

D. 1572

*Univerzita Karlova v Praze
1.lékařská fakulta*

Autoreferát disertační práce

**Koncentrace plazmatického cysteinu ve
fyziologickém těhotenství a těhotenství s následným
rozvojem preeklampsie**

*MUDr.Hana Belošovičová
(rodné příjmení Višková)*

Praha 2008

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Oborová rada: Experimentální chirurgie

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Jaroslav Živný, DrSc.

Autor: MUDr. Hana Belošovičová
(rodné příjmení Víšková)

Školitel: doc. MUDr. Pavel Calda, CSc.

Oponenti:

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba disertace se koná dne v hod.
v posluchárně Gynekologicko porodnické kliniky
I.LF UK a VFN v Praze

S disertací je možno se seznámit na děkanátě 1.lékařské fakulty
Univerzity Karlovy

lze usuzovat, že krytí spotřeby cysteinu fetálními tkáněmi k syntéze glutationu a proteinů může být zcela závislé na dodávce cysteinu z mateřské cirkulace a cystein tak může být pro plod aminokyselinou zcela esenciální. To koresponduje s výsledky zpracování našich dat. Sestavili jsme regresní model závislosti celkového plazmatického cysteinu na dalších sledovaných faktorech tzv. vysvětlujících veličinách u netěhotných žen. U netěhotných žen se nám podařilo sestavit dobrý model s vysokým koeficientem determinace. Naproti tomu pro těhotné v druhém trimestru je model podstatně méně kvalitní, má velmi nízký koeficient determinace. U těhotných ve třetím trimestru již nebylo možno model sestavit vůbec. Předpokládáme tedy, že spotřeba cysteinu plodem je chybějící vysvětlující veličinou. Tuto hypotézu podporuje i to, že s rostoucím plodem a tedy pravděpodobně rostoucí spotřebou cysteinu, a tedy rostoucím vlivem spotřeby cysteinu plodem na hladinu celkového plazmatického cysteinu u těhotné, se zhoršuje kvalita modelu sestaveného ze sledovaných vysvětlujících veličin.

V literatuře je v těhotenství popsána korelace homocysteinu a hematokritu. Metaanalýza studií hodnotících změny plazmatického volumu a hematokritu v těhotenství prokázala asi 40% nárůst plazmatického volumu během těhotenství. Tento nárůst resp. hemodiluce může mít vliv na pokles aminothiolů v plazmě. Anderson a kolektiv prokázali vliv těhotenské hemodiluce na hladinu homocysteinu. Testovali jsme tedy, zda pokles hladiny celkového plazmatického cysteinu mezi druhým a třetím trimestrem není závislý na hematokritu. Nejprve jsme testovali prostou závislost hladiny celkového plazmatického cysteinu na hematokritu. Hladina celkového plazmatického cysteinu nekorelovala s hematokritem ani v druhém, ani v třetím trimestru. Dále jsme testovali, zda rozdíl hladin celkového plazmatického cysteinu mezi druhým a třetím trimestrem není závislý na změně hematokritu mezi těmito trimestry. Ani rozdíl hladiny plazmatického t-Cys v druhém a

však nekoreloval s rozdílem hematokritu ve druhém a třetím trimestru. Vliv hemodiluce na pokles cysteinu mezi druhým a třetím trimestrem jsme tedy neprokázali.

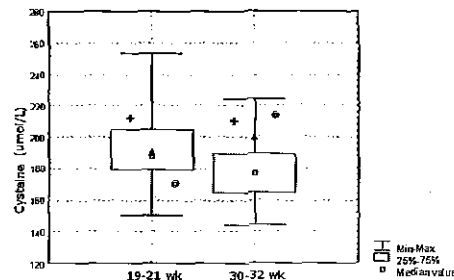
Powers et al. prokázali vyšší renální exkreci homocysteinu v těhotenství v porovnání s exkrecí mimo těhotenství a signifikantní inverzní korelaci mezi hladinou celkového plazmatického homocysteinu a renálním vylučováním homocysteinu [31]. Změna v renální exkreci cysteinu může být obdobná jako u homocysteinu, neboť cystein je stejně jako homocystein filtrován do primární moči a reabsorbován v proximálním tubulu stejným transportérem jako homocystein. Pro testování hypotézy, že pokles cysteinu v těhotenství může být dán jeho zvýšeným renálním vylučováním jsme provedli samostatnou studii. Analizovali jsme 60 vzorků moči a plazmy: 20 vzorků těhotných žen v 19.-21. týdnu těhotenství, 20 vzorků těhotných žen v 30.-32. týdnu těhotenství a 20 vzorků žen netěhotných. Inkluzní a exkluzní kritéria byla stejná jako v prospektivní studii těhotných žen. Rozdíl celkového cysteinu v moči přepočítaný na clearance creatininu byl porovnán nepárovým t testem. Neprokázali jsme signifikantní rozdíl mezi renální exkrecí cysteinu ve druhém trimestru v porovnání s trimestrem třetím ($p=0,35$). Data z naší studie tedy nepodporují hypotézu, že by pokles hladiny cysteinu v krvi těhotných v třetím trimestru oproti trimestru druhému byl způsoben vyšší renální exkrecí cysteinu ve třetím trimestru oproti trimestru druhému. Dále jsme nepárovým t testem porovnali rozdíl celkového cysteinu v moči přepočítaný na clearance creatininu u těhotných versus netěhotných žen. Renální exkrece cysteinu u těhotných byla signifikantně vyšší než u netěhotných ($p<0,05$). Naše data tedy podporují hypotézu, že na poklesu celkového plazmatického cysteinu v těhotenství má podíl vyšší renální exkrece cysteinu v těhotenství než mimo něj.

