

## Preeklampsie a její diagnostika

Arnoštová L.<sup>1</sup>, Fialová L.<sup>1</sup>, Malbohan I.<sup>1</sup>, Zima T.<sup>2</sup>, Springer D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ústav lékařské biochemie 1. LF UK, Praha

<sup>2</sup>Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK

### SOUHRN

*Cíl studie:* Cílem práce je přehledným způsobem zpracovat a komentovat nejnovější poznatky v oblasti preeklampsie, se zaměřením na příčiny onemocnění a jeho diagnostiku.

*Typ studie:* Přehledný článek.

*Název a sídlo pracoviště:* Ústav lékařské biochemie 1. LF UK, Praha; Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK, Praha.

*Závěr:* Preeklampsie je stále podceňovanou komplikací v těhotenství, je diagnostikována až při klinické manifestaci. Nové hypotézy o vzniku této poruchy umožňují lepší pochopení patologických změn i identifikaci nových markerů způsobily k časné diagnostice.

*Klíčová slova:* preeklampsie, oxidativní stres, predikční markery, angiogeneze.

### SUMMARY

**Arnoštová L., Fialová L., Malbohan I., Zima T., Springer D.: Pre-eclampsia and its diagnostics**

*Objective:* To document and discuss current knowledge base in pre-eclampsia diagnostics and mechanisms of origin.

*Design:* Review article.

*Settings:* Institute of Medical Biochemistry 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine of the First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Prague.

*Conclusion:* Pre-eclampsia frequently diagnosed only after clinical symptoms manifestation remains underestimated complication of pregnancy. New theories about its origin enable better insight to the pathological process as well as identified new markers for early detection of the disorder.

*Key words:* pre-eclampsia, oxidative stress, prediction markers, angiogenesis.

## Úvod

Preeklampsie je složitý patologický stav zjednodušeně charakterizovaný hypertenzí a proteinurií v pokročilé graviditě. I v dnešní době je hlavní příčinou mateřské a perinatální morbidity, může končit smrtí matky a je četný – postihuje až 7 % těhotenství. Bylo publikováno mnoho prací, které se zabývají jak příčinami vzniku a možnostmi léčby, tak i otázkou diagnostiky. Současná situace je však taková, že preeklampsie je diagnostikována až ve druhé polovině těhotenství, po nástupu klinických příznaků (hlavně nově projevené hypertenze, proteinurie). Včasná diagnostika, umožňující tento život ohrožující stav řešit ještě před jeho klinickými projevy, je v lepším případě předmětem diskusí. Odhalení problému ještě před jeho klinickou manifestací přitom může pomoci v prodloužení délky těhotenství a minimalizaci následných zdravotních rizik jak pro matku, tak pro dítě.

Patofyziologii preeklampsie je možné zjednodušeně charakterizovat redukovanou placentální perfuzí s následnou ischemií placenty. Správná funkce placenty závisí na diferenciaci trofoblastů – specializovaných buněk, které přímo spojují embryo s matkou. Tyto buňky existují ve dvou formách: jako syncytiotrofoblast a invazivní trofoblast. Pokud není trofoblast dostatečně diferencován, jsou spirální arterie placenty nedostatečně přizpůsobeny, placenta je vystavena hypoxii a neplní správně všechny fyziologické funkce, což přináší vážné komplikace pro matku i plod.

Současní autoři dávají vznik preeklampsie do příčinné souvislosti nejčastěji s cirkulujícími faktory inhibujícími angiogenezi, nebo se signální drahou angiotenzin II a interferencí s mateřským vaskulárním systémem. Jako další faktory podílející se na vzniku a rozvinutí patologie jsou označovány oxidativní stres, zánětlivá reakce, špatná adaptace oběhového systému nebo humorální a metabolické abnormality [1]. Imunologická stránka onemocnění pravděpodobně zahrnuje špatnou adaptaci organismu matky, kdy plod a placenta jsou odmítány obdobně jako štěp u alogenních transplantací [2, 3, 4]. Při rozvoji preeklampsie se uplatňují i genetické predispozice [2, 3].

Možností léčby či zmírnění symptomů je několik. Jednak jsou to známé, dnes již tradiční léčebné postupy používané pro tuto patologii. Pokud pomineme porod – jedinou okamžitou a také nejčastěji používanou léčbu – může být příkladem tradice použití síranu hořečnatého, který má do určité míry protektivní účinky před eklampsií a umožňuje i oddálení porodu, což je cennou vlastností vzhledem k tomu, že se pacientky nacházejí např. ve 24. týdnu těhotenství. Mechanismus účinku síranu hořečnatého není znám, na základě studií s více než 10 000 sledovanými pacientkami je však potvrzen jednoznačně kladný účinek na matku i plod. Další variantou léčby jsou terapie založené na jednotlivých hypotézách vzniku preeklampsie. Jako příklad lze uvést použití antioxidačních přípravků (nejčastěji vitaminy E a C). Studií na toto téma je mnoho, průkazných

**Table 1.** Structure of citations of the most frequent therapies of pre-eclampsia 2004–2007, according to PubMed

Therapy	Anticoagulants	Antihypertensives	Magnesium sulphate	Antioxidants	L-arginine	Calcium
No of citations	23	22	30	23	10	4

výsledků však nebylo dosaženo. Používá se i symptomatická léčba, např. jsou podávána antihypertenziva, opět však chybí jednoznačné klinické závěry.

