

Uniwersytet Jagielloński

Collegium Medicum

Wydział Lekarski

Agnieszka Dubiel

AUTOIMMUNOLOGICZNA CHOROBA TARCZYCY
JAKO WSKAŹNIK IMMUNOLOGICZNYCH
PRZYCZYŃ UTRAT CIĄŻ

Rozprawa doktorska wykonana w ramach studiów doktoranckich

Promotor: doc. dr hab. Tomasz Milewicz

Pracę wykonano w Oddziale Klinicznym Endokrynologii Ginekologicznej i Ginekologii

Kierownik jednostki: prof. dr hab. n. med. Robert Jach

Kraków, 2019

Chciałabym serdecznie podziękować Panu dr. hab. n.med. Tomaszowi Milewiczowi – promotorowi mojej pracy – za cierpliwość, cenne wskazówki, poświęcony mi czas oraz nieocenioną pomoc.

Spis treści

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW	5
STRESZCZENIE.....	7
ABSTRACT.....	11
WSTĘP	15
Niedoczynność tarczycy w ciąży	15
Wpływ zaburzeń hormonalnych gruczołu tarczowego matki na rozwój płodu	16
Omówienie wytycznych dotyczących diagnostyki i leczenia chorób tarczycy u kobiet ciężarnych ze szczególnym uwzględnieniem AITD	18
Poronienia i niepłodność	24
Trombofilia.....	25
Reduktaza metylenotetrahydrofolianu – MTHFR	28
Kwas foliowy.....	28
Metylacja	29
Polimorfizm MTHFR	29
Wpływ metylacji na występowanie chorób autoimmunologicznych	31
II. CEL PRACY	32
III. MATERIAŁY I METODY	33
Badanie I	33
Badanie II.....	36
WYNIKI BADANIE I	39
WNIOSKI BADANIE I.....	59
WYNIKI BADANIE II.....	60
WNIOSKI BADANIE II	66
OGRANICZENIA BADANIA.....	67
DYSKUSJA.....	68
Dyskusja ogólna	68

Dyskusja badanie I	72
Dyskusja badanie II.....	77
Spis tabel.....	83
Spis rycin	85
BIBLIOGRAFIA	87

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

AACE – American Association of Clinical Endocrinologists Amerykańskie Towarzystwo Endokrynologów Klinicznych	FT3 – free T3, triiodothyronine trijodotyronina
ACOG – American College of Obstetricians and Gynecologists Amerykańskie Kolegium Położników i Ginekologów	GnRh – gonadotropin releasing hormone hormon uwalniający gonadotropinę
AITD – autoimmune thyroid disease autoimmunologiczna choroba tarczycy	hCG – human chorionic gonadotropin ludzka gonadotropina kosmówkowa
ANA – anti-nuclear antibodies przeciwciała przeciwjądrowe	HD – Hashimoto disease choroba Hashimoto
ATA – American Thyroid Association Amerykańskie Towarzystwo Tyreologiczne	IgG – immunoglobulin G immunoglobulina typu G
anty-TG – anti-thyroglobulin antibodies przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie	IUGR – Intrauterine Growth Restriction wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrostu płodu
anty-TPO – anti-thyroid peroxidase antibodies przeciwciała przeciwko peroksydazie tarczycowej	IH – isolated hypothyroxinemia izolowana hipotyroksynemia
APLA – antiphospholipid antibodies przeciwciała antyfosfolipidowe	LT4 – levothyroxine lewotyroksyna
DNMT-DNA – methyltransferase DNA metylotransferaza	MTHFR – 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase reduktaza 5,10-metylenotetrahydrofolianu
ETA – European Thyroid Association Europejskie Towarzystwo Tyreologiczne	NADPH – nicotinamide adenine dinucleotide phosphate dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy
FT4 – free T4, thyroxine tyroksyna	NIS – sodium-iodide symporter symporter sodowo-jodowy
	NS – nieistotne statystycznie