Porovnáním dat z naší prospektivní studie těhotných a dat z jiné předchozí studie netěhotných žen jsme prokázali

pacient	19-21 týden	30-32 týden
1	212.1	209.1
2	190.5	198.8
3	172.8	213.5

Tab. 2. Hodnoty celkového plazmatického cysteinu u 3 těhotných s následným rozvojem preeklampsie ($\mu\text{mol/l}$).

Hodnoty plazmatického t-Cys u těchto třech těhotných s preeklampsií jsme interpolovali na kvartilový graf plazmatického t-Cys u fyziologických těhotensví (obr. 1). V druhém trimestru byly hodnoty žen s následnou preeklampsií rozloženy v celém intervalu resp. napříč všemi kvartily. Ve třetím trimestru však hodnoty všech těchto těhotných s preeklampsií spadaly do horního kvartilu hodnot fyziologických těhotných.



Obr. 1. Hodnoty celkového plazmatického cysteinu 3 těhotných s následnou preeklampsií interpolované na kvartilový graf koncentrace celkového plazmatického cysteinu u fyziologických těhotných.

Diskuze

V naší prospektivní observační studii 65 těhotných žen jsme prokázali statisticky signifikantní pokles hladiny celkového plazmatického cysteinu v krvi těhotných žen mezi druhým a třetím trimestrem těhotenství. Důvod tohoto poklesu není zcela jasný. Možná vysvětlení poklesu celkového plazmatického cysteinu ve fyziologickém těhotenství jsou: konzumpce cysteinu plodem, hemodiluce a zvýšené renální vylučování cysteinu, popsán je též vliv steroidních hormonů.

Hypotézu konzumpce cysteinu plodem podporuje nález rozdílné koncentrace cysteinu v arteriální a venózní pupečnickové krvi. Koncentrace celkového plazmatického cysteinu (t-Cys) a celkového plazmatického homocysteinu (t-Hcy) jsou nižší v arteriální pupečnickové krvi v porovnání s pupečnickovou krví venózní [20]. Z toho lze usuzovat, že se tyto aminothyoly dostávají do fetální cirkulace a jsou následně využity plodem k biosyntéze glutathionu a proteinů. Zatímco homocystein přestupuje přes fetomaternální bariéru po směru koncentračního spádu, cystein je transportován proti koncentračnímu gradientu a tudíž pravděpodobně aktivním transportem [20]. U dospělého člověka vzniká cystein z methioninu přes homocystein v transsulfurační cestě jeho metabolismu. U novorozence, a to i donošeného, je však aktivita cystathionin γ -lyázy, která štěpí cystathion na cystein, nedostatečná pro pokrytí fyziologických potřeb [2]. Tato nedostatečná aktivita je ještě výraznější u novorozenců nedonošených. Cystein je tak považován za pro novorozence aminokyselinu podmíněně esenciální (tj. esenciální za určitých podmínek) [30]. Ve fetální tkáni mozku a jater nebyla nalezena aktivita cystathionin γ -lyasy potřebné k štěpení cystathioninu na cystein [2]. Bez zajímavosti není ani to, že v placentární tkáni nebyla nalezena aktivita ani cystathionin γ -lyasy ani cystathionin β -synthasy nutné k syntéze cystathioninu z homocysteinu. Z toho

(medián 176,1 $\mu\text{mol/l}$, první kvartil 163,0 $\mu\text{mol/l}$, třetí kvartil 189,4 $\mu\text{mol/l}$) než medián plazmatického t-Cys v trimestru druhém (medián 187,4 $\mu\text{mol/l}$, první kvartil 178,7 $\mu\text{mol/l}$, třetí kvartil 205,2 $\mu\text{mol/l}$). Byl proveden klasický párový t-test, který ukázal signifikantní rozdíl hladiny plazmatického t-Cys v druhém a třetím trimestru ($p < 0,001$). Koncentrace celkového plazmatického homocysteinu, cysteinylglycinu a glutathionu v druhém a třetím trimestru se nelišily.

	19-21 týden	30-32 týden
cystein	187.4 (178.7, 205.2)	176.1 (163.0, 189.4)
homocystein	4.9 (4.1, 5.7)	4.6 (3.9, 5.6)
cysteinylglycin	30.2 (27.4, 33.7)	31.6 (28.1, 34.8)
glutathion	8.1 (7.5, 9.2)	7.9 (6.9, 8.7)

Tab. 1. Hodnoty celkového plazmatického cysteinu, homocysteinu, cysteinylglycinu a glutathionu u 62 prospektivně sledovaných fyziologických těhotenství. Hodnoty uvedené v tabulce jsou mediány (první a třetí kvartil) a v jednotkách $\mu\text{mol/l}$.