V tabulce 1 jsou shrnuty nejčastěji popisované metody léčby podle databáze PubMed.

## Diagnostika preeklampsie

Preeklampsie je jevem velmi dlouho známým. Je proto poměrně překvapivé, že dodnes není doporučen ani jediný algoritmus vyšetření, který by spolehlivě odhaloval tuto poruchu v dostatečném předstihu před klinickými projevy. Přitom existuje řada prací, které se zabývají jednotlivými markery použitelnými pro vyhodnocení rizika preeklampsie u těhotných.

Počty citací na téma predikce preeklampsie a její markery v letech 2004–2007 (květen) uvádí tabulka 2, tabulky 3a a 3b zachycují jejich strukturu.

**Table 2.** No of citations for markers of pre-eclampsia, according to PubMed

Year	2004	2005	2006	2007
No of citations	102	94	93	29

**Table 3a.** Structure of citations of biochemical markers of pre-eclampsia, 2004–2007, according to PubMed

Markers	Oxidative stress	Angiogenesis	Parameters of triple or quadruple test
No of citations	20	14	11

**Table 3b.** Structure of citations of biochemical markers of pre-eclampsia, cont.

Markers	Placental proteins	Angiotensin-converting enzyme	Markers of insuline resistance	Leptine
Citations	9	7	7	6

V následujícím přehledu jsou uvedeny nejčastěji uváděné teorie příčin a následků preeklampsie a z nich vyplývající navrhované diagnostické parametry.

### Úloha oxidativního stresu

Oxidativní stres je možné definovat jako nerovnováhu mezi produkcí reaktivních kyslíkových radikálů a mírou jejich deaktivace antioxidanty. Normální placenta produkuje volné radikály, což však nutně neznamená, že by byla vystavena oxidativnímu stresu. U fyziologických těhotenství lze pozorovat růst produkce volných kyslíkových radikálů a lipoperoxidace s pokračujícím těhotenstvím, zároveň se však zvyšuje souhrnná kapacita antioxidantů (kyselina močová, vitamin C a vitamin E), takže celková rovnováha zůstává za-

chována. U preeklampsie dochází podle různých zdrojů k dysbalanci se zvýšenou tvorbou peroxidových radikálů a následnou peroxidací lipidů a zvýšenou oxidací proteinů a DNA. Přirozená antioxidantní schopnost organismu je přitom snížena a ve výsledku je placenta u preeklamptických pacientek v silném oxidativním stresu. V některých publikacích je vliv oxidativního stresu považován za klíčový [5]. Hypotéza je podpořena faktem, že placenta u preeklamptických žen vykazuje intermitentní perfuzi způsobenou sníženou patologickou invazí trofoblastu do endometriálních arterií a za původce snížené perfuze je považován oxidativní stres. Příčina oxidativního stresu přitom zůstává neobjasněna, i když bylo publikováno několik navrhovaných mechanismů. V nejnovější práci [6] hodnota naměřeného H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> koreluje s koncentrací hCG. Za preeklampsii a redukováný intrauterinní růst může podle jejích autorů zvýšená apoptóza placentálních trofoblastů, což je způsobeno placentální hypoperfuzí, která vede ke generování reaktivních kyslíkových sloučenin. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> je produktem mnoha enzymatických redox reakcí, za normálních podmínek se buňky tomuto agens brání tak, že přemění peroxid vodíku na kyslík a vodu. Zvýšená koncentrace peroxidu vodíku je známkou porušené obrany proti oxidaci, nadprodukcí kyslíkatých reaktivních sloučenin nebo zvýšené peroxidace lipidů. Tím, že se autorům podařilo nalézt přímou úměrnost mezi množstvím produkovaného peroxidu vodíku a hCG dokazují, že je-li antioxidantní obrana organismu nedostatečná, pak trofoblasty odpovídají na oxidativní stres produkcí vysokých množství hCG, pravděpodobně slouží jako obrana před dalším oxidativním zatížením. Zdálo by se tedy, že jak diagnostika, tak i léčba je celkem nasnadě – stačí zjistit stupeň oxidativního stresu nebo snad i provést rovnou suplementaci antioxidanty. O tom, že situace není tak jednoduchá svědčí 6 v současné době probíhající velkých studií (např. kanadská studie s 10 000 pacientkami) ověřujících možnost léčby pomocí potravinových doplňků – antioxidantů, avšak publikované výsledky jsou zatím nejednoznačné.

