

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



**ÚLOHA NEUROAKTIVNÍCH STEROIDŮ V TĚHOTENSTVÍ A JEJICH
VÝZNAM V PRENATÁLNÍ DIAGNOSTICE**

MUDr. Andrea Pašková

2013

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

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

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

Školící pracoviště: Gynekologicko-porodnická klinika VFN a 1. LFUK v Praze

Školitel: doc. MUDr. Pařízek Antonín, CSc.

Obsah

ABSTRAKT	4
1. ÚVOD	6
2. CÍLE PROJEKTU A HYPOTÉZA	7
3. MATERIÁL A METODIKA.....	7
4. VÝSLEDKY	9
5. DISKUSE.....	15
6. ZÁVĚRY.....	19
7. SHRNUÍ ZÁVĚRŮ PRÁCE	19
8. LITERATURA.....	20
9. SEZNAM PUBLIKACÍ	22

Poděkování

Chtěla bych poděkovat všem, kteří mi svými návrhy, radami, připomínkami a odbornými materiály přispěli k vypracování disertační práce.

Zejména děkuji svému školiteli panu doc. MUDr. Antonínu Pařízkovi, CSc. za cenné rady, konzultace, trpělivost, vstřícný přístup, ochotu a snahu mi pomoci nejen při řešení mé disertační práce, ale také po celou dobu doktorského studia.

Ráda bych poděkovala panu inženýru Martinu Hillovi, DrSc. za vedení při analýze a statistickém vyhodnocení dat a paní doktorce Michaele Duškové, PhD. za mnoho cenných rad a připomínek, ochotu a trpělivost, kterou mi věnovala. Současně děkuji celému týmu Oddělení steroidů a proteofaktorů Endokrinologického ústavu za podporu a pomoc.

Upřímné poděkování patří za podporu a ochotu spolupracovníkům a vedení Gynekologicko-porodnické kliniky 1.LFUK a VFN v Praze, zvláště pak prof. A. Martanovi, DrSc.

Velké poděkování za trpělivost a nekončící podporu patří také celé mé rodině.

Disertační práce byla podporována granty IGA 9790-4, 9834-4.

Abstrakt

Steroidní hormony účinkují dvěma způsoby. Klasický účinek na genomové úrovni, nastupuje relativně pomalu, v hodinách až dnech. Naopak negenomové účinky steroidů mohou ovlivnit buněčné pochody během sekund či dokonce milisekund. V průběhu těhotenství se uplatňují oba mechanismy. Steroidní hormony, které působí negenomově a ovlivňují neuronální excitabilitu, se nazývají neuroaktivní steroidy. Cílem této práce bylo stanovení hladin steroidních hormonů a zkoumání jejich vztahu k fyziologii a patofyziologii těhotenství.

Fyziologický význam zvýšení placentární tvorby progesteronu, snížení produkce 5 β -pregnanových steroidů a rostoucí aktivita steroidních sulfotransferáz s gestační věkem jsou podrobně diskutovány. Na základě námi získaných výsledků byl navržen alternativní mechanismus syntézy mateřského progesteronu v těhotenství (progesteron, resp. gestageny stabilizují činnost myometria = udržení těhotenství). Na rozdíl od dřívějších sdělení naše pozorování popisují vznik gestagenů z prekurzorů ze strany plodu (z pregnenolon sulfátu).

Tento mechanismus je úzce spojen s distribucí placentárních oxidoreduktáz. Příslušná data této práce ukazují na rostoucí trend směrem k přeměně 3-oxo-(3 β -hydroxy-), 17-oxo, a 20-oxo-steroidů na jejich 3 α -hydroxy-, 17 β -hydroxy-a 20 α -hydroxy-metabolity. Z toho vyplývá, že obecným trendem v případě plodu je zvyšování produkce aktivních gestagenů, a naproti tomu snižování produkce estrogenů a aktivních GABA-ergních steroidů s přibližujícím se termínem porodu (pravděpodobně ochrana CNS plodu před oxidačním stresem). Dále také byl popsán antiestrogenní mechanismus u plodu. Tento mechanismus je založen na rostoucí aktivitě oxidačních forem 17 β -hydroxysteroidních dehydrogenáz a aldoketoreduktáz v placentě a v játrech plodu, které chrání plod před hyperestrogenizací (ochrana CNS plodu skrze modulaci iontových kanálů) vyvolanou rostoucí činností aromatázy, jejíž aktivita roste s přibližujícím se termínem porodu.

Naproti tomu u matky stoupá poměr estrogenů ke gestagenům a jejich GABA-ergním metabolitům. Tím pravděpodobně klesá stabilizující vliv gestagenů na myometrium, což může přispívat k vyvolání kontrakcí myometria a zahájení porodu.

Abstract

Steroid hormones act through two mechanisms. The first is the classical genomic level, which acts at a relatively slow pace from hours to days. The second non-genomic mechanism of steroid activity can influence cellular function during seconds or even milliseconds. During pregnancy both mechanisms take place. Steroid hormones that act non-genomically and influence neuronal excitability are called neuroactive steroids. The aim of this study was to measure the levels of steroid hormones and examine their relationship to the physiology and pathophysiology of pregnancy.

The physiological importance of increased placental progesterone production, lowered production of 5B-pregnanone steroids and increased activity of steroid sulfotransferase with gestational age have been intensely discussed. On the basis of our results, we have proposed an alternative mechanism of maternal progesterone synthesis during pregnancy (progesterone, or the gestagen stabilizing activity of the myometrium = continuation of pregnancy). In contrast to previous results our observations indicate that gestagens arise from precursors in the fetus (from pregnenolone sulfate).

This mechanism is closely connected with the distribution of placental oxido-reductase. Data from this study show an increasing trend in the conversion of 3-oxo-(3 β -hydroxy-), 17-oxo, and 20-oxo-steroids to their 3 α -hydroxy-, 17 β -hydroxy- and 20 α -hydroxy metabolites. This indicates that there is a general trend in the fetus toward increased production of active gestagens, and in contrast a lowered production of estrogens and active GABAergic steroids as the term of birth gets closer (likely protecting the fetal CNS from oxidative stress). There has also been an anti-estrogen mechanism by the fetus described. This mechanism is based on increased activity of oxidized forms of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase and aldose reductase in the placenta and fetal liver, which protect the fetus from hyper-estrogenization (guarding the fetal CNS by modulating ion channels) induced by increased aromatase activity that occurs as the term of birth gets closer.

In contrast, the ratio of estrogen to gestagens and their GABAergic metabolites increase in the mother. This likely leads to a lowered stabilizing influence of gestagens on the myometrium, which can contribute to inducing contractions of the myometrium and start of labor.

1. Úvod

Na začátku oplození progesteron zásadním způsobem odpovídá za přeměnu endometria v deciduu a nidaci oplodněného vejce. U člověka se však tento steroid významně podílí na celém průběhu těhotenství. Relaxací myometria udržuje délku těhotenství (Csapo, 1956; Csapo et al., 1971). Vedle progesteronu mohou být biologicky aktivní i jeho metabolity.

Metabolity progesteronu se vážou na extracelulární neurotransmitterové receptory buněčných membrán a ovlivňují jejich propustnost pro ionty. Takto působící steroidy se obecně označují jako steroidy neuroaktivní. V případě progesteronu jde o neuroaktivní steroidy pregnanového typu. Mechanismus působení neuroaktivních steroidů je negenomový a jejich účinek je proto oproti běžně genomově fungujícím steroidům velmi rychlý (Majewska et al., 1985; Majewska et al., 1991; Maitra and Reynolds, 1998; Lundgren et al., 2003; Backstrom et al., 2005). Neuroaktivní steroidy jsou u těhotné ženy produkovány v řádově vyšším množství proti stavu mimo těhotenství (Mickan a Zander, 1979; Hertz et al., 1980). Na jejich produkci se v těhotenství podílí zejména nadledvina plodu a placenta, ale také játra plodu i matky. Placentární a fetální kompartmenty, které tvoří fetomaternální jednotku, jsou velice těsně propojeny, a to jak z hlediska tvorby, tak i účinku neuroaktivních steroidů. Neuroaktivní steroidy existují ve volné i konjugované formě. Volné neuroaktivní steroidy a pravděpodobně i část konjugovaných neuroaktivních steroidů procházejí placentou do mateřského oběhu. Jejich funkce v těle těhotné ženy však dosud není zcela objasněna těhotenství (Hill et al., 2001; Hill et al., 2000; Klak et al., 2003; Parizek et al., 2005). Očekává se, že mají podíl jednak na stabilizaci těhotenství, a na druhé straně mohou být také jedním z mediátorů začátku porodu. Mechanismus začátku porodu je složitý multifaktoriální proces, který dosud není u člověka plně vysvětlen. Jedním z faktorů zpuštění porodních mechanismů (kontrakce myometria) bude pravděpodobně souviset se steroideogenezou fetoplacentární jednotky.

