

1.lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

**Vyšetřování poruch štítné žlázy v těhotenství a stanovení  
referenčních intervalů užívaných laboratorních  
tyroidálních markerů**

(Disertační práce)

**Ing. Drahomíra Springer**

**Praha 2009**

1. lékařská fakulta Univerzity Karlova v Praze  
Ústav klinické biochemie a lékařské diagnostiky  
Vedoucí práce: Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc.  
Autor: Ing. Drahomíra Springer

#### Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracovala samostatně, pouze na základě uvedené literatury a s využitím zmíněných metodik. Příložené práce obsahují výsledky vlastních experimentů a pozorování, které jsou uvedeny v kapitolách METODIKA a VÝSLEDKY. V průběhu klinického pozorování byly respektovány etické normy a práva pacientů. Získaná data budu archivovat po dobu 5 let. Souhlasím s využitím této práce pro studijní účely.

Praha 26.7.2009

.....

## Poděkování

Chtěla bych poděkovat především svému školiteli prof. MUDr. Tomáši Zimovi, DrSc, za vedení celého postgraduálního studia a cenné připomínky a podnětné návrhy ke zpracování této práce i dalších studií. Dále děkuji doc. MUDr. Zdeně Límanové, CSc. za stálou odbornou podporu a možnost léčebné návaznosti pro těhotné s poruchou funkce štítné žlázy, které byly zachyceny v naší studii. Mé poděkování patří i dalším endokrinologům, kteří byli a jsou ochotni přednostně přijímat a léčit tyto těhotné. Chci poděkovat i všem porodním asistentkám, odběrovým sestrám a laborantkám, které pomáhaly při informování těhotných a získávání jejich písemného souhlasu a se zpracováním získaného materiálu.

# 1. Obsah

1. Obsah .....	4
2. Zkratky .....	6
3. Štítná žláza.....	8
3.1. Regulace štítné žlázy .....	8
3.2. Vyšetření štítné žlázy.....	9
3.2.1. Somatické vyšetření.....	9
3.2.2. Laboratorní vyšetření.....	9
3.2.3. Další vyšetření .....	10
3.2.4. Screening kongenitální hypotyreózy .....	10
3.3. Poruchy funkce štítné žlázy .....	10
3.3.1. Choroby z nedostatku jódu .....	11
3.3.2. Hypofunkce .....	12
3.3.3. Hyperfunkce, tyreotoxikóza .....	12
3.3.4. Záněty štítné žlázy .....	13
3.3.5. Ostatní choroby štítné žlázy .....	13
3.4. Štítná žláza v těhotenství .....	14
3.4.1. Změny hladin hormonů .....	14
3.4.2. Poruchy funkce štítné žlázy u těhotných žen.....	14
3.4.2.1. Hypotyreóza v těhotenství.....	14
3.4.2.2. Hypertyreóza v těhotenství.....	15
3.4.2.3. Poporodní tyreoiditida .....	17
3.4.3. Hyperemesis gravidarum.....	17
3.4.4. Vliv hormonů štítné žlázy na vývoj plodu.....	18
3.4.5. Potřeba jódu v těhotenství .....	19
3.4.6. Používané parametry funkce štítné žlázy v těhotenství.....	19
3.4.7. Štítná žláza a reprodukce .....	20
3.5. Referenční intervaly .....	20
3.5.1. Doporučení IFCC o referenčních intervalech.....	20
3.5.2. Soudobá koncepce stanovení referenčních intervalů .....	21
3.5.3. Rozhodovací limity .....	22
3.5.4. Referenční intervaly v těhotenství.....	23
3.6. Věk jako faktor poruch funkce štítné žlázy .....	23
3.7. Analytika tyreoidálních hormonů.....	24
3.7.1. Imunoanalytické metody .....	24
3.8. Problematika všeobecného vyšetřování v těhotenství.....	26

3.8.1. Provádění screeningu vrozených vývojových vad .....	26
3.8.2. Vyšetřování poruch funkce štítné žlázy v těhotenství.....	27
4. Cíle .....	29
5. Materiál a metody.....	30
5.1 Studovaná skupina žen .....	30
5.2. Immunoanalytické metody .....	31
5.2.1. Stanovení TSH, FT4 a anti-TPO .....	31
5.2.2. Stanovení free $\beta$ hCG .....	33
5.3. Statistické hodnocení.....	33
6. Výsledky.....	34
6.1. Suprese TSH vysokou hladinou hCG.....	34
6.2. Referenční intervaly a rozhodovací limity v 1.trimestru těhotenství.....	35
6.2.1. Stanovení referenčního intervalu pro TSH.....	35
6.2.2. Stanovení referenčního intervalu pro FT4.....	35
6.2.3. Stanovení rozhodovacího limitu pro anti TPO.....	36
6.3. Detekce tyroidálních poruch v těhotenství v České populaci.....	37
6.3.1. Rozložení diagnóz ve skupině těhotných žen.....	39
6.3.2. Pozitivita anti-TPO protilátek u žen s vysokou hladinou TSH .....	40
6.4. Vliv věku ve skupinách s pozitivními anti-TPO protilátkami a vysokým TSH.....	41
7. Diskuse .....	43
7.1. Výběr parametrů pro hodnocení funkce štítné žlázy .....	43
7.2. Suprese TSH vysokou hladinou hCG.....	43
7.3 Referenční intervaly a rozhodovací limity v 1.trimestru těhotenství .....	44
7.4 Detekce poruch funkce štítné žlázy v těhotenství v České republice.....	46
7.5. Vliv věku těhotných na pozitivitu anti-TPO protilátek a hladinu TSH.....	48
8. Závěry.....	50
9. Souhrn.....	53
10. Literatura .....	54
11. Přílohy .....	61

## 2. Zkratky

ACTH	adrenokortikotropní hormon
AFP	alfa 1 fetoprotein
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alaninaminotransferáza
AST	aspartátaminotransferáza
anti -TPO	protilátky proti peroxidáze štítné žlázy
anti Tg	protilátky proti tyreoglobulinu
DS	Downův syndromu
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FNAB	aspirační biopsie štítné žlázy tenkou jehlou
FPIA	fluorescenční polarizační imunoanalýza
FSH	folikulostimulační hormon
FT4	volný thyroxin
FW	sedimentace erytrocytů
free $\beta$ hCG	volná beta podjednotka hCG
GC-MS	plynová chromatografie a hmotnostní spektrometrie
GB	Graves -Basedowova tyreotoxikóza
hCG	lidský choriogonadotropin
ICHS	ischemická choroba srdeční
IQ	inteligentní kvocient
IVD	in vitro diagnostika
LD	laktátdehydrogenáza
LH	luteinizační hormon
M	aritmetický průměr
Mdn	medián
N	počet vyšetření
NT	nuchální translucence, šíjové projasnění plodu
NACB	National Academy of Clinical Biochemistry
PAPP-A	plazmatický protein A spojený s těhotenstvím
RIA	radioimunoanalýza
SD	směrodatná odchylka

T3	trijodtyronin
T4	tyroxin
TG	tyreoglobulin
TBG	thyroxin binding globulin
TRH	tyreoliberin
TSH	tyroidu stimulující hormone, tyreotropin
TUS	ultrazvukové vyšetření štítné žlázy
VVV	vrozené vývojové vady
VZP	Všeobecná zdravotní pojišťovna

### 3. Štítná žláza

Štítná žláza patří k nejvýznamnějším žlázám s vnitřní sekrecí, jejíž dva laloky leží po stranách štítné chrupavky hrtanu. Oba laloky jsou spojeny úzkým můstkem žlázové tkáně. Štítná žláza je složena z folikulů, jejichž stěny tvoří buňky produkující hormony tyroxin (T4) – denně zhruba 80 µg, a trijódtyronin (T3) – denně asi 20 µg. T3 ovlivňuje tělesný růst a diferenciaci, mnohostranně působí na metabolismus. Za vlastní účinný hormon je považován T3, zatímco T4 přísluší funkce prohormonu (38).

Účinky hormonů štítné žlázy mají vliv na celý organismus. Největší vliv mají na glukózový, lipidový i proteinový metabolismus, gastrointestinální systém, na vývoj organismu a nervovou činnost. Zvyšují úroveň bazálního metabolismu a spotřebu kyslíku většiny tkání, ovlivňují látkovou přeměnu živin a potencují účinek jiných hormonů, jako jsou katecholaminy (např. adrenalin) nebo kortizol (příloha 1).

#### 3.1. Regulace štítné žlázy

Regulace probíhá po ose hypotalamus–adenohypofýza–štítná žláza. Z hypotalamu se uvolňuje neurosekreční hormon tyreoliberin (TRH), jehož sekrece je tlumena vysokými hladinami trijódtyroninu a tyroxinu v krvi (53). TRH uvolní tyreotropin (TSH) z předního laloku hypofýzy (adenohypofýzy). TSH se váže na své receptory na membráně tyreocytu, jeho sekrece se inhibuje somatostatinem.

Hypotalamus zabezpečuje integrační kontrolu činnosti autonomního nervového systému a endokrinního systému. Obecně je činnost hypotalamu spojována s řízením základních životních funkcí, které udržují stálost vnitřního prostředí organismu, a s řízením určitých emočních projevů chování. Regulační hormony jsou vyplavovány v pulzech a krví hypofyzárních portálních vén jsou transportovány do adenohypofýzy, kde regulují množství tropinů produkovaných žlázovými buňkami (mimo TSH jsou to adrenokortikotropní hormon – ACTH, folikulostimulační hormon – FSH a luteinizační hormon – LH). (Příloha 2)

Hypotalamus citlivě reaguje na množství hormonů přítomných v oběhu. Když hladina hormonů štítné žlázy klesne pod určitou úroveň, uvolní hypofýza do oběhu TSH, který stimuluje štítnou žlázu k syntéze a produkci většího množství hormonů. Když je hladina T3 a T4 dostatečná, sníží hypofýza sekreci TSH a štítná žláza redukuje množství vylučovaných hormonů.



### 3.2. Vyšetření štítné žlázy

Při stanovení správné diagnózy je vhodné provést nejprve podrobné somatické vyšetření, ze zobrazovacích technik je nejužívanější ultrazvukové vyšetření. Cytologické vyšetření materiálu odebraného při aspirační biopsii štítné žlázy tenkou jehlou (FNAB) je již naprosto pravidelnou součástí komplexního tyreoidologického diagnostického postupu. Velmi významnou součástí je i laboratorní vyšetření, které slouží nejen ke stanovení diagnózy, ale také ke kontrole léčby. Výsledky laboratorních vyšetření mají sloužit k orientaci a k hodnocení stavu pacienta. U mnoha látek je významná dynamika jednotlivých vyšetření. Vzhledem k tomu, že referenční meze se u jednotlivých metod mohou lišit, je vhodné pro sledování dynamiky využívat služeb jen jedné laboratoře. Velkou výhodou tohoto onemocnění je ale fakt, že ho lze při včasné diagnóze poměrně nenáročně a velmi úspěšně léčit (38).

#### 3.2.1. Somatické vyšetření

Při vyšetření štítné žlázy je nezbytná dobrá anamnéza. Důležité jsou informace o změně váhy, změření pulzu nejen vsedě, ale i vleže po zklidnění. Velký systolicko – diastolický rozdíl podporuje diagnózu hypertyreózy stejně jako změny chování pacienta: agitovanost, logorea, těkavost a zpomalenost podporuje diagnózu hypertyreózy. Hlas u hypertyreózy může být třesavý, přeskakující, u hypotyreózy je naopak hrubý, někdy s neobratnou artikulací. Přítomnost ekzémů podporuje autoimunitní etiologii. U hypotyreózy bývá často suchá pokožka, u plně rozvinuté formy je pokožka bledá až voskově nažloutlá. Ochlupení může být u hypotyreózy prořídle, nekvalitní jemné vlasy našedlé barvy, bez lesku. Funkční změny bývají provázeny očními příznaky: otoky horních víček provázejí hypotyreózu. Svalstvo bývá u rozvinuté hypotyreózy tuhé, často bolestivé, u tyreotoxikózy lze pozorovat svalovou hypotrofii (64).

#### 3.2.2. Laboratorní vyšetření

V základním laboratorním vyšetření existuje nápadně vysoká sedimentace – FW (někdy i nad 100/h ) pouze u akutní a subakutní tyreoiditidy. U ostatních tyreoidálních onemocnění nejsou změny FW obvyklé. Anémie bývá častá u hypotyreózy. Mírná hyperglykémie může být důsledkem hypertyreózy. Snížení magnézia v krvi je jeden ze

symptomů hypertyreózy. Časté jsou změny v hladinách cholesterolu, AST a ALT jak u hypotyreózy, tak u hypertyreózy (64). (Příloha 2)

Odběr krve ke stanovení tyreoidálních hormonů lze provést i v průběhu dne, pokud je vyšetřovaný bez medikace. Pokud pacient léky užívá, má být krev ke stanovení TSH, T3 či T4 odebrána až za 24 hodin od poslední aplikace léku (38).

### 3.2.3. Další vyšetření

Ultrasonografie štítné žlázy je nedílnou součástí tyreoidálního vyšetření, poskytuje informace o velikosti, uložení, vztahu k okolním strukturám a pohyblivosti štítné žlázy. Dále pak o přítomnosti uzlů, jejich charakteru, i o celkové struktuře tkáně tyreoidy. Velký význam má ultrasonografie štítné žlázy při neonatálním vyšetření, kdy potvrdí případnou atyreózu, či další odchylky u novorozenců. Její význam spočívá i v tom, že je zde možnost opakovaného vyšetření bez rizika a není potřeba zvláštní přípravy pacienta k výkonu.

Aspirační biopsie štítné žlázy se provádí ambulantně, lokální anestéze není nutná. Kromě krvácivých stavů výkon nemá kontraindikace. Používá se tenká jehla a aspirovaný materiál je hodnocen jak makroskopicky, tak i cytologicky. Zpracovává se jako hematologický nátěr. Výkon je nenáročný, snadno opakovatelný a měl by být indikován u všech nejasných nálezů na štítné žláze (38).

### 3.2.4. Screening kongenitální hypotyreózy

Pátý den po narození se provádí odběr krve z paty novorozenců pro přímé stanovení TSH většinou v suché kapce krve na filtračním papíře. V naší republice se toto vyšetření provádí ve dvou centrech a to již od 70. let minulého století.

U hodnot vyšších než 20 mU/L je nutné provést kontrolní odběr a opakovat stanovení. Koncentrace TSH 50 – 100 mU/L jsou hodnoceny jako vysoce rizikové a TSH vyšší než 100 mIU/L svědčí pro kongenitální hypotyreózu (38).

## 3.3. Poruchy funkce štítné žlázy

Jako většina orgánů v lidském těle i štítná žláza trpí celou řadou chorob od prostého zvětšení, přes zvýšení a sníženou činnost různého původu až po záněty a nádory. Onemocnění štítné žlázy patří mezi nejčastější endokrinopatie. Porucha funkce postihuje 5 - 7 % populace s výrazně nerovnoměrnou distribucí, ženy jsou postiženy častěji než muži (poměr 6-8:1) a

výskyt se s věkem zvyšuje, např. ženy nad 45 – 50 let jsou postiženy v 15 – 20 %. Funkční postižení, především hypotyreóza, probíhá velmi často nepozorovaně. Mezi projevy poruchy funkce štítné žlázy patří únava, snížená výkonnost, spavost, sklon k depresím, suchá kůže. Důsledky neléčené hypotyreózy jsou závažné: jsou spojeny s poruchami lipidů, což ve svých důsledcích vede k rozvoji aterosklerózy a ischemické choroby srdeční (ICHS), zhoršuje se celková kvalita života. Včasná diagnóza a adekvátní léčba omezují výrazně vliv dlouhodobých komplikací, zkvalitní a zlevní léčbu základního onemocnění a významnou měrou přispívají ke kvalitě života těchto žen (64).

U onemocnění štítné žlázy existuje genetická predispozice k familiárnímu výskytu některých chorob až ve 40%. Virové či jiné infekční onemocnění a některé léky mohou iniciovat tyreotoxikózu i hypotyreózu. Stres a vysoká psychická zátěž často předchází tyreotoxikóze Graves – Basedowova typu, těhotenství může aktivovat autoimunitní tyreoidální poruchy (32).

### *3.3.1 Choroby z nedostatku jódu*

Jednou z příčin poruch štítné žlázy může být nedostatek jódu. Dříve toto onemocnění postihovalo většinu obyvatel určitých regionů. Závažný nedostatek jódu, že vedl mnohdy k poruchám vývoje dítěte v děloze matky a k narození těžce postiženého jedince, tzv. kreténismu. Odhaduje se, že celosvětově se dosud rodí asi 100 tisíc takto postižených dětí ročně. I mírnější stupeň nedostatku jódu však negativně ovlivňuje správný růst a vyžívání lidského organismu, takže vznikají poruchy plodnosti, komplikace v průběhu těhotenství a zvýšená novorozenecká a kojenecká úmrtnost. Plošný mírný nedostatek jódu pravděpodobně snižuje celkovou tělesnou i duševní kvalitu obyvatelstva v celých velkých regionech. Zvětšení štítné žlázy neboli struma může mít kromě nedostatku jódu celou řadu dalších příčin, na základě kterých se mohou projevovat její různé choroby. Choroby z nedostatku jódu je možno zvládnout jeho zvýšeným příívodem do organismu. Významným zdrojem jódu jsou mořské ryby a další mořské produkty. U nás je hlavním zdrojem jódu jodizovaná sůl (63).