Pro posouzení stupně oxidativního stresu lze použít celou řadu biochemických markerů. Ty jsou odvozeny od primárních endogenních antioxidantních enzymatických systémů (superoxiddismutáza, kataláza, systémy glutathionperoxidáza/reduktáza a enzymatické systémy využívající thioredoxin jako koenzym), ale i produktů oxidativního stresu. Např. ve studii Chamyho et al. [7] byla měřena aktivita glutathionperoxidázy, celková antioxidantní kapacita měřená oxidací ABTS substrátu a aktivita superoxid-dismutázy. Ve všech markerech byla statisticky signifikantní odchylka preeklamptických těhotenství od kontrol (zdravé těhotné ženy). Jiná práce měřila koncentrace v tzv. AGE-RAGE systému [8]. AGE (advanced glycation end products), konečné produkty pokročilé glykace, způsobují vazbou na svůj receptor (RAGE) oxidativní poškození různých

typů buněk. AGE-RAGE systém je u preeklamptických těhotenství oproti zdravým kontrolám zvýšen a je pravděpodobně jedním z klíčových parametrů poškození placenty [8]. Imunohistochemická analýza placenty prokázala zvýšenou tvorbu reaktivních nitrosloúčenin – nitrotyrosinu a nitroguaninu. Jiná práce dokumentuje zvýšení produktů pokročilé oxidace proteinů (AOPP – advanced oxidation protein product) [9].

Dašími ukazateli oxidativního stresu jsou izoprostany, sloučeniny podobné prostaglandinům, produkované *in vivo* neenzymatickou radikálovou peroxidací arachidonové kyseliny. Jejich relativní nevýhodou je vyšší variabilita vzhledem k věku, pohlaví, etnické příslušnosti a hladině pohlavních hormonů; z exogenních činitelů má vliv kouření, konzumace alkoholu a tělesná aktivita. Nicméně, kvantifikace těchto sloučenin může odrážet oxidativní stres a peroxidaci lipidů *in vivo* [10]. Studie však poskytují nejednoznačné výsledky a jsou provedeny na malých souborech pacientů. Například v nizozemské studii [11] byla měřena celková hladina 8-isoprostanu, FRAP (ferric reducing/antioxidant power – redukční kapacita plazmy), vitamínu E a oxidačních metabolitů v žilní krvi matky u 21 preeklamptických žen a 38 nepatologických gravidit. Medián koncentrací 8-isoprostanu u fyziologických těhotenství byl nižší než u preeklamsií (315 vs 218 pg/mL,  $p = 0,02$ ), FRAP byl u preeklamsií vyšší a byla nalezena pozitivní korelace mezi solubilním receptorem pro VEGF – sFlt1 (viz dále) měřeným v placentě a hladinou 8-isoprostanu v žilní krvi. Autoři z výsledků vyvozují, že preeklampsie je spojená s oxidativním stresem, neboť ukazatel oxidativního stresu (8-isoprostan) byl zvýšen, zatímco antioxidační kapacita měřená pomocí FRAP byla snížena. Japonská práce [12] popisuje měření koncentrace 8-iso-PGF2alfa hlavního metabolitu izoprostanu v plazmě a moči, 15-keto-dihydro-PGF2alfa, hlavního metabolitu PGF2alfa jako indikátoru zánětlivé odpovědi a plazmatický alfa- a gama-tokoferol u 18 preeklamptických, 19 normálních těhotných a 20 netěhotných žen. Těhotné měly signifikantně vyšší hladinu 8-iso-PGF2alfa a PGF2alfa ve srovnání s netěhotnými. Hodnoty 8-iso-PGF2alfa u preeklamsií nebyly rozdílné od fyziologických těhotenství, avšak hodnoty gama-tokoferolu byly signifikantně nižší než u normálních těhotenství, hladiny alfa-tokoferolu byly v obou skupinách srovnatelné. Autoři shrnují výsledky se závěrem, že ač nebyly nalezeny přímé důkazy o oxidativním stresu u preeklamptických těhotenství, redukce gama-tokoferolu naznačuje, že oxidativní stres u této patologie svoji úlohu hraje. Vyšší hladiny metabolitů izoprostanu a prostaglandinů v těhotenství zase nasvědčují tomu, že jak produkty radikálové, tak cyklooxygenázou katalyzované oxidace mají důležitou úlohu v těhotenství. Další z markerů peroxidace lipidů je např. oxidovaný low density lipoprotein (LDL) a reaktivní sloučeniny thiobarbiturové kyseliny (TBARS). Ve studii Raijmakerse et al. [13] byly sledovány změny těchto parametrů s gestačním stářím. Ve studii bylo zahrnuto 40 preeklamptických žen a 24 normálních těhotenství, přičemž byly porovnávány údaje pro shodné gestační stáří v obou skupinách. Ženy s preeklamsií vykazovaly nižší hodnoty oxido-

vaného LDL, u TBARS nebyl pozorován žádný rozdíl. Vzhledem k tomu, že rozdíl mezi oběma skupinami byl značný a statisticky signifikantní, může být oxidovaný LDL jedním z dalších markerů preeklampsie.

## Oxidativní stres a aktivace buněk endotelu

Během preeklampsie se aktivují endotelové buňky, je zvýšena exprese celulárních adhezních molekul (CAM) a ve svalové tkáni dochází ke zvýšené tvorbě peroxynitritu. Ve studii Zhaa et al. [14] byla ověřována hypotéza, zda oxidativní stres buněk endotelu, vyvolaný peroxinitrem, způsobí zvýšení regulace CAM exprese a zda hemoxygenáza 1 (HO-1) má protektivní účinek proti oxidaci. Endoteliální exprese adhezních molekul VCAM (vascular cell adhesion molecule), P-selektinu a E-selektinu byla podstatně zvýšená a mRNA exprese pro HO-1 byla rovněž vyšší u buněk vystavených působení peroxynitritu, nedošlo ke změně u ICAM. Experimentální data tedy v podstatě potvrzují hypotézu, že vliv oxidace indukované peroxinitrem na endoteliální buňky má vzhledem k expresi CAM různorodý efekt. Zvýšená tvorba peroxynitritu během preeklampsie může přispívat ke zvýšené CAM expresi a akcelerované neutrofil-endoteliální interakci. Již citovaná studie [7] rovněž potvrzuje přímou souvislost mezi úrovní oxidativního stresu a endoteliální dysfunkcí a zároveň stupněm projevu preeklampsie. U těžkých případech je oxidativní poškození lipidů mnohem častější než u mírných preeklamsií, přičemž toxický účinek lipoperoxidů podle autorů vede k hypertenzi, endoteliálnímu poškození a aktivaci leukocytů.