Regresní model hladiny cysteinu u normotenzních těhotných a netěhotných žen

Testovali jsme, zda hladina ostatních aminothioliů a parametry sledované u těhotných (hematokrit a úzus vitamínů s obsahem kyseliny listové) mohou vysvětlovat hladinu celkového plazmatického cysteinu ve druhém a třetím trimestru resp. pokles hladiny celkového plazmatického cysteinu mezi druhým a třetím trimestrem. Pokusili jsme se sestavit lineární regresní model závislosti cysteinu na ostatních měřených aminothiolech a sledovaných parametrech nejprve ve druhém třetím trimestru

trimestru, dále ve třetím a nakonec u kontrolního souboru netěhotných žen. Model pro netěhotné měl vysoký koeficient determinace, pro těhotné ve druhém trimestru již nižší, neboť po postupném vylučování nejvíce nesignifikantních veličin, v modelu nezbyla žádná vysvětlující veličina. Vyslovili jsme hypotézu, že spotřeba cysteinu plodem může být chybějící vysvětlující veličinou hladiny cysteinu v krvi těhotných v těhotenství a cystein může být pro plod kyselinou esenciální.

Porovnání hladiny cysteinu u těhotných a netěhotných žen

Provedli jsme porovnání hladiny celkového plazmatického cysteinu v souboru našich těhotných v druhém a třetím trimestru s hladinou u žen netěhotných.

Průměrná hladina celkového plazmatického cysteinu u netěhotných žen (260,7 $\mu\text{mol/l}$) byla signifikantně vyšší než hladina celkového plazmatického cysteinu u těhotných v 19.-21. týdnu těhotenství (192,0 $\mu\text{mol/l}$) ($p < 0,001$), resp. vyšší než hladina celkového plazmatického cysteinu u těhotných v 30.-32. týdnu těhotenství (177,0 $\mu\text{mol/l}$) ($p < 0,001$).

Analýza hladiny cysteinu u těhotných s následným rozvojem preeklampsie

U třech z 65 těhotných došlo k rozvoji preeklampsie. Klinický obraz preeklampsie se u všech těchto těhotných se rozvinul po 38. týdnu těhotenství. Všechny tři plody byly zdravé, eutrofické, bez projevu růstové retardace plodu (IUGR). Ani u ztěhotných nedošlo k žádným klinickým projevům komplikací preeklampsie. Vzhledem k hodnotám krevního tlaku a klinickým projevům bychom tedy tyto tři případy hodnotili jako projev mírné preeklampsie. Tabulka 2. ukazuje hodnoty celkového plazmatického cysteinu u těchto těhotných s preeklampií.

Odběr vzorků a laboratorní analýza

Vzorky krve byly získány standardní venepunkcí do zkumavek s EDTA, které byly ihned zchlazeny vložení do vodní lázně s ledem. Plazma byla separována do 15 minut po odběru centrifugací při 2000 G po dobu 15 minut při 4°C. Všechny vzorky plazmy byly ihned po separaci zamrazeny a až do analýzy skladovány při -80°C. Koncentrace celkového plazmatického cysteinu (t-Cys), homocysteinu (t-Hcy), cysteinylglycinu (t-Cys-Gly) a glutathionu (GSH) byly stanoveny analytickou separační metodou HPLC (high performance liquid chromatography – vysoce účinná kapalinová chromatografie) na kolonách plněných reverzní fází (Nucleosil 100-3 C18, velikost částic 3 µm), s fluorescenční detekcí analytů derivatizovaných činidlem SBD-F (7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazol-4-sulfonát amonný) [1]. Disulfidické formy aminothiollů a aminothioly vázané na bílkoviny byly před derivatizací redukovány tris(2-karboxy-ethyl) fosfinem (TCEP).

Celkem bylo v rámci naší prospektivní studie hladiny cysteinu v krvi těhotných analyzováno 65 párových vzorků tj. 65 vzorků separované plazmy těhotných žen ve druhém trimestru a 65 vzorků separované plazmy stejných těhotných v trimestru třetím. Dále bylo analyzováno 60 vzorků plazmy a moči v samostatné pilotní studii močového vylučování cysteinu v těhotenství a mimo něj tj. 20 vzorků těhotných žen v 19.-21. týdnu těhotenství, 20 vzorků těhotných žen v 30.-32. týdnu těhotenství a 20 vzorků netěhotných žen.

Laboratorní analýza byla prováděna ve spolupráci s Ústavem dědičných metabolických poruch I.LF UK a VFN v Praze.

