.

Hlavní část je věnovaná nadějným biomarkerům, které by mohly pomoci usnadnit predikci této nemoci, která je stále příčinou mnoha mateřských a novorozeneckých mortalit a morbidit. V dnešní době bohužel neexistuje jeden jasný ukazatel, a tak studie biomarkerů jakožto ukazatelů v predikci stále stoupá. Během trimestrálních screeningů se stanovují určité biomarkery poukazující na rozvoj preeklampsie. Snaha studií je najít co nejvíce ukazatelů, které by v budoucnu pomohly rychle, přesně a včas objevit tuto nemoc a zabránit jejím fatálním následkům. Cílená léčba této nemoci v dnešní době bohužel neexistuje, pouze se mírní klinické příznaky hypertenze pomocí léků, a tak je prevence a časná diagnostika o to více důležitá.

1 PREEKLAMPSIE

1.1 Patogeneze

Celkově je patogeneze preeklampsie (PE) velmi složitá a pravděpodobně multifaktoriální. Hlavní navrhované teze ve vývoji nemoci naznačují abnormální placentaci, která vede k nevhodné spirální arteriální remodelaci a výsledné tkáňové hypoxii, která způsobuje poškození endotelu, a to vede k hypertenzní patologii (Obrázek 1).



Obrázek 1: Patogeneze PE, upraveno dle [4].

Rozdíl mezi stavem bez těhotenství, v normálním těhotenství a s PE, kdy ve stavu bez těhotenství chybí placenta a trofoblasty. V normálním těhotenství je nahrazeno endometrium deciduou a spirální tepna se rozšiřuje, okolo ní se nacházejí trofoblasty. Během PE se spirální tepna nerozšíří dostatečně a chybí množství trofoblastů, tím nedochází ke správné perfuzi placenty. Extravilózní trofoblasty pronikají do děložní stěny, aby ukotvily placentu k děloze, zatímco endovaskulární trofoblasty pronikají do mateřských spirálních arterií a nahrazují endotelovou výstelku a tím umožňují dostatečný transport krve do placenty. ENT-extravilózní trofoblast, ENVT – endovaskulární trofoblast, decidua – děložní sliznice během těhotenství, nahrazuje endometrium, NK buňky – „přirozený zabijáci“ buňky imunitního systému, které mimo jiné v těhotenství pomáhají regulovat vývoj placenty a zajišťují správnou přeměnu spirálních tepen

Pro správný průběh těhotenství je dostatečný průtok krve placentou nezbytný. Během normální implantace pronikají placentární trofoblasty (tkáň, která se tvoří v raných fázích vývoje embrya z vnější vrstvy buněk blastocysty) do dělohy a vyvolávají remodelaci spirálních arterií (specifické tepny nacházející se v děložní sliznici, které hrají významnou roli v těhotenství při tvorbě embrya a implantaci placenty), takže jsou odolné

a široké, tím zajišťují dostatečnou placentární perfuzi pro výživu rostoucího plodu. Extravilózní trofoblasty (ENT) pronikají do děložní stěny, aby ukotvily placentu k děloze, zatímco endovaskulární trofoblasty (ENVT) pronikají do mateřských spirálních arterií a nahrazují endotelovou výstelku, a tím umožňují dostatečný transport krve do placenty. Během normálního těhotenství se v decidue (modifikovaná děložní sliznice v těhotenství) nachází daleko více ENT, zatímco u PE je jejich počet značně menší. Předpoklad patogeneze PE je nedostatečná invaze trofoblastu do mateřské decidui a její arterie. Neúplná přestavba spirální tepny pak vede k nesprávné perfuzi placenty. Tato abnormální placentace je pravděpodobně ve spojení s multifaktoriální kombinací genetických faktorů a faktorů z prostředí [1, 2, 3].

1.2 Prevalence

PE je významným problémem v celosvětovém měřítku veřejného zdraví v rozvojových i rozvinutých zemích a jejím následkem je vysoká mateřská morbidita a mortalita. V celosvětovém měřítku je PE a eklampsie zodpovědná za 10-15 % všech mateřských úmrtí, což se může u jednotlivých zemí mírně lišit. Tento problém je ale zásadní u rozvojových zemí, kde na rozdíl od jiných častějších příčin mateřské úmrtnosti, mohou být lékařské zákroky neúčinné. Riziko úmrtí matky je tedy v méně rozvojových zemích až 40krát vyšší, než je v evropských zemích [5, 6].

1.3 Diagnostika

Mezinárodně je PE definována jako nově vzniklá gestační hypertenze ($\geq 140/90$) spojená s nově vzniklým alespoň jedním z příznaků: proteinurie, orgánová dysfunkce matky (jaterní, neurologická, hematologická či renální) nebo uteroplacentární dysfunkcí ve 20.týdnu těhotenství nebo po něm [7, 8].

V těhotenství se kromě PE mohou vyskytovat i další druhy hypertenze. Gestační hypertenze je diagnostikována při dvou zvýšených hodnotách krevního tlaku $\geq 140/90$ po 20.týdnu těhotenství v rozmezí alespoň 4 hodin. Pacientky s touto diagnózou postrádají zjevné příznaky PE, ačkoliv u nich existuje zvýšené riziko vzniku stejně jako u hypertenze chronické. Ta je definována jako diagnóza, která předchází těhotenství nebo jako zvýšení tlaku diagnostikováno před 20.týdnem těhotenství při dvou měření s rozstupem 4 hodin [2].

1.4 Diagnostická vyšetření

1.4.1 Krevní tlak a střední arteriální tlak

Měření krevního tlaku (MAP) patří mezi rutinní vyšetření při každé návštěvě lékaře. Chronická hypertenze je jeden z rizikových faktorů vzniku PE. Krevní tlak měřený v 11. - 13. + 6. týdnu těhotenství mají zvýšeny ženy, u kterých se následně rozvine PE anebo gestační hypertenze, přičemž výrazné zvýšení krevního tlaku pozorujeme u žen s časnou PE. Aby bylo měření krevního tlaku spolehlivým ukazatelem, musí být měřen validovanou a reprodukovatelnou metodou. Taková metoda zahrnuje měření po pěti minutách s paží na úrovni srdce. Tlak se měří současně na obou pažích zároveň, tím se získají dvě měření a dále se použije průměr všech čtyř naměřených hodnot. MAP se vypočítá jako $\frac{2}{3}$ diastolického tlaku + $\frac{1}{3}$ systolického tlaku. Toto vyšetření je snadné, nákladově výhodné a neinvazivní, lze ho provádět všem ženám během jejich první prenatální návštěvy. Je možné ho také kombinovat s Dopplerovskou analýzou děložních (UtAD) tepen a laboratorními biomarkery, kdy studie uvádí, že tento kombinovaný screening má 5 % míru falešné positivity [9, 10].

1.4.2 Dopplerovská analýza děložních tepen

Mezi nejčastěji prováděná vyšetření v těhotenství patří vyšetření děložních tepen, konkrétně pomocí Dopplerovské křivky (Ut-A). Je možné měřit pulzační index (PI), který může být spojen, při zvýšených hodnotách, s rozvojem PE a růstovým omezením plodu. Intenzita krevního průtoku v děložních tepnách se v průběhu normálního těhotenství neustále snižuje, přičemž tato změna je nutná k zajištění dramatického zvýšení krevního zásobního interválního prostoru. Avšak v důsledku defektivní diferenciací trofoblastu a zhoršení invaze spirálních arterií zůstává uteroplacentární cirkulace ve stavu vysokého odporu, který lze měřit neinvazivně pomocí Dopplerovské analýzy děložních tepen [9, 10].

Zvláštností je, že míra detekce a citlivosti jsou vhodnější pro screening ve druhém trimestru než v prvním trimestru a pro časnou/ ranou formu PE než pro mírnou nebo těžkou PE. Výhodou děložní tepny je, že jí lze vyšetřovat v průběhu celého těhotenství při běžných ultrazvukových kontrolách. Je zde možnost transabdominálního nebo transvaginálního přístupu, ale transabdominální je zde upřednostňován z důvodu

zvýšených hodnot při použití přístupu transvaginálního. Tento parametr je bohužel nejvíce náchylný k chybám vzhledem k tomu, že je vysoce závislý na osobě, která toto vyšetření provádí. Přesnost výsledků může také ovlivnit řada faktorů jako je například obezita pacientky [9, 10].

1.5 Příznaky

Pacientky trpící PE mohou trpět neustupující bolestí hlavy (cefalea), bolestí v pravém horním kvadrantu (epigastrická bolest) nebo změny vidění, které se objevují u těžkých forem PE. Jako další častý symptom PE jsou drobné záškuby svalstva (hyperreflexie), převážně v okolí obličeje, ty mohou být iniciálním stádiem eklamptického záchvatu. V ojedinělých situacích mohou být také zvýšené otoky (edémy) dolních končetin, které nejsou charakteristické pro PE stejně jako pocit na zvracení (nauzea), ale měly by vzbuzovat obavy z rozvoje nemoci [11, 2].

1.6 Stádia nemoci

Nemoc lze diagnostikovat jako PE bez nebo se závažnými příznaky, kdy se liší závažností příznaků a průběhem. Z PE se může rozvinout závažnější forma známá jako HELLP syndrom, který je možný diagnostikovat i u žen, které nenesou diagnostiku PE. Nejzávažnější forma, která se může objevit je eklampsie a je typická u pacientek, které již nesou diagnostiku PE [2].

Jedná se o placentární onemocnění probíhající ve dvou fázích: 1. fáze – abnormální placentace na počátku prvního trimestru a následující 2. fáze – „mateřský syndrom“ v pozdějším druhém a třetím trimestru, který je charakterizován nadbytkem anti-angiogenních faktorů (**Obrázek 2**) [7].

Klasický dvoustupňový model PE představil v roce 1991 Redman a tím změnil paradigma své doby, předtím byla PE považována pouze za „hypertenzní onemocnění“ v těhotenství. Důkazy o tom, že je PE důležitá, doložil již před více než sto lety Schmorl v roce 1893 ve zprávě popisující trofoblasty v plicích žen, které zemřely na eklampsii. V roce 1967 Robertson a Brosens předložili své zásadní poznatky, které ukazují, že PE je spojena se špatnou placentací, pozorovanou jako mělkou remodelaci uteroplacentárních spirálních arterií [7, 12].

Dva nejvýznamnější placentární faktory ovlivněné stresem syncytiotrofoblastu (mnohoaderná hmota, která vzniká z části trofoblastu při vývoji lidského embrya) jsou solubilní tyrozinkináza-1 podobná FMS (sFlt-1) a placentární růstový faktor (PlGF). PlGF se váže na receptor pro vaskulární růstový faktor (VEGF) v mateřském endotelu, což vede ke zvýšenému uvolňování oxidu dusnatého a cévní relaxaci. Zvýšené hladiny sFlt-1 vedou k redukci volně cirkulující VEGF a PlGF a následkem je endoteliální dysfunkce [7, 11, 12, 13].

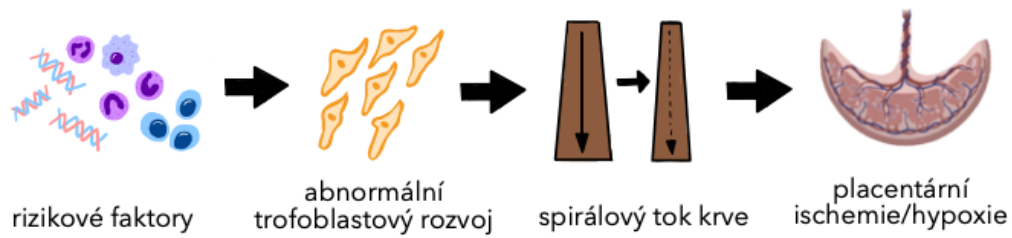
1.6.1 První fáze – abnormální placentace

Při normální placentární implantaci se cytotrofoblasty (jednotlivé buňky, které se dělí a poskytují nové buňky pro trofoblast) vnořují do spirálních arterií dělohy matky a vytvářejí cévní dutiny na rozhraní plodu a matky, které zajišťují výživu plodu. V placentách, u kterých se rozvine PE, se cytotrofoblasty nedokáží transformovat z proliferačního epiteliálního subtypu na invazivní endoteliální subtyp, což způsobuje neúplnou remodelaci spirálních arterií. Tato nedostatečná remodelace vede k zúžení mateřských cév a relativní placentární ischemii. Epidemiologické studie naznačují, že kromě uteroplacentární insuficience může mít na rozvoj PE vliv i špatná decidualizace dělohy [7].

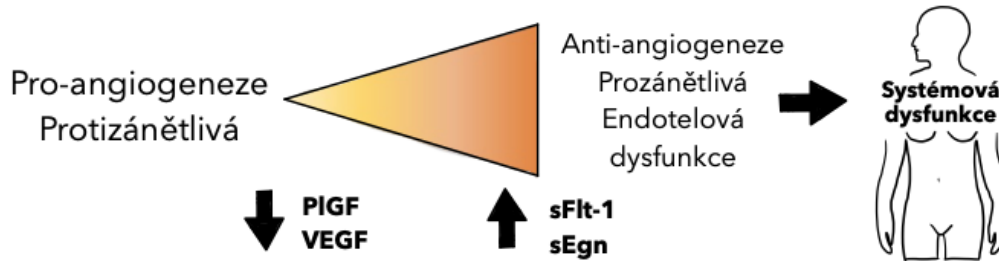
1.6.2 Druhá fáze – patogeneze mateřského syndromu

Při této fázi dochází k interakci zhoršené uteroplacentární perfuze s dalšími různými konstitučními faktory matky. Patofyziologické změny v játrech, ledvinách a kardiovaskulárním systému odpovídají konceptu nedostatečného prokrvení. Na poddajnosti tepen během těhotenství se podílejí různé faktory. Selhání cévní adaptace matky může způsobit hypertenzní poruchy, jako je PE. Některé cirkulující cytokiny a růstové faktory v abnormálních hladinách mohou inhibovat normální vápníkové signální děje, čímž poškozují kontakty mezi buňkami endotelu a vedou k endoteliální dysfunkci. Na patogenezi PE se může také podílet dysregulace systému renin-angiotenzin a oxidační stres, kdy se může zvyšovat množství cirkulujících zbytků placenty a ty by v termínu porodu poškozovaly endotelové buňky matky [14].