Neuroaktivní steroidy se zřejmě účastní i neurohumorální stresové reakce ženy během porodu a s vysokou pravděpodobností se podílejí i na změnách poporodního duševního stavu a chování matky (Majewska et al., 1989; Beckley a Finn, 2007). V peripartálním období budou mít neuroaktivní steroidy pravděpodobně i ochranný účinek, zejména proti hypoxii centrálního nervového systému plodu (Mellor et al., 2005).

2. Cíle projektu a hypotéza

Hypotéza: Neuroaktivní steroidy jsou významným faktorem pro udržení homeostázy fetoplacentární jednotky a pro indukci porodu.

Cílem projektu bylo zjistit fyziologickou roli neuroaktivních a neuroprotektivních steroidů v lidském těhotenství a odhadnout jejich význam v prenatalní diagnostice ve vztahu k riziku potratu či předčasného porodu a také v souvislosti s různými patologickými stavy. Do současné doby nebyly systematicky sledovány hladiny neuroaktivních steroidů v pupečnickovém séru během těhotenství ani vývoj proporcí mezi neuroaktivačními a neuroinhibičními steroidy. Nebyla dosud hodnocena ani souvislost mezi změnami v biosyntéze těchto látek a výskytem různých patologií v těhotenství. Nebyla rovněž hodnocena možnost změn v transportu neuroprotektivních steroidů mezi matkou a plodem během těhotenství. S ohledem na tyto chybějící informace jsme si stanovili následující konkrétní cíle:

- sledování vývoje biosyntézy a metabolismu neuroaktivních steroidů v průběhu gestace
- s využitím vícerozměrných regresních modelů s redukcí dimenzionality z časových profilů vývoje steroidního metabolomu v průběhu těhotenství odhadnout změny v biosyntéze a metabolismu steroidů udržujících těhotenství i jejich katabolitů a antagonistů před nástupem porodu,
- hodnocení rozdílů koncentrací neuroaktivních steroidů mezi mateřskou krví, krví z pupečnickové arterie, pupečnickové vény a plodovou vodou ve vztahu k původu steroidů a aktivitě enzymů steroidogenezy,
- analýza rozdílů mezi pupečnickovou arterií a pupečnickovou vénou ve vztahu k možnosti náběru směsné pupečnickové krve v další diagnostice změn steroidogenezy,
- interpretovat získané informace ve vztahu k iniciaci porodu a predikci termínu porodu.

3. Materiál a metodika

Sledovaná skupina představovala 50 žen (ve věku 21–41 let), u kterých proběhl porod mezi 28. až 41. týdnem těhotenství. Dvanáct (24 %) žen, které porodily po 38. týdnu gestace, nemělo žádné perinatologické komplikace. Z 38 porodů (76 %), které proběhly mezi 28. a 37. týdnem gestace, bylo 29 (76,3 %) ukončeno císařským řezem z důvodů zdravotních rizik pro matku nebo plod a 9 (23,7 %) porodů proběhlo vaginálně se spontánní děložní aktivitou.

Důvodem předčasné děložní aktivity byla u těchto žen infekce matky, dokumentovaná vysokými hladinami CRP, leukocytózou a horečkou. Na rozdíl od skupiny zdravých žen, které porodily po 38. týdnu gestace, byly všechny předčasné porody se spontánní děložní aktivitou indukované náhlými neočekávanými komplikacemi, kde byla ve vztahu k nim nižší pravděpodobnost postupných změn ve steroidním metabolomu.

Závislost předčasných porodů vedených císařským řezem na stavu metabolismu steroidů je ještě méně pravděpodobná. Ačkoli nemáme k dispozici žádné nástroje pro ověření našeho předpokladu, že důvody pro předčasné porody se spontánní aktivitou uteru nesouvisely se steroidogenezou, snažili jsme se vybrat ženy, u kterých byla maximální pravděpodobnost shody steroidního metabolomu s aktuálním gestačním věkem (GA), a to jak v případě předčasných porodů, tak i u porodů v termínu. Studie byla schválena Etickou komisí VFN a ženy podstoupily sběr vzorků po podepsání informovaného souhlasu.

Bezprostředně po oddělení pupečníku od novorozence byly odebrány vzorky arteriální a venózní pupečnickové krve a vzorky krve matky z kubitální vény. Ve druhé době porodní byl odebrán vzorek plodové vody. Plodová voda byla v naší studii odebrána po porození hlavičky dítěte.

K měření koncentrací steroidů pro derivatizaci byl použit systém GCMS-QP2010 Plus od firmy Shimadzu (Kjóto, Japonsko) skládající se z plynového chromatografu vybaveného automatickou kontrolou průtoku, autosamplerem AOC-20s a samostatným kvadrupólovým detektorem (single quadrupole detector) a iontovým zdrojem s volitelným napětím v rozmezí 10–195 V. K analýze byla použita středně polární kapilární kolona RESTEK Rxi (průměr 0,25 mm, délka 15 m, tloušťka filmu 0,1 μm).

Původní data byla ve své většině nesymetrická a vykazovala závislost rozptylu na koncentraci analytu (heteroscedasticita). Proto byla původní data před dalším zpracováním transformována směrem k symetrii a homoscedasticitě (konstantní rozptyl) mocninnou transformací s použitím statistického softwaru Statgraphic Centurion, verze XV, firmy Statpoint Inc. (Herdon, Virginie, USA). Transformovaná data byla zpracována vícerozměrnou regresí s redukcí dimenzionality metodou ortogonálních projekcí do latentní struktury (OPLS) (Trygg et al., 2007).

Model OPLS umožnil nalezení nejlepších prediktorů, stejně jako jejich nejlepší kombinaci pro predikci gestačního věku z hladin steroidů. S využitím uvedené metodiky jsme porovnávali prediktivitu steroidních hladin pro odhad gestačního věku v různých biologických tekutinách. V této práci bylo nově vyvinutou multikomponentní metodikou kvantifikováno hladiny 69 steroidů a jejich polárních konjugátů.

4. Výsledky

Jedním z cílů postgraduální práce bylo sledování vývoje v biosyntéze a metabolismu neuroaktivních steroidů v průběhu gestace a cílem navazujícím pak byl odhad změn v biosyntéze a metabolismu steroidů udržujících těhotenství i jejich katabolitů a antagonistů před nástupem porodu s využitím vícerozměrných regresních modelů s redukcí dimenzionality. V této části práci bylo nově vyvinutou multikomponentní metodikou kvantifikováno hladiny 69 steroidů. S využitím vícerozměrné regrese s redukcí dimenzionality byly vytvořeny predikční modely pro odhad gestačního věku (GA) v jednotlivých tělních tekutinách plodu a v krvi matky (tab. 1).

Dalším cílem práce bylo sledování změn v biosyntéze a metabolismu steroidů udržujících těhotenství i jejich katabolitů a antagonistů před nástupem porodu. Tato část práce vycházela z několika nezodpovězených otázek ohledně tvorby progesteronu v lidském těhotenství ve světle nových poznatků plynoucích z multikomponentní plynově-chromatografické-hmotově-spektrometrické analýzy steroidů. Dále byla tato otázka řešena ve sledování steroidogenezy v posledním trimestru těhotenství s ohledem na stabilitu těhotenství.

Další část práce je věnovaná vývoji fetální steroidogenezy mezi 28. – 41. týdnem gestace. Kromě zmapování steroidního metabolomu u plodu byly sledovány také poměry prekurzor produkt odrážející aktivity enzymů steroidogenezy a poměry konjugovaných steroidů k jejich volným analogům. U plodu byla, mimo jiné, nalezena významná tendence k vyšší produkci aktivního gestagenu a nižší produkci aktivního estrogenu a aktivních GABA-ergních steroidů s přibližujícím se termínem porodu. Na druhé straně poměry porod indukujících estrogenů k těhotenství udržujícím gestagenům a GABA-ergním steroidům vykazují významný vzrůst s rostoucím GA v UV (sérum z pupečnickové vény), UA (sérum z pupečnickové arterie) a i MV (sérum z mateřské krve). Výsledky rovněž ukazují rostoucí poměr steroidních polárních konjugátů (sulfátů a glukuronidů).

Přes významné arteriovenózní difference u řady steroidů téměř všechny volné steroidy, a zejména jejich polární konjugáty, silně korelují mezi UA a UV, což naznačuje srovnatelnou výpovědní hodnotu krví z UA, UV a smíšené pupečnickové krve.

Tabulka 1. Hladiny steroidů v pupečnickové arterii a pupečnickové větě u předčasných porodů a porodů v termínu vyjádřené jako mediány (kvartily)^a.