Statistické zpracování

Data byla analyzována pomocí statistického software STATISTICA (Release 7) a STATA 8. Analýza hladin aminothiollů (cysteinu, homocysteinu, cysteinylglycinu a glutathionu) v krvi těhotných žen v 19.-21.týdnu těhotenství a v 30.-32.týdnu těhotenství byla provedena pomocí párového *t*-testu s odhadem rozptylu. Porovnání hladin celkového plazmatického cysteinu v krvi těhotných žen a žen netěhotných bylo provedeno pomocí nepárového *t*-testu s odhadem rozptylu. Hlubší studium dat, zejména vyšetření vztahu cysteinu a některých dalších stanovovaných aminothiollů a sledovaných parametrů pacientek, bylo realizováno pomocí (robustní) regresní analýzy [29]. K zhodnocení dat těhotných s následným rozvojem preeklampsie bylo použito kvartylového grafu.

Výsledky

Od ledna 2002 do září 2003 jsme oba vzorky krve (v 19.-21. a 30.-32. týdnu těhotenství) získali u 65 těhotných. Z nich u 62 proběhlo těhotenství fyziologicky a u 3 těhotných se rozvinula preeklampsie.

Porovnání hladin aminothiollů v druhém a třetím trimestru u normotenzních těhotných

Stanovili jsme mediány hodnot celkového plazmatického cysteinu (t-Cys), homocysteinu (t-Hcy), cysteinylglycinu (t-Cys-Gly) a glutathionu (GSH) v druhém trimestru těhotenství (v 19.-21.týdnu těhotenství) a třetím trimestru těhotenství (v 30.-32.týdnu těhotenství) (tab. 1). Medián hodnot hladiny celkového plazmatického cysteinu (t-Cys) byl ve třetím trimestru nižší

Fyziologická těhotenství

Cílem bylo zjistit normální hladiny celkového plazmatického cysteinu u normotenzních těhotných v průběhu těhotenství.

Nulová hypotéza č.1:

Hladina cysteinu a dalších sledovaných aminothiolů je ve fyziologickém těhotenství ve 19.-21. týdnu a v 30.-32.týdnu stejná.

Těhotné versus netěhotné

Cílem bylo porovnat hladiny celkového plazmatického cysteinu u normotenzních těhotných a netěhotných žen.

Nulová hypotéza č.2:

Hladina cysteinu je ve fyziologickém těhotenství stejná jako u netěhotných.

Preeklampsie

Cílem bylo porovnat hladiny celkového plazmatického cysteinu u normotenzních těhotných a těhotných s následným rozvojem preeklampsie.

Nulová hypotéza č. 3:

Hladina celkového plazmatického cysteinu v 19.- 21. týdnu těhotenství a 30.-32. týdnu těhotenství je ve fyziologickém těhotenství stejná jako v těhotenství s následným rozvojem preeklampsie.

Materiál a metodika

Design studie

Studie hladiny cysteinu v krvi fyziologických těhotných byla prospektivní a observační. Do studie byly zařazeny zdravé primigravidy s jednočetným těhotenstvím přicházející v 19.-21. týdnu těhotenství na Gynekologicko-porodnickou kliniku 1.LF UK a VFN v Praze k ultrazvukovému screeningu v druhém trimestru. Při standardní venostáze jsme odebrali první vzorek venózní krve v 19.-21. týdnu těhotenství a druhý u stejné těhotné v 30.-32.týdnu těhotenství, tedy v době ultrazvukových screeningových vyšetření. Náběr nebyl prováděn nalačno. Těhotné byly sledovány do porodu resp. do 4. dne po porodu. Oba vzorky krve a informaci o výsledku těhotenství jsme získali celkem u 65 těhotných.

K porovnání hladin celkového plazmatického cysteinu u těhotných žen a žen netěhotných a pro sestavení modelu závislosti hladiny plazmatického t-Cys na dalších sledovaných parametrech pro netěhotné jsme použili data z jiné předchozí studie aminothiolů u 63 netěhotných, normotenzních žen. Inkluzní a exkluzní zdravotní kritéria byla stejná jako u žen těhotných (pochopitelně s výjimkou vlastního těhotenství).

Preeklampsie byla definována podle standardu International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy jako hypertenze rozvíjející se po 20. týdnu těhotenství s diastolickým tlakem nad 90 mm Hg v minimálně dvou měřeních s odstupem více jak 4 hodiny, provázaná proteinurií.

Studie byla schválena Etickou komisí 1.Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Všechny těhotné podepsaly informovaný souhlas se zařazením do studie.

Abstrakt

Objective: To measure the levels of plasma total cysteine, homocysteine, cysteinylglycine and glutathione of the normotensive primiparous pregnant women in the second and the third trimester and compare the levels in normotensive pregnant women with the levels of women with subsequent preeclampsia. **Methods:** Two consecutive blood samples were taken from 65 healthy primiparous women, in the 19th to 21th week of pregnancy and then in the 30th to 32nd weeks. Plasma total cysteine, homocysteine, cysteinylglycine and glutathione were determined by HPLC method. The levels of thiols in the second and the third trimester were compared using paired t-test. The levels of t-Cys in pregnancy were compared to the levels of t-Cys in a control group of nonpregnant women using nonpaired t-test. **Results:** The levels (median [range], $\mu\text{mol/L}$) of plasma total cysteine in normotensive pregnant women were significantly lower in the third than in the mid trimester (176.1 [163.0, 189.4] versus 187.4 [178.7, 205.2], $P < 0.001$). Concentrations of other thiols were not different. Sixty-two pregnant women were normotensive throughout the pregnancy and 3 developed mild pre-eclampsia. The level of t-Cys in the women who subsequently developed preeclampsia showed tendency of improper fall. **Conclusion:** Plasma total cysteine (t-Cys) is significantly lower in the third compared to the second trimester. The decrease of t-Cys might indicate that cysteine is essential for the fetus. Plasma t-Cys is significantly lower in pregnant compared to nonpregnant women. Improper fall of t-Cys might be a risk factor of developing preeclampsia.