Struma – zvětšení štítné žlázy - je označením pro poruchu její funkce, obvykle jako důsledek nedostatečného příjmu jódu. Pokud zvětšení postihuje celou štítnou žlázu, jedná se o difúzní strumu, pokud se ve žláze vytváří jeden nebo více uzlů, pak se jedná o strumu uzlovou. Vyšetření strumy a určení její povahy je úkolem lékaře, který provede vyšetření od analýzy krve a sonografického vyšetření krku, až po punkci štítné žlázy tenkou jehlou. Léčba strumy závisí na příčině. Některé její formy jsou léčitelné medikamentózně, v některých

případech je nutno přistoupit k léčbě chirurgické. Ta spočívá v odstranění celé štítné žlázy nebo její části. Operací léčba nekončí a je nutné pravidelné, nepřetržité sledování pacienta. Po odstranění celé žlázy nebo její většiny je nutno její činnost nahradit podáváním hormonů v lékové formě (16, 38).

### 3.3.2 Hypofunkce

Nedostatek hormonů štítné žlázy se projevuje zpomalením prakticky všech dějů v organismu. Může být spojena se zvětšením štítné žlázy, ale častěji je štítná žláza nehmátná a někdy zcela chybí. Nejčastější příčinou je chronický zánět, který žlázu postupně poškozuje a ničí. Nezanedbatelnou příčinou jsou předchozí operace štítné žlázy, eventuálně léčba radiojódem. Hypotyreóza může vznikat i dlouhá léta po léčebných zákrocích, proto musí být tito pacienti trvale sledováni. K základním příznakům hypotyreózy patří únava, zimomřivost, spavost, celková zpomalenost a snížená výkonnost tělesná i duševní. Pacient může mít sklon k zácpě a nadýmání, stěhovavé bolesti svalů a kloubů, pocity těžkého a neohrananého jazyka. Dochází ke zpomalení srdečního tepu a četným změnám laboratorních nálezů v krvi. Z obvyklých testů se zjišťuje zvýšení celkového cholesterolu a dalších lipidů, kreatinkinázy, AST, ALT a LD. ALP bývá snížena. U většiny nemocných s dlouhodobou hypotyreózou jsou výrazně zvýšeny hladiny sérového myoglobinu. Řada z nich má zvýšený cholesterol, což vede k podezření na celkovou arteriosklerózu a nemocní jsou někdy dlouhodobě léčeni právě pro tuto chorobu. Hypotyreóza je úspěšně léčena substitucí tyreoidálních hormonů, pravidelné sledování jejich hladin je nezbytností (38).

### 3.3.3. Hyperfunkce, tyreotoxikóza

Příčiny hyperfunkce štítné žlázy mohou být různé. K nejčastějším patří stimulace žlázy při chronickém autoimunitním postižení, kdy je štítná žláza drážděna ke zvýšené činnosti. Dále může jít o nezávislou (autonomní) funkci části štítné žlázy, obvykle uzlu, jejíž činnost překračuje potřeby organismu.

Nemocný je překotný, předrážděný, trpí nespavostí, pocity horka, více se potí, stěžuje si na bušení srdce, jeho váha klesá i při dobré chuti k jídlu a zvýšeném příjmu potravy, časté jsou průjmy. Později se objevuje svalová slabost, postižený obtížně nastupuje do autobusu, jde do schodů atd. V některých případech se objevují oční příznaky – pálení v očích, slzení, dvojité vidění, protruze bulbů. Typické jsou změny mnoha laboratorních nálezů včetně

zvýšené hladiny hormonů štítné žlázy. Struma je většinou přítomna. Po zjištění diagnózy lékař zahájí podávání léků, které činnost štítné žlázy tlumí. Ty vedou po dvou až čtyřech měsících k úpravě chorobných příznaků a změn. Někdy jejich dlouhodobé podávání chorobu zcela zvládne. Jindy je pro zklidnění nutno odstranit štítnou žlázu nebo její část chirurgicky. Po úspěšné chirurgické léčbě je rovněž nutno pacienta nadále sledovat, protože může dojít k obnovení strumy, opakovaným projevům zvýšené činnosti nebo poklesu funkce až do jasné hypotyreózy (38).

### *3.3.4 Záněty štítné žlázy*

Tyto záněty byly donedávna považovány za vzácné choroby. Dnes je však jasné, že v oblastech s dostatečným přísunem jódu do organismu jsou nejčastějšími chorobami štítné žlázy vůbec. Postihují 2 – 3 % celkové populace, u žen středního a vyššího věku jsou podstatně častější. Hypotyreóza vzniká nejčastěji právě na základě chronických zánětů. Zánětů štítné žlázy je celá řada. Subakutní zánět vzniká náhle, obvykle v návaznosti na běžné chřipkové onemocnění. Projevuje se výraznými místními příznaky (bolesti na krku, které často přecházejí do ucha nebo do zubů) i celkovými (celková schvácenost, horečky, bušení srdce atd.). Tento zánět je obvykle pouze přechodný, může se však při častých infektech opakovat. Většinou nevede k trvalé poruše funkce štítné žlázy. Daleko častější jsou záněty chronické na autoimunitním základě, které vznikají postupně. Nemusí se vůbec projevovat bolestmi na krku. Vedou ke zvětšení štítné žlázy, jindy naopak k jejímu postupnému zmenšení. Často se vyvíjí hypotyreóza. Vzhledem k pomalému vývoji onemocnění pacient často uvykne na příznakové potíže a ani nevyhledává včas lékaře. Léčba je odlišná u subakutních a u pomalu se rozvíjejících chronických forem. Základem je podávání hormonů štítné žlázy tam, kde dochází k oslabení její funkce. Tato léčba obvykle vede i k ústupu strumy, pokud je přítomná (2).

### *3.3.5. Ostatní choroby štítné žlázy*

Štítná žláza může být postižena vrozenými poruchami, může být poškozena zářením (např. při ozařování v oblasti krku nebo hrudníku při léčbě jiných chorob), vzácněji i podáváním léků. Závažné jsou nádory štítné žlázy. Projevují se obvykle vznikem uzlu na krku, někdy vedou ke zduření uzlin a jiným příznakům. V převážné většině případů jsou velmi dobře léčitelné kombinovanými léčebnými postupy pod vedením specializovaných

odborníků. Každý uzel ve štítné žláze nebo zvětšená uzlina by měly být vyšetřeny co nejdříve. Rozhodně ale zdaleka ne každý uzel je projevem nádoru štítné žlázy. Ve skutečnosti z celkového počtu uzlů je nádorové povahy mizivá část, v dospělém a starším věku pod 1 %.

(38).

### **3.4. Štítná žláza v těhotenství**

#### *3.4.1. Změny hladin hormonů*

Hormony štítné žlázy jsou důležitým faktorem diferenciací buněk během nitroděložního vývoje a krátce po narození, působí zvláště na vývoj mozku. V prvním trimestru gravidity dochází k vysokému nárůstu hladiny choriového gonadotropinu (hCG) v séru ženy. Ten je ve vysoké koncentraci stimulatorem tvorby tyreoidálních hormonů prostřednictvím receptorů pro TSH. Zvýšení hladiny hCG vede ke zvyšování produkce mateřského T4 a T3 v době kritického vývoje mozkové kůry (11. - 14. týden). Do 14. týdne je plod zcela závislý na matčině produkci tyroxinu, později jen částečně. Hypotyroxinémie matky nebo nedostatečný vzestup FT4 může vést k poruše správného vývoje mozkové kůry.

Během těhotenství může docházet ke zvýšení hladin T3 v průběhu třetího trimestru asi na 1,5 násobek normálních hodnot. V prvním týdnu po porodu klesají hladiny opět k normálu. U těhotných žen a u žen, které užívají léky zabraňující ovulaci, je možné při normální hladině TSH, přes zvýšení hladin T3 nebo T4, mluvit o eutyreóze (21).

#### *3.4.2. Poruchy funkce štítné žlázy u těhotných žen*

Samo těhotenství, ať již dokončené či přerušené, může iniciovat poruchu funkce štítné žlázy. Těhotenství je obdobím zvýšených nároků na endokrinní orgány včetně štítné žlázy (1). Zvyšuje se potřeba tyreoidálních hormonů, což je důsledkem transplacentárního přenosu hormonů štítné žlázy matky k plodu (33). Štítná žláza zdravé těhotné ženy s dostatečným přísunem jódu se na tyto požadavky adaptuje a je schopna tuto rovnováhu udržet až do porodu. Během těhotenství dochází k mnoha změnám ve funkci štítné žlázy a některá její onemocnění mohou ovlivňovat jak matku, tak vyvíjející se plod (20,26,28). (Příloha 1)

##### *3.4.2.1. Hypotyreóza v těhotenství*

U zdravých těhotných žen jejich štítná žláza zvládá zvýšené nároky během těhotenství a je schopna udržovat hladiny TSH i FT4 v běžných mezích. Nicméně u žen, jejichž štítná žláza má nějaká omezení, způsobená autoimunitním onemocněním nebo nedostatkem jódu, může dojít k rozvoji hypotyreózy (3,4,21,35). Klinické příznaky hypotyreózy jsou stejné jako u netěhotných, někdy je těžké tyto příznaky odlišit od nespecifických potíží provázejících normální těhotenství. Většina žen je bez příznaků a jediným nálezem je zvýšená hladina TSH při laboratorním vyšetření (51,59)

Nesprávná funkce štítné žlázy se může vyskytovat u plodu, u budoucí matky nebo u obou současně. Společné postižení matky i plodu se vyskytuje většinou pouze v případě jódového deficitu. Manifestní hypotyreóza u těhotných není obvyklá, subklinická forma, kdy je sérová hladina TSH zvýšená, ale FT4 je v referenčním rozmezí se vyskytuje u přibližně 2,5% těhotenství (4,49).

Při diagnostice hypotyreózy se vychází z hodnot TSH, FT4, protilátek proti tyroidální peroxidáze (anti-TPO) nebo i protilátek proti tyreoglobulinu (anti-Tg). Nově diagnostikované hypotyreózní těhotné se nasazuje plná substituční dávka levotyroxinu, u hypotyreózy na podkladě Hashimotovy tyroiditidy je dávka přibližně 1,9 ug/kg ideální tělesné váhy denně. U hypotyreózy na podkladě ablace štítné žlázy je obvykle třeba vyšší substituční dávka – přibližně 2,3 ug/kg. Ženám s hypotyreózou léčenou již před těhotenstvím potřeba levotyroxinu v těhotenství stoupá, dávku levotyroxinu je třeba upravit co nejdříve, pokud možno v prvním trimestru. Po porodu se dávka levotyroxinu vrací na úroveň před graviditou, TSH se kontroluje po 6 až 8 týdnech (59).

Těhotenská hypotyreóza je často autoimunitního původu. Neléčená hypotyreóza je spojena se závažnými komplikacemi, zvláště s preeklampsií a nízkou porodní váhou plodu, ale také s abrupcí placenty a častým výskytem spontánních potratů a perinatální úmrtností. Léčba L-tyroxinem výskyt těchto komplikací významně snižuje (14,16,37,45).

#### *3.4.2.2. Hypertyreóza v těhotenství*

Těhotenství ovlivňuje funkci štítné žlázy mnoha způsoby. Na počátku těhotenství se tvoří větší množství thyroxin binding globulinu (TBG) a tím se zvyšuje i koncentrace tyroxinu (T4). Vysoká hladina hCG na počátku těhotenství vede svým ovlivnění TSH receptorů k vyšší produkci FT4 a také k supresi TSH. Subklinická hypertyreóza má dlouhodobé následky jako je osteoporóza, kardiovaskulární onemocnění a možnost zvratu v manifestní hypertyreózu nebo selhání štítné žlázy. Pokud je subklinická hypertyreóza diagnostikována u těhotné, není

spojena se zhoršeným výsledkem těhotenství, jak plyne např. ze studie Casey (6), a není nezbytné ji tedy ani léčit. Výskyt manifestní hypertyreózy v těhotenství je uváděn asi 2 případy na 1000 těhotných (35).

Nejčastěji se v těhotenství vyskytují přechodná těhotenská tyreotoxikóza a tyreotoxikóza Graves -Basedowova typu (GB typu). Ostatní příčiny tyreotoxikózy jsou stejné jako v ostatní populaci (toxický adenom, multinodulární toxická struma, subakutní nebo silentní tyreoiditida, jódem indukovaná tyreotoxikóza, tyreotoxikosis factitia), ale v těhotenství jsou extrémně vzácné (4).

Anamnestická data a fyzikální nález hypertyreózy v těhotenství jsou stejné jako u netěhotných žen, rozpoznání je těžší pro podobnost příznaků tyreotoxikózy a normálního těhotenství (únava, palpitace, intolerance tepla). Užitečným příznakem je ztráta váhy nebo nedostatečné přibývání na váze přes zvýšenou chuť k jídlu (21).

Laboratorně se vychází ze suprese TSH, zvýšeného FT4, případně zvýšení FT3. V 1. trimestru v době vrcholné produkce choriového gonadotropinu (hCG) může být TSH přechodně suprimováno u 10-20% eutyroidních žen (19).

Přechodná těhotenská tyreotoxikóza je způsobená přímou stimulací štítné žlázy vlivem hCG, vyskytuje se u 3% evropských žen a u 11% asijských žen. Jedná se (jak již vyplývá z názvu) o přechodnou formu tyreotoxikózy, která se vyskytuje v první polovině gravidity, nemá autoimunitní etiologii a není spojena se zhoršenou prognózou pro matku ani pro plod. Přechodnou těhotenskou toxikózu je třeba odlišit od tyreotoxikózy GB typu, protože se liší jejich průběh, následky pro plod, léčba a sledování. V lehčích případech tato porucha nemusí být vůbec rozpoznána, nevyžaduje tedy ani žádnou léčbu. Hypertyreóza bývá popisována u žen s hydatidiformní molou, chirurgické odstranění moly vede k ústupu hypertyreózy (21).

Tyreotoxikóza GB typu je autoimunitního původu, vyskytuje se u 0,2% těhotných žen. Nedostatečně kontrolovaná GB toxikóza v těhotenství může být komplikována preeklampsií, potratem, předčasným porodem, abrupcí placenty, malformacemi a nízkou porodní váhou plodu. Možné je i srdeční selhání a nebo tyreotoxická krize matky. Dítě je ohroženo neonatální hypertyreózou, nezralostí, intrauterinní růstovou retardací. Pokud je diagnóza stanovena správně a včas zahájena léčba, je prognóza pro matku i plod výborná. U žen s anamnézou tyreotoxikózy GB typu je třeba pamatovat na to, že protilátky proti TSH receptoru mohou zůstat zvýšené i po předchozí tyreoidektomii, po ablaci štítné žlázy radiojodem nebo po léčbě tyreostatiky i několik let před otěhotněním. Proto je třeba u těchto žen stanovit protilátky proti TSH receptoru hned zpočátku gravidity. Tyreotoxikóza GB typu má tendenci se v průběhu těhotenství zmírňovat. Mezi důvody tohoto zmírnění patří změny imunitního



systému v těhotenství - snížení protilátek proti TSH receptoru a změny protilátek ze stimulujících na blokující. Blokující protilátky mohou dokonce vést k vývoji hypotyreózy v těhotenství. Vazebná kapacita bílkovin je v těhotenství zvýšená a ztráty jódu mohou být způsobené zvýšenou ledvinou clearance jódu. Tento relativní jodový deficit může být výhodný pro těhotné ženy s tyreotoxikózou GB typu (48).

Po porodu je pozorován častější začátek, recidiva nebo zhoršení tyreotoxikózy Graves-Basedow typu. Odlišení toxikózy Graves-Basedow vzniklé po porodu od tyreotoxikózy v rámci poporodní tyroiditidy může být těžké, provádí se stanovení protilátek proti TSH receptoru. Odlišení je důležité kvůli léčbě, protože tyreostatika nejsou indikována u žen s tyreotoxikózou na podkladě poporodní tyroiditidy, ale jsou lékem první volby u žen toxikózou Graves-Basedow (22).

#### *3.4.2.3. Poporodní tyreoiditida*

U mladých žen bez klinických příznaků poruchy funkce štítné žlázy se často vyskytují pozitivní anti-TPO protilátky. Tyto ženy jsou pak v nebezpečí, že se u nich může rozvinout v těhotenství rozvinout hypotyreóza. Ženy s autoimunitní chorobou štítné žlázy známou ještě před otěhotněním mají vyšší riziko nedostatečné funkce štítné žlázy během těhotenství a také vzniku poporodní tyroiditidy a měly by být sledovány pomocí TSH celé těhotenství (21,25,52).

Poporodní tyreoiditida je syndrom přechodné nebo trvalé poruchy funkce štítné žlázy, který se objeví v prvním roce po porodu a je způsoben autoimunitním zánětem štítné žlázy. Incidence poporodních tyroiditid se uvádí 5-9 % všech žen a hlavním rizikovým faktorem je přítomnost latentní autoimunitní tyroiditidy, která je charakterizovaná menší tuhou štítnou žlázou, často normálním sonografickým nálezem a přítomností anti-TPO a anti-Tg protilátek (22).

Lazarus (36) uvádí, že se poporodní tyroiditida nevyskytla u žen bez zvýšených protilátek proti štítné žláze, její výskyt byl pozorován u žen s pozitivními protilátkami v 50%. Z nich 19% žen prodělalo pouze hypertyreózní fázi, 49% pouze hypotyreózní fázi a 32% hypertyreózní fázi následovanou fází hypotyreózy. Poporodní tyroiditida přejde v trvalou hypotyreózu v 25-30% případů.

#### *3.4.3. Hyperemesis gravidarum*

Nausea a zvracení v těhotenství značně zhoršují kvalitu života až u 35 % gravidních žen, některé případy bez léčby progredují do hyperemesis gravidarum - nekontrolovatelné neustávající zvracení v těhotenství, které postihne až 20 z 1 000 těhotných.