V Cudmoreho et al. [15] byly příznaky preeklampsie u březích krys vyvolávány pomocí solubilního vasculárního endoteliálního růstového faktoru a solubilního endoglinu (sEng). Tyto dva parametry jsou během preeklampsie zvýšeny nejen na zvířecím modelu, ale i u těhotných žen, přičemž hemoxygenáza a oxid uhelnatý prokazují ochranný efekt vůči oxidativnímu účinku. Pomocí adenoviru byla vyvolána nadměrná exprese HO-1 v endoteliálních buňkách, která inhibovala VEGF-zprostředkované uvolnění sFlt-1 a interferon gama a TNF-alfa indukované uvolňování sEng, zatímco inhibice HO-1 zvýšila produkci sFlt-1 a sEng buňkami endotelu. Pomocí selektivních ligandů (VEGF-E a placentální růstový faktor) a inhibitorů specifických pro receptor (SU-1498) se prokázalo, že uvolnění sFlt-1 indukované VEGF bylo VEGFR-2 dependentní. Tzv. CO-releasing molecule-2 (CORM-2) – nebo oxid uhelnatý sám o sobě – snižovaly produkci sFlt-1 a inhibovaly VEGFR-2 fosforylaci. Studie tedy demonstrovala, že HO-1/CO dráha inhibuje sFlt-1 a sEng, takže HO-1 by mohla být novým cílem v terapii preeklampsie. Mimo jiné to znamená, že by v terapii preeklampsie měly místo např. statiny (potencují tvorbu HO-1), zatímco vitamin C či E nevykazuje v tomto modelu žádné účinky.

Tabulka 4 uvádí přehled markerů oxidativního stresu, nejsou v ní uvedeny parametry, jejichž hladiny byly

stejně pro skupinu preeklamptických žen i fyziologicky těhotných (MT TBARS, alfa-tokoferol, ACA IgM, glutathion v erytrocytech).

**Table 4.** Overview of published markers of oxidative stress in pre-eclampsia, 2004-2007 according to PubMed database

Marker	Function	Alteration in pre-eclampsia
8-isoprostane	Lipid peroxidation	Increase
Transferrin monomer	Oxidation status marker	Increase
Plasma antioxidant capacity	Capability to manage oxidative stress	Decrease
Vitamin E	Antioxidant	Decrease
Vitamin C	Antioxidant	Decrease
Glutathion peroxidase	Oxidative stress	Decrease of activity
Superoxid dismutase	Oxidative stress	Decrease of activity
Malondialdehyde	Oxidative stress	Increase
AGE	Oxidative stress	Increase
Nitrotyrosine and nitroguanosine in placenta	Oxidative stress of placenta	Increase
CRP	Acute phase protein	Increase

### Úloha angiogeneze, VEGF a jeho receptory

Patologický oxidační stav má pravděpodobně těsnou souvislost s inhibicí angiogeneze, přičemž úloha angiogeneze při preeklampsii je nezpochybnitelná. V samotném procesu má klíčovou úlohu VEGF-A (vaskulární endoteliální růstový faktor A). Aktivuje dva receptory tyrozinkinázy, VEGFR1 (solubilní receptor vasculárního endoteliálního růstového faktoru, také soluble fms-like tyrosine kinase-1, sFlt-1) a VEGFR2 (KDR lidská/FIk-1 myši) [21]. VEGFR1 a VEGFR2 mají v angiogenezi odlišné role, ač jsou si strukturně dosti podobné. VEGFR1 čili sFlt-1 je antagonistou proangiogenních molekul (např. endoteliálního faktoru VEGF nebo placentálního růstového faktoru – PIGF, PGF). VEGF konvertuje hematopoetické kmenové buňky na buňky endoteliální a inhibice VEGF by tudíž blokovala endoteliální diferenační proces. Pro sledování preeklampsie je vhodnější VEGFR1, zatímco VEGFR2 se uplatňuje více v onkologické oblasti. Zvýšená koncentrace sFlt-1 pak hraje jednu z klíčových úloh patologické angiogeneze a jeho zvýšená exprese je přítomna u všech preeklamptických těhotenství. sFlt-1 *in vitro* inhibuje invazi cytotrofoblastu a současně diferenciaci primární cytotrofoblastové kultury [18]. Rozdíly v hodnotách cirkulujících angiogenních molekul vůči fyziologickému těhotenství jsou však patrné již v prvním trimestru, dlouho před invazí a diferenciací trofoblastu [18]. V práci Levine et al. [19] bylo prokázáno, že alterace sFlt-1 byla podstatně vyšší u žen s časným projevem preeklampsie a defektní angiogeneze je tedy velmi důležitým faktorem vzniku poruchy. Nadměrná produkce sFlt-1 je spojena s placentální ischemií a hypoxií [17]. Regulace exprese tohoto proteinu při různých