Fáze 1: Abnormální placentace



Fáze 2: Angiogenní nerovnováha a endoteliální dysfunkce



Obrázek 2: Rizikové faktory PE, upraveno dle [2]

Popis dvou fází, které se objevují při PE. V první fázi působí rizikové faktory, které dále vedou ke abnormálnímu rozvoji trofoblastů, spirálovému toku krve a placentární ischemii či hypoxii. V druhé fázi dochází k angiogenní nerovnováze způsobené snížením PIGF a VEGF, a naopak zvýšením sFlt-1 a sEng, to vede k systémové dysfunkci. PIGF-placentární růstový faktor, VEGF-vaskulární endotelový růstový faktor, sFlt-1- solubilní tyrozinkináza-1 podobná FMS, sEng – solubilní endoglin

1.7 Rizikové faktory

Rizikové faktory pro vznik PE byly podrobně studovány a rozděleny na tři kategorie - rizikové faktory hlavní, ostatní a vzácné. Ačkoliv tyto faktory mohou přispívat k rozvoji nemoci, není jejich přítomnost vždy spojena s PE. PE vyžaduje přítomnost placenty (nebo nedávno porozené placenty, jako je to u po-porodní PE). Vzájemné působení a patofyziologické účinky predispozice matky a faktorů vylučovaných placentou však nejsou dobře vymezeny [7, 12].

Hlavní rizikové faktory:

- Chronická hypertenze
- Předchozí prodělaná PE
- BMI > 30
- Gestační diabetes mellitus

- Abnormální mateřská imunitní odpověď

Ostatní rizikové faktory:

- BMI > 25
- Asistovaná reprodukce
- Chronický zánět ledvin
- Vysoký věk matky > 35 let

Vzácné rizikové faktory:

- Historie PE v rodině
- Plod s trizomií 13

1.8 Preeklampsie a obezita

Obezita je definována jako zdravotní stav, kdy se u jedince nahromadí nadbytečný tělesný tuk v takové míře, že může mít negativní vliv na jeho zdraví. Obezita je spojena se systémovými zánětlivými reakcemi, inzulinovou rezistencí a oxidačním stresem. Hlavním kritériem používaným pro určení obezity u jedince je index tělesné hodnoty (BMI), ten se počítá jako kg/výška v m². Podle směrnic NIH (Národní instituce zdraví) je nadváha s hodnotou BMI mezi 25 a 29,9, obezita, pokud je BMI mezi 30 a 39,9, vyšší hodnoty jsou brány jako morbidní obezita [14, 15].

V dnešní době je známo, že zvýšení BMI u žen s nadváhou a obezitou představuje hlavní rizikový faktor PE. Studie provedena v roce 2014 ukázala, že obezita zvyšuje riziko PE ve srovnání s ženami, které měly optimální váhu. Výsledky byly získané přibližně od 2700 žen a ukázaly negativní nezávislý vliv obezity a gestačního diabetes mellitus (GDM) na PE ve srovnání s případy, kdy byl přítomen pouze jeden z těchto dvou stavů. S PE souvisí také konzumace potravin obsahující velké množství cukru, na toto konkrétní téma je v současné době stále omezený počet studií [14, 15].

1.9 Preeklampsie a diabetes mellitus

Gestační diabetes mellitus je společně s preeklampsií jednou z častých komplikací během těhotenství. Tato dvě onemocnění mají podobné rizikové faktory a patofyziologické změny, přičemž GDM může být jedním z rizikových faktorů PE. Bylo prokázáno, že výskyt PE je vyšší u pacientek s GDM než u pacientek bez něj [16].

1.10 Preeklampsie a imunitní systém

Bylo navrženo několik hypotéz, které vysvětlují abnormální invazi trofoblastu a nadměrnou aktivaci placentárního zánětu vyskytujícího se u časného těhotenství s PE. Některé z nich potvrzují zhoršení imunitní odpovědi systému matky. V normálním těhotenství jsou procesy invaze trofoblastu a remodelace spirální arterie vysoce závislé na imunitním systému matky, což umožňuje významné změny tkání. Během invaze trofoblastu obsahuje decidua vysoký počet imunitních buněk nezbytných pro migraci trofoblastu. Tyto buňky infiltrují deciduu a shromáždí se kolem trofoblastu, což jim umožní dosáhnout endometria a spirálních arterií. Příliš aktivovaný imunitní systém může však hrát významnou negativní roli při vývoji placenty a progresi PE [17].

1.10.1 Vrozená imunita

Vrozená imunita složená z komplementu, makrofágů, neutrofilů a NK buněk (**Obrázek 1**) chrání matku i plod před infekcí a přispívá k tvoření rozhraní mezi matkou a plodem. Buňky vrozené imunity odstraňují apoptické buňky v děloze v kombinaci s přirozenými protilátkami z buněk vrozené imunity podobných B1 [18].

1.10.2 Získaná imunita

Získaná imunitní odpověď je řízená hlavně T a B lymfocyty, které se vyznačují vytvářením imunitní paměti, která posiluje imunitní odpověď při dalších setkání se stejnými patogeny. Zajímavé je, že PE je častější u prvního těhotenství a při použití bariérové antikoncepce, která zabraňuje expozici spermiím, to je spojeno s vyšším rizikem vzniku PE. Lze tedy z těchto pozorování říct, že semenná tekutina může vyvolat adaptivní imunitní toleranci vůči otcovským antigenům, a tím snížit riziko vzniku PE. V závislosti na tom může mít porucha tolerance vůči otcovským antigenům za následek nepřiměřenou aktivaci imunitního systému, která vede k zánětu a podporuje PE [18].

1.10.3 Změny imunitního systému během preeklampsie

Ve fyziologickém těhotenství pomáhají deciduální makrofágy nacházející se v blízkosti spirálních děložních arterií připravit tyto na remodelaci prostřednictvím sekrece angiogenních molekul. Makrofágy také fagocytují apoptické buňky během remodelace tkáně, čímž zabraňují uvolňování auto-antigenů nebo otcovských aloantigenů, které by mohly vyvolat mateřskou imunologickou odpověď. Existují dva typy makrofágů, M1 (klasicky aktivované) a M2 (alternativně aktivované). M1 se podílejí na fagocytóze a jsou mikrobicidní a protizánětlivé. M2 jsou imunomodulační a zodpovídají za navození

mateřské tolerance, řešení zánětů a podílejí se na remodelaci tkání a buněčné proliferaci. V normálním fyziologickém těhotenství proto makrofágy upřednostňují M2, zatímco u PE je tato rovnováha posunuta směrem k fenotypu M1. Buňky M1 vylučují sFlt-1, anti-angiogenní molekulu, která je spojena s poruchou angiogeneze u PE. V důsledku toho přechod fenotypu z M2 na M1 svědčí o prozánětlivé reakci pozorované u PE [19].

2 PREVENCE PREEKLAMPSIE

2.1 Modely prevence

Pro přesnou a efektivní aplikaci preventivních metod by bylo zapotřebí vytvořit přesný model předpovědi a načasování. Podle dvoustupňové teorie probíhá její patofyziologie během prvního trimestru, zde dochází k neadekvátní invazi trofoblastu, a to dále vede ke špatné placentaci to je následováno uteroplacentární insuficiencí. Tato fáze je ideální okno pro preventivní screeningové vyšetření. Byl sepsán článek, kde byla prevence PE klasifikována jako primární, sekundární a terciální. Primární prevence se zaměřovala na vyhýbání se těhotenství u rizikových skupin obyvatelstva, což se neseťkalo s moc velkým úspěchem. Sekundární prevence zahrnovala přerušení patogenních procesů před jeho rozvojem, a to bylo také i cílem zkoumání. Terciální prevence se nezaměřovala na prevenci samotné PE, ale na prevenci jejích komplikací [14].

2.2 Nízká dávka aspirinu

Aspirin je nesteroidní protizánětlivý lék, který působí neselektivně a jeho použití je bezpečné i během těhotenství. Použití aspirinu pro PE bylo poprvé popsáno v roce 1979 a jeho použití jako léku pro prevenci je v současné době doporučeno jako u jediného léčiva [3, 20].

U žen, které patřily do rizikové skupiny ohrožené PE se osvědčilo podávání nízkých dávek aspirinu už od začátku těhotenství. Aspirin díky svému účinku na inaktivaci krevních destiček je uplatňován mimo jiné i jako antitrombotikum. Tato prevence se ukázala jako nákladově efektivní a bezpečná, pokud tedy žena vykazuje vysoké riziko nemoci je tato prevence nasazena co nejdříve [14].

Studie provedena v roce 2014 dospěla závěru, že existují dostatečné důkazy snížení rizika PE při denních dávkách aspirinu v rozmezí 60 mg až 150 mg a uvedla snížení rizika až

o 24 %. Ve Spojených státech je aspirin dostupný ve formě preparátu s 81 mg, jedná se tedy o nejčastější doporučovanou a používanou dávku v klinické praxi [20].

2.3 Současná invence pro prevenci preeklampsie

2.3.1 Metformin

Metformin se používá především jako antidiabetikum a svými účinky inhibuje jaterní glukoneogenezi, a to jak přímo, tak podporou suprese zprostředkované inzulinem, a také snížením gastrointestinální absorpce glukózy a jejím zvýšení periferními tkáněmi a předpokládá se, že by měl být bezpečný pro používání během těhotenství [3, 20, 21].

Je předpoklad, že metformin může zabránit PE zlepšením kardiovaskulárních funkcí, citlivosti na inzulin a omezením přírůstkem hmotnosti matky během těhotenství. Mimo to bylo také zjištěno, že metformin má snížení závislé na dávce pro sFlt-1 a (sEng) a působí proti inhibici vaskulogeneze zprostředkované sFlt-1. Tato skutečnost dělá z metforminu potencionálního kandidáta pro jeho použití jako léku k prevenci PE [3, 20, 21].

2.3.2 Esomeprazol

Inhibitor protonové pumpy, který se nejčastěji využívá k léčbě gastroezofageální refluxní choroby a vředové choroby. Zatím nebylo při jeho použití zjištěno žádné nebezpečí spojeno s potratem nebo předčasným porodem [3, 20].

Studie ukázaly, že tento lék může mimo jiné také inhibovat produkci sFlt-1 a sEng, má vasodilatační účinek a snižuje endoteliální dysfunkci, tím působí proti mechanismu přispívající k fenotypu PE. K vyhodnocení účinnosti a bezpečnosti vyšších dávek esomeprazolu při léčbě PE je třeba dalších studií [3, 20].

3 LÉČBA PREEKLAMPSIE

V současné době je jedinou definitivní léčbou porod, nicméně je tato možnost obvykle spojena s předčasným porodem, a tím je i zvýšené riziko neonatálních morbidit. Pokud ale nedojde na porod, tak se léčba většinou zaměřuje na řešení nejzávažnějších příznaků, hypertenze [11, 20].

Za hlavní indikaci k léčbě hypertenze v průběhu těhotenství se považuje prevence komplikace ze strany matky s možností pokračování v graviditě. Pro snížení krevního tlaku jsou podávána antihypertenziva, která lze rozdělit do tří kategorií. Sympatoplegika, která ovlivňují krevní tlak snížením periferní cévní rezistence a inhibicí srdečního výdeje. Přímé vazodilatátory, jejichž účinek je založen na relaxaci hladké svaloviny cév. Diuretika, která především regulují množství sodíku v organismu, a tím snižují objem krev. Před 34.týdnem těhotenství je také možno podávat kortikosteroidy pro urychlení zrání plic plodu, pokud je třeba předčasné ukončení těhotenství [11].

3.1 Potencionální léčba preeklampsie pomocí extracelulárních vezikul

Extracelulární vezikuly jsou uvolňovány z různých živých buněk. Lze je rozdělit do tří skupin: exozomy, mikrovezikuly a apoptická tělíska. Exozomy vznikají invaginací plazmatické membrány, tvoří multivezikulární tělíska, spojují se s plazmatickou membránou a uvolňují se do extracelulárního prostoru. Mikrovezikuly se uvolňují z plazmatické membrány v procesu pučení, zatímco apoptická tělíska vznikají v buňkách v procesu apoptózy [22].

Extracelulární vezikuly jsou schopny transportovat bioaktivní složky a překonávat fyziologické bariéry, a proto jsou i stále více zkoumány pro terapeutické účinky. Řada studií uvádí, že hojné mikroRNA (miRNA) v extracelulárních vezikulech mohou podporovat proliferaci a invazi buněk trofoblastu, což naznačuje, že mají potenciál pro prevenci nebo léčbu PE [22].

Různé placentární zánětlivé mediátory a angiogenní faktory mohou vyvolat systémové poškození cévního endotelu u matky, což je důležitým patofyziologickým mechanismem PE. *In vivo* mohou extracelulární vezikuly získané z makrofágů významně snížit expresi zánětlivých faktorů TNF- α a IL-6 a inhibovat zánětlivou odpověď endoteliálních buněk. Zlepšením cévního endotelového zánětu, rozšířením cév, podporou sekrece angiogenních faktorů nebo antagonizují anti-angiogenních faktorů mohou tyto mediátory a faktory pomoci zabránit vzniku PE a zlepšit její příznaky [22].

4 EKLAMPSIE

Eklampsie je definována jako záchvat tonických a klonických křečí, které navazují na těžkou nebo superponovou PE (stav, kdy se již u existující chronické hypertenze rozvinou příznaky PE během těhotenství) a která nemají příčinu v jiné mozkové patologii [11]. Eklamptické záchvaty se mohou vyskytovat před porodem, během i po porodu. Jedná se o nejzávažnější formu PE a hypertenzních poruch v těhotenství [11, 23].

4.1 Patogeneze

Existují dva patofyziologické mechanismy eklampsie, které se liší ve spouštěcím mechanismu. Na rozdíl od patogeneze PE, která je spojená s abnormální placentací, kdy v normálním těhotenství fetální cytotrofoblasty migrují do dělohy matky a způsobují přestavbu endometriálního cévního řečiště pro krevní zásobení placenty. Patogeneze eklampsie má v první teorii jako činitel vyvolávající postižení CNS generalizovaný vazospasmus, který vede k fokální hypoxii, ischemii a možnému ložiskovému krvácení. Druhá teorie předpokládá, že postižení CNS je způsobeno zvýšením krevního tlaku, to dále vede k porušení cévní autoregulace a následné dilataci cév v mozku a poškození endotelu [11, 23].