Je zřejmé, že nausea a zvracení spouští některá látka, kterou tvoří placenta, ale není přesně známo, co způsobuje hyperemesis gravidarum. Z mnoha placentárních hormonů byla zjištěna souvislost jen u hCG a u estradiolu, a to ještě sporná. Větší pravděpodobnost jejího vzniku mají ženy s kinetózou, migrenózními bolestmi hlavy a obtížemi při užívání perorální antikoncepce (21).

U hyperemesis gravidarum s váhovým úbytkem je třeba vždy vyloučit tyreotoxikózu. Přechodnou hypertyreózu má 50 až 70 % žen s hyperemézí. Mezi tři nálezy, které ji obvykle odlišují od primárního postižení štítné žlázy, patří absence příznaků hypertyreózy před otěhotněním, nepřítomnost strumy a tyreoidálních protilátek a skutečnost, že trijodthyronin je méně často zvýšen než FT4. Příznaky hypertyreózy se kromě občasné tachykardie objevují vzácně. Jde o samoregulující stav, který je dán účinkem hCG na TSH receptory, a nevyžaduje antityreoidní léčbu. Vzhledem k tomu, že závažnost nausea a zvracení a koncentrace TSH vzájemně negativně korelují, znamená nepotlačená hodnota TSH, že nevolnost má jinou příčinu. Hodnota TSH vyšší než 2,0 mIU/l je u závažné nevolnosti v těhotenství vzácná (48).

#### *3.4.4. Vliv hormonů štítné žlázy na vývoj plodu*

Vliv těžkého jodového deficitu nebo vrozené hypotyreózy na plod a novorozence je dlouhodobě znám, stejně jako vliv těžké mateřské hypotyreózy. Závažnost, délka trvání a poporodní péče, to vše ovlivňuje vývoj fetálního a novorozeneckého mozku. Z mnoha současných studií ale plyne další závažný závěr, a to, že i mírná mateřská hypotyreóza může ovlivnit vývoj fetálního mozku (30,34,43).

Vývoj štítné žlázy plodu začíná mezi 10. a 12. týdnem těhotenství a končí až při porodu. Tyroxin není tvořen do 18. až 20. týdnem těhotenství. Thyroxin je přitom zásadně důležitý v mnoha aspektech vývoje mozku včetně neurogenese, migrace neuronů, formace axonů a dendritů, myelinizace, synaptogenese a regulace neurotransmiterů. K celému vývoji dochází během několika měsíců, ale kritické období je druhý trimestr těhotenství (34,43).

Na rozdíl od dřívějších tvrzení je nyní jasné, že tyreoidální hormony přechází placentou a je tedy možné je detekovat od 4. týdne těhotenství v tělní tekutině plodu, stejně jako v pupečnickové krvi novorozenců s nevyvinutou štítnou žlázou (50,53).

V roce 1999 testoval Pop mentální a psychomotorický vývoj u 10měsíčních dětí žijících v jodově dostatečně zásobeném prostředí (50). Zjistili, že u matek, jejichž hladina FT4 ve 12. týdnu těhotenství byla pod 10. percentilem, mají jejich děti zvýšené riziko zpožděného psychomotorického vývoje. Tyto matky měly také 3x vyšší pozitivitu protilátek než ostatní.

Ve stejném roce vyšetřil Haddow (20) některé děti z 25 tisíc zpětně vyšetřovaných těhotenství a zjistil, že děti matek, které v těhotenství trpěly neléčenou hypotyreózou, mají průměrně o 7 bodů nižší IQ. V souboru dětí neléčených matek bylo 19% těch, které měly IQ nižší než 85, přičemž ve skupině dětí matek zdravých, ale i léčených bylo jen 5% takových dětí. Pozitivní anti-TPO protilátky mělo 77% hypotyreózních matek a jen 14% žen v kontrolní skupině.

Během 1. trimestru je plod zcela závislý na tyroxinu produkovaném matkou. I malá nepoznaná porucha funkce štítné žlázy, která nemusí ohrozit průběh gravidity, může mít negativní vliv na psychomotorický vývoj dítěte. Včasná a správná diagnóza a léčba jsou spolehlivou prevencí následků.

#### *3.4.5. Potřeba jódu v těhotenství*

Buňka tyreoidy aktivně vychytává potřebný jód v podobě jodidového iontu z krve. Tento příjem je řízen tyreotropinem (TSH), který je produkován předním lalokem hypofýzy. Světová zdravotnická organizace (WHO) stanovila doporučený denní příjem jódu pro netěhotné a nekojící ženy starší 14 let na 150 mg jodu denně. Při příjmu menším než 50 mg/den není tyreoida schopna udržet přiměřenou hormonální sekreci, zvětšuje se a vzniká struma, někdy i hypotyreóza. Zásobní množství jódu je ve štítné žláze značné a je ochranou před obdobím eventuálního deficitu. V těhotenství stoupá potřeba jódu vzhledem k vyšší produkci tyroxinu, který je poskytován i plodu, v pozdějším stádiu těhotenství se pokrývá i potřeba plodu pro jeho vlastní produkci tyroidálních hormonů. Zvyšuje se pravděpodobně i renální clearance jódu. Pro těhotné ženy se tedy doporučená dávka zvyšuje na 250 mg jódu denně. Platí to v zemích, kde je dlouhodobě prováděna jodizace soli (10,64). Česká republika leží v oblasti, kde je jódu nedostatek, nicméně úprava kuchyňské soli je prováděna od padesátých let minulého století, takže lze populaci našich těhotných považovat za ženy s dobrým zásobením jódem, jak plyne i ze Zamrazilovy studie (62).

#### *3.4.6. Používané parametry funkce štítné žlázy v těhotenství*

Stanovení TSH je základní vyšetřovací metodou pro posouzení funkční poruchy štítné žlázy (příloha 1). Jeho regulace probíhá zpětnovazebně a uplatňují se tu další mechanismy, zvláště suprese TSH vysokými hladinami hCG (17,19). (Příloha 2)

Stanovení FT4 umožňuje zjistit množství biologicky dostupného tyroxinu pro těhotnou ženu i její plod a není ovlivněno koncentrací vazebných proteinů. Hladina FT4 je ovlivněna dostatečným množstvím jódu a také délkou těhotenství. V některých případech je význam FT4 vyšší než u TSH (12,31).

Anti-TPO protilátky jsou markerem autoimunitního procesu probíhajícího ve štítné žláze a jejich stanovení je diagnosticky i prognosticky velmi významné. Přítomnost anti-TPO protilátek v těhotenství také naznačuje nebezpečí výskytu poporodní tyreoidity, proto je vhodné dlouhodobé sledování pozitivních žen i po porodu (22,23).

### *3.4.7. Štítná žláza a reprodukce*

Choroby štítné žlázy mají úzký vztah k reprodukci. Zásadní význam má časná diagnostika a léčba tyreopatií při poruchách fertility u žen, zejména před in vitro fertilizací, a to jak z hlediska zdravotního, tak společenského a ekonomického. Autoimunitní tyroiditida může být i bez poruchy funkce štítné žlázy asociována s neplodností, opakovaným potrácením a selháním metod asistované reprodukce (39,57). Je známo, že hypo- i hypertyreóza mohou být příčinou sterility a poruch menstruačního cyklu. Autoimunitní tyroiditida je jedno z nejčastějších negynekologických onemocnění, které se vyskytuje u neplodných žen. Její výskyt je vyšší než pouhá porucha funkce štítné žlázy, a proto by mělo být rutinním vyšetřením u neplodných žen nejen vyšetření TSH, popřípadě volného tyroxinu, ale také vyšetření autoprotiátek proti štítné žláze (41). V případě positivity by mělo následovat vyšetření ženy endokrinologem, který by měl také zajistit další sledování a eventuální léčbu ženy před koncepcí, během gravidity i v následném období (11,37,48).

## **3.5. Referenční intervaly**

### *3.5.1. Doporučení IFCC o referenčních intervalech*

Soubor prací, který se zabývá důkladným popisem výběru referenčních jedinců, přípravou referenčních jedinců k odběru a odběrem vzorků, analytickou kontrolou, statistickým zpracováním dat a určením referenčních limitů, stejně jako vztahy mezi výsledky měření a referenčními hodnotami (54).

Klíčovým krokem určení referenčních intervalů je použití vhodného statistického programu k vyhodnocení výsledků měření referenčních jedinců a ustanovení referenčních intervalů. Programy statistického hodnocení referenčních intervalů mají umožnit vyloučení odlehlých dat, testování přítomnosti normálního rozdělení, postupy transformace dat na normální rozdělení, určení referenčních intervalů neparametrickými i parametrickými metodami a testování a také, nutnost rozdělit skupinu referenčních jedinců podle pohlaví nebo věku (56).

### *3.5.2. Soudobá koncepce stanovení referenčních intervalů*

Jednoznačně se doporučuje uvádět referenční interval jako hodnotu 2,5–97,5 percentilu. Obě krajní hodnoty intervalu – referenční limity – se vyjadřují s 90 % intervalem spolehlivosti. Nejvýznamnějšími poskytovateli referenčních intervalů se stali výrobci in vitro diagnostik (IVD) a hlavní činností klinických laboratoří v oblasti referenčních intervalů je validace a periodické prověřování jejich údajů. Výrobci IVD byl přijat názor, že cestou k dosažení obecně akceptovatelných hodnot referenčních intervalů je dosažení metrologické návaznosti výsledků měření (54).

Realizace doporučení IFCC je složitá, drahá a v současné době z ekonomických důvodů nepoužívaná. Určování referenčních limitů je nutno velmi úzce propojit s metrologií. Výsledky referenčních intervalů by měly být navázané na referenční materiály a metody, měly by být známé a dodržované požadavky na nejistotu měření a v klinických laboratořích by měly existovat funkční systémy řízení kvality nebo by laboratoře měly být akreditované. Směrnice 98/79 ES se týká výroby, prodeje a práce s přípravky určenými pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích. Ukládá výrobcům povinnost poskytovat data nejen o referenčních intervalech, ale také o referenční populaci, s jejíž pomocí byla data získána. Norma ISO 15189 ukládá klinickým laboratořím periodicky prověřovat referenční intervaly.

#### *3.5.2.1. Validace přenosu referenčních intervalů*

Přenositelnost hodnot referenčních intervalů mezi laboratořemi je základním problémem racionálního přístupu k analytickým datům, produkovaným klinickými laboratořemi. Existence přenositelnosti znamená zajištění kontinuální péče o pacienta bez ohledu na jeho pohyb mezi regiony. V praxi by to bylo možné zajistit snadno, právě pomocí dat výrobců IVD tedy jejich plnou přenositelností do laboratoří. Není jiné alternativy pro laboratoř, než právě těmito daty interpretovat výsledky svých měření u pacientů. Důsledné používání referenčních

intervalů poskytovaných výrobcí by mělo dostatečně zajistit i přenositelnost dat mezi laboratořemi (43).

Srovnatelnosti číselných hodnot výsledků lze dosáhnout pouze důslednou realizací návaznosti výsledků měření k příslušné referenci. Toho lze dosáhnout u 10–20 % analytů-složek biologických materiálů. U těch ostatních je nutné počítat s významnými rozdíly mezi produkty různých výrobců IVD, ale může být dosaženo srovnatelnosti číselných hodnot v rámci identických měřících systémů, pokud jsou dodrženy identické, tj. výrobcem předepsané měřící postupy.

Laboratoř má právo považovat referenční intervaly za validované, pokud uvedená data shledá dostatečnými a plně aplikovatelnými na cílovou populaci svých pacientů. Laboratoř má ovšem současně odpovědnost za učinění tohoto rozhodnutí.

#### *3.5.2.2. Rozdělení do podskupin*

Rozhodujícími faktory potenciálně ovlivňujícími referenční intervaly jsou pohlaví a věk. Další možné faktory (etnicita, životospráva a jiné) lze v prvním přiblížení pro většinu analytů zanedbat. Při určení referenčních intervalů se vždy nejprve analyzuje celá referenční populace bez rozlišování pohlaví a věku (to druhé platí ovšem jen pro dospělé jedince – referenční populace bývají obvykle složeny z jedinců mezi 17–60 lety věku). Teprve pak se provedou statistické testy, které určí, zda je nezbytné rozdělení souboru do podskupin podle pohlaví a věku nebo nikoliv. Principem testování je vyhodnocení významnosti diferencí dat v podskupinách. Ponechání souboru bez rozdělení je samozřejmě mnohem výhodnější a je vždy preferované. K dělení souboru do podskupin dochází tedy jen v indikovaných případech, kdy nelze jinak, tedy pouze jsou-li mezi podskupinami statisticky významné rozdíly.

#### *3.5.3. Rozhodovací limity*

Ačkoliv jsou běžně zaměňovány s referenčními intervaly, mají zcela odlišný charakter. Rozhodovací limity nejsou stanoveny statistickým zpracováním měřených dat, ale jde o souhlasná mínění expertů vycházející ze stavu vědeckého poznání, mají podložený charakter a jsou určeny pro speciální lékařské účely – diagnostickou klasifikaci, metody terapeutické intervence apod. Pro jeden analyt může být formulováno několik hodnot rozhodovacích limitů právě podle toho, k čemu jsou určeny, a proto je nelze je směřovat s referenčními intervaly. Rozhodovací limity jsou často interpretačně užitečnější než referenční intervaly.

Nevýhodami a typickými vlastnostmi zpochybňujícími jejich vědecký charakter jsou absence soustavného metrologického přístupu a v řadě případů podceňování návaznosti a reference. Znak lékařského rozhodování se izolují od analytických znaků.

#### *3.5.4. Referenční intervaly v těhotenství*

Nezbytnost stanovení zvláštního referenčního intervalu pro TSH v prvním trimestru těhotenství potvrzuje i studie Soldina (55), který vyšetřil hladiny TSH, FT4 a dalších tyroidálních parametrů u žen ve všech trimestrech těhotenství a ještě rok po porodu. Statisticky nižší byla hladina TSH pouze v 1. trimestru. Pro FT4 vychází v prvním trimestru rozmezí hladin podobně jako po porodu, hladiny FT4 jsou ve 2. a 3. trimestru signifikantně nižší a je vhodné to brát v úvahu v případě kontroly léčby (55).

Stanovení referenčních intervalů pro TSH navrhuje NACB jako 95% interval ve skupině zdravých dobrovolníků, kteří nemají v rodinné ani osobní anamnéze onemocnění štítné žlázy a kteří nemají pozitivní protilátky proti štítné žláze (11).

Stanovení rozhodovacího limitu u protilátek je stále metodicky závislé a nelze je plně sjednotit. I samotná metodika, doporučovaná NACB pro stanovení rozhodovacího limitu je problematická, protože předpokládá využití výsledků zdravých mladých mužů, zatímco zde se hodnotí skupina těhotných žen (11).

### **3.6. Věk jako faktor poruch funkce štítné žlázy**

Vliv vzrůstajícího věku jedince na funkci štítné žlázy se projevuje snižováním obratu tyroxinu. Průměrný věk žen, které mají poruchu funkce štítné žlázy, zvláště autoimunního charakteru, je uváděn mírně, ale přesto signifikantně vyšší než u žen bez poruch funkce (44). Vyšší hladina protilátek způsobuje často potíže s otěhotněním, takže takto postižené ženy bývají porovnatelně staršími matkami, s čímž opět souvisí další těhotenské komplikace. S věkem dochází k vyčerpávání štítné žlázy a se snižováním produkce tyroidálních hormonů (63). Věk je považován za další faktor při hodnocení rizika nedostatečné funkce štítné žlázy u těhotných žen. Se stoupajícím věkem dochází ke zvětšování objemu štítné žlázy a k častějšímu výskytu zvýšených hladin protilátek, je pozorován všeobecně vyšší výskyt autoimunitních onemocnění.

### 3.7. Analytika tyreoidálních hormonů

Stanovované tyreoidální hormony a protilátky, ve srovnání s většinou ostatních analytů v klinické biochemii, jsou přítomny v krvi ve velmi nízkých koncentracích. FT4 a FT3 v pmol/l, TSH v mU/l, protilátky v kU/l. Vzhledem k omezené citlivosti spektrofotometrických metod používaných v klinické biochemii by nebylo možné tyto látky vůbec stanovit. S rozvojem chromatografie a její separační účinnosti se podařilo v 60. letech 20. století zavést některá stanovení hormonů a jejich metabolitů a v kombinaci s hmotovou spektrometrií (GC-MS) jsou tyto dodnes metody využívány ve výzkumu a jako referenční metoda pro konečný důkaz přítomnosti látky (hormonu) ve zkoumaném materiálu. Pro běžnou rutinní analýzu ovšem není možné tyto metody používat a ani tandemová hmotnostní spektrometrie (12) přes veškeré své kvality není pro běžnou praxi vhodná.

#### 3.7.1. Imunoanalytické metody

Zásadní změnu přineslo zavedení imunoanalytických metod, které využívají specifických protilátek vůči stanovovaným látkám jako činidel, takže v současnosti při stanovení hormonů všech typů tyto metody dominují. Jsou založené na specifické reakci antigen-protilátka a ke konečné detekci používají rozdílné technologie. Metodiky můžeme dělit podle systému uspořádání reakce nebo podle používaného značení a způsobu měření odpovídajícího signálu.

Podle uspořádání reakce dělíme metody na **kompetitivní**, kde antigen (hormon) ze vzorku soutěží se stejným značeným antigenem ze soupravy o omezené množství protilátky. Původní koncentrace stanovovaného analytu je pak nepřímo závislá na výšce změřeného signálu. **Nekompetitivní** stanovení (sendvičové), při kterém je antigen ze vzorku vychytáván mezi dvě protilátky, z nichž jedna je značená, a obě se vyskytují v reakční směsi v přebytku. Původní koncentrace stanovovaného antigenu je přímo úměrná velikosti měřeného signálu.