Úvod

Vztahu aminosíroly a změnám jejich hladin v souvislosti s různými těhotenskými patologiemi jako je preeklampsie, abrupce placenty, vrozené vývojové vady plodu (rozštěpy neurální trubice, srdeční vady, rozštěpy rtu a patra) je v posledních letech věnována velká pozornost. Centru zájmu byl dosud hlavně prekursor cysteinu homocystein, nezávislý rizikový faktor aterosklerózy a rizikový faktor rozvoje tromboembolické nemoci. Jeho role v etiopatogenezi těchto onemocnění není zcela vyjasněna, ale předpokládá se účast homocysteinu v patofyziologických dějích vedoucích k vaskulárnímu poškození, pravděpodobně hlavně formou indukce oxidativního stresu. Proto se v posledních letech zaměřuje pozornost mnoha vědeckých týmů na studium metabolismu aminosíroly v souvislosti s těmi těhotenskými komplikacemi, v jejichž pravděpodobně multifaktoriální etiopatogenezi se předpokládá podíl vaskulárního poškození. Preeklampsie a abrupce placenty patří mezi závažné těhotenské komplikace ohrožující na zdraví a životě nejen plod, ale i matku, resp. jsou nejčastější příčinou mateřské morbidity a mortality a častou příčinou morbidity a mortality fetální a proto studium jejich etiopatogeneze, terapie, screeningu a časné diagnostiky stojí ve středu zájmu.

Hypotézy a cíle práce

Cílem mé práce bylo stanovit hladiny celkového plazmatického cysteinu dalších aminosíroly ve fyziologickém těhotenství a ve vztahu k následnému rozvoji preeklampsie.

Obsah:

Souhrn (v češtině)

Abstract (v angličtině)

Úvod

Hypotézy a cíle práce

Materiál a metodika

Design studie

Odběr vzorků a laboratorní analýza

Statistické zpracování

Výsledky

Porovnání hladin aminothiolů v druhém a třetím trimestru u normotenzních těhotných

Regresní model hladiny cysteinu u normotenzních těhotných a netěhotných žen

Porovnání hladiny cysteinu u těhotných a netěhotných žen

Analýza hladiny cysteinu u těhotných s následným rozvojem preeklampsie

Diskuse

Závěry

Použitá literatura

Seznam publikací doktoranda

Souhrn

Cíl: Stanovit hladiny celkového plazmatického cysteinu, homocysteinu, cysteinylglycinu a glutathionu u normotenzních primigravid ve druhém a třetím trimestru a porovnat je s hladinami u těhotných s následným rozvojem preeklampsie. **Metodika:** Do studie bylo zařazeno 65 zdravých primipar. U každé těhotné byl nabrán vzorek krve v 19.-21. a 30.-32. týdnu těhotenství. Hladiny celkového plazmatického cysteinu, homocysteinu, cysteinylglycinu a glutathionu byly stanoveny HPLC metodou. Hladiny aminothiolů v druhém a třetím trimestru byly porovnány pomocí párového t testu. Hladiny cysteinu u těhotných byly porovnány s hladinami cysteinu u kontrolního souboru netěhotných žen. **Výsledky:** Hladina celkového plazmatického cysteinu u normotenzních těhotných byla signifikantně nižší ve třetím trimestru v porovnání s trimestrem druhým (medián 176.1 $\mu\text{mol/l}$ [163.0, 189.4] versus 187.4 $\mu\text{mol/l}$ [178.7, 205.2], $P < 0.001$). Hladiny ostatních aminothiolů se nelišily. U třech z 65 těhotných došlo k rozvoji mírné preeklampsie. Hodnoty t-Cys ve třetím trimestru u těhotných s následným rozvojem preeklampsie vykazovaly nárůst nebo menší pokles než u normotenzních těhotných. **Závěr:** Celkový plazmatický cystein je signifikantně nižší ve třetím trimestru než v trimestru druhém. Tento pokles je pravděpodobně dán spotřebou cysteinu plodem. Cystein může být pro plod esenciální nebo semiesenciální aminokyselinou. Celkový plazmatický cystein je u těhotných signifikantně nižší než u netěhotných. Nedostatečný pokles t-Cys v průběhu těhotenství může být rizikovým faktorem následného rozvoje preeklampsie.