4.2 Příznaky

Mezi příznaky eklampsie patří záchvaty, extrémní rozrušení a bezvědomí. U většiny žen se před záchvaty objevují příznaky PE jako: nevolnost a zvracení, bolest břicha, nepříjemné pocity v nadbříšku, bolesti hlavy, otoky rukou a obličeje a potíže se zrakem. Další řada příznaků je krevní tlak vyšší než 160/110, jaterní transaminázy nejméně dvakrát vyšší než průměr, plicní edém, nově vzniklá bolest hlavy a zrakové příznaky. Těžká PE s neočekávaným nástupem bolesti hlavy nebo zrakových příznaků se nazývá jako hrozící eklampsie [24].

4.3 Léčba

Eklamptické záchvaty vyžadují okamžitou léčbu, aby se zabránilo úmrtí matky i plodu. Pacientky s aktivním záchvatem by měly mít zajištěny dýchací cesty, aby se zabránilo aspiraci. Žena by měla být uložena na bok a mělo by být použito odsávání, které pomůže

s vylučováním sekretu z dutiny ústní. Síran hořečnatý se podává pro prevenci záchvatů u těžké PE i pro prevenci recidivy záchvatů u eklampsie [23, 24].

Zavádějící dávka 4-6 g by měla být podána intravenózně během 15-20 minut, následně se podává udržovací dávka 2 g za hodinu. Tato léčba by měla pokračovat nejméně 24 hodin po posledním záchvatu. Kontrola krevního tlaku je zásadní i po porodu, protože riziko eklampsie je nejvyšší během 48 hodin po porodu. Léčba by měla být zahájena také tehdy, pokud je krevní tlak vyšší než 160/110 po jedné hodině. Podání síranu hořečnatého by mělo pokračovat po dobu 12-24 hodin po porodu [23, 24].

5 HELLP SYNDROM

HELLP syndrom (Hemolysis, Elevated Liver enzymes and Low platelets) je také známý jako syndrom hemolýzy, zvýšených jaterních enzymů a nízké hladiny trombocytů, představující závažnou těhotenskou komplikaci typicky spojenou s hypertenzí. Vyskytuje se u 0,2-0,8 % těhotenství a v 70-80 % případů se vyskytuje současně s PE. Typickým laboratorním nálezem je trias: hemolýza, elevace jaterních testů a trombocytopenie. Tyto příznaky mohou být vyjádřeny v různé míře [11, 25].

5.1 Patogeneze

V patogenezi HELLP syndromu hraje roli zánětlivá reakce v ose placenta-játra. Jaterní funkce se u pacientek s HELLP syndromem zlepši do 6 týdnů po porodu, což obhájuje názor, že placenta je primárním „sítem“ podílejícím se na poruše funkce jater. Placentární faktory a vazoaktivní látky vyvolávají zvýšený zánětlivý stav a poškození endotelu, což vede k syndromu sinusoidální obstrukce. Předpokládá se, že za poškození endotelu v játrech je zodpovědná obstrukce Disseho prostoru (oblast mezi jaterními sinusoidálními endotelovými buňkami a hepatocyty) erytrocyty. To vede ke zvýšené tvorbě mikrotrombů, ischemii hepatocytů, a nakonec k selhání jater [25].

5.2 Léčba

Vzhledem ke skutečnosti závažnosti nemoci je jedinou kauzální léčbou ukončení těhotenství. Symptomatická léčba zahrnuje profylaktické podávání síranu hořečnatého. Těžká hypertenze by měla být léčena antihypertenzivy. U těhotenství delších nebo rovných 34 týdnům by měl být porod proveden po stabilizaci stavu matky. U těhotenství

kratších 34 týdnů, kde stav matky a plodu je klidný, by se měl zvážit porod po podání steroidů pro dozrání plic plodu [11, 24].

6 BIOMARKERY

Biomarkery jsou všeobecně definovány jako látky, které ukazují biochemické změny. Tyto změny lze následně objektivně detekovat a kvantifikovat v lidských tkáních, buňkách nebo tekutinách a vyhodnotit je jako ukazatele normálních a patologických biologických procesů nebo jako farmakologické odpovědi na léky (**Obrázek 3**) [26, 27].

Prediktivní biomarkery jsou důležité pro obohacování techniky při navrhování a provádění klinických studií. Zvýšené hladiny prediktivního biomarkeru umožňuje získat jasnější signál, že léčba má skutečný účinek a mají tedy za úkol předpovídat pravděpodobnost účinku léčby. [26, 27].

Jako další druhy biomarkerů jsou: diagnostické biomarkery, které detekují či potvrzují přítomnost určitého onemocnění nebo stavu, který je předmětem zájmu. Monitorovací markery, ty lze měřit sériově, aby bylo možné vyhodnotit stav nemoci nebo zjistit účinky léčiva. Za farmakodynamické biomarkery jsou označovány biomarkery, kterých se hladina změní v reakci na expozici léčivému přípravku nebo látce ze životního prostředí. Prognostické biomarkery se používají k určení pravděpodobnosti klinické události, recidivy onemocnění nebo progresu onemocnění [26].

6.1 Role angiogenních a anti-angiogenních markerů

V dnešní době není bohužel stále zcela jistá etiopatogeneze PE, ale jako nejpravděpodobnější teorie se jeví teorie poruchy rovnováhy angiogenních faktorů. Je tomu tak proto, že PE vzniká na úrovni placentární mikrocirkulace a tato patologie je charakterizována anti-angiogenním stavem. Na jedné straně jsou faktory, které podporují angiogenezi neboli pro-angiogenní a na druhé jsou faktory anti-angiogenní [28, 29].

Během PE dochází ke snížení plazmatických hladin volných pro-angiogenních faktorů. K tomu dochází zvýšeným množstvím anti-angiogenních molekul, které mají vysokou afinitu právě k pro-angiogenním molekulám. Ke klinickému obrazu PE a endoteliální dysfunkci dochází díky snižování plazmatických koncentrací solubilních forem pro-angiogenních molekul [28].

Za normálních podmínek blokují anti-angiogenní faktory vazbu VEGF a TGF- β 1 na jejich buněčné receptory tím, že se na ně vážou v mateřském oběhu a zabraňují interakci s jejich endogenními buněčnými receptory. Díky tomu vytvářejí rovnováhu mezi angiogenní a anti-angiogenní funkcí [30].

U PE bylo zjištěno časné zvýšení anti-angiogenních faktorů, a to zejména sFlt-1 a sEgn. Vysoké hladiny sFlt-1 blokují vazbu pro-angiogenních faktorů VEGF a PlGF na jejich buněčné receptory, což je následováno endoteliální dysfunkcí [28, 29, 30].

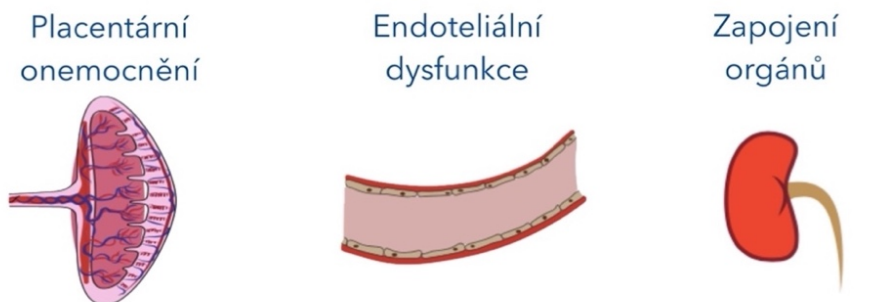
Pro-angiogenní faktory

- VEGF
- PlGF
- TGF- β

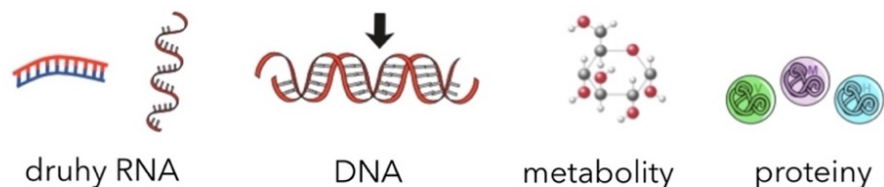
Anti-angiogenní faktory

- sFlt-1
- sEgn

Potencionální zdroje biomarkerů PE



Biomarkery měřitelné v oběhu nebo moči



Obrázek 3: Typy biomarkerů měřené v krvi nebo moči, upraveno dle [31]

Přehled s vypsány mi potencionálními zdroji biomarkerů PE a typy biomarkerů, které lze měřit. PE se spojuje s placentární a endoteliální dysfunkcí, která vede k poškození orgánů. Placenta i endoteliální buňky představují potencionální zdroj možných biomarkerů, které mohou být ve formě RNA, DNA, metabolitů a proteinů.

7 BIOMARKERY PREEKLAMPSIE

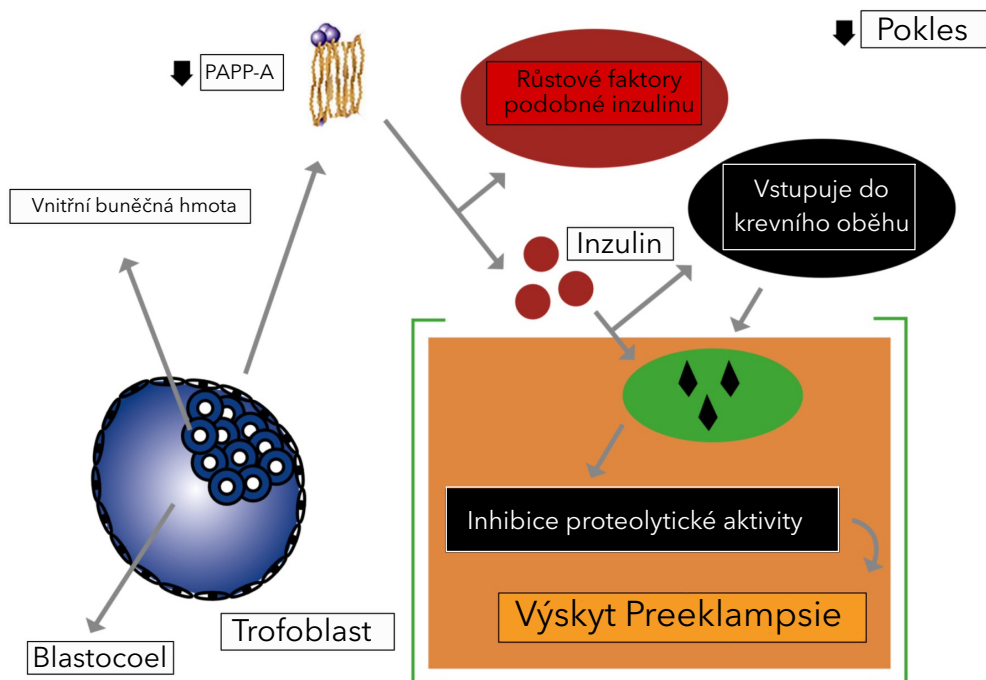
7.1 Lidský těhotenský paraprotein A

Lidský těhotenský paraprotein A (PAPP-A) je glykoprotein, který je syntetizován placentárními trofoblasty a vylučován do mateřského krevního oběhu. Interaguje s růstovými faktory podobnými inzulinu a má význam pro růst placenty a plodu. Kromě toho se také podílí na rychlých a kontrolovaných růstových a vývojových procesech, jako je remodelace kostí a vrcholný přírůstek kostní hmoty, folikulogeneze, hojení ran a ateroskleróza [1].

PAPP-A se může vylučovat z placenty do krve, což se často využívá pro screening aneuploidií během časného těhotenství a při jeho nízké hladině to znamená zvýšené riziko trizomie. Zároveň může být nízká sérová hladina PAPP-A v časném těhotenství spojena s PE (**Obrázek 4**). V průběhu druhého trimestru je hladina nízká, zatímco sérový PAPP-A u pacientek s PE v pozdním těhotenství může být vysoký, ale nelze ho použít jako prediktor závažnosti PE [32].

Koncentrace PAPP-A je nižší v prvním trimestru a postupně se zvyšuje během celého období těhotenství, přičemž koncentrace se zvyšuje 100krát během prvního trimestru a 10 000krát během třetího trimestru ve srovnání s hladinami pozorovanými u netěhotných žen. Po porodu koncentrace PAPP-A rychle klesá na svojí původní hodnotu [1].

V současné době se uznává, že stanovení koncentrace PAPP-A spolu s dalšími biochemickými biomarkery je účinnější pro screening PE. Kombinace screeningových metod, jako je Dopplerovský ultrazvuk, PAPP-A, inhibin A a PIGF, prokázala velmi vysokou míru detekce časně PE. Obecně je u PE senzitivita pouze 40 % s 10 % mírou falešné pozitivita[1, 32].



Obrázek 4: Nízké hladiny PAPP-A při PE, upraveno dle [33]

Trofoblast produkuje PAPP-A o kterém se předpokládá, že se podílí na procesu implantace. Dostává se do mateřského oběhu váže se na vazebné bílkoviny eozinofilů a tím inhibuje jejich proteolytickou aktivitu. PAPP-A reguluje inzulinu podobný růstový faktor, který je nezbytné pro normální vývoj plodu a při jeho snížení vzniká větší riziko pro rozvoj PE, PAPP-A – lidský těhotenský paraprotein A

7.2 Vaskulární endotelový růstový faktor

Vaskulární endotelový růstový faktor (VEGF) je mitogenní faktor pro cévní endoteliální buňky a může účinně podporovat proliferaci endoteliálních buněk a angiogenezi. Tento faktor je druh proteinu, který je tvořen makrofágy, T-lymfocyty a cytotrofoblasty. Má několik podtypů – VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F a PlGF, které se mohou specificky vázat na receptor VEGF, včetně VEGFR-1, VEGFR-2 a VEGFR-3. VEGF může podporovat angiogenezi, zároveň může zvyšovat cévní propustnost a vazodilataci prostřednictvím oxidu dusnatého, a tím snižovat cévní tonus a krevní tlak [1, 32].

VEGF hraje klíčovou roli při udržování funkce endotelových buněk, konkrétně fenestrovaného endotelu (výskyt v mozku, játrech a glomerulech – hlavní orgány postižené PE). PlGF i VEGF jsou spojeny anti-angiogenním faktorem sFlt-1, který je vylučován endogenně. sFlt-1 se selektivně váže na PlGF a VEGF, čímž inhibuje vazbu

PlGF a VEGF s jeho membránovým receptorem. Tím ovlivňuje hladiny volných faktorů PlGF a VEGF cirkulujících v mateřském krevním oběhu [1, 32, 34].