Specifická a senzitivita imunochemických vyšetření jsou dány hlavně používanou protilátkou, jejím typem a čistotou. Používány jsou protilátky monoklonální nebo polyklonální. **Monoklonální protilátka** je produkována hybridomy, které se připravují fúzí imunizovaných slezinných buněk s nádorovými a které po čištění a selekci produkují jen jediný typ protilátky. Příprava je drahá, ale s monoklonální protilátkou se dosahuje vyšší specifity a lze ji produkovat kontinuálně. Současný rozvoj molekulárně biologických metod



nabízí výrobu monoklonálních protilátek technikami genového inženýrství, kdy se gen pro příslušnou protilátku vnese do genomu vhodného hostitele (např. kvasinek), kde se exprimuje.

**Polyklonální protilátky** se připravují imunizací zvířete, jde tedy vždy o směs protilátek. Jsou schopné rozeznat i izoformy antigenu a mají proto vyšší citlivost. Nevýhodou je závislost na imunizovaném zvířeti, někdy je získání protilátky neopakovatelné.

Stanovení a detekci je možné provádět u imunochemických metod buď přímo v reakční směsi – **homogenní imunoanalýza** - nebo po specifické separaci vytvořeného imunokomplexu – **heterogenní imunoanalýza**. Homogenní imunoanalýzu lze použít u metod, kdy navázání protilátky ovlivní značku, např. FPIA (fluorescenční polarizační imunoanalýza) využívá zpomalené rotace imunokomplexu v rovině polarizovaného světla. Separace imunokomplexů u heterogenních metod je možná mnoha způsoby - precipitačně, odsáváním zbytku reakční směsi u pevně zakotvené protilátky, magneticky, případně adhezí použitých částic vázaných na protilátku.

Pro výslednou senzitivitu stanovení je podstatný krom kvality použité protilátky i způsob detekce. Právě podle používané značky a způsobu měření signálu se imunoanalytické metody dělí nejčastěji a to na radioimunoanalýzu, enzymoimunoanalýzu, fluoroimunoanalýzu a luminiscenční imunoanalýzu. Navíc existuje řada dalších metodik, které jsou vázány většinou na výrobce a celý systém analyzátoru a reagensů a které se stále vyvíjí. **Radioimunoanalýza** je velmi dlouho používanou metodou, která svou citlivostí stále často předčí mnohé automatizované moderní imunoanalýzy. Jako nejčastější značka je používán <sup>125</sup>I. **Enzymoimunoanalýza** používá ke značení enzym, nejčastěji peroxidázu, ALP a β-galaktosidázu. Měření signálu je závislé na produktu konečné enzymatické reakce, většinou jde o barevné produkty, ale používá se i měření fluorescence nebo chemiluminiscence. Nejčastěji používaným pevným nosičem v enzymoimunoanalýze jsou mikrotitrační destičky (8x12 jamek). Oblíbené a velmi snadno proveditelné stanovení nenáročné na používanou techniku je známé pod názvem ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). **Fluoroimunoanalýza** používá ke značení fluorofory, měří se fluorescence, většinou jde o různé uzavřené systémy. **Luminiscenční imunoanalýza** je využívána jako neradioaktivní varianta v mnoha analytických systémech, ale i pro svou vysokou citlivost. Luminofory používané ke značení nemají interference v biologickém materiálu a jsou poměrně stabilní.

V současné době jsou nejčastěji používány imunochemické automatizované analyzátory s některou modifikací chemiluminiscenční detekce. Vždy jde o samostatnou jednotku, která zahrnuje dávkování vzorků i reagensů, inkubaci, detekci a automatické vyhodnocení výsledků. Analyzátor bývá určen k nepřetržitému provozu, reagensie uložené

uvnitř mají vlastní chlazený prostor. Výrobce dodává veškeré pomocné roztoky, kalibrátory i spotřební materiál, jedná se o uzavřený analytický systém. Postup stanovení je obdobný jako u ostatních automatických analyzátorů a platí zde stejná pravidla. Velké analyzátoři s chemiluminiscenční detekcí jsou vhodné pro laboratoře, ve kterých se analyzují větší množství vzorků. Vzhledem k vyšší ceně vyšetření na analyzátoru se náklady na jedno stanovení při malém počtu analýz neúměrně zvyšují. Zavedení nové metody na velký analyzátor je pro výrobní firmu náročné na čas i finance a trvá vždy několik let, což je oproti RIA nebo ELISA metodám, které jsou vyvíjeny mnohem rychleji, zřetelná nevýhoda. Obsluha analyzátoru je náročná na zkušenosti, i když nevyžaduje tolik ruční práce jako ostatní metodiky (Příloha 2).

### **3.8. Problematika všeobecného vyšetřování v těhotenství**

Prenatální diagnostika se stává v posledních letech samozřejmou součástí péče o těhotnou ženu. Přání zdravého dítěte je v dnešním světě téměř zaměřeno s požadavkem, který rodiče lékaři předkládají. Tato skutečnost je významná nejen z hlediska jednotlivců, ale i z pohledu celé společnosti v oblasti ekonomických a sociálních dopadů. Je v zájmu rodičů, ale i odborné veřejnosti, aby byli o možnostech nejrůznějších preventivních programů dobře informováni a na základě těchto informací si uvědomovali, co jim může dnešní medicína nabídnout, a také aby se dokázali alespoň v základních principech preventivní péče orientovat.

#### *3.8.1. Provádění screeningu vrozených vývojových vad*

Screening Downova syndromu (DS) se od 90.tých let minulého století provádí na území České republiky u všech matek ve 2. trimestru těhotenství. Vyšetření je laboratorní, spočívá v odběru krve a následném stanovení AFP, hCG, resp. volného estriolu. K vyhodnocení se používá specializovaný statistický software, který vypočítá pravděpodobnost postižení dítěte. Kontrolu nad hodnocením výsledků a jejich interpretaci má mít vždy genetik. Screening vrozených vývojových vad (VVV) a tedy i Downova syndromu prošel vývojem, jak metodickým tak i organizačním. V roce 2002 došlo k vydání závazných Doporučení pro provádění screeningu DS v České republice. V souvislosti s celosvětovým vývojem v této oblasti se vyšetření začala posouvat do časnější fáze těhotenství, do prvního trimestru. Nejprve se začaly vyšetřovat nové biochemické parametry; PAPP-A a free  $\beta$  hCG. Za nejvýznamnější se považuje zavedení vyšetření tzv. nuchální translucence (NT),

ultrazvukového měření šíjového projasnění u plodu. Gynekolog měřící nuchální translucenci musí být pro tuto činnost certifikován sekci fetální medicíny. Jako nejvýhodnější se jeví provádění integrovaného testu, to znamená spojení vyšetření v 1. trimestru s měřením NT a vyšetřením AFP a hCG ve 2. trimestru. V místech, kde není měření NT dosažitelné, je navrhováno zavedení sérum integrovaného testu, tedy vyšetření pouze biochemických parametrů v obou trimestrech.

Možnosti stanovení rizika vývojových vad plodu jsou stále dokonalejší, ale se zvyšováním požadavků na kvalitu jednotlivých součástí screeningového procesu, se mnohdy stávají hůře dostupnými pro určitou část gravidní populace. Se vzrůstající informovaností těhotných o této problematice by lékaři, ale i ostatní zdravotničtí pracovníci, měli mít přehled, jaké možnosti jsou těhotné k dispozici, i když některé součásti screeningu, v souladu se zahraniční praxí, jsou považovány za nadstandardní služby. Právě v této oblasti je dobrá informovanost nastávajících maminek jedním ze základních momentů, jak zajistit, aby byl celý systém efektivní. (příloha 3)

### *3.8.2. Vyšetřování poruch funkce štítné žlázy v těhotenství*

Význam sledování těhotných žen, u kterých je známa tyroidální dysfunkce, včetně těch, které jsou léčené L-tyroxinem, je známa více než 12 let. Mnoho těchto žen má snížené tyroidální rezervy, což může vést k hypotyreóze během těhotenství, kdy dochází ke zvýšenému katabolismu tyroxinu. Ženy s diagnostikovanou hypotyreózou, které jsou léčeny levotyroxinem (LT4) ještě před těhotenstvím, by měly být informovány, že ihned po otěhotnění by si měly zvýšit dávku o 30 až 60% (11,15,46).

Nedostatečná funkce štítné žlázy je problémem, na který je dlouhodobě upozorňováno, ale není sjednoceno jeho řešení (60). V mnoha studiích a v diskusích na odborných konferencích jsou předkládány stále nové poznatky a argumenty pro systematické vyšetřování těhotných žen, aby jim bylo možné i v případě asymptomatického chronického zánětu štítné žlázy poskytnout vhodnou léčbu. Poznatky z minulých studií potvrzují význam vyšetřování hypotyreózy v těhotenství, ale stále nedošlo ke sjednocení postupu při vyšetřování. Je nezbytné stanovit referenční intervaly používaných analytických markerů pro těhotenství, které se mohou lišit podle metod (příloha 4).

Výsledky všeobecného vyšetřování u těhotných žen se v publikovaných studiích mírně liší a závisí na celkové úrovni zdravotní péče v dané zemi, na geografických podmínkách, na

jodovém zásobení v populaci i na dalších okolnostech. Je těžko hodnotit pouze stav štítné žlázy, je potřeba zohlednit celkový zdravotní stav těhotné.

V současné době záleží na přístupu ošetřujících lékařů, na jejich úsudku a zkušenostech a na vyhodnocení výsledků studií, které stále probíhají i na přístupu zdravotních pojišťoven, které vyšetřování a léčbu hradí. Vyšetřování funkčnosti štítné žlázy by se mělo stát součástí prenatální péče, která je v naší republice dobře organizována a je na velmi dobré úrovni, leckdy převyšující i běžný světový standard.

## 4. Cíle

Cílem této studie bylo zavést vyšetřování poruch funkce štítné žlázy v těhotenství, výběr vhodných analytických parametrů a stanovení jejich použitelných referenčních intervalů a rozhodovacích limitů pro těhotenství.

1. Výběr vhodné kombinace používaných laboratorních markerů funkce štítné žlázy a zároveň nejvhodnějšího období pro vyšetřování v těhotenství. Posouzení analytů podle výtěžnosti, ekonomické výhodnosti a zároveň s nejmenší zátěží pro těhotnou ženu. Ověřit a vyhodnotit vliv interferujících látek – zvláště vliv vysokých koncentrací hCG na počátku těhotenství na hladinu TSH.
2. Pro vybrané markery stanovit referenční intervaly pro období těhotenství. Korelovat vypočítané referenční intervaly s šíří záchyty žen s poruchou funkce štítné žlázy.
3. Stanovené referenční intervaly použít k vyhledání tyroidálních dysfunkcí u těhotných žen, které se účastní screeningu vrozených vývojových vad v 1. trimestru. Tyto ženy předat do péče endokrinologa. U žen se zvýšenou hladinou protilátek zajistit jejich sledování i po porodu.
4. Zjistit vliv věku na stoupající výskyt poruch funkce štítné žlázy těhotných žen.

## 5. Materiál a metody

### 5.1 Studovaná skupina žen

Studovaná skupina (značená jako neselektovaná – **NS**) se skládá ze 7350 těhotných žen v 9. - 11. týdnu těhotenství, z 99% kavkazského původu, kterým byla odebírána krev v rámci prvotrimestrálního screeningu Downova syndromu v Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1.LF UK v Praze. Odběr krve byl prováděn bezkontaktně a sérum bylo získáno centrifugací po 10 minutách po odběru, aby došlo k vytvoření krevního koláče. V separovaném séru byly stanoveny biochemické markery pro screening v 1. trimestru těhotenství free  $\beta$  hCG a PAPP-A a pak byly v séru stanoveny TSH a anti-TPO protilátky. FT4 byl stanovován jen u vzorků, kde TSH nebo anti-TPO byly mimo referenční interval. Jodurie nebyla u těchto žen vyšetřována vzhledem k náročnosti tohoto vyšetření. Všechny těhotné ženy podepsaly s dalším vyšetřením informovaný souhlas.

- 1) Pro výpočet referenčního intervalu pro TSH byla vytvořena selektovaná skupina (**S1**) podle doporučení NACB. Ze skupiny těhotných žen byly vyřazeny ty, které měly jakoukoliv chorobu štítné žlázy v osobní anamnéze, ženy s hladinou anti-TPO > 60 kU/l (cut-off výrobce) a hladinu free  $\beta$  hCG vyšší než trojnásobek mediánu (Mdn=56.6  $\mu$ g/l). Informace pro další omezení NACB, kterou je vyloučení žen s onemocněním štítné žlázy v rodinné anamnéze nebyly dostupné.
- 2) Pro vytvoření selektované skupiny (**S2**) určené ke stanovení cut-off pro anti-TPO. Ze všech těhotných žen byly vyřazeny ty, které měly jakoukoliv chorobu štítné žlázy v anamnéze a ty, které měly hladinu TSH mezi 0,06 a 3,67 mU/l, tedy mimo nově stanovený interval pro TSH v 1. trimestru těhotenství.
- 3) Celá neselektovaná skupina těhotných žen byla rozdělena do podskupin podle věku. Tukey test byl aplikován na stanovení statistické významnosti rozdílů v hladinách TSH a anti-TPO. Kontrolní skupina (**C**) pro vyhodnocení průměrného věku byla vytvořena z těhotných žen, jejichž hladina TSH byla mezi 0,06 – 3,67 mU/l (náš nový referenční interval) a s hladinou anti-TPO pod cut-off (< 60 kU/l) stanoveným výrobcem.

## 5.2. Immunoanalytické metody

### 5.2.1. Stanovení TSH, FT4 a anti-TPO

Parametry funkce štítné žlázy (TSH, anti-TPO a FT4) byly stanovovány na analyzátoru **ADVIA® Centaur™** (Siemens) s chemiluminometrickou detekcí. Separace komplexu antigen - protilátka se provádí magneticky. Detekuje se chemiluminiscenční signál vznikající rozpadem akridiniového esteru působením  $H_2O_2$  po přidání alkalického roztoku. Imunochemický chemiluminiscenční analyzátor ADVIA Centaur je samostatnou jednotkou, která zahrnuje dávkování vzorků i reagensů, inkubaci, detekci a automatické vyhodnocení výsledků. Analyzátor je určen k nepřetržitému provozu a reagensie uložené uvnitř mají vlastní chlazený prostor.

Obrázek 1 Automatický analyzátor ADVIA® Centaur™ (Siemens)



Pro kvantitativní stanovení **TSH** (thyreotropního hormonu) je využívána sendvičová imunoanalýza s přímou chemiluminometrickou technologií, která užívá konstantního množství dvou protilátek. Relativní světelné jednotky naměřené analyzátozem jsou přímo úměrné koncentraci TSH ve vzorku. Mez detekce metody je 0,004 mIU/l.

Reagencie jsou v kazetách se dvěma typy roztoků: a) Solid Phase – polyklonální ovčí anti TSH protilátka kovalentně vázaná na paramagnetické částice ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory a ochrannými činidly.

b) Lite Reagent – monoklonální myší anti-TSH protilátka značená akridiniovým esterem ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory a ochrannými činidly.

Ke stanovení je potřeba 200  $\mu$ l séra.

Pro stanovení **FT4** se používá kompetitivní imunoanalýza s přímou chemiluminometrickou technologií. FT4 ze vzorku soutěží s T4 značeným akridiniovým esterem o omezené množství anti-T4 protilátky (polyklonální králíčí), která je kovalentně vázaná na paramagnetické částice. Mezi koncentrací FT<sub>4</sub> ve vzorku a relativními světelnými jednotkami naměřenými analyzátozem existuje nepřímá úměra.

Reagencie jsou v kazetách se dvěma typy roztoků: a) Solid Phase – polyklonální králíčí anti-T4 protilátka kovalentně vázaná na paramagnetické částice v barbitalovém pufru s proteinovými stabilizátory, EDTA a azidem sodným (<0,1%).

b) Lite Reagent – T4 značený akridiniovým esterem v barbitalovém pufru s proteinovými stabilizátory, EDTA a azidem sodným (<0,1%).

Ke stanovení je třeba 25  $\mu$ l séra. Mez detekce metody je 1,3 pmol/l

Pro stanovení **anti TPO** se používá stejně jako u stanovení FT4 kompetitivní imunoanalýza s přímou chemiluminometrickou technologií. Protilátka proti peroxidáze ze vzorku soutěží s monoklonální myší anti-TPO protilátkou kovalentně vázanou na paramagnetické částice o omezené množství lidské TPO, která je vázána na monoklonální myší protilátku značenou akridiniovým esterem. Mezi koncentrací anti TPO ve vzorku a relativními světelnými jednotkami (RLU) naměřenými analyzátozem existuje nepřímá úměra.

Reagencie jsou v kazetách se dvěma typy roztoků: a) Solid Phase – monoklonální myší anti-TPO protilátka kovalentně vázaná na paramagnetické částice ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory.

b) Lite Reagent – lidská TPO spojená s monoklonální myší protilátkou značenou akridiniovým esterem ve fosfátovém pufru s proteinovými stabilizátory.

c) anti TPO Diluent – lidská plazma se stabilizátory a azidem sodným.

Potřebný objem vzorku je 30  $\mu$ l. Mez detekce metody je 15 kIU/l.

Reprodukovatelnost metod je vyjádřena variačním koeficientem (VK). Pro TSH je VK 5 - 7% na hladinách 0,43 – 15,00 mU/l; pro anti-TPO je VK 10% pro hladinu 70 kU/l a 7% pro hladinu 170 kU/l. Variační koeficient pro FT4 je 7 - 9% pro hladiny 10,1 – 33,0 pmol/l.