pokles hladiny celkového plazmatického cysteinu u těhotných žen v porovnání s ženami netěhotnými. Pokles hladiny cysteinu v těhotenství oproti stavu mimo těhotenství byl již v literatuře publikován Raijmarkersem a kolektivem [3]. Hladiny všech sledovaných aminothiolů byly signifikantně nižší u normotenzních těhotných v porovnání s netěhotnými ženami. Hladina celkového plazmatického cysteinu těhotných žen byla 75% hodnoty u netěhotných, celkového plazmatického homocysteinu 61%, cysteinylglycinu 77% a glutationu 54% [3]. Tato studie však byla provedena na velmi malém souboru 10 netěhotných žen a 10 těhotných kontrol. Těhotné ženy byly ve velmi různém stádiu těhotenství (29. až 38. týden těhotenství). V naší studii bylo zařazeno 62 normotenzních těhotných a 63 žen netěhotných. Na našich datech jsme tedy s větší silou než v již publikovaných datech potvrdili signifikantní pokles hladiny celkového plazmatického cysteinu u těhotných žen oproti ženám netěhotným.

Závěry

Fyziologická těhotenství

1. Stanovili jsme hodnoty celkového plazmatického cysteinu v krvi těhotných v 19.-21. týdnu těhotenství a v 30.-31. týdnu těhotenství.
2. Prokázali pokles celkového plazmatického cysteinu v krvi normotenzních těhotných ve třetím trimestru oproti trimestru druhému.
3. Sestavili jsme lineární regresní model hladiny celkového plazmatického cysteinu v krvi těhotných žen. Vyslovili

jsme předpoklad, že konzumpce cysteinu plodem může být chybějící vysvětlující veličinou v námi sestavovaném lineárním regresním modelu hladiny celkového plazmatického cysteinu a cystein může být pro plod esenciální aminokyselinou.

Těhotné versus netěhotné

1. Ověřili jsme, že hladina celkového plazmatického cysteinu u těhotných je signifikantně nižší než u netěhotných.

Preeklampsie

1. Porovnali jsme hladiny celkového plazmatického cysteinu v krvi normotenzních těhotných a těhotných s následným rozvojem preeklampsie. Vyslovili jsme hypotézu asociace nárůstu nebo nedostatečného poklesu hladiny celkového plazmatického cysteinu v průběhu těhotenství s rizikem následného rozvoje preeklampsie.

Použitá literatura

- 1) KRIJT J, VACKOVA M, KOZICH V. Measurement of Homocysteine and Other Aminothiols in Plasma: Advantages of Using Tris(2-carboxyethyl)phosphine as reductant compared with Tri-n-butylphosphine. *Clinical Chemistry*, 2001, vol.47, s. 1821-28.
- 2) GAULL G, STURMAN JA, RAIHA NC: Development of mammalian sulphur metabolism: absence of cystationase in human fetal tissues. *Pediatr Res*, 1972, vol. 6, s. 538-47.
- 3) RAIJMAKERS MTM, ZUSTERZEEL PLM, STEEGERS EAP, HECTORIS MPC, DEMACKER PNM, PETERS WHM. Plasma Thiol Status in Preeclampsia. *Obstet Gynecol*, 2000, vol. 95, s. 180-184.
- 4) AUBARD Y, DARODES N, CANTALOUBE M. Hyperhomocysteinemia and pregnancy – review of our present understanding and therapeutic implications. *Eur J Obstet Gynecol and reprod Biol*, 2000, vol. 93, s. 157-65.
- 5) WALKER MC, SMITH GN, PERKINS SL, KEELY EJ, GARNER PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1999, vol. 180, s. 660-64.
- 6) BONNETTE RE, CAUDII MA, BODDIE AM, HUTSON AD, KAUWELL GPA, BAILEY LB. Plasma homocysteine concentrations in pregnant and nonpregnant women with controlled folate intake. *Obstet Gynecol*, 1998, vol. 92, s. 167-70.
- 7) MALINOV MR, RAJKOVIC A, DUELL PB, HESS DL, UPSAON BM. The relationship between maternal and neonatal umbilical cord plasma homocysteine suggest a potential role for maternal homocysteine in fetal metabolism. *Obstet Gynecol*, 1998, vol. 178, s. 228-33.
- 8) HYJÁNEK J, ŽIVNÝ J, DOLEŽAL A, CALDA P, KROFTA L, VINGLEROVÁ H, JENÍČEK J, DVOŘÁKOVÁ J, BOČANOVÁ E, DUDKOVÁ V, DUBSKÁ L, PEJZNOCHOVÁ H, LOUČKA M, MARTINÍKOVÁ V, MACHÁČKOVÁ L, CABRNOCHOVÁ I. Homocysteinemie – její význam v gynekologii a porodnictví. *Čes Gynec*, 2000, vol.65, s. 406-12.
- 9) LOPEZ-QUESADA E, VILASECA MA, LAILLA JM. Plasma total homocysteine in uncomplicated pregnancy and in preeclampsia. *Eu J Obstet Gynecol Repr Biol*, 2003, vol. 108, s. 45-49.
- 10) RAIJMAKERS MTM, ZUSTERZEEL PLM, ROES EM, STEEGERS EAP, MULDER TPJ, PETERS WHM. Oxidized and free whole blood thiols in preeclampsia. *Obstet Gynecol*, 2001, vol. 97, s. 272-276.
- 11) No authors listed. Prevention of neural tube defects: result of the medical research council vitamin study. MRC vitamin study restudy research group. *Lancet*, 1991, vol. 338, s. 131-37.
- 12) VERKLEIJ-HAGOORT A, BLIEK J, SAYED-TABATABAEI F, URSEM N, STEEGERS E, STEEGERS-THEUNISSEN R. Hyperhomocysteinemia and MTHFR polymorphisms in association with orofacial clefts and congenital heart defects: a meta-analysis. *Am J Med Genet*, 2007, vol. 143, s. 952-60.
- 13) GODDJIN-WESSEL T, WOUTERS M, VANDERMOLEN E et al. Hyperhomocysteinemia – a risk factor for placental abruption or infarction. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*, 1996, vol. 66, s. 23-29.
- 14) VAN DER MOLEN E, VERBRUGGEN B, NOVAKOVA L. Hyperhomocysteinemia and other thrombotic risk factors in women with placental vasculopathy. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2000, vol. 107, s. 785-91.
- 15) NELEN WL, BLOM HJ, STEEGERS EA. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 2000, vol. 74, s. 1196-99.
- 16) RAY JG, LASKIN CA. Folic acid and homocysteine metabolic defects and the risk of placental abruption, preeclampsia and pregnancy loss: a systemic review. *Placenta*, 1999, vol. 20, s. 519-29.
- 17) WOUTERS MG, BOERS GH, BLOOM HJ et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexpected recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril*, 1993, vol. 60, s. 820-5.
- 18) QUERE I, BELLET H, HOFFER M, JANBON C, MARES P, GRIS JC. A woman with five consecutive fetal deaths: case report and retrospective analysis of hyperhomocysteinemia prevalence in 100 consecutive women with recurrent miscarriages. *Fertil Steril*, 1998, vol. 69, s. 152-4.
- 19) EL-KHAIRY L, UELAND PM, NYGARD O, REFSUM H, VOLLSET SE. Lifestyle and cardiovascular disease risk factors as determinants of total cysteine in plasma: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr*, 1999, vol. 70, s. 1016-24.
- 20) RAIJMAKERS MTM, ROES EM, STEEGERS EAP, VAN DER WILDT B, PETERS WHM. Umbilical cord and maternal plasma thiol concentrations in normal pregnancy. *Clinical Chemistry*, 2001, vol. 47, s. 749-751.
- 21) EL-KHAIRY L, VOLLSET ES, REFSUM H, UELAND PM. Plasma total cysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr*, 2003, vol. 77, s. 467-72.