OH – overt hypothyroidism
pełna niedoczynność tarczycy

PRL– prolactin
prolaktyna

PTE – Polish Society of Endocrinology
Polskie Towarzystwo
Endokrynologiczne

rT3 – reverse T3
odwrotna trijodotyronina

SAM – S-Adenosyl methionine
S-adenozylometionina

SCH – subclinical hypothyroidism
subkliniczna niedoczynność tarczycy

TBG – thyroxine binding globulin
białko wiążące tyroksynę

TSH – thyroid-stimulating hormone
tyreotropina

5,10-MTHF –
5,10-metylenetetrahydrofolate

5,10-metylenetetrahydrofolian

5-MTHF – 5-metyltetrahydrofolate

5-metylotetrahydrofolian

STRESZCZENIE

W prezentowanej pracy doktorskiej wykonano równocześnie dwa niezależne badania na dwóch różnych grupach pacjentek oceniające wpływ autoimmunologicznej choroby tarczycy – AITD (z badań wykluczono pacjentki z chorobą Gravesa-Basedowa) na występowanie poronień. W badaniu pierwszym obejmującym kobiety ciężarne poza oceną niedoczynności tarczycy badano związek pomiędzy występowaniem poronień (w trakcie ciąży i/lub w wywiadzie) a autoimmunologiczną chorobą tarczycy. Równocześnie zaprojektowano drugie badanie, do którego włączono tylko kobiety z wywiadem poronień, gdzie analizowano wybrane, inne przyczyny, które jednocześnie, addytywnie z autoimmunologiczną chorobą tarczycy mogą brać udział w etiologii utrat ciąży.

Streszczenie badania I

Niewykryta i/lub nieleczona niedoczynność tarczycy u matki może wikłać przebieg ciąży, prowadząc m.in. do przedwczesnego jej zakończenia lub zagrażających zdrowiu matki i/lub płodu powikłań. W związku z tym, iż w ciąży na skutek fizjologicznie zachodzących procesów dochodzi do zmian w gospodarce hormonów tarczycowych, konieczna jest ścisła opieka tyreologiczna nad ciężarnymi i to zarówno tymi ze zdiagnozowanymi przed ciążą schorzeniami gruczołu tarczowego, jak i tymi bez dodatniego wywiadu w kierunku tych chorób. Najczęstszą przyczyną niedoczynności gruczołu tarczowego jest autoimmunologiczne zapalenie tarczycy. Szacuje się, iż częstość poronień u kobiet w eutyreozy z dodatnim mianem przeciwciał przeciw tarczycowym wynosi 12–17% i jest w przybliżeniu 2–3-krotnie wyższa w porównaniu z populacją ciężarnych, u których nie stwierdzono obecności anty-TPO i/lub anty-TG.

Cel: Częstość występowania niedoczynności tarczycy oraz poronień u ciężarnych z chorobą autoimmunologiczną tarczycy.

Materialy i metody:

Ostatecznie w analizie uwzględniono 995 kobiet będących w I trymestrze ciąży w trakcie kwalifikacji do badania. Badane kobiety zostały podzielone na dwie grupy: pierwsza grupa to 330 ciężarnych z AITD, druga grupa to 665 ciężarnych kobiet bez AITD. Okres obserwacji pacjentek był tożsamy z okresem trwania ciąży. U pacjentek zostały wykonane pomiary: stężenia TSH w I, II, III trymestrze ciąży, miana przeciwciała anty-TPO, przeciwciała anty-TG.

U części pacjentek oznaczono także: poziom witaminy D3, urodzeniową masę ciała dziecka. Poza szczegółowym wywiadem lekarskim został zebrany wywiad w kierunku niepłodności oraz występowania poronień w wywiadzie.

Wyniki:

1. Stężenie TSH $>$ 2,5 mIU/l w surowicy występowało istotnie częściej w I trymestrze ciąży w grupie kobiet z AITD w porównaniu do grupy kobiet bez AITD.
2. W grupie kobiet, które w I trymestrze miały stężenie w surowicy TSH $<$ 2,5 mIU/l, wartość TSH $>$ 2,5 mIU/l w II trymestrze ciąży występowała istotnie częściej w grupie kobiet bez AITD w porównaniu do grupy kobiet z AITD.
3. U 14,9% kobiet biorących udział w badaniu wykazano izolowane występowanie przeciwciał anti-TPO, u 5,9% izolowane występowanie przeciwciał anti-TG, zaś w 12,2% przypadków dodatkowo były oba typy przeciwciał przeciwtarczycowych anti-TPO i anti-TG.
4. Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy niepłodnością, poronieniami a występowaniem AITD.
5. Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy niepłodnością, poronieniami a występowaniem TSH $>$ 2,5 w I trymestrze ciąży.
6. Nie stwierdzono istotnej różnicy w masie ciała dzieci w grupie matek z AITD i matek bez AITD.
7. Nie stwierdzono istotnej różnicy w masie ciała dzieci w grupie matek z TSH $>$ 2,5 w I trymestrze ciąży i matek z TSH $<$ 2,5 w I trymestrze ciąży.
8. Nie stwierdzono istotnej różnicy rozkładu stężenia witaminy D między grupą kobiet z TSH $>$ 2,5 a grupą kobiet z TSH $<$ 2,5 w I trymestrze ciąży.