Steroid				GA při porodu			Rozdíly ^b , závislost na GA
			týden 28–32 (A)	týden 33–37 (B)	týden 38–42 (C)		
Pregnenolon (U)** ^a	UA	nM	18.5 (16.7, 27.1)	19.8 (16.9, 23)	29.1 (21.1, 35.8)	A<C*, B<C*	↗
Pregnenolon (U)**	UV≈	nM	16.8 (15.3, 24.2)** ^c	21.3 (18.4, 30.8)	30.3 (23.8, 37.9)*	A<C***	↗
Pregnenolon (C)***	UA	μM	0.575 (0.341, 1.06)	1.97 (0.922, 3.38)	2.72 (2.1, 3.56)	A<B**, A<C***	↗
Pregnenolon (C)***	UV*** ^c ↓	μM	0.647 (0.364, 0.841)	1.78 (0.75, 3.49)**	2.39 (1.69, 2.93)**	A<B**, A<C***	↗
17-Hydroxypregnenolon (U)	UA	nM	20.7 (11.3, 39.6)	14.4 (9.64, 29.3)	27.8 (17.5, 45.6)		~
17-Hydroxypregnenolon (U)	UV***↓	nM	9.24 (5.06, 18.4)***	9.62 (4.6, 12.3)**	7.21 (4.74, 10.6)***		~
17-Hydroxypregnenolon (C)***	UA	nM	60 (43.4, 169)	913 (466, 1180)	469 (222, 934)	A<B***, A<C***	↗
17-Hydroxypregnenolon (C)***	UV≈	nM	61.6 (41.6, 117)	798 (379, 1260)	478 (224, 769)	A<B***, A<C***	↗
20α-Dihydroxypregnenolon (U)	UA	nM	1.97 (1.38, 2.55)	2.42 (1.96, 3.06)	2.48 (1.61, 3.03)		~
20α-Dihydroxypregnenolon (U)*	UV***↓	nM	1.1 (0.892, 1.67)**	1.74 (1.28, 3.07)	1.76 (1.33, 2.32)***	A<B*	↗
20α-Dihydroxypregnenolon (C)***	UA	μM	0.447 (0.289, 1.1)	1.37 (0.882, 1.9)	1.6 (1.11, 2.07)	A<B*, A<C***	↗
20α-Dihydroxypregnenolon (C)***	UV≈	μM	0.382 (0.269, 0.627)	1.48 (0.842, 1.89)	1.65 (1.19, 2.27)*	A<B***, A<C***	↗
16α-Hydroxypregnenolon (U)*	UA	nM	8.04 (6.22, 11.9)	9.54 (5.64, 11.8)	10.8 (8.3, 19.1)		~
16α-Hydroxypregnenolon (U)***	UV***↓	nM	1.83 (1.6, 2.26)***	2.51 (1.71, 3.96)***	3.68 (2.74, 5.57)***	A<C***	↗
16α-Hydroxypregnenolon (C)***	UA	nM	1.77 (1.38, 3.16)	6.88 (4.01, 15.1)	10.3 (6.03, 15.4)	A<B*, A<C***	↗
16α-Hydroxypregnenolon (C)***	UV≈	nM	2.29 (1.59, 5.18)	7.09 (3.43, 13.1)	8.53 (5.86, 14.2)	A<B*, A<C***	↗
Dehydroepiandrosteron (U)	UA	nM	7.63 (4.41, 10.1)	7.82 (3.68, 12.6)	9.85 (5.82, 15.6)		~
Dehydroepiandrosteron (U)*	UV***↓	nM	1.57 (1.03, 2.64)***	2.07 (1.46, 3.35)**	2.6 (1.88, 3.84)***	A<C*	↗
Dehydroepiandrosteron (C)***	UA	μM	0.569 (0.185, 0.791)	1.63 (0.702, 2.34)	1.51 (1.15, 2.53)	A<B**, A<C***	↗
Dehydroepiandrosteron (C)***	UV*↓	μM	0.547 (0.307, 0.966)*	1.6 (0.728, 2.15)	1.48 (0.917, 2.12)*	A<B**, A<C***	↗
16α-Hydroxy-DHEA (U)** ^a	UA	nM	1.95 (0.863, 3.89)	2.52 (2.17, 3.77)	7.1 (3.79, 20.1)	A<C***, B<C***	~
16α-Hydroxy-DHEA (U)***	UV*** ^c ↑	nM	4.45 (2.47, 5.26)*** ^c	5.8 (4.2, 7.41)***	24.8 (11.4, 52.7)***	A<C***, B<C***	↗
16α-Hydroxy-DHEA (C)	UA	μM	0.603 (0.079, 1.24)	0.549 (0.208, 1.28)	1.06 (0.281, 1.92)		↗
16α-Hydroxy-DHEA (C)**	UV***↑	μM	0.766 (0.39, 1.07)	0.655 (0.389, 1.83)*	2.35 (0.905, 4.67)**	A<C**, B<C*	↗
7α-Hydroxy-DHEA (U)	UA	nM	1.41 (1.03, 1.9)	1.55 (1.16, 2.09)	1.91 (1.45, 2.41)		~
7α-Hydroxy-DHEA (U)***	UV***↓	nM	1.02 (0.645, 1.5)*	1 (0.681, 1.37)*	1.52 (1.12, 2.18)	A<C**, B<C*	↗
7β-Hydroxy-DHEA (U)**	UA	nM	0.185 (0.080, 0.343)	0.156 (0.125, 0.221)	0.276 (0.21, 0.347)	A<C*, B<C*	↗
7β-Hydroxy-DHEA (U)***	UV***↓	nM	0.111 (0.032, 0.14)**	0.132 (0.084, 0.254)	0.218 (0.18, 0.271)***	A<C***	↗

Tabulka 1, pokračování. Hladiny steroidů v pupečnickové arterii a pupečnickové větě u předčasných porodů a porodů v termínu vyjádřené jako mediány (kvartily).