stupních placentální oxidace bylo předmětem experimentu, ve kterém byly zkoumány jak *in vivo*, tak *in vitro* fyziologické i patologické modely lidské placentální hypoxie. Bylo zjištěno, že ke zvýšené expresi sFlt-1 v prvním trimestru dochází i v podmínkách normálního těhotenství při nedostatku kyslíku (v nadm. výšce nad 2 700m, [16]). Nedostatek kyslíku vede vždy ke zvýšené produkci sFlt-1 a může přispět ke vzniku preeklampsie. Zřejmě nejkomplexnější je v tomto směru práce Parra et al. [20], ve které jsou zkoumány jak biochemické parametry (placental growth factor PIGF, sFlt-1, aktivátory plasminogenu PAI-1/PAI-2, trombomodulin, F-2 isoprostan, FRAP, superoxid dismutáza, glutathion-transferáza, kataláza) a současně jsou prováděna dopplerovská vyšetření placenty. Závěry studie potvrzují, že ženy, u kterých se vyvine preeklampsie, měly patologický nález dopplerovského vyšetření, zvýšený poměr PAI1/PAI2, sFlt-1, F2-isoprostan a redukovanou hladinu PIGF ve 23. týdnu. V prvním trimestru tyto markery nebyly signifikantně zvýšeny. Výsledky měření sFlt-1 a PIGF podle práce Parraho et al. [20] rovněž korelují se sonografickými nálezy a umožňují předpovědět intrauterinní restrikcii růstu plodu a preeklampsii, a dokonce předpovědět, zda bude mít mírnou nebo závažnou podobu. Levine et al. [25] publikovali práci, která podstatným způsobem vyhodnocuje úlohu dalších angio/antiangiogenních placentou produkovaných proteinů při preeklampsii. Cirkulující endoglin, solubilní koreceptor pro transforming growth factor-beta-1 (TGF-beta-1), je u žen s preeklampsií zvýšený, a je proto pravděpodobné, že se zúčastňuje v tomto procesu odlišným mechanismem než VEGFR1 [25]. Práce si všímá i angiogenních účinků, byla porovnávána hladina VEGFR1, PIGF a endoglinu celkem u 480 žen. Cirkulující solubilní endoglin roste rapidně 2–3 měsíce před klinickým projevem preeklampsie (46,4 ng/ml vs 9,8 ng/ml u zdravých). Od 17. do 20. týdne byly hladiny endoglinu signifikantně vyšší v porovnání se zdravou skupinou, zvýšená hladina endoglinu byla většinou doprovázena zvýšeným poměrem VEGFR1/PIGF.

### Proteinázy, metaloproteinázy, peptidy produkované placentou

Invaze trofoblastů je regulována proteinázami a jejich inhibitory. Z tohoto důvodu je velká část prací, zabývajících se možnostmi diagnostiky preeklampsie, zaměřena právě na tento systém. Běžně používaný parametr cystatin C, inhibitor cysteinových proteináz, vykazuje zvyšování koncentrace během pokračujícího těhotenství a abnormálně vysoké hodnoty v těhotenství. Jeho koncentrace v placentě preeklamptických žen je vysoká a expresní analýza a imunohistochemické metody prokázaly vysokou expresi cystatin C mRNA v extravilózním trofoblastu, a naopak nízkou v trofoblastu nacházejícího se mimo klky. Z toho vyplývá, že cystatin C zřejmě sehrává důležitou úlohu v regulaci proteáz během placentace [22]. Prediktivní hodnotu by mohlo mít i stanovení fikolinů, což jsou proteiny s funkcí v metabolické dráze lektinu. V nízkých