Wnioski:

1. Kobiety z AITD należą do grupy ryzyka rozwoju niedoczynności tarczycy w I trymestrze ciąży.
2. Konieczne wydaje się monitorowanie TSH w kolejnych trymestrach ciąży niezależnie od prawidłowego wyniku TSH w I trymestrze również u kobiet bez autoimmunologicznej choroby tarczycy.

3. Wskazane jest jednoczesne oznaczenie przeciwciał anty-TPO i anty-TG, co wynika z wysokiego odsetka występowania pozytywnych wyników w zakresie tylko jednego przeciwciała .

Streszczenie badania II

Mimo wielu teorii odnoszących się do wpływu przeciwciał przeciwtarczycowych na przebieg ciąży dotychczas nie wypracowano jednoznacznej opinii, czy sama obecność związku pomiędzy przeciwciałami anty-TPO, anty-TG a poronieniami oznacza, iż jest to związek przyczynowo skutkowy. Dyskusyjnym zagadnieniem pozostaje obserwacja, dlaczego tylko u części kobiet z dodatnimi przeciwciałami anty-TPO i anty-TG dochodzi do utraty ciąży, a u reszty pacjentek mimo dodatnich przeciwciał nigdy nie dochodzi do poronienia. Podobny problem dotyczy nosicielek mutacji prozakrzepowych, tylko u części nosicielek dochodzi do powikłań w krążeniu łożyskowym, co prowadzi do zakończenia ciąży, a u innych kobiet z mutacją/mutacjami przebieg ciąży pozostaje prawidłowy. W literaturze dotyczącej tej tematyki często wskazuje się na możliwy sumaryczny efekt kilku polimorfizmów prowadzących do zakrzepicy bądź współlistnienie występowania trombofilii wrodzonej i nabytej. Inną grupą pacjentek są kobiety z jednoczesnym wystąpieniem kilku chorób autoimmunologicznych i często niejednoznaczny wpływ takiego stanu na ryzyko poronień.

Cel: Ocena częstości występowania mutacji wybranych genów mogących mieć wpływ na ryzyko poronień oraz ocena innych immunologicznych przyczyn utrat ciąż u kobiet z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy. Mutacja *MTHFR*

Materiały i metody:

Do badania włączono tylko kobiety z niekorzystnym wywiadem położniczym utrat ciąż/y. W badaniu wzięło ostatecznie udział 288 pacjentek. Pierwszą grupę stanowiło 91 pacjentek z AITD z utratą przynajmniej jednej ciąży o niewyjaśnionej etiologii. Druga grupa to 197 kobiet bez AITD z utratą przynajmniej jednej ciąży o niewyjaśnionej etiologii. U pacjentek analizowano częstość występowania czterech polimorfizmów genów mających związek z występowaniem wrodzonej trombofilii oraz dwóch czynników autoimmunologicznych, które wraz z autoimmunologiczną chorobą tarczycy mogą brać udział w etiologii utrat ciąż. U pacjentek zostały wykonane pomiary: stężenia TSH, przeciwciał anty-TPO, przeciwciał anty-TG, przeciwciał przeciwjądrowych ANA oraz przeciwciał antyfosfolipidowych APLA, test na obecność mutacji czynnika V Leiden (1691G>A), test na obecność mutacji genu

protrombiny (20210G>A), test na obecność mutacji genu *MTHFR* 677C>T, test na obecność mutacji genu *MTHFR* 1298A>C.

Wyniki:

1. W grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień częściej stwierdzano dodatnie miano przeciwciał przeciwjądrowych ANA oraz występowanie przynajmniej jednego zmutowanego allela w zakresie *MTHFR* A1298C niż w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień.

2. Nie stwierdzono istotnej różnicy w częstości występowania zespołu antyfosfolipidowego, mutacji czynnika V Leiden (1691G>A), mutacji genu protrombiny (20210G>A), mutacji w genie *MTHFR* C677T pomiędzy grupą kobiet z AITD z wywiadem a grupą kobiet bez AITD z wywiadem poronień.