Steroid	GA při porodu			Rozdíly ^b , závislost na GA			
		týden 28–32 (A)	týden 33–37 (B)		týden 38–42 (C)		
Androstendiol (U)**	UA	pM	472 (409, 747)	363 (222, 469)	301 (184, 407)	A>C**	↘
Androstendiol (U)**	UV***↓	pM	240 (92, 352)**	146 (81.3, 279)**	96.9 (76.8, 137)***	A>C**	↘
Androstendiol (C)***	UA	μM	0.185 (0.149, 0.341)	1.33 (0.715, 2.84)	2.61 (1.73, 3.78)	A<B***, A<C***	↗
Androstendiol (C)***	UV**↑	μM	0.196 (0.147, 0.377)**	0.992 (0.718, 3.09)	2.66 (1.72, 4.1)***	A<B***, A<C***	↗
5-Androsten-3β,7α,17β-triol (U)***	UA	pM	8.92 (6.13, 19.4)	17.4 (12.7, 28.5)	25.6 (16.4, 46.3)	A<C***	↗
5-Androsten-3β,7α,17β-triol (U)**	UV***↓	pM	2.93 (1.29, 5.19)**	4.14 (3.14, 9.67)**	6.21 (3.67, 11.1)***	A<C**	↗
5-Androsten-3β,7α,17β-triol (C)***	UA	pM	50.7 (15.3, 84)	353 (239, 637)	504 (380, 799)	A<B***, A<C***	↗
5-Androsten-3β,7α,17β-triol (C)***	UV*↓	pM	45.9 (15.8, 89.2)	287 (145, 625)	474 (285, 662)*	A<B***, A<C***	↗
5-Androsten-3β,7β,17β-triol (U)*	UA	pM	9.18 (5.55, 16.9)	10.4 (7.65, 13)	15.4 (8.93, 28.2)	A<C*	↗
5-Androsten-3β,7β,17β-triol (U)**	UV***↓	pM	3.27 (2.29, 6.84)**	6.34 (4.45, 10.5)	7.28 (5.41, 11.5)***	A<C**	↗
5-Androsten-3β,7β,17β-triol (C)***	UA	pM	23.9 (16.1, 59.8)	179 (107, 374)	600 (421, 993)	A<B*, A<C***, B<C***	↗
5-Androsten-3β,7β,17β-triol (C)***	UV**↓	pM	33 (16.8, 56)	129 (88.7, 352)	484 (279, 760)*	A<B*, A<C***, B<C**	↗
Progesteron**	UA	μM	0.71 (0.404, 0.964)	0.51 (0.39, 0.622)	0.824 (0.533, 1.07)	B<C**	↗
Progesteron**	UV***↑	μM	0.946 (0.811, 1.57)**	1.08 (0.861, 1.23)***	1.44 (1, 2.1)***	B<C*	↗
17-Hydroxyprogesteron (U)***	UA	nM	27.1 (14.4, 33)	23.1 (18.2, 36.1)	52.2 (44, 73.1)	A<C***, B<C***	↗
17-Hydroxyprogesteron (U)***	UV***↑	nM	29.6 (20.7, 42.6)*	47.4 (35.7, 58.4)***	74.9 (50.9, 100)**	A<C***, B<C*	↗
17-Hydroxyprogesteron (C)*	UA	nM	9.34 (9.32, 42.5)	33.9 (22.1, 38.7)	47.1 (42.2, 57)	A<C*	↗
17-Hydroxyprogesteron (C)***	UV≈	nM	16.1 (12, 21.2)	27.5 (14.6, 37.1)	48.2 (38.8, 60.4)	A<C***, B<C*	↗
20α-Dihydroprogesteron (U)	UA	nM	91.7 (57.2, 118)	82.9 (66.8, 156)	88.1 (60.9, 123)		~
20α-Dihydroprogesteron (U)	UV***↓	nM	44.7 (32.2, 71.7)***	64 (37.8, 121)*	52.8 (36.2, 85.8)***		~
20α-Dihydroprogesteron (C)***	UA	nM	47.9 (29.1, 83.4)	84.1 (50.7, 118)	99.4 (77.8, 153)	A<C***	↗
20α-Dihydroprogesteron (C)***	UV≈	nM	44.1 (32.5, 93.9)	102 (81.7, 164)*	101 (80, 161)	A<B**, A<C***	↗
16α-Hydroxyprogesteron (U)***	UA	nM	53.5 (36.9, 82.8)	76.7 (40.6, 102)	163 (103, 234)	A<C***, B<C***	↗
16α-Hydroxyprogesteron (U)***	UV***↑	nM	78.5 (45.3, 110)**	105 (67.4, 182)***	273 (176, 411)***	A<C***, B<C***	↗
Estron (U)***	UA	nM	2.34 (1.61, 3.15)	4.64 (3.13, 8.92)	13.6 (7.55, 23.6)	A<B*, A<C***, B<C**	↗
Estron (U)***	UV***↑	nM	16.6 (10.6, 20.8)***	27.9 (17.2, 56.6)***	72.3 (45.1, 127)***	A<C***, B<C**	↗
Estron (C)***	UA	nM	39.1 (19.5, 62.4)	191 (107, 231)	122 (87.7, 217)	A<B***, A<C***	↗
Estron (C)***	UV*↓	nM	25.7 (17.7, 47.5)	138 (98.7, 199)	106 (82.9, 209)*	A<B***, A<C***	↗
16α-Hydroxyestron (U)***	UA	nM	0.168 (0.067, 0.554)	0.533 (0.376, 0.722)	1.62 (1.35, 2.27)	A<C***, B<C**	↗
16α-Hydroxyestron (U)***	UV***↑	nM	1.72 (1.33, 2.09)***	2.03 (1.39, 3.1)***	8.9 (6.27, 9.74)***	A<C***, B<C**	↗

Tabulka 1, pokračování. Hladiny steroidů v pupečnickové arterii a pupečnickové větě u předčasných porodů a porodů v termínu vyjádřené jako mediány (kvartily).

Steroid				GA při porodu			Rozdíly ^b , závislost na GA	
			týden 28–32 (A)	týden 33–37 (B)	týden 38–42 (C)			
Estradiol (U)***	UA	nM	0.915 (0.748, 1.38)	1.66 (1.02, 2.74)	3.05 (1.92, 6.17)	A<C***, B<C*	↗	
Estradiol (U)***	UV***↑	nM	3.64 (2.61, 5.24)***	8.26 (3.41, 10.4)***	12.5 (6.62, 17.7)***	A<C***	↗	
Estradiol (C)***	UA	nM	11.9 (8.91, 15.5)	26.4 (16.2, 34.6)	13.3 (8.3, 17.1)	A<B***, B>C***	∩	
Estradiol (C)***	UV≈	nM	8.82 (6.87, 12.6)	22.8 (17.8, 30.8)	14.5 (9.45, 19.4)***	A<B***, A<C*, B>C**	∩	
Estriol (U)***	UA	nM	11.8 (6.68, 18.4)	21.2 (11.6, 39)	49 (34, 75.4)	A<C***, B<C**	↗	
Estriol (U)***	UV***↑	nM	70.4 (52.7, 107)***	103 (77, 168)***	216 (145, 308)***	A<C***, B<C**	↗	
Estriol (C)***	UA	μM	1.04 (0.602, 1.25)	3.94 (3.23, 5.1)	2.87 (2.35, 3.94)	A<B***, A<C***	↗	
Estriol (C)***	UV***↓	μM	0.676 (0.48, 1.01)***	3.55 (2.56, 4.63)	2.78 (2.09, 3.46)*	A<B***, A<C***	↗	
Androstendion***	UA	nM	2.59 (0.984, 3.13)	1.32 (0.761, 2.27)	3.55 (2.67, 4.46)	A<C**, B<C***	↗	
Androstendion***	UV***↓	nM	1.05 (0.6, 1.61)***	1.11 (0.676, 1.92)	2.03 (1.7, 2.6)***	A<C***, B<C**	↗	
16α-Hydroxyandrostendion (U)***	UA	nM	2.47 (0.796, 3.08)	2.73 (1.61, 3.3)	11 (4.23, 18)	A<C***, B<C***	↗	
16α-Hydroxyandrostendion (U)***	UV≈	nM	2.48 (1.71, 3.66)*	2.86 (1.59, 3.27)	9.71 (5.29, 15.1)	A<C***, B<C***	↗	
Testosteron (U)**	UA	nM	4.02 (1.39, 6.99)	1.04 (0.687, 2.24)	1.32 (0.751, 1.78)	A>B*, A>C**	↘	
Testosteron (U)	UV**↓	nM	1.61 (0.746, 3.06)***	0.915 (0.722, 1.26)	1.36 (0.893, 1.74)		~	
16α-Hydroxytestosteron (U)***	UA	nM	6.54 (3.34, 12.2)	7.05 (4.96, 9.25)	13.6 (9.01, 22.5)	A<C***, B<C***	↗	
16α-Hydroxytestosteron (U)***	UV≈	nM	3.12 (2.76, 8.65)*	5.49 (3.93, 11.8)	11.9 (9.35, 18.7)	A<C***, B<C**	↗	
Androsteron (U)	UA	pM	139 (111, 191)	179 (91.3, 220)	158 (97.2, 213)		~	
Androsteron (U)	UV***↓	pM	69.8 (41.9, 131)***	80.5 (61.1, 122)*	59.8 (41.1, 89.1)***		~	
Androsteron (C)***	UA	nM	4.82 (2.5, 8.13)	14.8 (8.93, 20.4)	13.9 (10.9, 19.1)	A<B**, A<C***	↗	
Androsteron (C)***	UV≈	nM	5.81 (3.5, 9.93)**	16.6 (11.2, 18.4)	14 (9.27, 19.1)	A<B**, A<C**	↗	
Epiandrosteron (C)**	UA	nM	24.9 (6.63, 39)	49.7 (22.6, 65.8)	52.9 (41.4, 90.3)	A<C**	↗	
Epiandrosteron (C)***	UV*↓	nM	22.9 (12.3, 31.4)	43.1 (24.8, 101)	52 (31.6, 79.2)*	A<B*, A<C***	↗	
Etiocholanolon (U)	UA	pM	50.4 (36.7, 63.8)	38.3 (28.2, 48.9)	56.7 (27.8, 74)		~	
Etiocholanolon (U)	UV≈	pM	46.5 (26.8, 74.5)	35.5 (24.8, 61.9)	50.1 (34.5, 71.6)		~	
Etiocholanolon (C)*	UA	nM	0.77 (0.578, 2.41)	2.96 (1.28, 4.02)	2.58 (1.5, 3.57)	A<C*	↗	
Etiocholanolon (C)	UV*↑	nM	1.37 (0.861, 2.46)**	2.99 (1.39, 4.42)	2.53 (1.34, 3.4)		~	

Tabulka 1, pokračování. Hladiny steroidů v pupečnickové arterii a pupečnickové větě u předčasných porodů a porodů v termínu vyjádřené jako mediány (kvartily).