- 22) HUBEL CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1999, vol. 222, s. 222-235.
- 23) DAVIDGE ST. Oxidative stress and altered endothelial cell function in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol*, 1998, vol. 16, s. 65-73.
- 24) RAY JG, LASKIN CA. Folic acid and homocysteine metabolic defects and risk of placental abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss: systematic review. *Placenta*, 1999, vol. 20, s. 519-29.
- 25) RAJKOVIC A, CATALANO P, MALINOW MR. Elevated homocysteine levels with preeclampsia. *Obstet Gynecol*, 1997, vol. 90, s. 168-71.
- 26) VOLLSET SE, REFSUM H, IRGENS LM, EMBLEM BM, TVERDAL A, GJESSING HK, MONSEN ALB, UELAND PM. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr*, 2000, vol. 71, s. 962-8.
- 27) COTTER AM, MOLLOY AM, SCOTT JM, DALY SF. Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: a risk factor for the development of severe pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, vol. 185, s. 781-5.
- 28) COTTER AM, MOLLOY AM, SCOTT JM, DALY SF. Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: a risk factor for the development of nonsevere pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 2003, vol. 189, s. 391-4.
- 29) VÍŠEK JÁ. The least trimmed squares. Sensitivity study. *Proceedings of the Prague Stochastics 2006*, eds. Hušková M, Janžura M. Matfyzpress. s. 728-738.
- 30) SOGHIER LM, BRION LP. Cysteine, cystine or N-acetylcysteine supplementation in parenterally fed neonates. *The Cochrane Library*, 2006, vol. 4, s. 1-27.
- 31) POWERS RW, MAJORS AK, KERCHNER LJ, CONRAD KP. Renal handling of homocysteine during normal pregnancy and preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig*, 2004, vol. 11, s. 45-50.