koncentracích jsou přítomny i v séru, nejvíce se však nacházejí v placentálních syncytiotrofoblastech na počátku apoptózy. Indukují imunitní odpověď s lokální a systémovou aktivací cytokinů a koncentrace fikolinů koreluje s klinickou manifestací preeklampsie [23]. Zajímavým markerem komplikací v těhotenství by mohl být protein ADAM12. Proteiny ADAM (A Disintegrin And Metaloprotease) jsou multidoménné glykoproteiny s adhezivní a proteolytickou aktivitou, lidský ADAM12 pak existuje ve dvou formách, přičemž jeho kratší ADAM12-S forma je sekreční. ADAM12-S se ve vysokých koncentracích vyskytuje v placentě a je přítomen již od prvního trimestru v séru těhotných a s pokračujícím těhotenstvím roste. ADAM12-S se váže a má proteolytickou aktivitu vůči IGFBP-3 a méně vůči IGFBP-5. Štěpí IGFBP-3 na dva fragmenty, které jsou odlišné od IGF-I a IGFII. IGFBP-3 byl zvýšen v sérech žen ve třetím trimestru, které měly uteroplacentální insuficienci. ADAM12 byl snížen v prvním trimestru u všech žen, u kterých se později vyvinula preeklampsie. Dále bylo zjištěno, že snížení PAPP-A (pregnancy associated protein A), metaloproteinázy v systému insulin-like growth factor (IGF), předpovídá intrauterinní restriktci růstu plodu a ADAM12 kromě predikce preeklampsie vypovídá i o chromozomálních abnormalitách [26, 27]. *In situ* hybridizací placent preeklamptických žen bylo potvrzeno, že ADAM12 je proteinem s nejvíce zvýšenou transkripcí a ADAM12 je tedy pravděpodobně jedním z nejnadějnějších markerů preeklampsie [27]. ADAM12 však může být i hledaným pojítkem mezi dvěma nezávislými pozorováními. Ramsay et al. [28] pozorovali, že preeklamptické ženy mají vyšší hladinu adiponektinu než normální těhotné. Vyslovili hypotézu, že u preeklamptických žen dochází ve vysoké míře k nespecifické lipolýze adipocytů a že se možná jedná o reakci, která má kompenzovat endoteliální poškození. Vzhledem k tomu, že myši bez genu pro ADAM12 měly poruchu v tvorbě hnědé adipózní tkáně a nebyly schopné tloustnout ani při přejídání, zatímco transgenické myši měly naopak vysokou adipogenezí, je možné, že ADAM12 tím, že má vliv na proliferaci tukové tkáně, spojuje obě teorie. V této souvislosti ADAM12 zřejmě ovlivňuje i metabolismus leptinu a může být mediátorem celého procesu preeklampsie [29]. V prospektivní studii s 878 pacientkami bylo zjištěno, že pokud je ultrazvukově změřený pulzatilní index uterinní arterie  $PI \geq 95$ . percentil a současně stanovený PAPP-A  $\leq 10$ . percentil, pak tato kombinace predikuje 23 % žen, u kterých se vyvine preeklampsie a 43 % žen s abrupcí placenty. Lepších výsledků, až 34 %, bylo dosaženo v kombinaci s anamnestickými údaji [30]. Spencer et al. měřili kombinaci PAPP-A a PP-13 proteinu a zdá se, že PP-13 měřený v prvním trimestru by mohl být užitečným markerem rizika preeklampsie, bohužel jeho i další studie s tímto markerem postrádají větší počet sledovaných pacientek [31]. Stejní autoři vyhodnocovali tento parametr i po 20. týdnu, nezjistili však žádné výhody jeho zavádění do screeningu [32]. Určitou praktickou a ekonomicky zajímavou možností je zavedení vyhodnocení rutinně prováděného triple/quadruple testu na Downův syndrom v časně fázi těhotenství. Wald

et al. provedli screening v časném druhém trimestru s použitím AFP, hCG, free beta-hCG a inhibinu A a publikovali, že v této kombinaci lze odhalit až 40 % preeklamsií při 6% falešné pozitivitě [33].

Nejčastěji měřeným parametrem je PIGF, placentální růstový faktor podílející se významně na angiogenezi, který byl v období 2004–2007 předmětem zkoumání celkem u 6 prací. Tento protein však není vytvářen pouze placentou, jak by název napovídal, ale i mnoha neplacentálními buňkami (např. buňkami endotelu); je jedním z mnoha ukazatelů zánětu a je jedním z novějších markerů při hodnocení aterosklerózy. Tato jeho „univerzálnost“ samozřejmě limituje jeho širší klinické použití jako specifického markeru preeklampsie.

## Možnosti založené na genetických výzkumech

Z hlediska zkoumání genetického podkladu preeklampsie bylo nutno tuto patologii rozdělit do dvou skupin – na časnou (před 34. týdnem těhotenství) a pozdní (po 34. týdnu těhotenství). Ukazuje se, že obě poruchy nemají společný základ a jejich popis i výzkum je tedy nutné provádět odděleně.

Pozdní, také mateřská preeklampsie, vzniká ze vzájemného působení mezi normální placentou a predisponovaným mateřským organismem (dlouhodobá hypertenze, diabetes nebo jiné endokrinní poruchy nebo genetická predispozice způsobená cis- nebo transakčními genetickými variacemi v interagujících genech). Těhotenství je pak pro mateřský organismus nadměrnou zátěží přesahující jeho běžné možnosti, proto se snaží tuto zátěž přerušit pomocí rozpojení vaskulárního systému. Naproti tomu časná preeklampsie představuje vyšší riziko rekurence a má jasnou familiární genetickou složku. Tato pozorování z humánních studií potvrzují i pokusy na zvířecích modelech [34]. Pokusy o nalezení susceptibilního genu pro preeklampsii zatím selhaly, přestože bylo sledováno přes 50 genů pro trombofiliu, endoteliální funkci, oxidativní stres, lipidový metabolismus, hemodynamiku, angiogenezi nebo endokrinní systém [35]. V práci nizozemských autorů lze nalézt shrnutí současného stavu genetického výzkumu preeklampsie – téměř všechna místa spojovaná s preeklampsii, posuzovaná ve skupinách podle projevu nebo epigenetických vlastností, jsou výsledkem fylogenetického vývoje vyjadřujícího společný evoluční původ nebo funkci. Takže konzervované genetické funkce, tvořící základní kámen hemochoriální placenty u savců, jsou zřejmě kompletně zobrazeny v genetice preeklampsie [34] a činí tuto problematiku geneticky maximálně komplikovanou.