7.3 Placentární protein 13

Placentární protein 13 (PP-13) také známý jako Galektin 13. Galektin je typ proteinu vázající sacharidy, jehož skupina souvisí se zánětem, imunitní odpovědí a apoptózou. Má vysokou afinitu k cukerným zbytkům, jako jsou cukerné zbytky antigenů AB a B krevní skupiny v AB0 systému [32].

Patří mezi jeden z 56 dosud popsaných identifikovatelných placentárních proteinů. Strukturní a funkční vlastnosti PP-13 jsou zásadní pro vývoj placenty a regulační dráhy. Podílí se na částečné placentaci, hraje také významnou roli při udržování těhotenství v různých fázích gravidity (konkrétně při invazi trofoblastu, imunitní toleranci matky a plodu, implantaci embrya a cévní remodelaci) [1].

Předpokládá se, že PP-13 se podílí na remodelaci společného fetomaternálního krevního prostoru prostřednictvím vazby na proteiny mezi placentou a endometriem. U normálních těhotenství se sérový PP-13 postupně zvyšuje na dvojnásobek až trojnásobek svých hodnot před porodem. Několik studií prokázalo, že nízké koncentrace PP-13 již v 5-7. týdnu předpovídají vznik PE [1,9, 32].

7.4 Růstový diferenciační faktor 15

Růstový diferenciační faktor 15 (GDF-15) je člen nadskupiny TGF- β , je také známý jako cytokin-1 inhibující makrofágy (MIC 1). Je produkován v placentě a vylučován v reakci na stres a také je zvýšeně produkován při buněčném poškození nebo zánětu. Bylo zjištěno, že GDF-15 má kardioprotektivní funkci [1].

Výzkum prokázal, že koncentrace GDF-15 se zvyšuje s gestačním stářím plodu a je dysregulován u PE. Během 30.-34. týdne těhotenství byly pozorovány zvýšené koncentrace tohoto faktoru u žen, které byly následně diagnostikovány s PE oproti ženám bez rozvinutí této nemoci, nicméně rozdíl byl relativně malý [1, 35].

GDF-15 nelze používat jako biomarker PE v prvním trimestru těhotenství, protože nebyly pozorovány žádné výrazné rozdíly mezi normotenzním těhotenství a těhotenství s PE. Při použití v kombinaci se sFlt-1 a PlGF může být GDF-15 slibným biomarkerem pro predikci PE, sám o sobě nám neukazuje přímo na budoucí rozvoj nemoci. Vysoce zvýšené hodnoty jsou většinou spojeny s patologickými stavy včetně zánětů, ischemie myokardu a rakoviny. Tento faktor byl široce zkoumán jako biomarker pro prognózy onemocnění [27, 35].

7.5 Cystatin C

Cystatin C (CC) je nízkomolekulární protein, který je vylučovaný jadernými buňkami, volně filtrovaný glomeruly a kompletně reabsorbovaný proximálními tubuly. Je považován za citlivý endogenní biomarker, který je přirozeným inhibítoem cysteinových katepsinů. Odráží změny v rychlosti glomerulární filtrace a míru glomerulární endoteliózy. Cysteinové katepsiny mohou podporovat apoptózu trofoblastu a degradovat extracelulární matrix, to může podpořit tvorbu aterosklerotických plátů [34, 36].

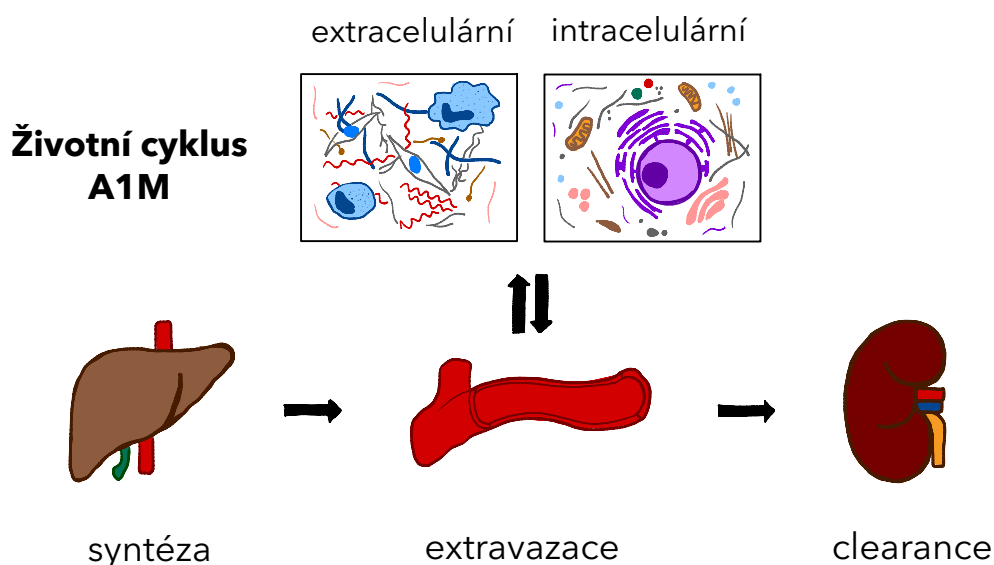
Studie zjistily, že sérová hladina cystatinu C se výrazně zvýšila v prvním trimestru u žen, u kterých se později rozvinula PE. Tato hladina rostla a zhoršovala se spolu s PE, což lineárně souvisí se stupněm hyperplazie glomerulárního endotelu. Cystatin C spolu s (neutrofilní, s galatinázou asociovaný lipokalin) NGAL, který se v krvi hromadí během prvních třech hodin po poškození ledvin a zůstává zvýšený i několik dní může tedy účinně předpovědět riziko PE v prvním trimestru těhotenství. U PE byly studovány časné biomarkery poškození ledvin, které umožňují rychlou diagnostiku a včasnou léčbu pro zachování jejich funkce [34, 36].

7.6 α 1-mikrotubulin

α 1-mikrotubulin (A1M) je protein, který je zodpovědný za ochranu před škodlivými oxidanty a reparaci molekul. PE je spojována s vyššími koncentracemi fetálního hemoglobinu (HbF) v krevní plazmě matky během druhého a třetího trimestru těhotenství, a to jak v plodu, tak i v placentě v termínu porodu. Předpokládalo se, že oxidační stres vyvolaný HbF-železem se kriticky podílí na rozvoji PE. Oxidační stres,

hemoglobin a volný hem jsou cílem pro ochranné aktivity A1M, a tak bylo navrženo, že by mohl být použit jako terapeutický prostředek [34, 37].

Hlavním místem pro syntézu A1M jsou játra a lymfocyty (**Obrázek 5**). Jeho hladiny v séru pacientek s PE jsou zvýšené ve srovnání s hladinami zdravých žen. U žen s PE byly pozorovány zvýšené plazmatické hladiny a zvýšená exprese genu v játrech a placentě pacientů s PE, což naznačovalo, že se tento protein podílel na přirozené ochraně. Kombinace A1M, HbF a hemu prokázaly prediktivní senzitivitu 60 % a specifitu 95 % pro PE [34, 37].



Obrázek 5: Životní cyklus A1M upraveno dle [37]

Primární syntéza probíhá v játrech, dále se vylučuje do krve a může být absorbován intracelulárně. Po vykonání své funkce je transportován do ledvin a filtrován v glomerulech. Nakonec je reabsorbován buňkami v proximálním tubulu nebo je odbouráván spolu s případnými navázanými hemovými skupinami či volnými radikály. A1M – α 1-mikrotubulin

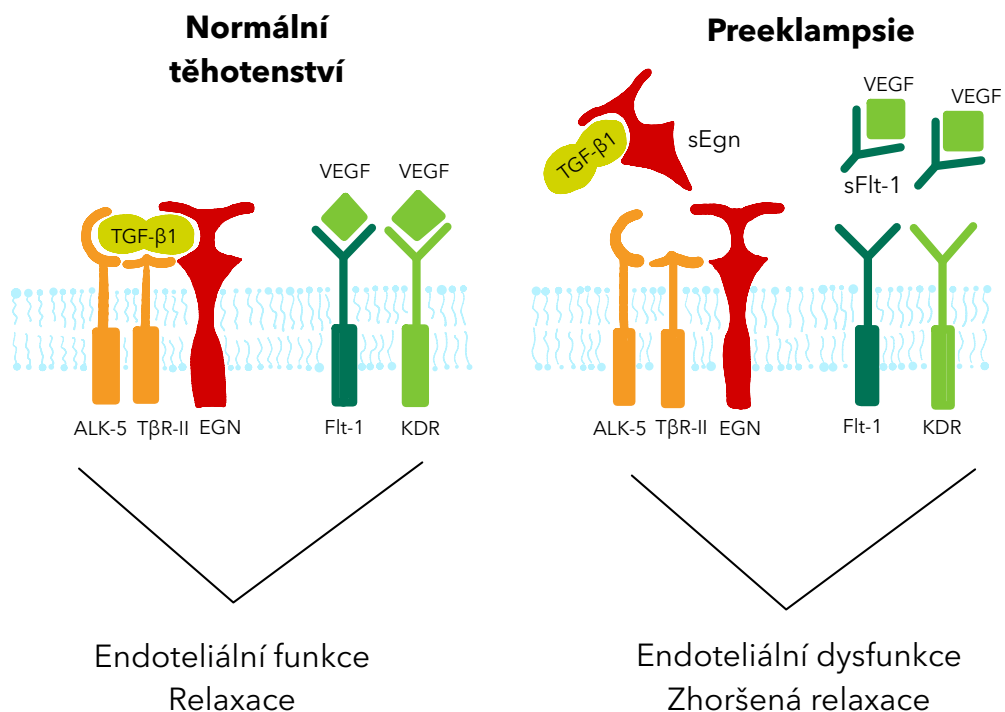
7.7 Neutrofilní, s galatinázou asociovaný lipokalin

Neutrofilní, s galatinázou asociovaný lipokalin (NGAL), také známý jako lipokalin-2 nebo siderokalin. Patří do nadskupiny lidokainů a je produkován v reakci na stres. NGAL se podílí na sekvestraci železa a je spojen se zánětem, neoplastickou transformací, akutním zánětem ledvin a je také jedním z nejúčinnějších biomarkeru pro jejich poškození. Hladiny byly však také zvýšeny v séru pacientek s PE, kdy navíc hladiny

pozitivně korelovaly s kreatininem, kyselinou močovou a 24hodinovou proteinurií, což naznačuje souvislost poškození ledvin zapříčiněnou PE. NGAL v kombinaci s dalšími markery lze použít pro predikci PE [24, 34].

7.8 Solubilní endoglin

Solubilní endoglin (sEgn) je anti-angiogenní faktor produkovaný buňkami trofoblastu a endotelovými buňkami, který působí jako koreceptor pro TGF- β 1 a TGF- β 3. TGF- β stimuluje expresi eNOS. sEng moduluje signalizaci TGF- β tím, že působí jako endogenní inhibitor TGF- β 1 (**Obrázek 6**). Zvýšená koncentrace sEng inhibuje signální dráhu TGF- β , aktivaci eNOS a vazodilataci, a tím přerušuje významné homeostatické mechanismy nezbytné pro udržení zdraví cév. Během normálního těhotenství jeho hladina postupně klesá koncem prvního a počátkem druhého trimestru, u žen s PE však k tomuto poklesu nedochází. Studie, která proběhla na 1600 ženách dospěla k závěru, že se jedná o slibný marker v predikci PE, ačkoliv nejlepší diagnostické výkony byly dosaženy v kombinaci s dalšími biomarkery nebo v kombinaci s poměrem sFlt-1/PlGF [1, 9, 11, 32].



Obrázek 6: Mechanismus účinku angiogenních a anti-angiogenních faktorů upraveno dle [7]

sFlt-1 a sEng způsobují endoteliální dysfunkci tím, že antagonizují signalizaci VEGF a TGF-β1. VEGF a TGF-β1 jsou nezbytné pro udržení zdraví endotelu hlavně v ledvinách a placentě. Při PE inhibuje nadměrná placentární sekrece sFlt-1 a sEng signalizaci VEGF a TGF-β1 v cévách, a to má za následek dysfunkci endotelových buněk a uvolňování pro-koagulačních protein. sFlt-1- solubilní tyrozinkináza-1 podobná FMS, sEng – solubilní endoglin, VEGF – vaskulární endotelový růstový faktor, TGF-β1 – transformující růstový faktor

7.9 A dezintegrin a metaloproteináza 12

A dezintegrin a metaloproteináza 12 (A disintegrin and metalloproteinase 12, ADAM-12) je glykoprotein pocházející z placenty, má proteolytickou a buněčnou adhezivní aktivitu. ADAM-12 řídí migraci a invazi trofoblastů během vývoje placenty a je tedy klíčovou složkou při řízení růstu a vývoje samotné placenty a plodu. Vyskytuje se ve dvou formách, a to jako ADAM-12-L (dlouhý) a ADAM-12-S (krátký). ADAM-12-S se vyskytuje v mateřském séru od prvního trimestru těhotenství a zvyšuje se v celém dalším průběhu. ADAM-12 je podle studií nejvíce regulován transkripčním faktorem v placentárních tkáních žen s PE. K potvrzení toho, že je ADAM-12 účinný biomarker pro PE bude potřeba dalších studií, jelikož se výsledky přou, zda je opravdu účinný či nikoliv [1, 9].

7.10 Placentární růstový faktor

Placentární růstový faktor (PIGF) je vylučován převážně buňkami trofoblastu a cévními endotelovými buňkami. Koncentrace se během těhotenství výrazně zvyšuje, v prvním trimestru je koncentrace tohoto faktoru nízká a od 11.-12.týdne se zvyšuje a vrcholu dosahuje ve 30.týdnu těhotenství, poté opět klesá. PIGF patří do rodiny VEGF a je primárně exprimován v placentě. Malé koncentrace se však objevují i v několika dalších tkáních, jako je srdce, kosterní svaly, játra, plíce, kosti a štítná žláza [1, 11, 34, 38].

Hladina cirkulujícího PIGF je v séru žen s PE snižena spíše z důvodu navázání na zvýšené množství cirkulujícího sFlt-1 než jeho sníženou produkcí. Studie prokázaly, že koncentrace PIGF lze využít k časné diagnostice PE s 90 % senzitivitou a fixní falešnou pozitivitou 5 %. Koncentrace PIGF a sFlt-1 mohou diagnostikovat PE na konci prvního trimestru těhotenství. Kromě toho se poměr sFlt-1 a PIGF jeví jako dobrý prediktivní faktor PE, ženy s touto nemocí vykazují významně zvýšené hodnoty tohoto poměru oproti ženám zdravým [1, 34].