Steroid				GA při porodu			Rozdíly ^b , závislost na GA	
			týden 28–32 (A)	týden 33–37 (B)	týden 38–42 (C)			
5α-Androstan-3α,17β-diol (C)***	UA	nM	5.94 (3.66, 8.31)	25 (17.4, 37.7)	13.6 (8.34, 17.5)	A<B***, A<C**, B>C**	∩	
5α-Androstan-3α,17β-diol (C)***	UV*↑	nM	6.24 (4.15, 9.6)*	22.1 (17.3, 45.5)	13.5 (9.79, 18.5)*	A<B***, A<C**, B>C**	∩	
5α-Androstan-3β,17β-diol (C)***	UA	nM	2.27 (1.48, 3.73)	7.97 (5.84, 10.9)	4.37 (2.77, 8.05)	A<B***, A<C*, B>C*	∩	
5α-Androstan-3β,17β-diol (C)***	UV≈	nM	2.33 (1.4, 4.42)	8.23 (5.07, 13)	5.84 (3.06, 7.98)	A<B***, A<C**	↗	
5β-Androstan-3α,17β-diol (C)***	UA	nM	1.81 (1.45, 2.4)	5.72 (2.28, 10.4)	3.83 (3.08, 4.73)	A<B***, A<C***	↗	
5β-Androstan-3α,17β-diol (C)***	UV≈	nM	1.8 (1.4, 2.18)	5.05 (3.17, 11.2)	3.86 (2.66, 5.15)	A<B***, A<C***	↗	
5α-Dihydroprogesteron***	UA	nM	31.9 (21.5, 50.6)	23.6 (16.7, 34.2)	45.1 (29.2, 59.7)	B<C***	↗	
5α-Dihydroprogesteron	UV≈	nM	35.9 (17.7, 45.8)	28.8 (21.5, 36)	36.9 (28.5, 58.6)		~	
Allopregnanolon (U)	UA	nM	6.44 (4.14, 10)	4.93 (3.98, 6.38)	4.93 (3.61, 7.19)		~	
Allopregnanolon (U)	UV≈	nM	5.51 (4.28, 7.24)	5.79 (5.26, 6.81)	4.44 (3.15, 6)*		~	
Allopregnanolon (C)***	UA	nM	123 (69.4, 184)	421 (322, 671)	230 (179, 414)	A<B***, A<C**, B>C*	∩	
Allopregnanolon (C)***	UV***↑	nM	144 (92.6, 225)***	562 (406, 927)**	287 (224, 442)***	A<B***, A<C**, B>C*	∩	
Isopregnanolon (U)	UA	nM	11.6 (7.34, 17.5)	9.03 (6.66, 11.8)	9.71 (8.21, 13.7)		~	
Isopregnanolon (U)	UV***↓	nM	6.69 (4.53, 8.7)***	6.84 (4.78, 10)*	6.74 (4.28, 10.5)***		~	
Isopregnanolon (C)***	UA	nM	85.4 (56, 164)	289 (135, 482)	339 (255, 433)	A<B***, A<C***	↗	
Isopregnanolon (C)***	UV≈	nM	81.1 (57.8, 198)	324 (167, 530)	302 (247, 464)	A<B***, A<C***	↗	
5β-Dihydroprogesteron*	UA	nM	13.7 (8.81, 19.5)	7.4 (4.98, 10.2)	8.66 (5.81, 13.1)	A>B*	↘	
5β-Dihydroprogesteron*	UV**↓	nM	12.3 (8.34, 16.9)	6.4 (5.32, 7.72)	7.38 (4.61, 12.1)**	A>B*	↘	
Pregnanolon (U)**	UA	nM	16.7 (12.6, 21.8)	12 (8.4, 13.6)	10.3 (7.04, 14.9)	A>B*, A>C**	↘	
Pregnanolon (U)*	UV***↓	nM	7.19 (4.6, 9.46)***	5.21 (4.12, 7.67)***	4.49 (2.91, 6.32)***	A>C*	↘	
Pregnanolon (C)***	UA	nM	96.4 (67.6, 110)	259 (165, 355)	178 (144, 253)	A<B***, A<C***	↗	
Pregnanolon (C)***	UV≈	nM	94.5 (67.7, 128)*	265 (176, 365)	187 (142, 238)	A<B***, A<C***	↗	
Epipregnanolon (U)***	UA	nM	2.17 (1.39, 2.93)	1.35 (1.05, 1.67)	0.983 (0.699, 1.39)	A>C***	↘	
Epipregnanolon (U)*	UV***↓	nM	1.32 (0.699, 1.43)***	0.739 (0.562, 1.12)***	0.611 (0.418, 1.02)***	A>C*	↘	
Epipregnanolon (C)***	UA	nM	33.8 (21.5, 50.5)	67.7 (44.8, 112)	48.4 (39.8, 66.1)	A<B***, A<C*	↗	
Epipregnanolon (C)***	UV***↑	nM	40.8 (22.5, 57.6)**	91 (57.6, 154)**	61.5 (46.3, 77.3)**	A<B***, A<C*	↗	

Tabulka 1, pokračování. Hladiny steroidů v pupečnickové arterii a pupečnickové větě u předčasných porodů a porodů v termínu vyjádřené jako mediány (kvartily).

Steroid				GA při porodu			Rozdíly ^b , závislost na GA
			týden 28–32 (A)	týden 33–37 (B)	týden 38–42 (C)		
5α,20α-Tetrahydroprogesteron (U)	UA	nM	76.3 (58.1, 85.5)	60.6 (50.3, 102)	62.7 (41, 92.1)		~
5α,20α-Tetrahydroprogesteron (U)	UV***↓	nM	47.4 (40.4, 60.8)***	66.7 (42.1, 81.9)	47.1 (33.1, 66.1)***		~
5α,20α-Tetrahydroprogesteron (C)***	UA	nM	70.7 (55.5, 118)	197 (171, 307)	122 (74.2, 181)	A<B***, A<C*, B>C*	∩
5α,20α-Tetrahydroprogesteron (C)***	UV≈	nM	79.1 (67.4, 119)*	215 (166, 314)	119 (90, 157)	A<B***, B>C**	∩
5α-Pregnan-3α,20α-diol (U)	UA	nM	3.15 (1.81, 6.87)	2.73 (2.05, 3.13)	2.94 (2.57, 6.09)		~
5α-Pregnan-3α,20α-diol (U)	UV***↓	nM	1.74 (1.14, 4.36)***	1.96 (1.43, 2.52)*	2.05 (1.4, 2.62)***		~
5α-Pregnan-3α,20α-diol (C)*** ^a	UA	nM	776 (426, 1160)	2790 (1830, 3690)	949 (706, 1470)	A<B***, B>C***	∩
5α-Pregnan-3α,20α-diol (C)***	UV*** ^c ↑	nM	898 (575, 1360)*** ^c	2740 (1820, 4220)	1120 (804, 1530)***	A<B***, B>C***	∩
5α-Pregnan-3β,20α-diol (U)	UA	nM	2.71 (2.12, 3.4)	2.31 (1.81, 3.16)	2.43 (1.78, 3.56)		~
5α-Pregnan-3β,20α-diol (U)	UV≈	nM	2.1 (1.8, 2.62)**	2.45 (1.85, 3.48)	2.03 (1.45, 4.03)		~
5α-Pregnan-3β,20α-diol (C)***	UA	μM	0.919 (0.4, 1.35)	2.79 (1.72, 4.64)	1.78 (1.21, 2.26)	A<B***, A<C**	↗
5α-Pregnan-3β,20α-diol (C)***	UV***↑	μM	0.966 (0.574, 1.33)*	3.18 (2.34, 4.89)	1.78 (1.39, 2.5)**	A<B***, A<C**, B>C*	∩
5β,20α-Tetrahydroprogesteron (U)*	UA	nM	27.9 (18.2, 41.6)	20.8 (16.8, 26.7)	14.8 (9.38, 28.7)	A>C*	↘
5β,20α-Tetrahydroprogesteron (U)*	UV***↓	nM	20.6 (12.5, 32.1)**	17.4 (14.6, 24.6)*	11.8 (8.02, 21)***	A>C*	↘
5β,20α-Tetrahydroprogesteron (C)	UA	nM	40.7 (25.4, 74.7)	66.9 (45.2, 77.4)	45.6 (34.6, 80.9)		~
5β,20α-Tetrahydroprogesteron (C)	UV≈	nM	35.9 (26.9, 79.4)	56.2 (33.9, 88.2)	51.8 (37.4, 77.7)		~
5β-Pregnan-3α,20α-diol (U)***	UA	nM	25.6 (18.3, 34.6)	17.4 (12, 18.8)	12.4 (9.4, 15.3)	A>B*, A>C***	↘
5β-Pregnan-3α,20α-diol (U)***	UV***↓	nM	7.18 (4.4, 9.99)***	6.38 (4.18, 8.21)***	3.24 (2.45, 4.81)***	A>C***, B>C**	↘
5β-Pregnan-3α,20α-diol (C)***	UA	μM	1.02 (0.749, 1.5)	2.52 (1.81, 3.76)	1.39 (1.04, 2.25)	A<B***, B>C*	∩
5β-Pregnan-3α,20α-diol (C)***	UV≈	μM	1 (0.758, 1.3)	3.24 (2.08, 3.8)	1.13 (0.758, 1.77)	A<B***, B>C***	∩
5β-Pregnan-3β,20α-diol (U)*	UA	pM	775 (320, 964)	658 (454, 869)	419 (287, 595)		~
5β-Pregnan-3β,20α-diol (U)	UV***↓	pM	398 (159, 560)*	349 (264, 566)***	199 (151, 388)***		~
5β-Pregnan-3β,20α-diol (C)***	UA	nM	210 (124, 255)	449 (405, 727)	281 (202, 372)	A<B***, B>C**	∩
5β-Pregnan-3β,20α-diol (C)***	UV*↑	nM	198 (138, 268)*	579 (421, 795)	282 (212, 399)	A<B***, B>C***	∩

^aSoubor zahrnoval 80 žen (21–41 roků) při porodu od 28. do 41. týdne gestace. Soubor byl rozdělen do tří kategorií podle GA při porodu. Skupina A, B a C zahrnovala ženy rodící v týdnech 28–32 (n = 19), 33–37 (n = 19), a 38–42 (n = 42) týdnech těhotenství.