## Závěr

V posledních pěti letech byla preeklampsie cílem mnoha studií. Data, která byla shromážděna, umožňují cílenější postupy diagnostiky i terapie. Přes tyto pokro-

ky však nebylo dosaženo ani jednotné teorie vysvětlující princip onemocnění, ani jednotného postupu léčby, a dokonce ani algoritmu časné laboratorní diagnostiky. Naplnění kteréhokoli z těchto cílů přitom může přinést podstatný benefit nejen pacientům, ale i zdravotnickému rozpočtu. Ve většině souhrnných prací se konstatuje, že preeklampsie patří mezi neprávem podceňované choroby. Přístup je však zatím neměnný s minulostí – preeklampsie je sledována či léčena až při výrazném patologickém vzrůstu tlaku a proteinurii a většinou se nepodaří dosáhnout výrazného oddálení porodu. To má za následek malou zralost novorozence se všemi zdravotními i sociálními důsledky. Časná diagnostika přitom může, podobně jak je tomu u jiných život ohrožujících stavů, přinést podstatný užitek nejen pacientům, ale i zdravotnickému rozpočtu.

## Literatura

1. Marshall, D., Lindheimer, J., Umans, G. Explaining and Predicting Pre-eclampsia. *N. Engl. J. Med.*, 2006, 355, 10, p. 1056–1058.
2. Sibai, B., Dekker, G., Kupferminc, M. Pre-eclampsia. *Lancet*, 2005, 365, p. 785–799.
3. Einarsson, J. I., Sangi-Hagheykar, H., Gardner, M. O. Sperm exposure and development of preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2003, 188, p. 1241–1243.
4. Dekker, G., Robillard, P. Y. The birth interval hypothesis – Does it really indicate the end of the primipaternity hypothesis. *J. Reprod. Immunol.*, 2003, 59, p. 245–251.
5. Borzychowski, A. M., Sargent, I. L., Redman, C. W. Inflammation and pre-eclampsia. *Semin Fetal Neonatal Med.*, 2006, 11, 5, p. 309–316.
6. Kharfi, A., Leblanc, S., Ouellet, A., Moutquin, J. M. Dual action of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on placental hCG secretion: implications for oxidative stress in preeclampsia. *Clin. Biochem.*, 2007, 40, 1–2, p. 94–97.
7. Chamy, V. M., Lepe, J., Catalán, A., Retamal, D., Escobar, J. A., Madrid, E. M. Oxidative stress is closely related to clinical severity of pre-eclampsia. *Biol. Res.*, 2006, 39, p. 229–236.
8. Chekir, C., Nakatsuka, M., Noguchi, S., Konishi, H., Kamada, Y., Sasaki, A., Hao, L., Hiramatsu, Y. Accumulation of advanced glycation end products in women with preeclampsia: possible involvement of placental oxidative and nitrative stress. *Placenta*, 2006, 27, 2–3, p. 225.
9. Fialova, L., Kalousova, M., Soukupova, J., Malbohan, I., Madar, J., Frisova, V., Stipek, S., Zima, T. Markers of inflammation in preeclampsia. *Prague Med. Rep.*, 2004, 105, 3, p. 301–310.
10. Milne, G. L., Musiek, E. S., Morrow, J. D. F<sub>2</sub>-isoprostanes as markers of oxidative stress in vivo: An overview. *Biomarkers*, 2005, 10, S10–S23.
11. Harsem, N. K., Braekke, K., Staff, A. C. Augmented oxidative stress as well as antioxidant capacity in maternal circulation in preeclampsia. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2006, 128, 1–2, p. 209–215.
12. Ishihara, O., Hayashi, M., Osawa, H., Kobayashi, K., Takeda, S., Vessby, B., Basu, S. Isoprostanes, prostaglandins and tocopherols in pre-eclampsia, normal pregnancy and non-pregnancy. *Free Radic. Res.*, 2004, 38, 9, p. 913–918.
13. Raijmakers, M. T., van Tits, B. J., Hak-Lemmers, H. L., Roes, E. M., Steegers, E. A., Peters, W. H. Low plasma levels of oxidized low density lipoprotein in preeclampsia. *Acta Obstet. Gynaecol. Scand.*, 2004, 83, 12, p. 1173–1177.
14. Zhao, S., Zhang, Y., Gu, Y., Lewis, D. F., Wang, Y. Heme oxygenase-1 mediates up-regulation of adhesion molecule expression induced by peroxynitrite in endothelial cells. *J. Soc. Gynecol. Investig.*, 2004, 11, 7, p. 465–471.
15. Cudmore, M., Ahmad, S., Al-Ani, B. et al. Negative regulation of soluble Flt-1 and soluble endoglin release by heme oxygenase-1. *Circulation*, 2007, 115, 13, p. 1789–1799.
16. Soleymanlou, N., Jurisica, I., Nevo, O., Ietta, F., Zhang, X., Zamudio, S., Post, M., Caniggia, I. Molecular evidence of placental hypoxia in preeclampsia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005, 90, 7, p. 4299–4308.
17. Karumanchi, S., Bdolah, Y. Hypoxia and sFlt-1 in Preeclampsia: The „Chicken-and-Egg“ Question. *Endocrinology*, 2004, 145, 11, p. 4835–4837.
18. Zhou, Z., McMaster, M., Woo, K. et al. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets syndrome. *Am. J. Pathol.*, 2002, 160, p. 1405–1423.
19. Levine, R. J., Maynard, S. E., Quian, C., Lim, K., England, L., Yu, K. F. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N. Engl. J. Med.*, 2004, 350, p. 672–683.
20. Parra, M., Rodrigo, R., Barja P. Screening test for preeclampsia through assessment of uteroplacental blood flow and biochemical markers of oxidative stress and endothelial dysfunction. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005, 193, p. 1486–1491.
21. Shibuya, M. Differential Roles of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1 and Receptor-2 in Angiogenesis. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 39, p. 469–478.
22. Kristensen, K., Larsson, I., Hansson, S. R. Increased cystatin C expression in the pre-eclamptic placenta. *Mol. Hum. Reprod.*, 2007, 13, 3, p. 49–55.
23. Wang, C. C., Yim, K. W., Poon, T. C et al. Innate immune response by ficolin binding in apoptotic placenta is associated with the clinical syndrome of preeclampsia. *Clin. Chem.*, 2007, 53, 1, p. 42–52.
24. Venkatesha, S., Toporsian, M., Lam, C. et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat. Med.*, 2006, 12, p. 642–649.
25. Levine, R. J., Lam, C., Qian, C. et al. CPEP Study Group : Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N. Engl. J. Med.*, 2006, 355, 10, p. 1056–1058.
26. Laigaard, J., Sørensen, T., Placing, S. et al. Reduction of the Disintegrin and Metalloprotease ADAM12 in Preeclampsia. *Obstet. Gynecol.*, 2005, 106, p. 144–149.
27. Gack, S., Marmé, A., Marmé, F. et al. Preeclampsia: increased expression of soluble ADAM 12. *J. Mol. Med.*, 2005, 83, p. 887–896.
28. Ramsay, J. E., Jamieson, N., Greer, I. A., Sattar, N. Paradoxical elevation in adiponectin concentrations in women with preeclampsia. *Hypertension*, 2003, 42, p. 891–894.
29. Luft, F. C. Preeclampsia, Eve, and Adam join forces, Clinical Implications. *J. Mol. Med.*, 2005, 83, p. 839–841.
30. Pilalis, A., Souka, A. P., Antsaklis, P. et al. Screening for preeclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler and PAPP-A at 11-14 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 2007, 29, 2, p. 135–140.