7.11 β - lidský gonadotropin

β - lidský gonadotropin (β -hCG) je glykoproteinový hormon se dvěma nekovalentně spojenými podjednotkami α a β je syntetizován placentárním trofoblastem. Volná β podjednotka může být produkována přímo buňkami trofoblastu anebo se z hCG disociuje na volné podjednotky α a β , nebo se na ni nabalují makrofágy či neutrofilové. Jeho hlavní funkce je udržování cévního zásobení placenty během těhotenství. Koncentrace dosahuje maxima kolem 8.-10. týdnu těhotenství, poté klesá a v 18.-20. týdnu nastává fáze plató. Pokud je v časném těhotenství snížena koncentrace β -hCG může to značit zhoršenou invazi buněk trofoblastu. Studie prokazují rozporuplné výsledky β - hCG jako biomarkeru pro PE, všechny však naznačují nízkou senzitivitu [1, 9].

7.12 Inhibin A, Aktivin A

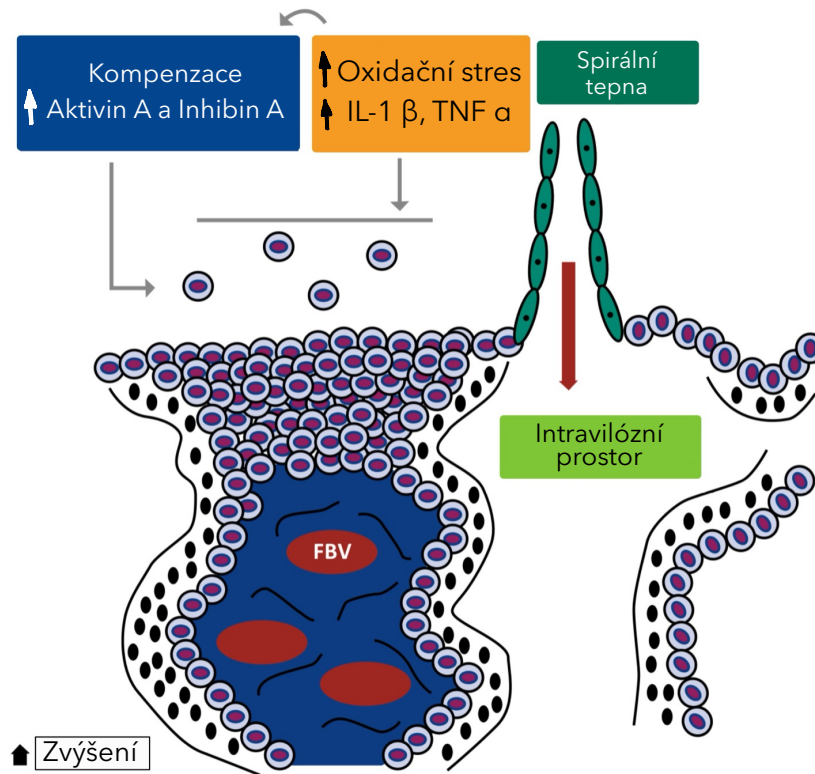
Tyto dvě látky patří mezi glykoproteiny, které jsou produkovány fetoplacentární jednotkou a předpokládá se, že jsou zapojeny do zpětnovazební smyčky regulující hladiny hCG po čas těhotenství [9, 11].

Během prvního trimestru je aktivin A exprimován syncytiotrofoblastem, cytotrofoblastem a deciduálními buňkami. Jeho hladiny při PE stoupají koncem druhého trimestru a ve třetím trimestru těhotenství. Hraje zásadní roli v patofyziologii PE tím, že podněcuje endoteliální oxidační stres, a to má za následek endoteliální dysfunkci [39].

Inhibin A je glykoproteinový hormon pocházející ze skupiny TGF- β , důležitý pro negativní zpětnou vazbu gonadotropinů. Je exprimován v placentě a podílí se na diferenciaci a proliferaci trofoblastu, implantaci embrya a decidualizaci endometria. Tím napomáhá při růstu plodu a udržování těhotenství. Koncentrace dosahuje svého prvního vrcholu v 8.-10. týdnu a ustálí se kolem 14.-30. týdnu, později se postupně zvyšuje během třetího trimestru a svojí nejvyšší hladiny dosahuje při porodu. Studie prokázaly, že zvýšená koncentrace inhibinu A během těhotenství je významně spojena s PE [1, 39].

Konkrétně ženy trpící PE mají ve třetím trimestru 10krát vyšší sérové koncentrace ve srovnání s kontrolami. Možným důvodem vysokých hladin u žen s PE může být abnormální invaze a proliferace trofoblastů v děložních cévách a reakci na opravu

ischemického poškození. To může dále vest k funkčním změnám na povrchu placenty s PE, což přispívá ke zvýšení koncentrace inhibinu A v séru (**Obrázek 7**). Tento faktor může být užitečný pro detekci PE, prediktivní senzitivita jako silného biomarkeru je však relativně nízká, a proto se doporučuje jeho využití v kombinaci s dalšími biomarkery pro dosažení nejlepších výsledků [1, 9, 11].



Obrázek 7: Aktivin A a Inhibin A při PE, upraveno dle [33]

Během implantace migrují trofoblasty z klků pod vlivem inhibinu A a aktivinu A a pronikají do cévního endotelu a svalových vrstev děložních spirálních arterií, kde zvětšují průměr cévy a vytváří oběh s vysokou kapacitou a nízkým odporem – remodelaci. U PE je tato trofoblastická invaze neúplná. Předpokládá se, že za to může oxidační stres a produkce cytokinů. IL-1 β - interleukin 1 β , TNF α - tumor nekrotizující faktor α , FBV – fetální céva

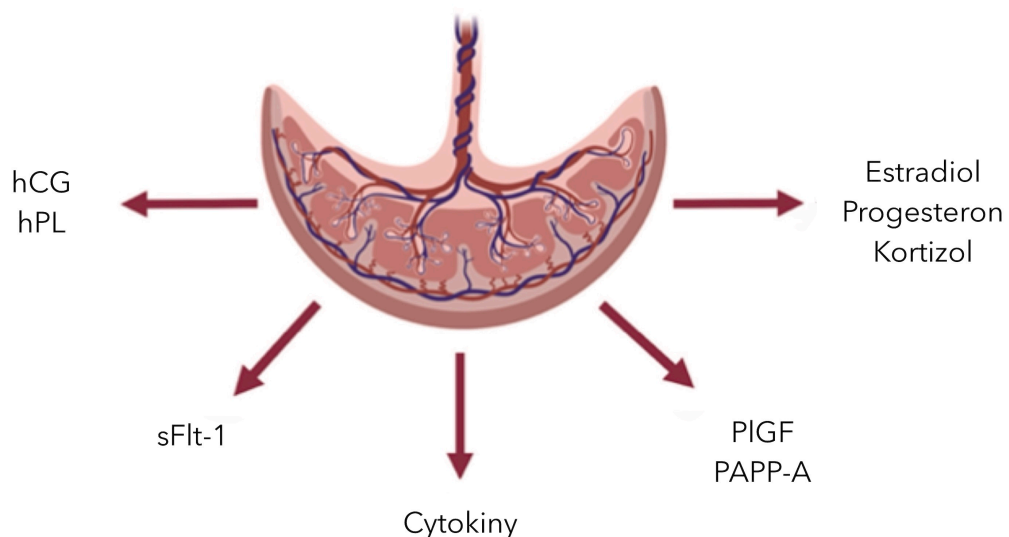
7.13 Solubilní tyrozinkináza-1 podobná FMS

Solubilní tyrozinkináza-1 podobný FMS (sFlt-1) je anti-angiogenní rozpustný protein, který se váže na pro-angiogenní proteiny – PlGF a VEGF a inhibuje je, čímž vyvolává endoteliální dysfunkci. Tento faktor má hlavní zdroj v placentě (**Obrázek 8**) a je klíčovým faktorem při vzniku PE. sFlt-1 je sestříhovanou variantou membránově

vázaného receptoru pro tyrozinkinázu podobnou FMS (Flt-1) receptorů, který je známý také jako VEGFR-1. Biologické působení VEGF a PlGF by bylo znemožněno zvýšenou hladinou sFlt-1, což by indukovalo PE [1].

Bylo zjištěno, že hodnoty koncentrace sFlt-1 byly zvýšeny ještě před rozvinutím hypertenze a proteinurie u nemocných žen, tato koncentrace může být zvýšena až na pětinašobek koncentrace cirkulující u normotenzních žen. Koncentrace byla zvýšena časnou PE už kolem 6. týdne, zatímco u pozdní až kolem 26. týdne těhotenství ve srovnání a pozorování se zdravými ženami [1, 11].

Bylo zjištěno, že placentární sFlt-1 je spojen s poškozením placentárních syncytiotrofoblastů (kontinuální specializovaná vrstva epitelálních buněk placenty), to znamená, že sFlt-1 může být zásadním faktorem v patogenezi PE. Studie ukázaly, že sFlt-1 se u pacientek s PE zvyšuje v placentě nebo krvi, zatímco PlGF klesá, a zvýšení sFlt-1 může souviset s poklesem VEGF a PlGF v krvi. Pro predikci PE vykazují sFlt-1 a PlGF vysokou citlivost od druhého trimestru těhotenství. U pacientek s mírnou formou PE, HELLP syndromu či pozdní formou intrauterinní růstové restrikce (IUGR) nebývá nalezen před 20. týdnem těhotenství [1, 11, 32].



Obrázek 8: Schématické znázornění endokrinní funkce placenty, upraveno dle [40]

Placenta produkuje hormony – hCG, hPL, estradiol, progesteron a kortizol a růstové faktory – sFlt-1, PlGF, PAPP-A a cytokiny. hCG – lidský choriogonadotropin, hPL – placentární laktogen, sFlt-1 – solubilní tyrozinkináza-1 podobná FMS, PlGF – placentární růstový faktor, PAPP-A – lidský těhotenský paraprotein A.

7.14 Endotelový oxid dusnatý

Endotelový oxid dusnatý (NO•) je plynná molekula odvozena z endotelu působící jako silný vazorelaxant, který se podílí na mnoha fyziologických a patofyziologických funkcích, jako je angiogeneze, neovaskularizace, regulace cév a regulace systémového krevního tlaku. NO• působí jako centrální mediátor a moduluje účinek různých angiogenních faktorů (VEGF, PlGF, TGF-β), které stimulují normální migraci a proliferaci endotelu. Zjistilo se, že exprese eNOS je regulována angiogenními faktory. Zvýšená koncentrace cirkulujících sEgn a sFlt-1, přítomna u žen s PE, může být protikladem vazodilatace závislé na NO• stimulované VEGF, TGF-β, a PlGF, což následně vede k rozvoji hypertenze pozorované u pacientek s PE [1, 41].

7.15 Asymetrický dymethylarginin

Asymetrický dymethylarginin (ADMA) během těhotenství úzce souvisí se syntézou NO• [21]. Při normálním těhotenství jsou hladiny ADMA ve srovnání s netěhotnými obecně snižené. Nejnižší koncentrace nastává během prvního trimestru, kdy je časný pokles krevního tlaku doprovázen i poklesem ADMA. Ve druhém a třetím trimestru se hladiny zvyšují. V pokročilém těhotenství fyziologicky zvýšené hladiny ADMA napomáhají k přípravě děložního svalstva k vyšší kontrakční aktivitě před porodem. Při PE jsou hladiny ADMA výrazně nižší [42].

ADMA může mít také u PE prediktivní hodnotu, protože její zvýšené hodnoty byly pozorovány již v prvním trimestru a byly významně zvýšeny i během druhého trimestru u těhotných, u nichž se PE rozvinula v pokročilejším gestačním věku. Další hypotézou je, že zvýšená koncentrace ADMA může přispívat k rozvoji PE v časném těhotenství, což vede k narušení placentace, a i dalším následkům [42].

7.16 Angiotensin II typ 1 receptor, autoprotiilátky

Angiotensin II typ 1 receptor, autoprotiilátky (AT1-AA) hraje v patofyziologii PE klíčovou roli, jedná se o specifický receptor angiotensinu II typu. Zvýšené hodnoty AT1-AA jsou spojeny s vysokou produkcí sFlt-1, sEgn, IL-6 a endotelinu, zvýšenou apoptózou trofoblastu a sníženou expresí VEGF. Jejich role v patogenezi není zcela jasná, ale jsou detekovány u pacientek diagnostikovaných s PE, to může souviset s hypoxií či

ischémií způsobenou nedostatečnou implantací placenty a zánětem v důsledku poškození cévního endotelu. AT1-AA mohou navíc zhoršovat oxidační stres a zvyšovat citlivost cév na angiotensin II. To vede k rozsáhlému poškození endotelu. Zvýšená hladina AT1-AA v séru tedy výrazně souvisí s výskytem PE, což naznačuje potenciál predikce [34, 45].

7.17 Faktor 1 indukovatelný hypoxií

Faktor 1 indukovatelný hypoxií (HIF-1) je hlavním regulátorem odpovědi na hypoxický stres a základem pro udržování kyslíkové homeostázy. Je složený ze dvou podjednotek a to HIF-1 α a HIF-1 β . HIF-1 α je citlivý na kyslík a za normoxických podmínek je rychle inaktivován a degradován, zatímco za hypoxických podmínek je degradace potlačena. Když se HIF-1 α naváže na HIF-1 β , vzniká aktivní HIF-1, který se přenáší do jádra a reguluje expresi různých genů, jako pro sFlt-1 a sEng. Nedávná studie naznačila, že zvýšená exprese HIF-1 α reguluje transkripční faktor FOXO3a, který následně zvyšuje trofoblastickou apoptózu, a tím se může tento mechanismus podílet na patogenezi PE. V séru pacientek s PE byla pozorována zvýšená regulace HIF-1 α a to zejména u pacientek s časnou PE. [34, 43].

7.18 MikroRNA

Jsou to malé endogenní molekuly s jedním vláknem, které obsahují 22 nukleotidů a patří mezi nekódující RNA. Primárně jsou vázány na 3'konec mRNA molekul a potlačují cílové mRNA prostřednictvím transkripce, degradace, blokády translace a potlačení genové exprese. To znamená, že mikroRNA (miRNA) kontrolují translaci cílových proteinových genů a mRNA na posttranskripční úrovni [45, 46]. Během těhotenství se vytvářejí specifické těhotenské mikro-RNA, které jsou exprimovány primárně trofoblastem a placentou a jsou zabaleny do exozomů – vytvářejí spojení mezi matkou a plodem/placentou [44]. Studie prokázaly rozdíl v expresi miRNA při PE. Diferenciální exprese miRNA u PE byla podle analýzy biologických informací také spojena s metabolickými změnami, transkripční regulací, imunitními funkcemi, kardiovaskulárním a reprodukčním vývojem, buněčným cyklem, buněčnou adhezí a signálními drahami jako jsou signální dráhy transformujícího růstového faktoru β . Funkce miRNA není v patofyziologii PE bohužel stále plně charakterizovaná [45, 46].