↗ = vzrůstající trend s rostoucím GA, ~ = nezávisí na GA, ↘ = klesající trend s rostoucím GA, ∩ = maximum u skupiny B; ↑ = vyšší hodnoty v UV, ↓ = nižší hodnoty v UV, ≈ = nevýznamný rozdíl mezi UA and UV; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; ^bKruskal-Wallisův test; ^cvícenásobné porovnávání dle Dunna s Bonferroniho korekcí; ^dWilcoxonův párový test

5. Diskuse

Koncentrace většiny měřených steroidů (sérum matky a sérum z pupečnickové krve) kladně korelovaly s gestačním věkem při porodu. Vzhledem k tomu, že u žen zahrnutých ve studii nebyla příčina předčasného porodu spojena s nerovnováhou ve hladinách steroidů, dalo se předpokládat, že steroidní metabolom odrážel především gestační věk či zralost plodu a sestavený matematický model by mohl být užitečný pro odhad fetální zralosti a termínu porodu. Na druhé straně je jasné, že tento model nepostihuje neočekávané komplikace v těhotenství, které často vedou k předčasnému porodu (zánět, až v 60 %). Model by tedy vyhovoval situacím, kdy termín porodu by byl závislý na hormonálních změnách těhotné ženy a umožňoval by zjištění nejlepších (senzitivita a specifita) steroidních prediktorů nástupu děložní činnosti (kontrakce myometria).

Naše studie také poskytly odpověď na otázku, zdali je steroidní metabolom v mateřské plasmě z hlediska predikce termínu porodu srovnatelný se steroidním metabolomem v tělních tekutinách plodu. Bylo zjištěno, že prediktivita steroidů v krvi matky (podstatně nižší invazivita při získávání vzorků pro stanovení steroidů – intravenózní odběr krve) ve srovnání s tělními tekutinami plodu (amniocentéza/kordocentéza = riziko pro plod) dosahuje lepších hodnot než prediktivita steroidů v plodové vodě a jen o málo nižších hodnot ve srovnání s krví z UA a UV.

Nejprve byly do modelu zahrnuty všechny měřené steroidy. V dalším kroku pak byly z modelu vyloučeny steroidy, jejichž komponentní váhy vyjádřené jako korelace se společnou prediktivní komponentou nedosahovaly statistické významnosti. Tyto steroidy totiž zvyšovaly podíl nevysvětlené variability. Steroidy, jejichž korelace se společnou prediktivní hodnotou se blížily -1 nebo 1, silně negativně nebo pozitivně korelovaly s prediktivní komponentou, byly dobrými prediktory pro odhad gestačního věku. Parametry modelu predikce byly nastaveny tak, aby bylo dosaženo maximálního podílu vysvětlené variability u závisle proměnné GA nezávisle proměnnými.

Také polární konjugáty (sulfáty a glukuronidy) pregnanolonových izomerů byly poměrně účinnými prediktory GA termínu porodu, zatímco jejich volné analogy měly prediktivitu nízkou. Tento výsledek naznačoval rostoucí sulfatační aktivitu steroidů s rostoucím GA, která již byla zaznamenána v naší dřívější studii publikované naší skupinou (Hill et al., 2007).

V literatuře popsaná relativní nezávislost hladin progesteronu na aktivitě fetální zóny fetálních nadledvin (dále jen FZ) může být důsledkem saturace enzymů konvertujících pregnenolonsulfát na progesteron substrátem (Lofgren et al., 1992; Mahesh et al., 1996; Mesiono et al., 2004). Podobně jako data z literatury, ani naše data neukazovala korelaci mezi mateřským a fetálním progesteronem. Nicméně naše data ukazovala významné parciální korelace mezi mateřským a fetálním 20α -

dihydroprogesteronem a mezi 20 α -dihydroprogesteronem a progesteronem v krvi matky. Tyto výsledky spolu s literárními daty ukazují, že lokalizace izoforem 17 β -hydroxysteroidní oxidoreduktázy (HSD17B) zajišťuje vyšší podíl estronu a progesteronu v plodu, ale vyšší podíl 20 α -dihydroprogesteronu a estradiolu u matky. HSD17B2 oxidující estradiol na estron a 20 α -dihydroprogesteron na progesteron je vysoce exprimována v placentárních endoteliálních buňkách, které jsou ve styku s fetálním kompartmentem. Naopak, syncytium, které je v kontaktu s kompartmentem mateřským, produkuje značná množství 20 α -dihydroprogesteronu a estradiolu působením zejména HSD17B1, ale patrně i HSD17B7 a aldoketoreduktázou (AKR1C3).

I další práce publikované v rámci postgraduálního studia se podrobně věnovaly kritickému zhodnocení konceptu o mateřském LDL cholesterolu jako jediném zdroji mateřského progesteronu (Turkey, 2005). Z našich výsledků vyplývá, že existují přinejmenším dva nezávislé mechanismy syntézy cholesterolu. Zatímco syntéza z mateřského cholesterolu je prvním z nich, není důvod, aby placenta odmítala zpracovávat pregnenolonsulfát podobně jako DHEAS (samozřejmě vyjma aromatizace), který do ní vstupuje ze strany plodu. Data rovněž naznačují, že vzrůst produkce Δ^5 steroidů s rostoucím GA je spojen se vzrůstem hladin progesteronu v UV, ne však v ostatních tělních tekutinách matky a plodu, což ukazuje, že primárně placentární a patrně i jaterní oxidoreduktázy mohou interkonvertovat progesteron a 20 α -dihydroprogesteron a naopak, což v případě placenty znamená, že distribuce izoforem placentárních oxidoreduktáz je určující pro převážně oxidativní status steroidů v UV (na výstupu z placenty do plodu) a jejich převážně reduktivní status v mateřské krvi. Naše výsledky rovněž dokazují, že tento mechanismus se netýká jen progesteronu, ale rovněž estrogenů, redukovaných androstanových metabolitů a neuroaktivních progesteronových metabolitů.

Naší pracovní skupinou navržený endokrinní mechanismus popisuje následující funkce fetoplacentární jednotky:

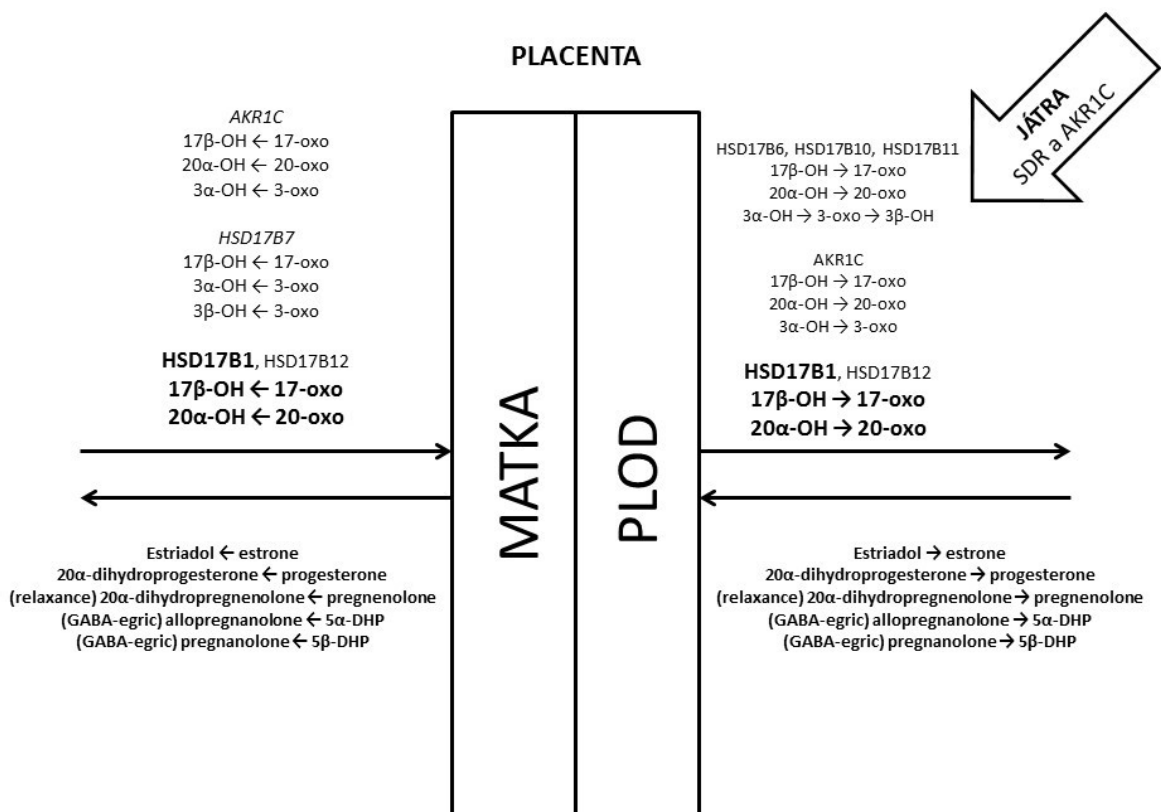
1. zajištění substrátů pro produkci progesteronu a syntézu neuroprotektivních steroidů v plodu,
2. tvorbu hormonálního prostředí v těle matky umožňujícího kontrolu nástupu porodu.

Klesající koncentrace androstendiolu a testosteronu v době nástupu porodu (na rozdíl od hladin androstendionu, které se s GA zvyšují) jsou pravděpodobně spojeny s jejich úlohou jako klíčových substrátů pro tvorbu estrogenů a se vzrůstající aktivitou aromatázy (CYP19A1) během těhotenství. Tato data ukazují na hlavní metabolickou dráhu syntézy placentárního estradiolu: konjugovaný androstendiol \rightarrow androstendiol \rightarrow testosteron \rightarrow estradiol, která je kratší než dráha DHEAS \rightarrow DHEA \rightarrow androstendion \rightarrow estron \rightarrow estradiol (Hill et al., 2010).

Výsledky získané v rámci postgraduálního studia ukazují, že u plodu je s narůstajícím GA tendence k větší produkci aktivního gestagenu, ale nižší produkce aktivního estrogenu a aktivních GABA-ergních steroidů. Na druhé straně však poměry porod indukujících estrogenů k těhotenství k těhotenství udržujícím gestagenům a GABAergním steroidům přesto vykazují významný vzrůst s rostoucím GA v UV, UA i v MV (Hill et al., 2011b) (obr. 1).

Rovnováha mezi volnými steroidy a jejich konjugáty je pravděpodobně klíčová pro regulaci biologické aktivity steroidů a zároveň pro udržení těhotenství. $5\alpha/\beta$ -redukované metabolity s hydroxylem v pozici 3α - pozitivně modulují $GABA_A$ -r. Jejich sulfáty působí opačně a na jiných vazebných místech. Sulfatace pravděpodobně také snižuje koncentraci nekonjugovaných neuroaktivních steroidů, jejichž polarita je výhodnější pro prostup hematoencefalickou bariérou. Na druhé straně je konjugace je nutným předpokladem pro aktivitu $3\alpha/\beta$ -hydroxy- $5\alpha/\beta$ -redukovaných metabolitů progesteronu na NMDA-r, které pozitivně modulují konjugované 5α -izomery (neuroexcitační sloučeniny) a negativně konjugované 5β -izomery (neuroinhibiční sloučeniny).

Sulfatace může ve výsledku také ovlivňovat aktivitu a/nebo dostupnost periferně aktivních, těhotenství udržujících steroidů, jako jsou $5\alpha/\beta$ -redukované pregnany a androstany, ale může také usnadňovat jejich transport krevním oběhem. Nicméně, sulfatace spíše posunuje biologickou aktivitu směrem k indukci porodu katabolismem 5β -redukovaných steroidů.



Obr. 1. Zjednodušené schéma placentární interkonverze bioaktivních steroidů pluripotentními 17β-hydroxysteroidními oxidoreduktázami (HSD17B) a aldoketoreduktázami (AKR1C) účinkujícím v polohách 3α-hydroxy-/3-oxo-/3β-hydroxy-, 17β-hydroxy/17-oxo, a 20α-hydroxy-/20-oxo-.

6. Závěry

V disertační práci jsou popsány profily steroidů v těhotenství člověka s ohledem i na roli bioaktivních steroidů na jeho fyziologii a patofyziologii. Zvláštní důraz byl položen na fyziologickou a patofyziologickou relevanci steroidů ovlivňujících aktivitu centrálního a periferního nervového systému matky a plodu s ohledem na jejich koncentrace ve fetoplacentární jednotce. Hojně fetální steroidy vykazující negenomové účinky (zejm. pregnenolonsulfát, progesteron, allopregnanolon nebo pregnanolon) mohou hrát důležitou roli v predikci porodu člověka, resp. nežádoucího programování plodu, a mohou mít naopak žádoucí neuroprotektivní účinky v centrálním nervovém systému plodu (ochrana střed porodním stresem). V práci je podrobně diskutován fyziologický význam vzrůstající placentární syntézy progesteronu, klesající produkce tokolytických 5β -pregnanových steroidů (stabilita myometria) a rostoucí aktivita steroidních sulfotransferáz s rostoucím GA ve III. trimestru těhotenství.

Dále byl na základě získaných výsledků navržen alternativní mechanismus syntézy progesteronu z fetálního pregnenolonsulfátu, který je úzce spojen s distribucí placentárních oxidoreduktáz. U lidského plodu byl nalezen vzrůstající trend směrem ke konverzi na 3-oxo-(3β -hydroxy-), 17-oxo- a 20-oxo-steroidů na účet jejich 3α -hydroxy-, 17β -hydroxy- a 20α -hydroxy- analogů, tj. byla dokázána obecná tendence k vyšší produkci aktivního gestagenu ale k nižší produkci aktivního estrogenu a GABA-ergních steroidů s pokračujícím těhotenstvím.

V disertační práci byl i navržen antiestrogenní mechanismus u plodu založený na vzrůstající 16α -hydroxylaci a sulfataci estrogenů i jejich prekursorů ve spolupráci se vzrůstající aktivitou oxidativních izoform 17 β -hydroxysteroidních dehydrogenáz a aldoketoreduktáz v placentě a fetálních játrech. Tento mechanismus pravděpodobně chrání plod před hyperestrogenizací vyvolanou eskalující placentární aktivitou aromatázy s postupující gestací (ochrana střed porodním stresem).

7. Shrnutí závěrů práce

Naše výsledky přinesly unikátní data steroidního metabolomu v těhotenství. V práci byly systematicky sledovány hladiny steroidů (včetně neuraktivních) v séru pupečnickové krve a v mateřském séru během těhotenství. Změny hladin neuroaktivních steroidů ukázaly význam v prenatální diagnostice ve vztahu k riziku potratu či předčasného porodu. Tato zjištění zároveň otevřela řadu dalších otázek týkajících se této problematiky a směr možného dalšího výzkumu v této oblasti perinatologie. Hlubší znalost mechanismu začátku porodu člověka a schopnost predikce termínu porodu by způsobila významný pokles v perinatální mortalitě a morbiditě.