Tabulka 1 Variační koeficient u používaných metod pro stanovení funkce štítné žlázy:

rozmezí hladin	TSH	FT4	anti-TPO
0,43 – 15,00 mU/l	5 - 7%		
10,1 – 33,0 pmol/l		7 - 9%	
do 70 kU/l			10%
nad 170 kU/l			7%

Validace byla provedena výrobcem diagnostických souprav, výsledky verifikace prováděné na pracovišti je možné spolu se standardními operačními postupy najít na [www.lf1.cuni.cz](http://www.lf1.cuni.cz) na stránkách ÚKBLD. Všechny metody používané pro diagnostiku poruch štítné žlázy jsou akreditovány dle ČSN EN ISO/IEC 17 025 a 15 189.

### 5.2.2. Stanovení free $\beta$ hCG

Free  $\beta$  hCG byl stanovován na analyzátoru BRAHMS KRYPTOR. Tento systém využívá jako princip stanovení TRACE (Time Resolved Amplified Cryptate Emission) technologii, založenou na neradioaktivním přenosu energie. Tento přenos probíhá mezi dvěma fluorescentními nosiči: donorem je europium kryptát a akceptorem je XL665 phycobilisome získávaný z červených řas. Při imunoanalýze jsou oba vázány na protilátku. Variační koeficient pro free  $\beta$  hCG je 3,0%

### 5.3. Statistické hodnocení

Statistická analýza byla prováděna pomocí programu Statistica 7.1 CZ. (StatSoft, Praha 6, Česká republika). Všechny hodnoty jsou uváděny jako průměr $\pm$ standardní odchylka nebo v procentech.

TSH a anti-TPO nemají normální distribuci, jejich normalizace byla provedena pomocí log transformace. Referenční interval byl stanovován použitím log transformovaných dat a k popisu skupiny byly použity geometrické průměry.

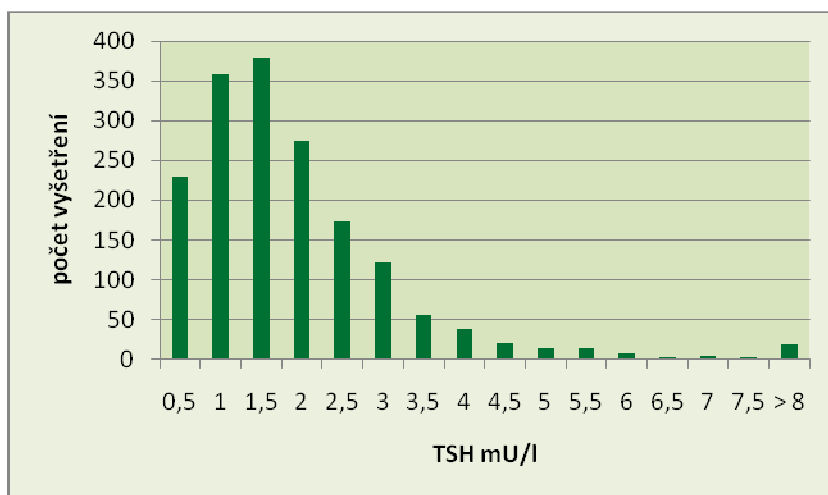
One way ANOVA a hladiny významnosti pro Tukey test (honest significant difference HSD) byly hodnoceny v post-hoc analýze jako statisticky významné na hladině  $p < 0,05$ .

## 6. Výsledky

### 6.1. Suprese TSH vysokou hladinou hCG

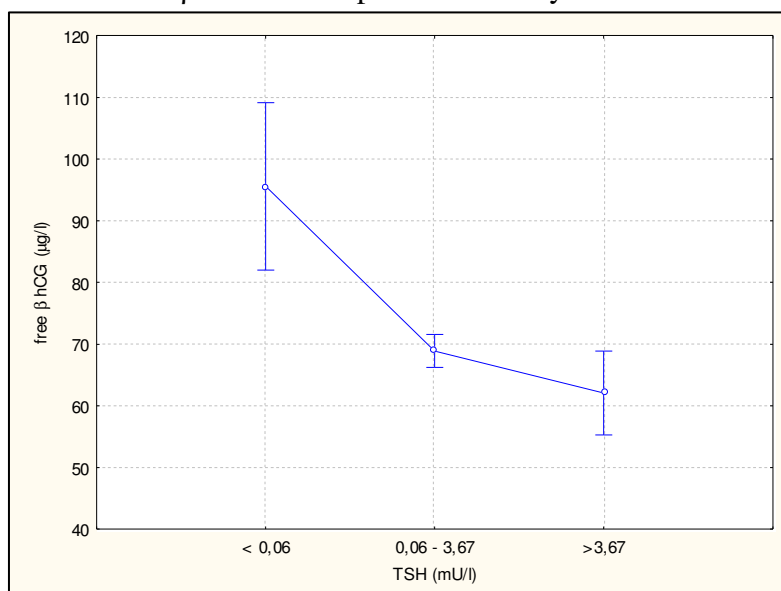
Naměřené hladiny TSH u těhotných žen jsou všeobecně nižší než u ostatní populace, jak je vidět z obrázku 2. Z grafu je patrný posun TSH v těhotenství k nižším hladinám.

Obrázek 2 Skupina vyšetřených těhotných žen rozdělená podle hladiny TSH



Průměrná hladina free  $\beta$  hCG u žen se sníženou hladinou TSH je dvojnásobná v porovnání se skupinou žen, které mají hladinu TSH v referenčním intervalu nebo se zvýšeným TSH. One way ANOVA test na hladině významnosti  $p < 0,05$  byl statisticky významný pro rozdíly mezi průměrnými hladinami free  $\beta$  hCG u skupin s hladinou TSH v referenčním rozmezí a se sníženou hladinou. Rozdíly mezi průměrnými hladinami free  $\beta$  hCG ve skupinách s normální a zvýšenou hladinou TSH nebyly statisticky významné. Výsledky statistické analýzy jsou na Obrázku 3.

Obrázek 3 Free  $\beta$  hCG ve skupinách s odlišnými hladinami TSH



Stanovení free  $\beta$  hCG je samo o sobě problematickým vyšetřením vzhledem k nestabilitě tohoto analytu. Správná preanalytika a použití vhodného analytického systému jsou zásadním požadavkem pro spolehlivost vydávaných výsledků. Ověřili jsme, že pokud je odebraná krev do 4 hodin po odběru centrifugována a uchovávána v chladu, je možné provést analýzu do 48 hodin po odběr bez toho, aby výsledek byl ovlivněn rozpadem molekuly celkového hCG a reprodukovatelnost vyšetření je pak dostatečná pro stanovení free  $\beta$  hCG jako markeru pro posouzení rizika Downova syndromu (příloha 5).

## 6.2. Referenční intervaly a rozhodovací limity v 1.trimestru těhotenství

### 6.2.1. Stanovení referenčního intervalu pro TSH

Neselektovaná (NS) i selektovaná skupina (S1) byly statisticky analyzovány pro všechny sledované roky společně a výsledky jsou uvedeny v Tabulce 2. Skupina S1 zahrnuje těhotné ženy, které neměly v osobní anamnéze žádnou poruchu funkce štítné žlázy, hladinu anti-TPO nižší než je výrobcem doporučená rozhodovací mez 60 kU/l a free  $\beta$  hCG měly nižší než trojnásobek mediánu celé skupiny (56,6  $\mu$ g/l).

Vhodný referenční interval pro TSH u těhotných žen byl zvolen jako 2,5 percentile pro spodní a 97,5 percentil pro horní limit v selektované skupině S1 (0,06 – 3,67 mU/l). Velmi podobný horní limit byl nalezen při použití 95. percentilu v neselektované skupině (3,71 mU/l).

Tabulka 2 Referenční intervaly pro TSH v těhotenství v neselektované (NS) a selektované (S1) skupině těhotných žen

TSH mU/l	N	Median	Min.	Max.	2,5 percentil	5 percentil	95 percentil	97,5 percentil
NS	5520	1,280	0	411,874	0,048	0,147	3,713	4,796
S1	4337	1,213	0	11,534	<b>0,062</b>	0,154	3,144	<b>3,670</b>

### 6.2.2. Stanovení referenčního intervalu pro FT4

FT4 byl stanovován pouze u těch těhotných žen (n=1176), které měly TSH nižší než 0,1 a vyšší než 3,00 mU/l nebo pozitivní anti-TPO (podle cut-off výrobce 60 kU/l). Výsledky statistického vyhodnocení FT4 jsou uvedeny v Tabulce 3. Referenční interval pro těhotenství stanovený jako 95 % interval (9,8 – 23,43 pmol/l) se velmi podobá intervalu, který

doporučuje výrobce pro běžnou populaci. Pro další hodnocení byl využíván referenční interval výrobce.

Tabulka 3 Statistické vyhodnocení FT4 v neselektované skupině (NS)

N	průměr	Median	Min.	Max.	2,5 percentil	97,5 percentil
1176	14,77	14,13	4,67	44,46	9,8	23,43

Sérové koncentrace FT4 byly nižší ve skupině anti-TPO pozitivních těhotných žen (medián 13,79 pmol/l), ve skupině anti-TPO negativních žen byl medián 15,18 pmol/l. Tyto rozdíly byly signifikantní na  $p < 0,001$ . Medián hladiny FT4 u euthyroidních žen se sníženou hladinou TSH byl 7,89 pmol/l, u žen s normálním TSH byl 13,98 pmol/l a ve skupině žen se zvýšenou hladinou TSH byl medián 12,91 pmol/l. Rozdíly byly signifikantní na hladině  $p < 0,05$ .

#### 6.2.3. Stanovení rozhodovacího limitu pro anti TPO

Selektovaná skupina S2 (těhotné ženy, které neměly v osobní anamnéze žádnou poruchu funkce štítné žlázy, hladinu TSH mezi 0,06 a 3,67 mU/l) spolu s neselektovanou skupinou byly statisticky analyzovány a výsledky pro všechny roky společně jsou shrnuty v Tabulce 4.

Tabulka 4 Rozhodovací limit pro anti-TPO protilátky v neselektované (NS) a selektované (S2) skupině těhotných žen.

<b>Anti TPO</b> (kU/l)	<b>N</b>	<b>Medián</b>	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>	<b>5 percentil</b>	<b>95 percentil</b>	<b>90 percentil</b>
NS	5520	38	0	15000	8	908	196
S2	5281	37	0	15000	8	577	<b>143</b>

Rozhodovací limit pro doporučení návštěvy endokrinologa byl stanoven na 143 kU/l anti-TPO.

Srovnání běžně užívaných referenčních intervalů doporučených výrobcem reagentů a nově stanovených referenčních intervalů pro 1. trimestr těhotenství je uvedeno v Tabulce 5.

Tabulka 5 Referenční intervaly a cut-off pro užívané metodiky

Metoda	Podle výrobce	Stanovený laboratoří
TSH	0,37 – 5,0 mIU/l	0,06 – 3,67 mU/l
FT4	9,8 – 23,1 pmol/l	9,80 – 23,43 pmol/l
anti-TPO	< 60 kU/l	< 143 kU/l

Stanovení referenčních intervalů pro TSH a FT4 a cut-off pro anti TPO je součástí přílohy 6.

### 6.3. Detekce tyroidálních poruch v těhotenství v České populaci

Vyhodnocení pozitivních výsledků pro referenční interval TSH stanovený jako 2,5, 5, 95 a 97,5 percentil v selektované skupině S1 (S1 – těhotné ženy bez poruchy štítné žlázy v osobní anamnéze, s hladinou anti-TPO nižší než 60 kU/l a free  $\beta$  hCG nižším než trojnásobek medianu skupiny (Mdn=56,6  $\mu$ g/l) je v Tabulce 6.

V celé naší vyšetřované skupině těhotných žen mělo 2,90% nižší hladinu TSH a 5,14% mělo hladinu TSH nad referenčním intervalem.

Srovnání našeho záchytu poruch funkce štítné žlázy se zkušenostmi endokrinologů v rámci České republiky je v příloze 7.

Tabulka 6 Počty a procenta žen ve skupinách těhotných v 1. trimestru těhotenství podle rozdílných referenčních intervalů (percentily ze selektované skupiny S1).

	<b>TSH mU/l</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>&lt; 2,5 percentil</b>	<b>&lt; 0,062</b>	214	<b>2,9</b>
<b>&lt; 5 percentil</b>	< 0,154	378	5,14
<b>&gt; 95 percentil</b>	> 3,144	592	8,05
<b>&gt; 97,5 percentil</b>	<b>&gt; 3,670</b>	378	<b>5,14</b>

Selektovaná skupina (S2) spolu s neselektovanou skupinou byly statisticky analyzovány a výsledky s anti-TPO pozitivitou pro každý sledovaný rok stejně jako pro všechny roky společně jsou uvedeny v Tabulce 7. Při použití cut-off doporučeného výrobcem (60 kU/l) bylo označeno 20,6% žen jako pozitivních. Při použití námi stanovené rozhodovací meze pro těhotné ženy (143 kU/l) to bylo 11,5%.

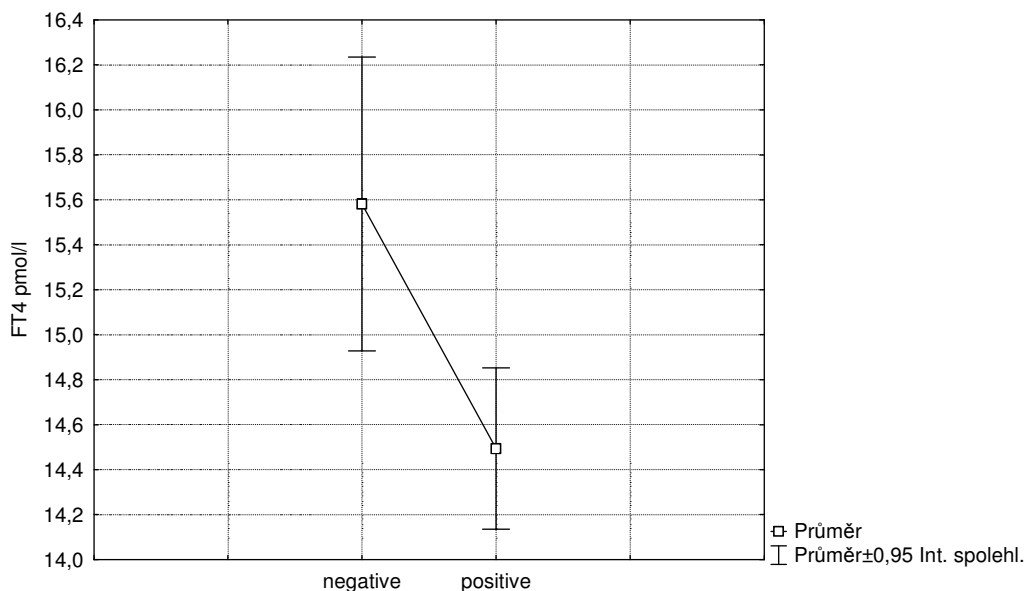
Tabulka 7 Anti-TPO pozitivita pro každý sledovaný rok a pro cut-off výrobce a nově stanovený pro těhotné ženy.

anti TPO (kU/l)	N > 60 kU/l	%	N > 143 kU/l	%
All	1506	20,6	851	<b>11,5</b>
2005	289	32,11	99	11
2006	356	27,77	157	12,25
2007	377	16,85	237	10,59
2008	456	17,96	338	11,76
2009	28	19,36	20	10,26

V celé vyšetřované skupině byl FT4 stanoven jen u 1175 z nich. Mezi nimi bylo 35 (2,98%) žen s FT4 pod a 28 (2,38%) žen s hladinou FT4 nad referenčním intervalem. Z celkového počtu vyšetřených žen to pak tvoří 0,48 % s nízkým a 0,37 % s vysokým FT4. Průměrná hladina FT4 u skupiny s FT4 v referenčním rozmezí je  $14,55 \pm 2,44$  pmol/l.

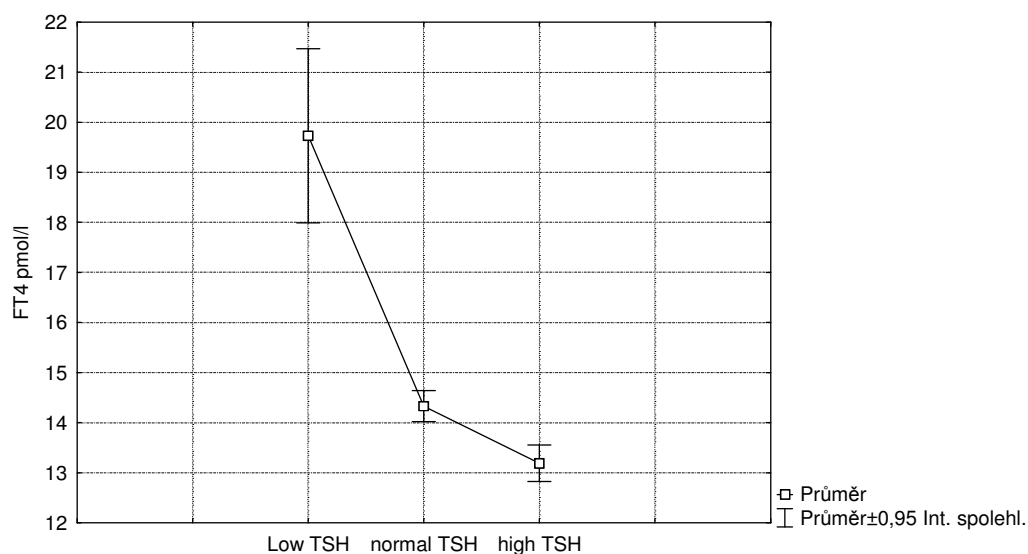
U žen, které měly pozitivní anti-TPO protilátky, bylo FT4 signifikantně nižší než u žen s negativními protilátkami. Rozdíly jsou vidět na Obrázku 4.