7.19 Fetální hemoglobin

Fetální hemoglobin (HbF) se syntetizuje u těhotných žen, u netěhotných se v periferní krvi vyskytuje ojediněle. Placentární bariéra je za patologických stavů jako je PE poškozena, to vede k vstupu fetálního hemoglobinu do periferní krve matky. Předpokládá se, že fetální hemoglobin poškozuje placentu, ledviny a další orgány, ačkoliv přesný mechanismus není ještě zcela známý. Během PE je v placentě zvýšená aktivita A1M. Fetální hemoglobin způsobuje poškození tkání, které A1M částečně zmírňuje. Některé studie zjistily, že hladina fetálního hemoglobinu v séru těhotných žen, u kterých se později vyvinula PE je výrazně zvýšená. Navíc poměr fetálního hemoglobinu ku celkovému hemoglobinu v kombinaci s A1M se jeví jako lepší prediktor PE než jen samotný fetální hemoglobin. [33, 34].

7.20 Hepatocytový růstový faktor

Hepatocytový růstový faktor (HGF) je heterodimerní molekula nazývaná také jako „hepatotropin“. HGF je multifunkční růstový faktor a je exprimován v široké škále buněk, včetně cytotrofoblastu [47]. HGF má schopnost stimulovat expresi indukovatelné syntázy oxidu dusného (iNOS), regulovat apoptózu lidských trofoblastových buněk prostřednictvím NO• a indukovat PE. Provedená studie ukázala, že ženy s PE měly významně vyšší koncentrace HGF v plazmě oproti normotenzním ženám. Účinnost HGF v predikci rizika PE v časném těhotenství je však třeba ještě potvrdit rozsáhlejšími studii na toto téma [34].

7.21 Homocystein

Homocystein (Hcy) je důležitým meziproduktem při metabolizaci metioninu na cystein a jeho hladina se během normálního těhotenství snižuje. Zvýšená hladina homocysteinu v plazmě může zvyšovat iNOS a snižovat aktivitu endoteliální syntázy oxidu dusnatého, což vede k apoptóze endoteliálních buněk, aktivuje trombocyty a zvyšuje adhezi leukocytů. Homocystein pozitivně souvisí se závažností PE ve třetím trimestru těhotenství. V patologii těhotenství byla porucha metabolismu homocysteinu u matky spojena s opakovanými těhotenskými ztrátami, hlubokou žilní trombózou, defekty neurální trubice plodu a různými stavy charakterizovanými placentární vaskulopatií, jako je PE, růstová restrikce plodu a abrupce [34, 42].

7.22 Neutrofilly

Neutrofilly (NEU) jsou v decidue přítomny již od prvního trimestru a jejich počet se zvyšuje během normálního těhotenství o 55 %. Jedná se o nejpočetnější část bílých krvinek v lidském těle, aktivované neutrofilly vytváří extracelulární vláknitou mřížku, která je složená především z chromatinu a granulovaných proteinů také nazývanou jako extracelulární past neutrofilů (NET). Faktory, které jsou odvozeny od placenty (např. IL- 8) indukují velké množství NET v placentě žen, které mají PE, to naznačuje, že by se NET mohly podílet na patogenezi. PE navíc podporuje transplacentární migraci neutrofilů a aktivaci endotelu, což spouští tvorbu NET. Poměr neutrofilů a lymfocytů je biomarker pro systémový zánět. Aktivace zánětlivých drah, která nastává při PE, se projeví tak, že se zvýší počet bílých krvinek, kde převažují neutrofilly, a to následně vede ke zvýšení poměru neutrofilů a lymfocytů. Neutrofilly mohou také uvolňovat řadu zánětlivých cytokinů, to vede k aktivaci zánětlivých buněk a řetězcem imunitní reakce dále pokračujícím oxidačním stresem až poškozením endotelu, tím se podpoří rozvoj PE [18, 34].

7.23 T – pomocné lymfocyty

T-pomocné lymfocyty (Th) mají schopnost rozpoznávat fragmenty antigenů prezentované molekulami MHC II. třídy a aktivovat další imunitní odpovědi. CD4+ pomocné T-lymfocyty Th1 a Th17 vylučující především protizánětlivé cytokiny, které mohou zabraňovat infekci během těhotenství, inhibovat invazi trofoblastů a stimulovat jejich apoptózu. Th2 a T-regulační lymfocyty vylučují především protizánětlivé cytokiny, které hrají důležitou roli v těhotenské imunitní toleranci. Tyto cytokiny se u zdravého člověka nachází v dynamické rovnováze, kdy u normálního těhotenství se Th2 v cirkulaci zvyšují, zatímco u PE se snižují a tím se vytváří dysregulace. Tuto dysregulaci je typicky možné pozorovat v prvním měsíci preeklamptického těhotenství a je doprovázena zvýšením počtu cirkulujících a placentárních CD4+ Th1 buněk [18, 34].

7.24 Triacylglyceroly

Triacylglyceroly (TAG) jsou nejrozšířenější lipidy v lidském těle. Je známo, že jedním z rizikových faktorů PE je jejich zvýšená hladina s naopak sníženou hladinou HDL. Zvýšené sérové TAG zvýší hladiny LDL částic s nízkou hustotou. Tato patologie souvisí

se změnou procesu modifikace spirálních arteriol a syntézou prozánětlivých a anti-angiogenních faktorů odvozených z placenty, které vedou k endoteliální dysfunkci podobně jako hyperlipidemický stav. Zjistilo se, že zejména vysoké hladiny TAG v časném těhotenství jsou spojeny s rizikem výskytu časně PE spíše než s pozdní. Sledování hladiny TAG u matky přispívá k časně predikci a prevenci PE, zejména pokud je kombinováno s dalšími markery [34, 48].

7.25 Inzulinová rezistence

Jedná se o jasný rizikový faktor PE. Zvýšená hladina inzulínu pocházejícího z inzulínové rezistence může způsobit zvýšení aktivity sympatického nervového systému a zadržování sodíku v ledvinách, což je možnou příčinou zvýšení tlaku. Při normálním průběhu těhotenství stoupá sekrece inzulínu β buňkami pankreatu, je následovaná počáteční zvýšenou inzulínovou senzitivitou a dále vzrůstající inzulínovou rezistencí během 2. a 3. trimestru těhotenství. Inzulin je hypoglykemizující hormon, který podporuje vstup krevního cukru do buněk, aby byl využit jako zdroj energie. Inzulinová rezistence se týká zhoršené citlivosti pro inzulin, a to by mohlo vysvětlovat vysoké hladiny glukózy v krvi [11, 41].

7.26 Placentou derivované exosomy

Exosomy pocházející z placenty jsou malé membránové váčky syntetizovány buňkami syncytiotrofoblastu (mnohoaderná hmota, která vzniká z části trofoblastu při vývoji lidského embrya) pomocí lyzozomální cesty, kdy se multivezikulární tělíška spojí v jednu buněčnou membránu pomocí exocytózy, to vede k uvolnění placentárních exosomů do mateřského oběhu. Během procesu biogeneze, dochází k selektivnímu „balení“ molekul do exosomu v rámci původní buňky. Tyto nativní molekuly obsažené v exosomu obsahují genetickou a proteomickou informaci, která by mohla sloužit jako přímý marker komplikací souvisejících s porušením placenty [27].

7.27 Biomarkery gestačního diabetes mellitus

7.27.1 Adiponektin

Adiponektin (APN) je produkován a vylučován tukovými buňkami (adipocyty) v tukové tkáni. Je složen ze čtyř částí: N-koncové signální peptidové a hypervariabilní, kolagenové a karboxy-koncové globulární části. Adiponektin hraje důležitou roli v regulaci

metabolismu glukózy a lipidů, kdy je schopen podporovat oxidaci volných mastných kyselin nacházejících se v plazmě, zlepšovat citlivost na inzulin a zvyšovat vychytávání glukózy periferními tkáněmi. Když se změní citlivost na inzulin nastává změna a snížení hladiny cukru v krvi. Při poklesu hladiny adiponektinu se zvyšuje inzulinová rezistence, to znamená zvýšení hladiny glukózy v krvi [16].

Za podmínek, kdy se hladina cytokinů a leptinu zvyšuje, dochází ke snížení extrakce a uvolnění adiponektinu. Toto platí pro stavy obezity a má to zásadní vliv na zvýšení systolického krevního tlaku, který je pozorován u obézních jedinců včetně těhotných žen. Proto můžeme adiponektin zařadit mezi prediktory PE jako takového, pokud se vezme v potaz společně s koncentrací leptinu a CRP, jak označila malá studie dokončená v roce 2020. Ta se zaměřila na hladiny adiponektinu, leptinu, rezistinu, visfatinu a lipidů ve vztahu k riziku a výskytu PE. Poskytla závěr, že kombinace snížené hladiny adiponektinu a zvýšené hladiny leptinu je silným prediktorem pro PE, zajímavé je, že snížené hladiny adiponektinu byly nejlepšími prediktory PE v těch případech, kdy byly kontrolovány faktory jako je věk, BMI, rodinná anamnéza hypertenze. Je známo, že změny adiponektinu a leptinu podporují nadváhu a zhoršují inzulinovou rezistenci, to jenom potvrzuje fakt, že obezita a abnormální celotělový metabolismus zůstává nejdůležitějším prediktorem PE. Zajímavostí je, že adiponektin reguluje tvorbu reaktivních forem kyslíku v několika tkáních včetně placenty [15, 16].

7.27.2 Leptin

Je hlavní protizánětlivý adipokin, pro leptin je hlavním místem syntézy bílá tuková tkáň, tam se váže na leptinové receptory na buňkách β ostrůvků. Tímto se navodí inhibice sekrece inzulinu stimulovaný glukózou, což způsobí zvýšené hladiny glukózy v krvi [16].

Četné studie prokázaly korelaci mezi hladinou leptinu a GDM. Kromě toho je jedním z důležitých faktorů ovlivňujících uvolňování leptinu také index tělesné hmotnosti, takže je třeba počítat s tím, že u osob s nadváhou je mnohem více tukových buněk tudíž i mnohem vyšší i tento faktor než u zdravých těhotných žen. Toto může doprovázet abnormální funkci β ostrůvků. Obsah uvolňovaného leptinu může také zasahovat do predikce GDM [16].

Hladiny leptinu se během těhotenství zvyšují v jeho důsledku produkce placentou, přičemž dosahují vrcholu během druhého a třetího trimestru. Předpokládá se, že kromě

vlivu na přírůstek těhotenské hmotnosti hrají vysoké hladiny leptinu roli i v patofyziologii PE, ale přesné mechanismy nejsou ještě zcela známe [15].

7.27.3 C – reaktivní protein

C – reaktivní protein (CRP) je bílkovina akutní fáze uvolňovaná z jater se přirozeně silně váže na fosfocholin. Jeho hladina v plazmě prudce stoupá při infekci nebo poškození tkáně, může být produkována během několika hodin po zánětu, vrchol nastává po 8 hodinách. Zvýšení CRP je běžné v pozdním těhotenství, při popáleninách či zánětech. CRP působí tím, že aktivuje komplement a posiluje fagocytózu, tím odstraňuje patogenní mikroorganismy. Jeho zvýšená koncentrace může svědčit o chronickém metabolickém zánětu, který je spojený s kardiovaskulárním onemocněním nebo inzulinovou rezistencí. Vzniklý chronický zánět může dále ovlivňovat metabolismus glukózy v krvi, kdy se naruší rovnováha krevního cukru. To může být jednou z příčin gestačního diabetes vyvolaného CRP [16, 49].

7.28 Biomarkery výskytu preeklampsie u gestačního diabetes mellitus

7.28.1 Produkty pokročilé oxidace proteinů

Produkty pokročilé oxidace proteinů (AOPP) vznikají především reakcí plazmatického albuminu a chloridu při oxidačním stresu, což může stimulovat respirační vzplanutí monocytů. Podporují syntézu a uvolňování zánětlivých cytokinů, způsobují systémový mikrozánět a podílí se na radě onemocnění jako jsou chronické onemocnění ledvin, diabetes mellitus a srdeční onemocnění [16].

Množství studií prokázalo, že AOPP jsou spojeny s gestačním diabetem v kombinaci s PE. V této studii se u 130 těhotných žen sledovala hladina AOPP v placentární tkáni a u žen s GDM a PE byla významně zvýšena hladina a narůstala dále s onemocněním. V souladu s názorem, že PE může být způsobená abnormální placentací v důsledku defektní invaze cytotrofoblastů do spirálních arterií bylo naznačeno, že snížený průtok krve a abnormální využití kyslíku vedou k oxidačnímu stresu a dysfunkci placentární endotelové syntázy oxidu dusnatého, což v konečném důsledku vede k PE. Zatímco fyziologické hladiny reaktivních forem kyslíku jsou spojeny s rychlým vývojem placenty, hladiny nad fyziologické hodnoty jsou spolu s vyčerpáním antioxidantů a abnormalit v aktivitě superoxiddismutázy spojeny s poruchou invaze trofoblastů, špatnou placentací. Tyto podmínky podporují oxidační stres [15, 16].

7.28.2 Fibroblastový růstový faktor 21

V posledních letech se stal fibroblastový růstový faktor (FGF-21) jedním z důležitých prediktivních faktorů. Jedná se o peptidový hormon syntetizovaný různými orgány. FGF obvykle působí ve spojení se svým receptorem FGFR, reguluje diferenciaci a proliferaci buněk. Pokud dochází k výkyvům hodnot poměru FGF/FGFR mimo normální rozmezí, s velkou pravděpodobností to nasvědčuje o patologických změnách spojených s rakovinou a onemocněním ledvin. FGF má mnoho podtypů, konkrétně FGF-21 má souvislost s metabolismem glukózy u člověka, ve studiích s pacienty, kteří mají DM byla zjištěna zvýšená exprese FGF-21. Tuto látku lze použít jako jeden z prediktivních faktorů a má značný význam v klinické léčbě pacientů s GDM. Tento faktor však také podléhá dílčím změnám během PE. Je nutné včas rozlišit diagnostická kritéria, která souvisí s tímto onemocněním, aby se zabránilo případným chybám v diagnóze [16].