31. **Spencer, K., Cowans, N. J., Chefetz, I., Tal, J., Meiri, H.** First-trimester maternal serum PP-13, PAPP-A and second-trimester uterine artery Doppler pulsatility index as markers of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 2007, 29, 2, p. 128–134.
32. **Spencer, K., Cowans, N. J., Chefetz, I., Tal, J., Kuhnreich, I., Meiri, H.** Second-trimester uterine artery Doppler pulsatility index and maternal serum PP13 as markers of pre-eclampsia. *Prenat. Diagn.*, 2007, 5, 27, 3, p. 258–263.
33. **Wald, N. J., Morris, J. K., Ibbison, J., Wu, T., George, L. M.** Screening in early pregnancy for pre-eclampsia using Down syndrome quadruple test markers. *Prenat. Diagn.*, 2006, 26, 6, p. 559–564.
34. **Oudejans, C. B. M., van Dijk, M., Oosterkamp, M., Lachmeijer, A., Blankenstein, M. A.** Genetics of preeclampsia: paradigm shifts. *Hum. Genet.*, 2007, 120, p. 607–612.
35. **Chappell, S., Morgan, L.** Searching for genetic clues to the causes of pre-eclampsia. *Clin. Sci.*, 2006, 110, p. 443–458.

Do redakce došlo 17. 7. 2007.

Adresa pro korespondenci:  
Ing. Libuše Arnoštová, CSc.  
Ústav lékařské biochemie 1. LF UK  
Kateřinská 32  
128 00 Praha 2  
e-mail: libuse.arnostova@lf1.cuni.cz

Filip Křepelka  
**EVROPSKÉ  
ZDRAVOTNICKÉ  
PRÁVO**



 LexisNexis CZ s. r. o.  
nakladatel řady Orac

Svým obsahem ojedinělá publikace pedagoga PF MU v Brně JUDr. Filipa Křepelky, Ph.D., jejíž význam koresponduje se vstupem ČR do EU, který přináší nemalé právní změny – vedle vnitrostátního práva se začíná uplatňovat nový právní řád nadnárodní. Důležitá je především unifikace norem vývoje, výroby a odbytu léčiv a dalšího zdravotnického materiálu, harmonizace kvalifikace zdravotníků nebo koordinace soustav veřejného financování zdravotní péče o migranty. Kromě právníků zejména zdravotníci, manažeři zdravotnických zařízení či úředníci zdravotnické správy určitě ocení tuto publikaci jako praktickou pomůcku.

**A5, 120 stran, 90 Kč**

 LexisNexis CZ s. r. o.

**LexisNexis CZ s. r. o.,**  
Limuzská 2110/8, 100 00 Praha 10  
tel.: 274 013 268, fax: 274 013 256  
e-mail: obchod@lexisnexus.cz,  
www.lexisnexus.cz