Obrázek 4 Sérové koncentrace FT4 u žen s pozitivními a negativními anti-TPO protilátkami



Hladina FT4 byla signifikantně rozdílná i u žen s nízkým, vysokým i TSH v referenčním rozmezí, jak je patrné z Obrázku 5.

Obrázek 5 Sérové koncentrace FT4 u žen s rozdílnými hladinami TSH



### 6.3.1. Rozložení diagnóz ve skupině těhotných žen

Z celé skupiny vyšetřovaných bylo 1205 žen, které měly některý z markerů funkce štítné žlázy mimo nově stanovené referenční intervaly. Z nich bylo podrobně sledováno 318 na III. interní klinice VFN v Praze. Byla u nich stanovena podrobná osobní i rodinná anamnéza, další laboratorní vyšetření a byla u nich proveden sonografie štítné žlázy (TUS).

Ženy se po upozornění na možnou poruchu jejich štítné žlázy dostavily k dalšímu vyšetření u endokrinologa za různě dlouhé období. Polovina z nich se dostavila na endokrinologii během 1 – 4 týdnů, druhá polovina za 8 - 20 týdnů. Procentuální zastoupení stanovených diagnóz ze sledované skupiny pozitivních 318 žen sledovaných na endokrinologickém oddělení je uveden v Tabulce 8.

Tabulka 8 Procentuální rozložení skupině screening pozitivních žen

subklinická hypotyreóza	60,4 %
manifestní hypotyreóza	4,7 %
hypertyreóza	2,9 %
tyroidální karcinom	2,8 %
bez poruchy	7,5 %
nízké TSH bez poruchy	21,7 %

Ve skupině pozitivních žen nebyly rozdíly v hladinách anti-TPO protilátek mezi ženami s pozitivním a negativním ultrazvukovým vyšetřením. Všechny ženy se zvýšenou hladinou TSH byly asymptomatické.

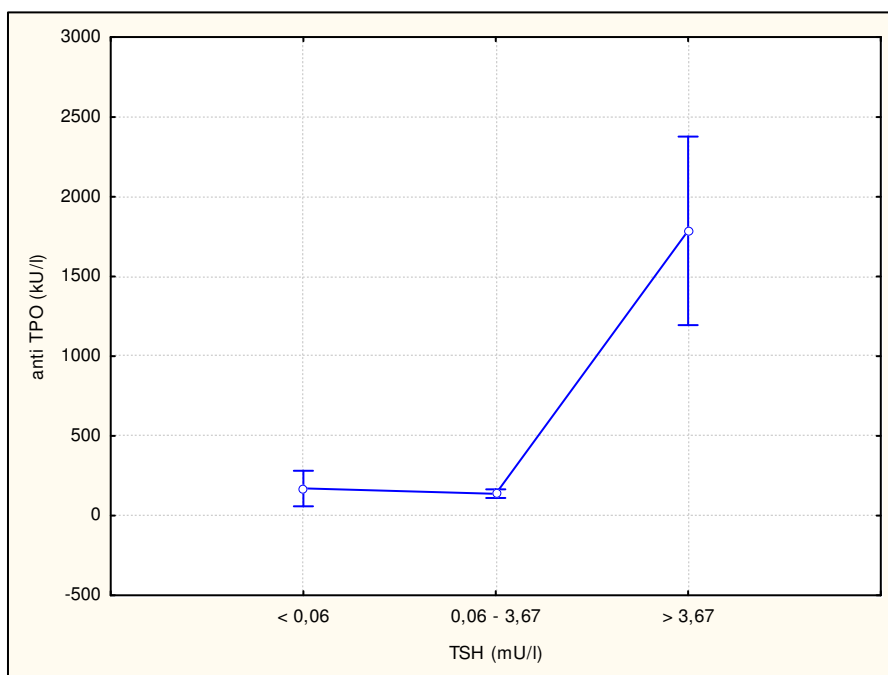
Čtyři ženy byly léčeny již před otěhotněním, ale samy endokrinologa nenavštívily. U žen s diagnostikovanou subklinickou hypotyreózou byla rodinná anamnéza přítomna u 21,9 % z celkového počtu 64 žen.

Přibližně dvě třetiny žen uvedly, že se jedná o druhou či další graviditu. Z tohoto počtu u 37,7 % žen skončilo některé z předchozích těhotenství spontánním abortem.

### 6.3.2. Pozitivita anti-TPO protilátek u žen s vysokou hladinou TSH

Vyšší hladina TSH je často spojena s pozitivitou anti-TPO protilátek. Ve skupině těhotných žen s hladinou TSH vyšší než 3,67 mU/l bylo 44,1% žen s pozitivní hladinou protilátek (anti-TPO > 143 kU/l). Ve skupině těhotných s hladinou TSH nižší 0,06 mU/l, resp. ve skupině žen s TSH v těhotenském referenčním rozmezí bylo pouze 10,1%, resp. 9,1% žen s pozitivitou anti-TPO protilátek. One way ANOVA test na hladině  $p < 0,05$  byl statisticky významný pro rozdíly mezi hladinami anti-TPO ve skupinách s rozdílnými hladinami TSH. Hladiny anti-TPO ve skupině se zvýšeným TSH jsou signifikantně vyšší na hladině významnosti  $p < 0,05$ ; rozdíly mezi skupinami s nízkým nebo s TSH v normě nejsou statisticky významné, jak je vidět na Obrázku 6.

Obrázek 6 Anti TPO ve skupinách těhotných žen s rozdílnými hladinami TSH





#### 6.4. Vliv věku ve skupinách s pozitivními anti-TPO protilátkami a vysokým TSH

Průměrný věk v neselektované skupině těhotných žen (NS) byl 31,3 (+/- 4,6) let; v kontrolní skupině (C) vytvořené z těhotných žen hladinou TSH mezi 0,06 – 3,67 mU/l a s hladinou anti-TPO pod cut-off stanoveným výrobcem (60 kU/l) byl 31,2 (+/- 4,3) let. One way ANOVA analýza potvrdila, že mezi věkem těhotných žen nejsou významné statistické rozdíly na hladině významnosti  $p < 0,05$ , mezi skupinami s rozdílnými hladinami TSH i anti-TPO protilátek.

Průměrné stáří těhotných žen ve skupinách s rozdílnými hladinami TSH a anti-TPO je shrnuto v Tabulce 9.

Tabulka 9 Průměrný věk těhotných žen s rozdílnými hladinami TSH a anti-TPO

TSH (mU/l)	N	Průměrný věk	SD	anti-TPO (kU/l)	N	Průměrný věk	SD
<0.06	158	31.4	0.451	< 60	4470	31.1	0.081
0.06 - 3.67	5096	31.1	0.075	60 - 143	462	31.1	0.230
>3.67	266	30.9	0.289	143 - 1000	344	31.6	0.300
				> 1000	244	31.3	0.328

Celá neselektovaná skupina těhotných žen byla rozdělena do podskupin podle věku. Tukey test byl aplikován na stanovení statistické významnosti rozdílů v hladinách TSH a anti-TPO. Nebyla zjištěna statistická významnost ( $p < 0,05$ ) v rozdílech mezi hladinami TSH nebo anti-TPO se zvyšujícím se věkem těhotných žen, jak je uvedeno v Tabulkách 10 a 11.

Tabulka 10 Průměrné hladiny TSH ve skupinách těhotných žen rozdělených podle věku. Výsledky post-hoc analýzy Tukey HSD testu (honest significant difference) a hladiny významnosti p.

Age	N	%	mean TSH	p-levels for the Tukey HSD test					
16-20	41	0.7	1.242		0.99825	0.99657	0.99966	0.99983	0.99999
20-25	431	7.8	1.871	0.99825		0.99999	0.99850	0.99765	0.99949
25-30	2042	37	1.941	0.99657	0.99999		0.93219	0.96315	0.99832
30-35	2161	39	1.674	0.99966	0.99850	0.93219		0.99999	0.99999
35-40	763	14	1.624	0.99983	0.99765	0.96315	0.99999		1.00000
40-46	82	1.5	1.511	0.99999	0.99949	0.99832	0.99999	1.00000	
All	5520	100	1.776						

Tabulka 11 Průměrné hladiny anti-TPO ve skupinách těhotných žen rozdělených podle věku. Výsledky post-hoc analýzy Tukey HSD testu (honest significant difference) a hladiny významnosti p.

age	N	%	mean anti-TPO	p-levels for the Tukey HSD test					
16-20	41	0.7	50.9		0.89189	0.94448	0.94731	0.95723	0.99998
20-25	431	7.8	247.0	0.89189		0.99050	0.98742	0.98779	0.84562
25-30	2042	37.0	211.1	0.94448	0.99050		1.00000	0.99999	0.92490
30-35	2161	39	209.0	0.94731	0.98742	1.00000		1.00000	0.92961
35-40	763	14	203.8	0.95723	0.98779	0.99999	1.00000		0.94839
40-46	82	1.5	87.9	0.99998	0.84562	0.92490	0.92961	0.94839	
all	5520		209.0						

Výsledky naší práce ukazují na vhodnost zavedení všeobecného populačního vyšetřování tyroidálních dysfunkcí v těhotenství.

V roce 2009 se podařilo zahájit pilotní projekt pro vyšetřování poruch štítné žlázy v těhotenství ve vybraných okresech České republiky a to pomocí stanovení TSH, FT4 a anti-TPO protilátek u těhotných žen na počátku těhotenství. Tento projekt je podporován Všeobecnou zdravotní pojišťovnou.

## 7. Diskuse

### 7.1. Výběr parametrů pro hodnocení funkce štítné žlázy

TSH metoda se zvýšenou citlivostí a specificitou poskytuje v dnešní době primární diagnostický nástroj k rozlišení hypertyreoidních a eutyreoidních pacientů a při zjišťování hypotyreózy u těhotných v jodově dostatečně saturované populaci. Vzhledem k tomu, že vztah mezi koncentrací FT4 a produkcí TSH je logaritmicko-lineární - pokles FT4 na polovinu způsobí vzrůst TSH 160krát, je možné říct, že stanovení TSH má v tyreoidologii klíčovou úlohu. Používaná metodika by měla mít detekční limit minimálně 0,01 mU/l (1) Příloha 2.

Tyroxin je hlavní hormon secernovaný štítnou žlázou s produkcí asi 4krát vyšší než trijodtyroninu. Pouze 0,04% celkového tyroxinu tvoří volná frakce (FT4), která může bezprostředně vstupovat do buněk. Vazba na sérové proteiny je hlavní důvod, proč preferujeme stanovení FT4 oproti tyroxinu celkovému (T4). Stanovením FT4 sledujeme přímo množství biologicky aktivního hormonu T4. Stanovení FT4 je základní metodou při monitorování hladin hormonů štítné žlázy. Používané imunoanalytické metody stanovení FT4 jsou dostatečně citlivé pro vyšetřování ve stavech s abnormální koncentrací vazebných proteinů jako je těhotenství (31,36).

Anti TPO jsou markerem autoimunitního procesu ve štítné žláze, jejich vyšetřování má diagnostický i prognostický význam. Vyšetření podává informaci o etiologii funkční poruchy a odhalí ženy se zvýšeným rizikem rozvoje tyreopatie, které mohou být sice eufunkční, ale v graviditě nebo po porodu je porucha funkce může ohrozit (25,31, 52).

### 7.2. Suprese TSH vysokou hladinou hCG

Snížené sérové koncentrace TSH v těhotenství jsou ovlivněny tyreotropickou aktivitou vysokých koncentrací cirkulujícího choriového gonadotropinu, zvláště během prvního trimestru těhotenství (17,19,48). Ve skupině těhotných žen se sníženou hladinou TSH byla průměrná hladina hCG téměř dvojnásobná (M=95,6 mg/ml) v porovnání se skupinou těhotných žen s hladinou TSH v referenčním intervalu (M=68,9 mg/ml) nebo s hladinou TSH vyšší než 3,67 mU/l (M=62,1 mg/ml). Rozdíly mezi průměrnými hladinami hCG ve skupinách s normálním a zvýšeným TSH nebyly signifikantní na hladině významnosti  $p < 0,050$ . V roce 1992 Haddow a jeho spolupracovníci testovali průběh hladin TSH během celého těhotenství (18). Potvrdili snížení hladiny TSH během prvního trimestru – odpovídající

poklesu TSH jako důsledek vysokých hladin hCG stoupajících od počátku těhotenství. Hladina TSH odráží vzestup hCG do 10.týdne těhotenství a jeho postupnou normalizaci s klesajícími hladinami hCG. I z předložených výsledků v této práci je patrné, že u žen, které měly velmi nízké hladiny TSH, byla naměřena vysoká koncentrace free beta hCG. Při dalším vyšetření v průběhu těhotenství se TSH u těchto žen normalizovalo a ani žádné jiné odchylky nebyly zjištěny. Příloha 6.

### **7.3 Referenční intervaly a rozhodovací limity v 1.trimestru těhotenství**

Referenční interval je rozmezí výsledků příslušného testu v definované populaci. Stanovení specifických referenčních intervalů pro TSH, FT4 a anti-TPO protilátky v těhotenství je jedním ze základních požadavků pro zavedení všeobecného vyšetřování funkce štítné žlázy v časném těhotenství. Referenční intervaly se mohou pro různé metody a výrobce reagensů lišit. Obvykle se referenční intervaly stanovují vyšetřením krve netěhotných zdravých lidí s nedefinovanou hladinou různých autoprotilátek. Takové referenční intervaly se dají těžko použít pro těhotenství. Referenční interval je obvykle specifikován jako středních 95% všech hodnot a to od spodní hranice 2.5% do horní meze 97.5% populace (1,5, 24). Ve starší literatuře se pojem referenční interval často zaměňuje za referenční meze. Stanovení normálních hodnot specifických pro každý trimestr těhotenství považují Hauerová a Pikner (21) za klíčovou záležitost, je zde diference metodická, regionální a klinická. Jak nasvědčují veškeré klinické zkušenosti, zdá se být běžně užívané rozmezí normálních hodnot pro TSH a anti-TPO nedostatečné, neboť nereflektuje vysoký výskyt tyreoiditid u žen.

Pro stanovení referenčních intervalů se používají různé statistické metody. Haddow (18) použil pro stanovení referenčního intervalu u TSH 98. percentil ve skupině anti-TPO negativních žen. Takto stanovená horní hranice interval vedla k záchytu 4,3 % žen v prvním trimestru těhotenství, které byly označeny jako screening pozitivní. Sám autor navrhuje zvýšení této horní meze, aby se záchyt snížil na 2 %, která by korelovala s klinickými poznatky. Navrhuje konsensuální přijetí takového cut-off, který by zajistil nižší falešnou pozitivitu. Vaidya (60) použil referenční interval založený na 95% intervalu spolehlivosti ve skupině anti-TPO negativních žen pro TSH a FT4. Získané hodnoty TSH a anti-TPO nemají normální rozložení, proto byla data nejprve normalizována log transformací. Doporučení National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) pro vyšetřování štítné žlázy se obvykle užívají při stanovení referenčního intervalu pro TSH, to znamená použití 95 % interval spolehlivosti z log-transformovaných hodnot anti-TPO negativních, běžně se pohybujících

euthyroidních osob, které nemají v osobní nebo rodinné historii žádnou poruchu funkce štítné žlázy, ani viditelnou strumu (54).

V laboratoři je pro stanovení TSH používán analyzátor ADVIA:Centaur Siemens a výrobce reagenčních souprav doporučuje pro běžnou populaci referenční interval 0,37 – 5,00 mU/l. Pro stanovení specifického referenčního rozmezí jsme ve skupině S1 použili 2,5. a 97,5. percentil této skupiny, ze které vyřazeny anti-TPO pozitivní ženy a ty těhotné, jejichž hladina free  $\beta$  hCG byla vyšší než trojnásobek mediánu celého souboru. Takto stanovený referenční interval je 0,062 – 3,67 mU/l. Pokud by se jako horní limit nového rozmezí použil 95. percentil neselektované skupiny, byla by tato hranice stanovena na 3,71 mU/l. Vaidya (60) stanovil vlastní referenční interval pro TSH na 0,09 – 3,03 mU/l, který je posunut k nižším hodnotám v porovnání s intervalem, který doporučuje výrobce jimi používané reagenční soupravy; 0,27 – 4,20 mU/l. Další autoři, kteří vyšetřují poruchy štítné žlázy v těhotenství, používají buď meze stanovené výrobcem, nebo své vlastní a horní rozhodovací limit se pohybuje obvykle v rozmezí 2,0 to 5,0 mU/l. Stanovení TSH je závislé na používané metodě a je proto doporučováno stanovení vlastních referenčních intervalů pro těhotné pro každou laboratoř (8,18,40,55).

Co se týká referenčních intervalů doporučovaných výrobcem reagenčních souprav ke stanovení anti-TPO protilátek, jsou naprosto nesrovnatelné a pohybují se mezi 0,5 a 100 kU/l. NACB doporučuje stanovení referenčního intervalu pro anti-TPO z vyšetření skupiny mladých zdravých mužů, kteří nemají žádné rizikové faktory spojené s poruchou štítné žlázy a mají sérové TSH v rozmezí 0,5 a 2,0 mU/l (27,54). Pro stanovení anti-TPO protilátek je používán analyzátor ADVIA:Centaur Siemens a výrobce reagenčních souprav doporučuje pro běžnou populaci cut-off 60 kU/l. V této studii byla stanovena rozhodovací hranice pro určení positivity jako 90. percentile v selektované skupině S2. Do ní byly zahrnuty ženy s hladinou TSH v nově stanoveném těhotenském rozmezí (0,06 – 3,67 mU/l). Cut-off positivity pro těhotné byl pak stanoven pro anti-TPO na 143 kU/l. To je více než dvojnásobek rozhodovací meze doporučené výrobcem. (Příloha 6)

Hladiny FT4 v měřeném souboru podléhají Gaussovskému rozložení, takže referenční interval byl stanoven za použití neparametrických analýz jako 95. percentil. Vypočtený referenční interval 9,8 – 23,43 pmol/l se téměř shoduje s tím, který doporučuje výrobce 9,8 – 23,0 pmol/l. Pro vyhodnocování byl používán tento výrobcem daný interval. Někteří autoři přesto doporučují zvláštní referenční interval pro těhotenství i pro FT4 (55,56,58). V této studii byl FT4 stanovován z ekonomických důvodů jen v případě positivity anti-TPO nebo pokud TSH bylo mimo nově stanovený referenční interval. (Příloha 6). Průměrná hladina FT4

u skupiny s FT4 v referenčním rozmezí byla  $14,55 \pm 2,44$  pmol/l, což je ve spodní části referenčního intervalu. Při léčbě a jejím sledování je doporučeno udržovat hladinu FT4 v těhotenství v horní polovině referenčního intervalu (2).