Seznam publikací doktoranda

- 1) VÍŠKOVÁ H, VESELÁ K, JANOŠÍKOVÁ B, KRIJT J, VÍŠEK JA, CALDA P. Plasma cysteine concentrations in uncomplicated pregnancies. *Fetal Diagnosis and Therapy*, 2007, vol.22, no. 4, s. 254-258. **IF=0,761**
- 2) VÍŠKOVÁ H, CALDA P, ŽIŽKA Z, VANĚČKOVÁ M, HOZA D, ZUNTOVÁ A. Prenatal Diagnosis of Occipital Dermal Sinus Associated with Hemangioma Using Ultrasound and MRI. *Fetal Diagnosis and Therapy*, 2006, vol. 21, s. 232-234. **IF=0,761**
- 3) ŽIŽKA Z, CALDA P, FAIT T, HAAKOVÁ L, KVASNIČKA J, VÍŠKOVÁ H. Prenatally diagnosable differences in the cellular immunity of fetuses with Down's and Edwards' syndrome. *Fetal Diagnosis and Therapy*, 2006, vol. 21, s. 510-514. **IF=0,761**
- 4) VÍŠKOVÁ H, CALDA P. Ultrazvukové vyšetření v termínu porodu. In CALDA P. *Ultrazvuková diagnostika v těhotenství*. Praha: Aprofema s.r.o., 2007. 90-95 s.
- 5) CALDA P, VÍŠKOVÁ H, BEZDÍČKOVÁ D, ZIMA T. Prenatální diagnostika v prvním trimestru gravidity v klinické praxi. *Časopis Lékařů českých*, 2006, roč. 145, č. 7, s. 575-577.
- 6) CALDA P, VÍŠKOVÁ H. Screening vrozených vývojových vad a Downova syndromu v prvním trimestru těhotenství. *Nemocnice*, 2006, č. 5, s. 10-12.
- 7) CALDA P, VÍŠKOVÁ H. Ultrazvuk v diagnostice hypoxie plodu. *Moderní Gynekologie a Porodnictví*, 2005, roč. 14, č. 3, s. 383-392.
- 8) CALDA P, VÍŠKOVÁ H, DRAHORÁDOVÁ P, ŽIŽKA Z. Outcome of gestation after selective fetocide of one malformed fetus in the second trimester of pregnancy. In Book of abstracts, Atheny, 2005, s. 23-23.
- 9) CALDA P, VÍŠKOVÁ H. Příliš mnoho možností jak screenovat populaci na výskyt Downova syndromu - aneb jak invazivní diagnostika ovlivňuje výsledky prenatální péče (Kontroverze v gynekologii a porodnictví.). *Moderní Gynekologie a Porodnictví*, 2004, roč. 13, č. 1, s. 118-120.
- 10) VÍŠKOVÁ H, VACKOVÁ J, VRÁNOVÁ V, CALDA P. Jsou informace, které poskytujeme těhotným ženám před invazivním prenatálním vyšetřením, dostatečné? *Česká gynekologie*, 2004, roč. 69, č. 1, s. 33-36.
- 11) VÍŠKOVÁ H, CALDA P, ŽIŽKA Z, JIRÁSEK JE, KOFER J, GERYCH P. Thrombocytopenia with absent radius (TAR) syndrome – four consecutive pregnancies in one family. *Clin. Pract. Rev.*, 2004, vol. 5, s.254-257.

- 12) VÍŠKOVÁ H, CALDA P. Indikace a výkony prenatalní diagnostiky v osmi centrech v České republice v letech 2002-2003. *Česká Gynekologie*, 2004, roč. 69, č. 5, s. 352-357.
- 13) CALDA P, VÍŠKOVÁ H. Monitoring of amniocentesis use in the czech population. *Fetal Diagnosis and Therapy*, 2003, roč. 18, . Suppl. 1, s. 39-40. (abstrakt)
- 14) VÍŠKOVÁ H, CALDA P. Prenatální screening a diagnostika nejčastějších patologií plodu. *Moderní Gynekologie a Porodnictví*, Roč. 12, č. 2 (2003), s. 239-248.
- 15) KOUCKÝ M, CALDA P, ŽIŽKA Z, VÍŠKOVÁ H. Nosní kost ve screeningu Downova syndromu (Konference gynekologů zabývajících se ultrazvukovou diagnostikou. Olomouc, 26.-27.9.2003. *Gynekolog*, 2003, roč. 12, č. 4 s. 180-180. (abstrakt)
- 16) VÍŠKOVÁ H, CALDA P, ŽIŽKA Z, JIRÁSEK JE, KOFER J, GERYCH P. TAR syndrom - čtyři po sobě jdoucí těhotenství v jedné rodině (Konference gynekologů zabývajících se ultrazvukovou diagnostikou. Olomouc, 26.-27.9.2003. *Gynekolog*, 2003, roč. 12, č. 4, s. 185-185. (abstrakt)
- 17) VÍŠKOVÁ H, CALDA P. Prenatální screening vrozených vývojových vad plodu. *Moderní Gynekologie a Porodnictví*, 2002, roč. 11, č. 2, s. 166-173.
- 18) CALDA P, ŽIŽKA Z, VÍŠKOVÁ H. Ultrazvuková diagnostika a léčba plodu. In PARÍZEK A, et al. *Porodnická analgezie a anestezie*. Praha: Grada, 2002. s. 66-71.
- 19) VÍŠKOVÁ H, CALDA P. Benzylamin a možnosti jeho využití v gynekologii. *Moderní Gynekologie a Porodnictví*, 2001, roč.10, Suppl.č. 3, s. 376-381.
- 20) VÍŠKOVÁ H, CALDA P. Benzylamin a možnosti jeho využití v gynekologii. (3. sjezd SSG ČR, Brno, květen 2001. Abstrakta.) *Praktická Gynekologie*, 2001, roč. 5, č. 5, s. 8-9.