7.28.3 Rezistín

Jedná se o malý protein, který reguluje metabolismus glukózy a je během těhotenství exprimován převážně mononukleárními buňkami, adipocyty, a především placentárními trofoblastickými buňkami. Také ho nalézáme v séru pacientek s GDM a PE. Za normálních podmínek reguluje zánětlivou odpověď organismu dohromady s inzulinem, jakmile se jeho hladiny zvýší, vyvolá inzulinovou rezistenci. Při vyšetřování sérových hladin u pacientek s PE je rezistín jedním s nejlepších prediktivních faktorů, který poskytuje vyšší míru přesnosti [16, 50].

7.29 Biomarkery HELLP syndromu

U HELLP syndromu můžeme pozorovat zvýšené hladiny VEGF, sFlt-1, sEgn, ADMA, inhibinu A, aktivinu A a PP-13 stejně jako u PE [25].

Dále se u laboratorního vyšetření stanovuje krevní obraz (hemoglobin, hematokrit, trombocyty), iontogram, jaterní testy alaninaminotransferáza (ALT) aspartátaminotransferáza (AST), laktátdehydrogenáza (LD), bilirubin, kyselina močová, kreatinin, celková bílkovina, albumin [11].

Hlavními ukazateli stále zůstávají: hemolýza, trombocytopenie a elevace jaterních enzymů. Hemolýza je způsobena fragmentací červených krvinek. Jedná se o jejich mechanické poškození, k němuž dochází zejména kvůli překážkám v mikrocirkulaci

v podobě fibrinových depozit. Tato destrukce vede k elevaci LD a snížení hladiny hemoglobinu [11].

Trombocytopenie je stav charakterizovaný počtem krevních destiček pod $150 \times 10^9/l$. K trombocytopenii dochází na základě konzumpce (zvýšená aktivace krevních destiček), které adherují na poškozený endotel a dochází ke zkrácení délky jejich přežití a rychlejšímu obratu [11].

Elevace jaterních enzymů ukazuje na poškození jaterních buněk a na poruchu jejich funkce. Při základním laboratorním vyšetření se stanovují hladiny zejména transamináz, a to ALT a AST, ty se do oběhu uvolňují při poškození jaterních buněk. Sérové koncentrace transamináz nemusí být spolehlivým ukazatelem závažnosti jaterního poškození a žádný z enzymů není sám dostatečným markerem. Také elevace LD bývá spojena s buněčnou smrtí, v případě HELLP syndromu, je ale hlavně projevem hemolýzy [11].

8 LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ PREEKLAMPSIE

8.1 Rutinně stanovované parametry

8.1.1 Proteinurie

Za fyziologickou proteinurii v těhotenství jsou považovány hodnoty nepřesahující 300 mg/24hodin. Vyšší proteinurie vznikající při PE je zapříčiněna poškozením bazální membrány glomerulů a snížením zpětné resorpce proteinů v tubulech. V praxi se proteinurie detekuje pomocí orientačních komerčních testovacích papírků. Pozitivní nález vyžaduje další kvantitativní vyšetření moče [11].

8.1.2 Hyperurikémie

Hodnota kyseliny močové v séru je podmíněna převážně sníženou clearancí při zhoršené funkci ledvin, kdy dochází ke snížené tubulární resorpci kyseliny močové při poškození distálního tubulu. Hladina $>300 \mu\text{mol/l}$ je v těhotenství považována za patologickou [11].

8.1.3 Zvýšený kreatininu v séru

Kreatinin je látka, která vzniká v kosterních svalech a je vylučována z krevní cirkulace především glomerulární filtrací a ukazuje na stav ledvin. Za patologických stavů se podíl vyloučený z cirkulace výrazně zvyšuje. Hodnoty $>97 \mu\text{mol/l}$ ukazují na poškození ledvin, pokud je přítomna také oligurie může se jednat o PE [11].

8.1.4 Hypoalbuminémie

Při PE dochází ke změnám v plazmatických hodnotách bílkovin. Hladina albuminu se sníží, ale hladina globulinu se nemění [11].

8.1.5 Aminotransferázy

Jedná se o stanovení ALT, AST a LD. Hladiny ALT se zvyšují v krevní cirkulaci při malém poškození hepatocytů. Zvýšená hladina AST je známkou nekrózy hepatocytů, je nutné dbát na opatrnost při hemolýze séra. Zvýšená hodnota LD se spojuje hlavně s hemolýzou, a proto je vhodný marker pro detekci rozvoje HELLP syndromu [11].

8.1.6 Trombocytopenie

Ke snížení trombocytů dochází při jejich zvýšené destrukci, která se děje v důsledku zvýšené aglutinace u poškozeného cévního endotelu. Hodnoty mezi 100 a $150 \times 10^9/l$ krve jsou varovné u žen s dalšími laboratorními známkami PE [11].

8.1.7 Angienní faktory

V posledním desetiletí byly vyvinuty dva screeningové testy, které se v některých zařízeních zařadily do klinické péče. Prvním z nich je screeningový test prováděný v prvním trimestru těhotenství, který identifikuje osoby s rizikem vzniku předčasné PE. Druhý je pro pozdější těhotenství, kdy existuje klinická nejistota, zda je PE přítomna nebo jestli se pravděpodobně vyvine. Tento test dokáže zcela přesně vyloučit, zda se PE rozvine [31, 51].

Screening v prvním trimestru umožňující předpovědět předčasnou PE kombinuje střední arteriální krevní tlak a ultrazvuk, kdy se měří rezistence děložních tepen matky a hladina cirkulujícího placentárního růstového faktoru (PIGF). Díky tomuto testu je správných odhalení PE v 82 % případů. Jako screening v druhém a třetím trimestru pro usnadnění predikce časně nebo pozdní PE nám slouží angienní faktory (PIGF, poměr sFlt-1/PIGF) [31, 51].

8.1.8 sFlt-1/PIGF test

Obtíže spojené s diagnostikou a často nepředvídatelný průběh PE brání včasné identifikaci nemocných nebo rizikových pacientek a oddalují léčbu. Na druhou stranu u velkého množství pacientek, u nichž se objeví klinické příznaky, které mohou naznačovat PE se onemocnění nerozvine, ale podstoupí další často zbytečná vyšetření

a hospitalizace. V této situaci může být poměr sFlt-1/PlGF užitečný pro rozlišení pacientek, které vyžadují intenzivní léčbu [52, 53].

Dramatické zvýšení poměru sFlt-1/PlGF může vést k patologickým změnám, které jsou pro PE typické: odloučení placenty, oxidační stres, hypoxie placenty, ischemická choroba placenty, vaskulární léze placenty, stres endoplazmatického retikula a senzibilizace endotelu matky. Tyto změny mohou vést k mimoděložnímu těhotenství a potratu, ale nemusí k nim nutně dojít [54]. Hodnocení poměru sFlt-1/PlGF (**Tabulka 1**) umožňuje odlišit těhotné ženy s pravděpodobnou PE a intrauterinní růstovou restrikcí (IUGR) od žen se známkami probíhajících komplikací z jiných hypertenzních poruch těhotenství a potvrdit jejich diagnózu [53, 54, 55].

Z hlediska závažnosti hypertenzních poruch těhotenství a IUGR jsou hladiny cirkulujících angiogenních látek nejvyšší krátce před porodem a souvisejí se závažností PE. U žen, které čekají dvojčata je pravděpodobnost vzniku PE vyšší. Podle studií je referenční rozmezí pro poměr sFlt-1/PlGF srovnatelný jako u žen, co čekají jedno dítě do 29.týdne těhotenství, dále od té doby až do porodu je tento poměr vyšší u žen s dvojčaty [53, 54, 55].

Lze říci, že test poměru sFlt-1/PlGF ovlivnil klinické rozhodování směrem k vhodné hospitalizaci u značné části žen s podezřením na PE [56].

Tabulka 1: Přehled hodnot sFlt-1/PlGF poměru [57]

Poměr sFlt-1/ PlGF	PE v době testování	Riziko rozvoje PE
<38	Není	Nízké
38-85 (časná PE)	Není	Vysoké
38-110 (pozdní PE)		
<85 (časná PE)	Vysoce pravděpodobná PE nebo výskyt jiného placentárního onemocnění	Velmi vysoké
<110 (pozdní PE)		

8.1.9 Poměr bílkoviny ku kreatininu v moči

Test na bílkoviny v moči za 24hodin je sběr moči, kdy pacientka sbírá po celou dobu do předem vyhrazené nádoby, poté se odebere z celkového objemu jeden díl a provede se test. Poměr bílkoviny ku kreatininu (UPCR) je stejně jako komerční testovací papírky založen na analýze náhodného vzorku moči, ale poskytuje nám kvantitativní výsledky jako test na 24hodinový sběr moči. I když 24hodinový test pro hodnocení proteinurie je stále nejpoužívanější má své nevýhody, u komerčních testovacích papírků chybí dostatečná specifita a senzitivita, ale vzhledem k tomu, jak jsou rychlé, jednoduché a cenově dostupné jsou stále považované za primární screeningový test, ačkoliv nejsou vhodné pro kvantifikaci proteinurie. Na druhé straně UPCR je spolehlivý, relativně rychlý a přesný test pro kvantifikaci proteinurie [58].

8.2 Metody stanovení

Pro stanovení se nejčastěji používá kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrofotometrií (LC-MS/MS) a imunochemické metody nejčastěji ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Materiál pro stanovení je nejčastěji krevní plazma, sérum a moč. Krevní plazma je odebírána do zkumavek obsahující antikoagulanty jako je heparin nebo EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová), dále je centrifugována a připravena k analýze [59].

Příkladem ELISA stanovení je test jménem PreecludiaTM, který je založený na stanovení osmi biomarkerů: CD274 (cluster of differentiation 274), decorin, endoglin, sFlt-1, FGF21, volný PlGF, celkový sFlt-1 a KIM-1(kidney injury molecule-1). Standardy se měří v tripletu na destičce. Kontroly se naředí a zpracovávají se stejně jako vzorky. Po inkubaci se destička promývá nebo se vzorky z jamek odstraní, dále se do jamek přidávají protilátky specifické pro analyt a tím se dokončí sendvičová ELISA. Detekční protilátky se pro každý test konjugují pomocí křenuvé peroxidázy [60].

Testy pro volný a celkový PlGF používají stejné záchytné a detekční protilátky, ale liší se dobou inkubace a teplotou během inkubace vzorku s konjugovanou protilátkou. Test volného PlGF se provádí při laboratorní teplotě a celkového PlGF se provádí při teplotě 37 °C. Na každé destičce se také testují v doubletu nejméně dvě analytické kontroly kvality na bázi séra a dvě kontroly procesu na bázi séra. Každá kontrola poskytuje

vysokou či nízkou koncentraci pro jeden nebo více analytů. Tyto kontroly musí být vyrobeny spojením vzorků sér zdravých netěhotných žen a obohacím o rekombinantní proteiny [59, 60].

ZÁVĚR

Bakalářská práce komplexně shrnuje preeklampsii spolu s eklampsii a HELLP syndromem jakožto související onemocnění ohrožující matku i plod.

Hlavním cílem bylo vytvořit výčet biomarkerů, které se již používají, anebo těch, které jsou ve zkoumání, ale mají potenciál pro využití během screeningových vyšetření a celkově predikce onemocnění pro snížení jeho fatálních následků. Bylo zmíněno také stanovení konkrétních sérových i močových biomarkerů používaných v současných rutinních stanovení. Mezi tyto biomarkery používající se při screeningových stanovení patří PAPP-A, β -hCG, VEGF, PlGF, sFlt-1, sEng. Bohužel neexistuje žádný jeden ideální biomarker, který by byl schopný poukázat na PE přesně a včas. U mnoha biomarkerů jako je PAPP-A nebo GDF-15 je také problémem ten, že s vývojem těhotenství se fyziologicky mění jejich hodnoty a je tedy třeba dbát na jejich správnou interpretaci, to ale neznamená, že nemají v kombinaci s jinými biomarkery potenciálně místo jako ukazatele PE. Většina biomarkerů ukázala lepší účinnost při používání v kombinaci. Biomarkery jako cystatin C, GDF-15, mikroRNA a další jsou aktuálně velmi zkoumány a v budoucnu by mohly být zařazeny také do rutinních stanovení a mohly by o něco více pomoci v diagnostice preeklampsie.

Vedlejším cílem této práce bylo představení preeklampsie, její diagnostiky, patogeneze a rizikových faktorů spolu s dalším působením v těle nemocné ženy a její potenciální prevenci, která je v zájmu stále více studií. V dnešní době bohužel neexistuje přesná léčba, a tak pokud není nutný porod, léčí klinické příznaky hypertenze. Kromě lepšího životního stylu a užívání aspirinu nelze spouštěčům nemoci nějak předcházet, a tak je predikce stále velmi důležitá. Dále představení eklampsie, jakožto nejhorší formy vyvinuté z preeklampsie doprovázené klonicko-tonickými záchvaty a v neposlední řadě také HELLP syndromu, který je také velmi závažnou formou PE a důvodem smrti matky i plodu.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Rybak-Krzyszowska M, Staniczek J, Kondracka A a kol.: From Biomarkers to the Molecular Mechanism of Preeclampsia-A Comprehensive Literature Review., *Int J Mol Sci.*, 2023, 26;24 (17):13252, doi: 10.3390/ijms241713252.
- [2] Bisson C, Dautel S, Patel E a kol.: Preeclampsia pathophysiology and adverse outcomes during pregnancy and postpartum., *Front Med (Lausanne)*, 2023, 16;10:1144170., doi: 10.3389/fmed.2023.1144170.
- [3] Ma'ayeh M, Costantine MM.: Prevention of preeclampsia., *Semin Fetal Neonatal Med.*, 2020, 25(5):101123., doi: 10.1016/j.siny.2020.101123.
- [4] “Pre-eclampsia Overview And 5 Ways to Help It” [online]. `Gynaecology and Obstetrics` started by Dr. Scorpiowoman, Mar 1, 2017. [cit. 2024-06-20]. Dostupné z: <https://forum.facmedicine.com/threads/pre-eclampsia-overview-and-5-ways-to-help-prevent-it.28023/>
- [5] Ayele AD, Tilahun ZA.: Magnitude of Preeclampsia and Associated Factors Among Women Attending Delivery Service in Debre Tabor Specialized Hospital., *Ethiop J Health Sci.*, 2022, 32(2):279-288., doi: 10.4314/ejhs.v32i2.8.
- [6] Tesfahun E, Tadesse S, Hailu A a kol.: Prevalence of Preeclampsia and Associated Factors among Antenatal Care Attending Mothers at Tirunesh Beijing General Hospital, Addis Ababa, Ethiopia., *Advances in Public Health*, 2023, 1-5, doi: 10.1155/2023/1132497
- [7] Rana S, Lemoine E, Granger JP a kol.: Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives., *Circ Res.*,2019,29;124(7):1094-1112.,doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313276.
- [8] Fox R, Kitt J, Leeson P a kol.: Preeclampsia: Risk Factors, Diagnosis, Management, and the Cardiovascular Impact on the Offspring., *J Clin Med.*, 2019, 4;8(10):1625., doi: 10.3390/jcm8101625.
- [9] Sunjaya AF, Sunjaya AP.: Evaluation of Serum Biomarkers and Other Diagnostic Modalities for Early Diagnosis of Preeclampsia., *J Family Reprod Health.*, 2019, 13 (2):56-69
- [10] Malone SL, Yahya RH, Kane SC: Reviewing Accuracy of First Trimester Screening for Preeclampsia Using Maternal Factors and Biomarkers, *Int J Womens Health.*, 2022, 19;14:1371-1384., doi: 10.2147/IJWH.S283239.
- [11] Vlk R., Procházka M., Měchorová A. a kol.: Preeklampsie, *Praha: Maxdorf*, 2015, ISBN 9788073454609
- [12] Staff AC.: The two-stage placental model of preeclampsia: An update., *J Reprod Immunol.*, 2019, 134-135:1-10., doi: 10.1016/j.jri.2019.07.004.
- [13] Jacobsen DP, Fjeldstad HE, Sugulle M a kol.: Fetal microchimerism and the two-stage model of preeclampsia., *J Reprod Immunol.*,2023,159:104124., doi: 10.1016/j.jri.2023.104124.