#### **7.4 Detekce poruch funkce štítné žlázy v těhotenství v České republice**

Ve skupině 7 350 vyšetřovaných těhotných žen bylo celkem 213 (2,90%) žen se sníženou hladinou TSH ( $<0,06$  mU/l). Potvrzená hypertyreóza v naší skupině těhotných žen byla u 1,7%, z nich a 0,4% těchto žen mělo zároveň i zvýšenou hladinu FT4 ( $>23,0$  pmol/l). Podobná je i prevalence hypertyreózy u běžné populace netěhotných žen (3,2).

Různí autoři se věnují ve svých pracích prevalenci hypotyreózy (manifestní nebo subklinické) v těhotenství. Předpokládá se 0,3 – 0,5 % výskyt manifestní a 2 - 3% subklinické hypotyreózy. V naší studii bylo 378 (5,14 %) těhotných žen s hladinou TSH nad referenčním intervalem ( $>3,67$  mU/l), což je v souladu s původním předpokladem, stejně jako s prací Haddow (18), který také při užití vlastního referenčního intervalu našel 4,3 % těhotných žen se zvýšenou hladinou TSH. Výskyt manifestní hypotyreózy uvádí Casey (6) s frekvencí 3 na 1000 těhotenství. Současně připouští, že toto onemocnění nemá zvláštní klinické příznaky a může být tedy zaměněno za potíže způsobené těhotenstvím samotným.

Medián TSH u těhotných žen v prvním trimestru s negativními protilátkami je v naší studii 1,21 mU/l, Haddow (18) uvádí v podobné skupině medián 0,94 mU/l. Rozdíly jsou pravděpodobně způsobeny rozdíly ve standardech užívaných odlišnými výrobci. Tato skutečnost znovu upozorňuje na nutnost stanovení vlastních referenčních intervalů v každé laboratoři.

Všeobecně uváděná pozitivita anti-TPO protilátek u netěhotných osob je kolem 11% a v populaci těhotných žen je tento výskyt velmi podobný. Negro (44) uvádí 11,7% anti-TPO pozitivních těhotných žen; Dossiou (13), který rozdělil skupinu těhotných podle věku uvádí pozitivitu 10,4 % a 12,6 % pro věk 25 a 35 let. Pokud bychom použili referenční interval doporučený výrobcem reagentů ( $> 60$  kU/l), bylo by jako pozitivní označeno 20,6 % těhotných žen. Proto jsme jako cut-off použili 90. percentil (143 kU/l) selektované skupiny S2 a ve vyšetřované skupině jsme označili 11,5 % žen jako pozitivních (příloha 6). Tyto výsledky pak velmi dobře korelují s nálezy jiných zahraničních studií. Těhotné ženy, jejichž hladina protilátek se pohybovala mezi cut-off výrobce a naším vlastním (60 - 143 kU/l) byly upozorněny, že se u nich může v budoucnu vyskytnout porucha funkce štítné žlázy a bylo by vhodné po porodu vyhledat endokrinologa. Ženy, které měly hladinu protilátek vyšší než 143

kU/I byly vyzvány k okamžité návštěvě endokrinologa. Význam stanovení hladiny anti TPO protilátek dokládá i studie Hauerové a Piknera. U žen s asymptomatickou autoimunitní tyreoiditou se poporodní tyreoiditida vyvine u 50% žen. Je zřejmé, že v poporodním období dochází k aktivaci dosud asymptomatické tyreoiditidy na symptomatickou formu (22) .

Marai (39), Poppe (51) i jiní autoři publikovali sdělení, že ženy s pozitivními anti TPO protilátkami mají sklon k samovolným potratům. V našem souboru pozitivních žen byly asi dvě třetiny těch, pro které bylo sledované těhotenství druhé nebo další. 37,7 % z těchto žen uvedlo, že některé z předešlých těhotenství skončilo potratem.

Systematické studie řady experimentálních i klinických skupin však přinesly důkazy o tom, že koncentrace tyreoidálních matčinych hormonů spolu s dostatečným příjmem jodu v prvních týdnech po početí je pro zdárný vývoj plodu rozhodující (29,42). Již více než před 20 lety publikace jednoznačně upozorňovaly na poruchy vývoje nervové soustavy jako důsledek hypotyroxinemie matky (50). V současné době je nepochybné (43), že hypotyreóza matky, a to jak manifestní, tak i subklinická vyžaduje brzké odhalení a okamžitou léčbu, protože může mít negativní dopad na zdraví ženy, průběh těhotenství, ale i na vyvíjející se plod (32).

Nejpreferovanější způsob vyšetření těhotných žen je odběr krve v samém počátku těhotenství, nejlépe ovšem ještě před koncepcí. Na druhé straně je v počátku těhotenství možné odhalit poruchy, které neprojeví teprve se zátěží štítné žlázy spojenou se zvýšenými požadavky na její produkci hormonů. Toto vyšetřování je pak možné spojit se stanovováním biochemických markerů screeningu vrozených vývojových vad v 1. trimestru těhotenství, který probíhá u velké části populace a stále se rozšiřuje (příloha 3). Odhalení poruchy funkce štítné žlázy na samém počátku těhotenství umožní nasadit včas případnou léčbu subklinické hypotyreózy, která nejčastěji unikne klinické diagnóze pro svou bezpříznakovost. V Mitchelově studii (42) bylo 58% žen s hypotyreózou, které netušily nic o své chorobě a medián prodlevy do stanovení diagnózy a zahájení odpovídající léčby byl 5 let po těhotenství, ve kterém byla retrospektivně hypotyreóza zjištěna. Vaidya (60) ve své studii prokazuje, že vyšetření štítné žlázy v těhotenství jen u těch žen, které jsou rizikové, tedy mají v osobní nebo rodinné anamnéze poruchu štítné žlázy, případně mají nějaké subjektivní potíže, může způsobit, že minimálně třetina žen se subklinickou, ale i manifestní hypotyreózou během těhotenství zůstane neodhalena. V České republice by tento způsob vyhledávání poruch štítné žlázy v těhotenství měl ještě nižší efekt. V celé naší skupině s pozitivními nálezy, a to jak TSH, tak protilátek, mělo jen 58,3 % žen pozitivní rodinnou nebo osobní anamnézu. Ve

skupině žen se subklinickou hypotyreózou bylo jen 21,9 % žen s pozitivní rodinnou anamnézou.

Vztah mezi pozitivitou anti-TPO a hladinou TSH ještě nebyl přesně stanoven, ačkoliv je známo, že ženy se zvýšeným TSH mají častěji pozitivní anti-TPO protilátky (52). V naší sledované skupině těhotných žen rozdělené do podskupin podle hladiny sérového TSH bylo 44,1 % anti-TPO pozitivních žen ve skupině s vysokým TSH ( $>3.67$  mU/l) a 10,1 % resp. 9,15 % anti-TPO pozitivních žen ve skupině s nízkým ( $< 0.06$  mU/l) resp. TSH v referenčním rozmezí (příloha 6). Tyto nálezy potvrzují shodu s podobnými studiemi, Glinoe (15) také dokládá vyšší hladiny TSH ve skupině žen se zvýšenými protilátkami.

### **7.5. Vliv věku těhotných na pozitivitu anti-TPO protilátek a hladinu TSH**

Zvyšující se věk těhotných žen v současné době se často považuje za jeden z rizikových faktorů výskytu poruch funkce štítné žlázy v těhotenství. Stricker (58) publikoval vlastní předpoklad, že hladina anti-TPO protilátek je úměrná stoupajícímu věku těhotné. Negro (44) se také zmiňuje o vyšší prevalenci anti-TPO positivity u starších žen a ve studii NHANES III (24) je zmíněn mírný vzestup hladin TSH a anti-TPO protilátek s věkem. Na rozdíl od těchto poznatků jsme v naší studii nenašli signifikantní rozdíly ( $p < 0,05$ ) mezi průměrným věkem těhotných žen ve skupinách rozdělených podle hladin TSH a anti-TPO. Ve skupinách rozdělených podle věku nebyly signifikantní rozdíly ( $p < 0,05$ ) v průměrných hladinách TSH nebo anti-TPO. Je možné, že tato skutečnost je způsobena i tím, že 76% těhotných žen v naší studii bylo ve věku 25 – 35 let a skupiny s vyšším věkovým průměrem se statisticky významně neprojevíly.

Otázky ekonomické výhodnosti všeobecného vyšetřování poruch štítné žlázy v těhotenství byly již několikrát řešeny a v roce 2008 i prezentovány Dosiou (13). Ačkoliv se jedná o americkou studii a nelze ji nijak těsně srovnávat s našimi podmínkami, stanovená celoživotní hodnota jednoho IQ bodu, pokud se počítá pouze ztráta možného výdělku, je 15,5 tisíce dolarů.

Mateřská hypotyrozinémie se vyskytuje neporovnatelně častěji než kongenitální hypotyreóza u novorozenců, pro kterou máme od 70. let minulého století zavedený velmi dobře fungující screeningový program vyšetřování TSH ze suché kapky krve. Prezentované výsledky významně podporují potřebu takového všeobecného screeningového programu pro



vyšetřování poruch štítné žlázy v časně fázi těhotenství v České republice. Screening by vedl k včasné diagnóze a odpovídající léčbě poruch funkce štítné žlázy a bylo by možné ho s výhodou kombinovat s vyšetřováním biochemických markerů rizika Downova syndromu, který se provádí v 1.trimestru těhotenství. Nastavení jednoduché a spolehlivé komunikace mezi těhotnou ženou, gynekology, endokrinology, porodními asistentkami a laboratořemi je jedním z nejproblematictějších požadavků v takovém vyšetřování. Je nutné zvolit nejvhodnější čas pro odběry krve, sjednotit vyšetřovací metody a diagnostické postupy, aby bylo možné správně interpretovat získané výsledky.

## 8. Závěry

1. V rámci vyšetřování biochemických markerů pro screening vrozených vývojových vad jsme s informovaným souhlasem těhotných vyšetřili i sérové hladiny parametrů funkce štítné žlázy; TSH, anti-TPO protilátky, resp. FT4. Stanovením FT4 sledujeme přímo množství biologicky aktivního hormonu T4 bez ohledu na hladiny vazebných proteinů, které se v těhotenství zvyšují, a stanovení celkového tyroxinu by mohlo být zavádějící. TSH jsme zvolili jako základní vyšetřovací metodu pro posouzení funkční poruchy štítné žlázy, vzhledem k tomu, že vztah mezi koncentrací FT4 a produkcí TSH je logaritmicko-lineární, má i mírná změna FT4 významnou odezvu v TSH. Vyšetřování protilátek proti peroxidáze považujeme za velmi významné nejen u žen s problematickým otěhotněním, ale u všech těhotných vzhledem k vysokému výskytu autoimunitních onemocnění v populaci. Vyšetřování je třeba provádět v samém počátku těhotenství, pokud není možné vyšetřovat prekoncepčně, aby bylo možné v případě potřeby zahájit léčbu co nejdříve.

Nižší hladina TSH v těhotenství je ovlivněna tyreotropickou aktivitou vysokých hladin choriového gonadotropinu, nejvyšších právě v 1. trimestru těhotenství. Věnovali jsme se sledování preanalytické fáze stanovení free  $\beta$  hCG a určili podmínky, za kterých je jeho stanovení spolehlivé. Sérum po odběru do 2 hodin centrifugovat a uložit v chladu do analýzy, která má být provedena do 48 hodin po odběru. Prokázali jsme statisticky významné rozdíly mezi průměrnými hladinami free  $\beta$  hCG ve skupině s nízkým TSH ( $< 0,06$  mU/l) a ve skupinách s normálním nebo zvýšeným TSH ( $> 3,67$  mU/l). Nízká hladina TSH by u těhotných měla být považována za významnou pouze v případě positivity i dalších parametrů funkce štítné žlázy, obvykle jde o přechodnou supresi vlivem vysoké hladiny hCG. Podobně významné ovlivnění hladiny FT4, stejně jako anti-TPO protilátek, jsme nezjistili.

2. Pro správné hodnocení positivity výsledků jsme stanovili referenční intervaly pro TSH, anti-TPO a FT4 v prvním trimestru těhotenství. Hodnoty TSH a anti-TPO nepodléhají normální distribuci, proto jsme je normalizovali log-transformací. Stanovili jsme akceptovatelný referenční interval pro TSH u těhotných žen v 1. trimestru (**0,06 – 3,67 mU/l**), který se velmi liší od intervalu doporučeného výrobcem analytické soupravy pro běžnou populaci. Rozhodovací limit pro anti-TPO jsme stanovili na **143 kU/l**, což je více než dvojnásobek hodnoty, kterou udává

výrobce soupravy pro běžnou populaci. Rozhodovací limit je určen pro těhotné ženy a je ovlivněn i pravděpodobností výskytu bezpříznakové autoimunitní tyroiditidy mezi těhotnými. Hladiny FT4 mají Gaussovské rozložení, takže referenční interval byl odvozen neparametrickou analýzou. Stanovili jsme referenční interval **9,8 – 23,4 pmol/l** - velmi podobný tomu, který doporučuje výrobce reagensů (9,8 – 23,0 pmol/l). Proto byl využíván pro hodnocení pozitivitu i nadále původní referenční interval.

3. V celé skupině 7350 žen jsme našli 822 žen s pozitivitou v některém z vyšetřovaných parametrů. Z nich bylo 2,90 % žen se sníženou hladinou TSH a 5,14% se zvýšenou hladinou, dále 0,33 % s vysokým a 0,54 % s nízkým FT4. Pozitivita anti-TPO protilátek byla zjištěna u 11,5 % z nich. O nalezených odchylkách jsme informovali ošetřující lékaře těhotných žen a zároveň jsme předali kontakt na spolupracující endokrinologické pracoviště, kde je okamžitě přijali k dalšímu vyšetření.

318 z celkově 1205 žen, které měly TSH vyšší než 3,67 mU/l nebo nižší než 0,06 mIU/l, případně pozitivní anti TPO protilátky bylo dále sledováno na endokrinologickém oddělení III. interní kliniky VFN. V této skupině těhotných žen bylo diagnostikováno 60,4 % žen se subklinickou hypotyreózou, 4,7 % žen s manifestní hypotyreózou a 21,7 % z nich mělo sníženou hladinu TSH- většinou pouze v důsledku vysoké hladiny hCG. Dále bylo v souboru 2,8 % žen s tyreotoxikózou a také dva případy adenomyosy a jeden papilární karcinom štítné žlázy. Ve skupině žen léčených na hypofunkci štítné žlázy bylo 82,6 % z nich anti-TPO pozitivních. Nenalezli jsme signifikantní rozdíly mezi hladinami anti-TPO protilátek u žen, které měly pozitivní nebo negativní výsledek ultrazvukového vyšetření štítné žlázy (TUS). Všechny ženy se zvýšenou hladinou TSH byly asymptomatické a rodinnou nebo osobní historii poruch funkce štítné žlázy jsme dohledali mezi všemi pozitivními ženami jen u 58,3 % z nich. Ženy s diagnózou subklinické hypotyreózy uvedly ve 21,9 % z nich rodinnou historii poruch štítné žlázy.

4. V této studii jsme neprokázali závislost hladin TSH a anti-TPO na věku. Ve skupinách těhotných žen rozdělených podle hladin TSH a anti-TPO nebyly signifikantní rozdíly ( $p < 0.05$ ) mezi jejich průměrným věkem. Ve skupinách rozdělených podle věku nebyly signifikantní rozdíly ( $p < 0.05$ ) v průměrných hladinách TSH nebo anti-TPO. Vliv věku se projevuje zřejmě až u vyšších věkových skupin, 75% všech žen bylo ve věku 25-35 let, kdy se ještě rozdíly neprojevují.
5. Ačkoliv světová doporučení pro vyšetřování a léčbu tyroidálních dysfunkcí v těhotenství i po porodu nedoporučují všeobecný screening, ale pouze vyšetřování u

rizikových těhotných, naše studie dokládá, že zavedení plošného vyšetřování poruch funkce štítné žlázy je přínosem pro těhotné, jejich děti, ale také pro celé rodiny, pozitivita u těhotné ženy upozorní na možnost tohoto onemocnění i u ostatních žen v rodině. Všeobecný screening by vedl k včasné diagnóze a odpovídající léčbě poruch funkce štítné žlázy a bylo by možné ho s výhodou kombinovat s vyšetřováním biochemických markerů rizika Downova syndromu, který se provádí v 1. trimestru těhotenství.

V roce 2009 se nám podařilo zahájit pilotní projekt pro vyšetřování poruch štítné žlázy v těhotenství ve vybraných okresech České republiky, a to pomocí stanovení TSH, FT4 a anti-TPO protilátek u těhotných žen na počátku těhotenství. Tento projekt je podporován Všeobecnou zdravotní pojišťovnou.