8. Literatura

1. Backström T, Wahlstrom G, Wahlstrom K, Zhu D, Wang MD. Isoallopregnanolone; an antagonist to the anaesthetic effect of allopregnanolone in male rats. *Eur J Pharmacol* 2005, 512: 15–21.
2. Beckley EH, Finn DA. Inhibition of progesterone metabolism mimics the effect of progesterone withdrawal on forced swim test immobility. *Pharmacol Biochem Nebav* 2007, 87: 412–419.
3. Csapo A. Progesterone block. *Am J Anat* 1956, 98: 273–291.
4. Csapo AI, Knobil E, Van Der Molen HJ, Wiest WG. Peripheral plasma progesterone levels during human pregnancy and labor. *Am J Obstet Gynecol* 1971, 110: 630–632.
5. Hertz JB, Larsen JF, Arends J, Nielsen J. Progesterone and human chorionic gonadotrophin in serum and pregnandiol in urine in threatened abortion. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1980, 59: 23–27.
6. Hill M, Parizek A, Cibula D, Kancheva R, Jirasek JE, Jirkovska M, Veliková M, Kubatova J, Klimkova M, Paskova A, Zizka Z, Kancheva L, Kazihnitkova H, Zamrazilova L, Starka L. Steroid metabolome in fetal and maternal body fluids in human late pregnancy. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010, 122(4): 114–32.
7. Hill M, Bicikova M, Parizek A, Havlikova H, Klak J, Fajt T, Meloun M, Cibula D, Cegan A, Sulcova J, Hampl R, Starka L. Neuroactive steroids, their precursors and polar conjugates during parturition and postpartum in maternal blood: 2. Time profiles of pregnanolone isomers. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001, 78: 51–57.
8. Hill M, Cibula D, Havlikova H, Kancheva L, Fait T, Kancheva R, Parizek A, Starka L. Circulating levels of pregnanolone isomers during the third trimester of human pregnancy. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007, 105: 166–175.
9. Hill M, Parizek A, Bicikova M, Havlikova H, Klak J, Fait T, Cibula D, Hampl R, Cegan A, Sulcova J, Starka L. Neuroactive steroids, their precursors, and polar conjugates during parturition and postpartum in maternal and umbilical blood: 1. Identification and simultaneous determination of pregnanolone isomers. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000, 75: 237–244.
10. Hill M, Parizek A, Velikova M, Kubatova J, Kancheva R, Duskova M, Simunkova K, Klimkova M, Paskova A, Zizka Z, Jirasek JE, Jirkovska M, Starka L. The distribution of placental oxidoreductase isoforms provides different milieus of steroids influencing pregnancy in the maternal and fetal compartment. *Horm Mol Biol Clin Invest* 2011b, 4: 581–600.
11. Klak J, Hill M, Parizek A, Havlikova H, Bicikova M, Hampl R, Fait T, Sulcova J, Pouzar V, Kancheva R, Starka L. Pregnanolone isomers, pregnenolone and their polar conjugates around parturition. *Physiol Res* 2003, 52: 211–221.
12. Lofgren M, Holst J, Backstrom T. Effects in vitro of progesterone and two 5 alpha-reduced progestins, 5 alpha-pregnane-3,20-dione and 5 alpha-pregnane-3 alpha-ol-20-one, on contracting human myometrium at term. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1992, 71: 28–33.

13. Lundgren P, Stromberg J, Backstrom T, Wang M. Allopregnanolone-stimulated GABA-mediated chloride ion flux is inhibited by 3beta-hydroxy-5alpha-pregnan-20-one (isoallopregnanolone). *Brain Res* 2003, 982: 45–53.
14. Mahesh VB, Brann DW, Hendry LB. Diverse modes of action of progesterone and its metabolites. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996, 56: 209–219.
15. Maitra R, Reynolds JN. Modulation of GABA(A) receptor function by neuroactive steroids: evidence for heterogeneity of steroid sensitivity of recombinant GABA(A) receptor isoforms. *Can J Physiol Pharmacol* 1998, 76: 909–92.
16. Majewska M.D., Bisslerbe J.C., Eskay R.L., Glucocorticoids are modulators of GABAA receptors in brain. *Brain Res* 1985, 339, 178–82.
17. Majewska MD, Ford-Rice F, Falkay G. Pregnancy-induced alterations of GABAA receptor sensitivity in maternal brain: an antecedent of post-partum 'blues'? *Brain Res* 1989. 482: 397–401.
18. Majewska MD, Vaupel DB. Steroid control of uterine motility via gamma-aminobutyric acidA receptors in the rabbit: a novel mechanism? *J Endocrinol* 1991, 131: 427–434.
19. Mellor DJ, Diesch TJ, Gunn AJ, Bennet L. The importance of 'awareness' for understanding fetal pain. *Brain Res Brain Res Rev* 2005, 49: 455–71.
20. Mesiano S. Myometrial progesterone responsiveness and the control of human parturition. *J Soc Gynecol Investig* 2004, 11: 193–202.
21. Mickan H, Zander J. Pregnanolones, pregnenolone and progesterone in the human fetoplacental circulation at term of pregnancy. *J Steroid Biochem* 1979, 11: 1461–1466.
22. Parizek A, Hill M, Kancheva R, Havlikova H, Kancheva L, Cindr J, Paskova A, Pouzar V, Cerny, Drbohlav P, Hajek Z, Starka L. Neuroactive pregnanolone isomers during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005, 90: 395–403.
23. Trygg J, Holmes E, Lundstedt T. Chemometrics in metabolomics, *J Proteome Res* 2007, 6(2): 469–479.
24. Turkey RC. Progesterone synthesis by the human placenta. *Placenta* 2005, 26: 273–281.

9. Seznam publikací

a) impaktované se vztahem k tématu

1. The role of steroids in the development of post-partum mental disorders. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc* 2012 (IF 0,702). Paskova A, Jirak R, Mikesova M, Adamcova K, Fartakova Z, Horakova V, Koucky M, Hill M, Hruskovicova H, Starka L, Duskova M, Parizek A.
2. Steroid profiling in pregnancy: A focus on the human fetus. *J Steroid Biochem Mol Biol*.2013 (IF 3.053). Hill M, Pašková A, Kančeva R, Velíková M, Kubátová J, Kancheva L, Adamcová K, Mikešová M, Zizka Z, Koucký M, Sarapatková H, Kačer V, Matucha P, Meloun M, Pařízek A.
3. Steroid metabolome in fetal and maternal body fluids in human late pregnancy. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010 (IF 2,886). Hill M, Parizek A, Cibula D, Kancheva R, Jirasek JE, Jirkovska M, Velikova M, Kubatova J, Klimkova M, Paskova A, Zizka Z, Kancheva L, Kazihnitkova H, Zamrazilova L, Starka L.
4. Steroid metabolome in plasma from the umbilical artery, umbilical vein, maternal cubital vein and in amniotic fluid in normal and preterm labor. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010 (IF 2,886). Hill M, Parizek A, Kancheva R, Duskova M, Velikova M, Kriz L, Klimkova M, Paskova A, Zizka Z, Matucha P, Meloun M, Starka L.
5. Is maternal progesterone actually independent of the fetal steroids? *Physiol Res* 2010 (IF 1,65). Hill M, Parizek A, Jirasek JE, Jirkovska M, Velikova M, Duskova M, Klimková M, Paskova A, Zizka Z, Germanova A, Koucky M, Kalousova M, Starka L.
6. Neuroactive pregnanolone isomers during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 (IF 6,02). Parizek A, Hill M, Kancheva R, Havlikova H, Kancheva L, Cindr J, Paskova A, Pouzar V, Cerny I, Drbohlav P, Hajek Z, Starka L.

b) neimpaktované se vztahem k tématu

1. Progesterone neuroactive metabolites in human pregnancy. *Ceska Gynekol* 2010. Klímková M, Parizek A, Velíková M, Hill M, Paskova A, Zizka Z, Kancheva R, Kalousová M, Koucký M, Germanova A, Hajek Z, Starka L.

c) neimpaktované bez vztahu k tématu

1. Intrapartal fetal monitoring, sensitivity and specificity of methods. *Ceska Gynekol* 2006. Hajek Z, Srp B, Pavlikova M, Zvarova J, Liska K, El-Haddad R, Paskova A, Parizek A.
2. Analysis of present diagnostic methods of intrapartum fetal hypoxia. *Ceska Gynekol* 2005. Hajek Z, Srp B, Haddad el R, Drbohlav P, Parizek A, Liska K, Paskova A, Zvarova J, Simeckova A.

d) abstrakta se vztahem k tématu

- Is maternal progesterone actually independent of the fetal steroids? International Federation of Placenta Associations (IFPA) 2009 Placenta: the Key to Pregnancy Success, Adelaide, Australia; Pařízek A, Pašková A, Hill M, Klimková M, Kalousová M, Stárka L.
- Steroid metabolome at labor. Society for Obstetric Anesthesia and Perinatology (SOAP) 41st Annual Meeting , Washington, USA; Pařízek A, Hill M, Dušková M, Velíková M, Kříž L, Klimková M, Pašková A, Žižka Z, Kalousová M, Matucha P, Meloun M, Stárka .
- Can steroids induce endogenous analgesia during labor? International Federation of Placenta Associations (IFPA) 2010 Fetus and Placenta: A perfect harmony, Santiago, Chile; Pařízek A, Hill M, Klimková M, Kačer V, Koucký M, Hájek Z, Velíková M, Pašková A, Stárka L.
- The effects of neuroactive progesterone metabolites in the fetal CNS. Society for Obstetric Anesthesia and Perinatology (SOAP) 43rd Annual Meeting Program Theme: "Providing Safe Outcomes for Mother and Baby" 2011 Nevada, USA; Pařízek A, Hill M, Klimková, Pašková A, Kačer V, Koucký M.