- [14] Chang KJ, Seow KM, Chen KH.: Preeclampsia: Recent Advances in Predicting, Preventing, and Managing the Maternal and Fetal Life-Threatening Condition., *Int J Environ Res Public Health*, 2023, 8;20(4):2994., doi: 10.3390/ijerph20042994.
- [15] Abraham T, Romani AMP.: The Relationship between Obesity and Pre-Eclampsia: Incidental Risks and Identification of Potential Biomarkers for Pre-Eclampsia., *Cells*, 2022, 5;11(9):1548., doi: 10.3390/cells11091548.
- [16] Liu Y, Li DY, Bolatai A a kol.: Progress in Research on Biomarkers of Gestational Diabetes Mellitus and Preeclampsia., *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2023, 22;16:3807-3815., doi: 10.2147/DMSO.S433179.
- [17] Raguema N, Moustadraf S, Bertagnolli M.: Immune and Apoptosis Mechanisms Regulating Placental Development and Vascularization in Preeclampsia., *Front Physiol*, 2020, 11;11:98., doi: 10.3389/fphys.2020.00098.
- [18] Deer E, Herrock O, Campbell N. a kol.: The role of immune cells and mediators in preeclampsia., *Nat Rev Nephrol*, 2023, 19(4):257-270., doi: 10.1038/s41581-022-00670-0.
- [19] Aneman I, Pienaar D, Suvakov S a kol.: Mechanisms of Key Innate Immune Cells in Early – and Late-Onset Preeclampsia., *Front Immunol*, 2020, 18;11:1864., doi: 10.3389/fimmu.2020.01864.
- [20] Ma'ayeh M, Rood KM, Kniss D. a kol.: Novel Interventions for the Prevention of Preeclampsia., *Curr Hypertens Rep*, 2020, 12;22(2):17., doi: 10.1007/s11906-020-1026-8.
- [21] Sakowicz A, Bralewska M, Rybak-Krzyszowska M. a kol.: New Ideas for the Prevention and Treatment of Preeclampsia and Their Molecular Inspirations., *Int J Mol Sci*, 2023, 28;24(15):12100., doi: 10.3390/ijms241512100.
- [22] Zhaoer Y, Mingming G, Wei Z. a kol.: Extracellular vesicles for the treatment of preeclampsia., *Tissue Cell*, 2022, 77:101860., doi: 10.1016/j.tice.2022.101860.
- [23] Magley M, Hinson MR.: Eclampsia., [Updated 2023 Jan 30], *StatPearls [Internet]*., Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554392/> [cit.2024-06-02]
- [24] Akre S, Sharma K, Chakole S. a kol.: Eclampsia and Its Treatment Modalities: A Review Article., *Cureus*, 2022, 12;14(9): e29080., doi: 10.7759/cureus.29080.
- [25] Petca A, Miron BC, Pacu I a kol.: HELLP Syndrome-Holistic Insight into Pathophysiology., *Medicina (Kaunas)*, 2022, 21;58(2):326., doi: 10.3390/medicina58020326.
- [26] Califf RM.: Biomarker definitions and their applications., *Exp Biol Med (Maywood)*, 2018, 243(3):213-221., doi: 10.1177/1535370217750088.
- [27] Pillay P, Moodley K, Moodley J. a kol.: Placenta-derived exosomes: potential biomarkers of preeclampsia., *Int J Nanomedicine*, 2017, 31;12:8009-8023., doi: 10.2147/IJN.S142732.
- [28] Leahomschi S, Calda P. Klinické využití nových biomarkerů preeklampsie. *Actual Gyn*. 2016; 8:29-33

- [29] Al-Jameil N, Aziz Khan F, Fareed Khan M. a kol.: A brief overview of preeclampsia., *J Clin Med Res.*, 2014, 6(1):1-7., doi: 10.4021/jocmr1682w.
- [30] “ANTI-ANGIOGENESIS EN LA FISIOPATOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA ¿ LA PIEDRA ANGULAR? [online]. Revista Peruana de Investigación Materno Perinatal, Dec 12, 2019. [cit. 2024-05-25]. Dostupné z: <https://investigacionmaternoperinatal.inmp.gob.pe/index.php/rpinmp/anti-angiogenesis-fisiopatologia-preclam>
- [31] MacDonald TM, Walker SP, Hannan NJ a kol.: Clinical tools and biomarkers to predict preeclampsia., *EBioMedicine.*, 2022, 75:103780., doi: 10.1016/j.ebiom.2021.103780.
- [32] He A, Zhou Y, Wei Y a kol.: Potential Protein Biomarkers for Preeclampsia., *Cureus.*, 2020, 30;12(6): e8925., doi: 10.7759/cureus.8925
- [33] Bhaskar Kalarani I, Veerabathiran R, Mohammed V.: The role of biomarkers in early prediction and molecular mechanisms of preeclampsia., *Eur J Transl Clin Med.*, 2022, 5 (2):57-66., doi: 10.31373/ejtc/156837
- [34] Liu N, Guo YN, Gong LK a kol.: Advances in biomarker development and potential application for preeclampsia based on pathogenesis., *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol X.*, 2020, 9;9:100119., doi: 10.1016/j.eurox.2020.100119.
- [35] Wischhusen J, Melero I, Fridman WH.: Growth/Differentiation Factor-15 (GDF-15): From Biomarker to Novel Targetable Immune Checkpoint., *Front Immunol.*, 2020, 19;11:951., doi: 10.3389/fimmu.2020.00951.
- [36] Silva WAD, Varela CVA, Pinheiro AM a kol.: Restrictive versus Liberal Fluid Therapy for Post-Cesarean Acute Kidney Injury in Severe Preeclampsia: a Pilot Randomized Clinical Trial., *Clinics (Sao Paulo).*, 2020; 75: e1797., doi: 10.6061/clinics/2020/e1797
- [37] Bergwik J, Kristiansson A, Allhorn M. a kol.: Structure, Functions, and Physiological Roles of the Lipocalin α_1 -Microglobulin (A1M)., *Front Physiol.*, 2021, 3;12:645650., doi: 10.3389/fphys.2021.645650.
- [38] Chau K, Hennessy A, Makris A.: Placental growth factor and pre-eclampsia., *J Hum Hypertens.*, 2017, 31(12):782-786., doi: 10.1038/jhh.2017.61.
- [39] Barrero JA, Villamil-Camargo LM, Imaz JN. A kol.: Maternal Serum Activin A, Inhibin A and Follistatin-Related Proteins across Preeclampsia: Insights into Their Role in Pathogenesis and Prediction., *J Mother Child.*, 2023, 19;27(1):119-133., doi: 10.34763/jmotherandchild.20232701.d-23-00002.
- [40] Yanachkova V, Staynova R, Stankova T. a kol.: Placental Growth Factor and Pregnancy-Associated Plasma Protein-A as Potential Early Predictors of Gestational Diabetes Mellitus., *Medicina (Kaunas).*, 2023, 17;59(2):398., doi: 10.3390/medicina59020398.
- [41] Yao M, Xiao Y, Yang Z. a kol.: Identification of Biomarkers for Preeclampsia Based on Metabolomics., *Clin Epidemiol.*, 2022, 19;14:337-360., doi: 10.2147/CLEP.S353019.

- [42] Dymara-Konopka W, Laskowska M.: The Role of Nitric Oxide, ADMA, and Homocysteine in The Etiopathogenesis of Preeclampsia-Review., *Int J Mol Sci.*, 2019, 5;20(11):2757., doi: 10.3390/ijms20112757.
- [43] Andronikidi PE, Orovou E, Mavrigiannaki E. a kol.: Placental and Renal Pathways Underlying Pre-Eclampsia., *Int J Mol Sci.*, 2024, 27;25(5):2741., doi: 10.3390/ijms25052741.
- [44] Mészáros B, Kukor Z, Valent S.: Recent Advances in the Prevention and Screening of Preeclampsia., *J Clin Med.*, 2023, 17;12(18):6020., doi: 10.3390/jcm12186020.
- [45] Shan Y, Hou B, Wang J.: Exploring the role of exosomal MicroRNAs as potential biomarkers in preeclampsia., *Front Immunol.*, 2024,19;15:1385950., doi: 10.3389/fimmu.2024.1385950.
- [46] Zhafir Asyura MMA, Komariah M, Amirah S. a kol.: Analysis of Varying MicroRNAs as a Novel Biomarker for Early Diagnosis of Preeclampsia: A Scoping Systematic Review of the Observational Study., *Int J Prev Med.*, 2023, 21;14:36., doi: 10.4103/ijpvm.ijpvm_156_22.
- [47] Kreicberga I, Junga A, Pilmane M.: Investigation of HoxB3 and Growth Factors Expression in Placentas of Various Gestational Ages., *J Dev Biol.*, 2023, 23;10(1):2., doi: 10.3390/jdb10010002.
- [48] Poveda NE, Garcés MF, Darghan AE. A kol.: Triglycerides/Glucose and Triglyceride/High-Density Lipoprotein Cholesterol Indices in Normal and Preeclamptic Pregnancies: A Longitudinal Study., *Int J Endocrinol.*, 2018, 6;2018:8956404., doi: 10.1155/2018/8956404.
- [49] Lowry P, Woods R.: The placenta controls the physiology of pregnancy by increasing the half-life in blood and receptor activity of its secreted peptide hormones., *J Mol Endocrinol.*, 2018, 60(1): R23-R30., doi: 10.1530/JME-17-0275.
- [50] Gutaj P, Sibiak R, Jankowski M.: The Role of the Adipokines in the Most Common Gestational Complications., *Int J Mol Sci.*, 2020, 10;21(24):9408., doi: 10.3390/ijms21249408.
- [51] Stepan H, Hund M, Andrzejek T.: Combining Biomarkers to Predict Pregnancy Complications and Redefine Preeclampsia: The Angiogenic-Placental Syndrome., *Hypertension.*, 2020, 75(4):918-926., doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.13763.
- [52] Cerdeira AS, O'Sullivan J, Ohuma EO.: Randomized Interventional Study on Prediction of Preeclampsia/Eclampsia in Women With Suspected Preeclampsia: INSPIRE., *Hypertension.*, 2019, 74(4):983-990., doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.12739.
- [53] Baert J, McCarey C, Berkane N.: The role of sFlt1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia and pregnancy-related hypertensive disorders., *Swiss Med Wkly.*, 2021, 14;151: w20533., doi: 10.4414/smw.2021.20533.
- [54] Karpova NS, Dmitrenko OP, Budykina TS.: Literature Review: The sFlt1/PlGF Ratio and Pregestational Maternal Comorbidities: New Risk Factors to Predict Preeclampsia., *Int J Mol Sci.*, 2023, 4;24(7):6744., doi: 10.3390/ijms24076744.

- [55] Stepan H, Galindo A, Hund M. a kol.: Clinical utility of sFlt-1 and PlGF in screening, prediction, diagnosis and monitoring of pre-eclampsia and fetal growth restriction., *Ultrasound Obstet Gynecol.*, 2023, 61(2):168-180., doi: 10.1002/uog.26032.
- [56] Verlohren S, Brennecke SP, Galindo A. a kol.: Clinical interpretation and implementation of the sFlt-1/PlGF ratio in the prediction, diagnosis and management of preeclampsia., *Pregnancy Hypertens.*, 2022, 27:42-50., doi: 10.1016/j.preghy.2021.12.003.
- [57] “PlGF (Placentární růstový faktor)” [online]. Actualgyn 2016. [cit. 2024-04-12]. Dostupné z: <https://www.vaselaboratore.cz/seznam-vysetreni/prenatalni-screening-serologie-pro-ivf-centra/item/plgf-placentarni-rustovy-faktor>
- [58] Stefańska K, Zieliński M, Zamkowska D. a kol.: Comparisons of Dipstick Test, Urine Protein-to-Creatine Ratio, and Total Protein Measurement for the Diagnosis of Preeclampsia., *Int J Environ Res Public Health.*, 2020, 12;17(12):4195., doi: 10.3390/ijerph17124195.
- [59] Tuytten R, Syngelaki A, Thomas G. A kol.: First-trimester preterm preeclampsia prediction with metabolite biomarkers: differential prediction according to maternal body mass index., *Am J Obstet Gynecol.*, 2023, 229(1):55. e1-55. e10., doi: 10.1016/j.ajog.2022.12.012.
- [60] Hendershot JM, Abbasi M, Fortier L. a kol.: Analytical validation of a novel panel of biomarkers for a test for preeclampsia., *J Pharm Biomed Anal.*, 2022, 30;214:114729., doi: 10.1016/j.jpba.2022.114729.