## 9. Souhrn

Zdravý vývoj plodu je podmíněn dostatečným množstvím volného tyroxinu, který v počátku těhotenství přijímá plod pouze od matky. I malá nepoznaná porucha funkce štítné žlázy, která nemusí ohrozit průběh gravidity, může mít negativní vliv na psychomotorický vývoj dítěte. Včasná a správná diagnóza a léčba jsou spolehlivou prevencí následků, proto je vhodné vyšetřovat TSH i FT4. Zároveň je vhodné vyšetřovat i hladinu anti-TPO protilátek, jejich pozitivita je spojována nejen se zhoršeným výsledkem těhotenství, ale i s výskytem poporodní tyreoiditidy.

V sérech 7350 žen v 9.-11. týdnu těhotenství, u kterých byly vyšetřovány free  $\beta$  hCG a PAPP-A jako markery screeningu Downova syndromu, byly stanoveny hladiny TSH, anti TPO a FT4. Pro správné hodnocení výsledků byly stanoveny referenční intervaly pro jednotlivé parametry u těhotných žen.

Referenční interval pro TSH byl stanoven 0,06 – 3,67 mU/l a pro FT4 byl stanoven: 9,8 – 23,4 pmol/l. Rozhodovací limit pro anti-TPO pozitivitu byl stanoven na 143 kU/l.

Zvýšená hladina TSH byla nalezena u 5,14 % žen a snížená hladina TSH byla nalezena u 2,90 % žen. Ve vyšetřované skupině bylo 11,5 % anti-TPO pozitivních žen.

Sérové koncentrace FT4 byly nižší u žen anti-TPO pozitivních v porovnání se skupinou anti-TPO negativních žen. Byly nalezeny i rozdíly v průměrných hladinách FT4 u euthyroidních žen a u žen se sníženou nebo zvýšenou hladinou TSH.

Ve sledované skupině těhotných žen nebyly signifikantní rozdíly ( $p < 0.05$ ) v průměrných hladinách TSH ani anti-TPO ve skupinách rozdělených podle věku.

Podrobně bylo sledováno 318 z celkově 1205 žen, které měly TSH nebo FT4 mimo námi stanovený referenční interval nebo pozitivní anti-TPO. Subklinická hypotyreóza byla diagnostikována u 60,4 % z nich, manifestní hypotyreóza u 4,7%, hypertyreóza u 2,9% a karcinom štítné žlázy u 2,8% sledovaných pozitivních žen. Ve skupině žen léčených na hypofunkci štítné žlázy bylo 82,6 % z nich anti-TPO pozitivních.

Doporučené vyšetřování pouze žen, které mají osobní nebo rodinnou historii poruch funkce štítné žlázy nebo jsou symptomatické, by v našem souboru vedlo k odhalení pouze 58,8% žen, u kterých byla všeobecným vyšetřováním stanovena některá z poruch funkce štítné žlázy. U žen s diagnostikovanou subklinickou hypotyreózou, která je pro vývoj plodu nejrizikovější, to bylo pouze 21,9 %.

Prezentované výsledky významně podporují vhodnost všeobecného screeningového programu pro vyšetřování poruch štítné žlázy v časně fázi těhotenství v České republice.

## 10. Literatura

1. Abalovich M, Amino N, Barbour LA, Cobin RH, De Groot LJ, Glinoe D, Mandel SJ & Stagnaro-Green A. Management of Thyroid Dysfunction during Pregnancy and Postpartum: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007 **92** S1 – S47.
2. Alexander EK, Marsqusse E, Lawrence J, et al. Timing and magnitude of increases in levotyroxine requirements during pregnancy in women with hypothyroidism. *The New England journal of medicine* 2007 **351** 241-249.
3. Allan WC, Haddow JE, Palomaki GE et al: Maternal thyroid deficiency and pregnancy complications: implications for population screening. *Journal of medical screening* 2000 **7(3)** 127-30.
4. Becks G, Burrow GN: Thyroid disease in pregnancy. *The Medical clinics of North America* 1991 **75** 121-50.
5. Boyle CA, Ladenson P, Haddow JE: Methods and criteria used in evidence- based decision in public health. *Thyroid* 2005 **15 (1)** 41-3.
6. Casey BM, Dashe JS, Wells CE, McIntire DD, Leveno KJ & Cunningham FG. Subclinical Hyperthyroidism and Pregnancy Outcomes. *Obstetrics and Gynecology* 2006 **107** 337-341.
7. Ceriotti F. Prerequisites for Use of Common Reference Intervals, *The Clinical Biochemist - Reviews* 2007 **28** 115-121.
8. Dashe JS, Casey BM, Wells CE, McIntire DD, Byrd EW, Leveno KJ & Cunningham FG. Thyroid-stimulating hormone in singleton and twin pregnancy: importance of gestational age-specific reference ranges. *Obstetrics and Gynecology* 2005 **106** 753–757.
9. Dayan CN, Saravan P & Bayly G. Whose normal thyroid function is better-yours or mine? *Lancet* 2002 **360** 353–354.

10. Delange F. Optimal iodine nutrition during pregnancy, lactation and the neonatal period. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2004 **2** 1-12.
11. Demers LM & Spencer CA. Laboratory medicine practice guidelines: laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Clinical Endocrinology* 2003 **58** 138-40.
12. d'Herbomez M, Forzy G, Gasser F, Massart C, Beaudonnet A, Sapin R: Clinical evaluation of nine free thyroxine assays: persistent problems in particular populations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2003, **41**:942-947.
13. Dosiou C, Sanders GD, Araki SS & Crapo LM. Screening pregnant women for autoimmune thyroid disease: a cost-effectiveness analysis. *European Journal of Endocrinology* 2008 **158** 841-51.
14. Glinoe D. Potential consequences of maternal hypothyroidism on the offspring: evidence and implications. *Hormone Research* 2001 **55(3)** 109-14.
15. Glinoe D. Miscarriage in Women with Positive Anti-TPO Antibodies: Is Thyroxine the Answer? *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006 **91(7)** 2500–2502.
16. Glinoe D, De Nayer P, Delange F, Lemone M, Toppet V, Spehl M, Grün JP, Kinthaert J & Lejeune B. A randomized trial for the treatment of mild iodine deficiency during pregnancy: maternal and neonatal effects. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1995 **80** 258–269.
17. Goodwin TM, Montoro M, Mestman JH, Pekary AE & Hershman JM. The role of chorionic gonadotropin in transient hyperthyroidism of hyperemesis gravidarum. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1992 **75** 1333–1337.
18. Haddow JE, Knight GJ, Palomaki GE, McClain MR & Pulkkinen AJ: The reference range and within-person variability of thyroid stimulating hormone during the first and second trimesters of pregnancy. *Journal of Medical Screening* 2004 **11** 170–174.
19. Haddow JE, McClain MR, Lambert-Messerlian G, Palomaki GE, Canick JA, Cleary-Goldman J, Malone FD, Porter TF, Nyberg DA, Bernstein P, D'Alton ME; First and

- Second Trimester Evaluation of Risk for Fetal Aneuploidy Research Consortium:  
Variability in thyroid-stimulating hormone suppression by human chorionic  
[corrected] gonadotropin during early pregnancy. *The Journal of clinical  
endocrinology and metabolism* 2008 **93(9)** 3341-7.
20. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, Williams JR, Knight GJ, Gagdon J, O'Heir CE,  
Mitchel ML, Hermos RJ, Waisbren SE, Faix JD & Klein RZ . Maternal thyroid  
deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the  
child. *New England Journal of Medicine* 1999 **341** 549–555.
21. Hauerová D, Pikner R., Topolčan O, Zamrazil V, Mrázová D, Holubec L: Poruchy  
štítné žlázy u těhotných. 2000-2002 Závěrečná zpráva IGA MZ ČR, NB/6412-3
22. Hauerová, D., Pikner, R., Topolčan, O. et al. Thyreopatie u těhotných žen a jejich  
vývoj po porodu, *Vnitřní lékařství*, 2002 **48(11)** 1060 – 1064.
23. Henley R, Parkes AB, Taylor L et al: Comparison of TPOAb assays in early  
pregnancy. 8th European Congress of Endocrinology, *Endocrine abstract* 2006 **11**  
P877
24. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders S, Hannon WH, Gunter EQ, Spencer CA, &  
Braverman LE. Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States  
population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey  
(NHANES III). *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002 **87** 489–99.
25. Horáček J, Špitálníková S., Čepková J, et al: Screening of autoimmune thyroid  
disease in pregnancy in highland district. 2006 ETA Glasgow, *Endocrine abstracts*  
2006 **11** P881.
26. Idris I, Srinivasan R, Simm A & Page RC. Maternal hypothyroidism in early and late  
gestation: effect on neonatal and obstetric outcome. *Clinical Endocrinology* 2005 **63**  
560-565.
27. Jensen EA, Petersen PH, Blaabjerg O, Hansen PS, Brix TH & Hegedüs L.  
Establishment of reference distributions and decision values for thyroid antibodies  
against thyroid peroxidase (TPOAb), thyroglobulin (TgAb) and the thyrotropin  
receptor (TRAb). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2006 **44** 991-998.



28. Klein R.Z., Mitchell, M. L., Maternal hypothyroidism and child development. *Hormone Research* 1999 **52(2)** 55-59.
29. Klein RZ, Sargent JD & Larsen PR. Relation of severity of maternal hypothyroidism to cognitive development of offspring. *Journal of Medical Screening* 2001 **8** 18–20.
30. Kooistra, L., Crawford, S., van Baar AL, Brouwers EP, Pop VJ – Neonatal effects of maternal hypothyroxinemia during early pregnancy. *Pediatrics* 2006 **117(1)** 161-165.
31. Ladenson PW, Singer PA, Ain KB et al: American Thyroid Association guidelines for detection of thyroid dysfunction E. *Archives of internal medicine* 2000 **160 (11)** 1573-5.
32. LaFranchi SH, Haddow JE, Hollowell JG. Is thyroid inadequacy during gestation a risk factor for adverse pregnancy and development outcome? *Thyroid* 2005 **15(1)** 60-71.
33. Lao TT. Thyroid disorders in pregnancy. *Current opinion in obstetrics & gynecology* 2005 **17(2)** 123-7.
34. Lavado-Autric R, Ausó E, García-Velasco JV, Arufe MC, Escobar del Rey F, Berbel P and Morreale de Escobar G: Early maternal hypothyroxinemia alters histogenesis and cerebral cortex cytoarchitecture of the progeny. *The Journal of Clinical Investigation* 2003 **111**:1073-1082.
35. Lazarus JH. Epidemiology and prevention of thyroid disease in pregnancy. *Thyroid* 2002 **12** 861–865.
36. Lazarus JH & Premawardhana LD. Screening for thyroid disease in pregnancy, *Journal of Clinical Pathology* 2005 **58** 449–452.
37. Lazarus JH. Treatment of hyper and hypothyroidism in pregnancy, *Journal of Endocrinological Investigation* 1993, **16**: 391-6.
38. Límanová, Z., et al. *Štítná žláza*, Praha, Galén, 2006, 371 p.

39. Marai I, Carp H, Shai S, Shabo R, Fishman G & Shoenfeld Y. Autoantibody panel screening in recurrent miscarriages. *American Journal of Reproductive Immunology* 2004 **51** 235–240.
40. Marwaha RK, Chopra S, Gopalakrishnan S. et al. Establishment of reference range for thyroid hormones in normal pregnant Indian women. *BJOG An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2008 **115** 602-6.
41. Matalon ST et al. The association between anti-thyroid antibodies and pregnancy loss. *American journal of reproductive imunology* 2001 **45**: 72–7.
42. Mitchell ML & Klein RZ. The sequellae of untreated maternal hypothyroidism. *European Journal of Endocrinology* 2004 **151** U45–48.
43. Morreale de Escobar G, Obregon MJ & Escobar del Rey F. Role of thyroid hormone during early brain development. *European Journal of Endocrinology* 2004 **151** U:25–37.
44. Negro R, Formoso G, Mangieri T, Pezzarossa A, Dazzi D & Hassan H. Euthyroid Women with Autoimmune Thyroid Disease undergoing the assistant reproduction technologies. The role of Autoimmunity and Thyroid function. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006 **91** 2587-91.
45. Neto LV, DeAlmeira CA, Da Costa SM, VaismanM. Prospective evaluation of pregnant women with hypothyroidism: implications for treatment. *Gynecological endocrinology* 2007 **23** 138-141.
46. Nicholson WK, Robinson KA & Smallridge RC. Prevalence of postpartum thyroid dysfunction: a quantitative review. *Thyroid* 2006 **16** 573–82.
47. O’Leary PC, Feddema PH, Michelangeli VP, LeedmanPJ, Chew GT, Knuiman M, Kaye J & Walsh JP. Investigations of thyroid hormones and antibodies based on a community health survey: the Busselton thyroid study. *Clinical Endocrinology* 2006 **64** 97–104.

48. Panesar NS, Chan KW, Li CY, Rogers MS. Status of anti-thyroid peroxidase during normal pregnancy and in patients with hyperemesis gravidarum. *Thyroid* 2006 **16(5)** 481-4.
49. Pop VJ, Brouwers EP, Vader HL, Vulsma T, van Baar AL & Vijlder JJ. Maternal hypothyroxinemia during pregnancy and subsequent child development: a 3 year follow – up study. *Clinical Endocrinology* 2003 **59** 282-288.
50. Pop, V.J., Kuijpers, J.L., van Baar, A.L., et al. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. *Clinical Endocrinology* 1999 **50(2)** 149 – 155.
51. Poppe K, Velkeniers B & Glinoeer D. Thyroid disease in female reproduction. *Clinical Endocrinology* 2007 **66** 309–321.
52. Premawardhana LD, Parkes AB, John R, Harris B & Lazarus JH. Thyroid peroxidase antibodies in early pregnancy: utility for prediction of postpartum thyroid dysfunction and implications for screening. *Thyroid* 2004 **14** 610-615.
53. Smallridge RC & Ladenson PW. Hypothyroidism in Pregnancy: Consequences to Neonatal Health. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2001 **86** 2349–2353.
54. Solberg HE. The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The RefVal Program. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2004 **42** 710–14.
55. Soldin OP, Soldin D, Sastoque M. Gestation specific thyroxine and thyroid stimulating hormone levels in the United States and worldwide. *Therapeutic Drug Monitoring* 2007 **29** 553-9
56. Soldin OP, Tractenberg RE, Hollowell JG, Jonklaas J, Janicic N, Soldin SJ. Trimester-specific changes in maternal thyroid hormone, thyrotropin, and thyroglobulin concentrations during gestation: trends and associations across trimesters in iodine sufficiency. *Thyroid* 2004 **14** 1084-91.
57. Stagnaro-Green A & Glinoeer D. Thyroid autoimmunity and the risk of miscarriage. Best practice & research. *Clinical endocrinology & metabolism* 2004 **18** 167–181.

58. Stricker Rt, Echenard M, Eberhart R, Chevalier MC, Perez V et al. Evaluation of maternal thyroid function during pregnancy: the importance of using gestational age-specific reference intervals. *European Journal of Endocrinology* 2007 **157** 509-14.
59. Surks MI, Ortiz E, Daniels GH, Sawin CT, Col NF, Cobin RH, Franklyn JA, Hershman JM, Burman KD, Denke MA, Gorman C, Cooper RS & Weissman NJ. Subclinical thyroid disease: scientific review and guidelines for diagnosis and management. *Journal of the American Medical Association* 2004 **291** 228-38.
60. Vaidya B, Anthony S, Bilous M, Shields B, Drury J & Hutchison S. Detection of thyroid dysfunction in early pregnancy: Universal screening or targeted high risk case finding? *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007 **92** 203–207.
61. Valeix P, Dos Santos C, Castetbon K. et al: Thyroid hormone levels and thyroid dysfunction of french adults participating in the SU.VI.Max study *Annales d'endocrinologie (Paris)* 2004 **65(6)** 477-86.
62. Zamrazil V, Bilek R, Cerovska J & Delange F. The elimination of iodine deficiency in the Czech Republic: the steps toward success. *Thyroid* 2004 **14** 49-56.
63. Zamrazil V: Vliv věku na štítnou žlázu. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa* 2001 **4** 46-52.
64. Zima, T., et al. *Laboratorní diagnostika*, Praha, Galén, 2002, 660 p.
65. Zimmermann M & Delange F. Iodine supplementation of pregnant women in Europe: a review and recommendations. *European Journal of Clinical Nutrition* 2004 **58** 979-84.

## 11. Přílohy

Příloha 1

**Springer D.:** Štítná žláza, In Průvodce laboratorními nálezy, 02, 2009, C 1.3/1-14, B 1.3/1-2

Příloha 2

**Bezdíčková D.:** Laboratorní vyšetřování v thyreoidologii. In Límanová Z. Štítná žláza, Galén Praha 2006, 1.ed. 15-30.

Příloha 3

Loucký ., **Springer D.**, Zima T.: Možnosti screeningu Downova syndromu v České republice. Česká Gynekologie, 73, 2008, 3, 160-162

Příloha 4

**Springer D.**, Límanová Z.: Zpráva : Společný den ČES a ČKB, DMEV, 2009, 1, 196-200

Příloha 5

**Springer D;** Zima T; Arnoštová L: Stability of Free  $\beta$ -hCG in the Routine Screening of Down Syndrome in the First Trimester of Pregnancy. Prague Medical Report 2008, 109, 134-141

Příloha 6

**Springer D.**, Zima T., Limanova Z.: Reference intervals in evaluation of maternal thyroid function during the first trimester of pregnancy. European Journal of Endocrinology, 2009 160, 791 - 797

Příloha 7

**Springer D.**, Horáček J., Hauerová D., Límanová Z.: Poruchy štítné žlázy v těhotenství – souhrn výsledků nezávislých studií. Česká Gynekologie. 72, 2007, 6, p.375-381