Wnioski:

Pacjentki z wywiadem poronień w grupie z AITD częściej wykazywały dodatnie wyniki ANA oraz polimorfizm w zakresie przynajmniej jednego allela genu *MTHFR* A1298C, co może wskazywać na rolę tych czynników w etiologii występowania poronień w grupie kobiet z AITD. Wymaga to jednak dalszych badań.

ABSTRACT

Research I Abstract

Undetected and/or untreated hypothyroidism in the mother may complicate the pregnancy, thus leading to, among other things, premature termination or complications that threaten the health of the mother and/or the fetus.

Due to the changes in the thyroid hormone balance which are the effect of physiological processes that occur during pregnancy, thyroid care for pregnant women, both those diagnosed with thyroid gland disease prior to their pregnancy and those with no history of such diseases, is necessary. Chronic autoimmune thyroiditis is the most common cause of hypothyroidism. It is estimated that the incidence of miscarriages in euthyroid women with a positive titer of antithyroid antibodies is 12-17 percent and is approximately 2 to 3 times higher compared to the population of pregnant women in whom the presence of anti-TPO and/or anti-TG was not found.

Objective: Prevalence of hypothyroidism and miscarriages in pregnant women with autoimmune thyroid disease.

Materials and methods:

Ultimately, the analysis included 995 women in the first trimester going through the selection process for this research. The studied women were divided into two groups: the first group comprised 330 pregnant women with AITD and the other group comprised 665 pregnant women with AITD. The observation period spanned the duration of pregnancy. The patients underwent the following assessments: TSH in the first, second and third trimester, anti-TPO antibodies, and anti-TG antibodies. The level of vitamin D3 and the baby's birth weight were also estimated. In addition to a detailed medical interview, history of infertility and miscarriages was recorded.

Results:

1. TSH >2.5 mIU/l occurred significantly more frequently in the first trimester in women with AITD in comparison with the group of women without AITD.

2. In the group of women in their first trimester with TSH <2.5 mIU/l, the value of TSH >2.5 mIU/l in the second trimester occurred significantly more frequently in the group of women with AITD than in the group of women without AITD.
3. In 14.9% of the women participating in the study, the isolated presence of anti-TPO antibodies was demonstrated, an isolated presence of anti-TG antibodies was detected in 5.9% of the participants, while in 12.2% percent of women both anti-thyroid antibodies, anti-TPO and anti-TG were positive.
4. There were no significant relationships between infertility, miscarriages and AITD incidence.
5. There were no significant relationships between infertility, miscarriages and the level of TSH >2.5 mIU/l in the first trimester.
6. There was no significant difference in the body weight of children in the group of mothers with AITD and mothers without AITD.
7. No significant difference was found in the body weight distribution in children of mothers with TSH >2.5 mIU/l in the first trimester and mothers with TSH <2.5 mIU/l in the first trimester.
8. There was no significant difference in the distribution of vitamin D concentration between the group of women with TSH >2.5 mIU/l and the group of women with TSH <2.5 mIU/l in the first trimester.

Conclusions:

1. Women with AITD belong to a risk group for developing hypothyroidism in the first trimester of pregnancy.
2. It appears necessary to monitor TSH in the subsequent trimester, regardless of the appropriate TSH levels in the first trimester, also in women who do not suffer from autoimmune thyroid disease.
3. It is advisable to simultaneously determine anti-TPO and anti-TG antibodies which arises from a high percentage of positive results within the range of just one antibody.

Research II Abstract

Despite many theories concerning the effect of antithyroid antibodies on the course of pregnancy, no unequivocal opinion has been established on whether the mere presence of a relationship between anti-TPO antibodies, anti-TG antibodies and miscarriages means that it is a cause and effect relationship. What remains controversial is why only some women with positive anti-TPO and anti-TG antibodies suffer the loss of pregnancy while other female patients do not miscarry despite positive antibodies. A similar problem pertains to the carriers of prothrombotic mutations, only some of them experience complications in the placental circulation which leads to the termination of pregnancy, while in other women with mutation/mutations the course of pregnancy remains normal. The literature on this subject often suggests the summary effect of several polymorphisms leading to thrombosis or the coexistence of congenital and acquired thrombophilia. Another group of patients includes women who experience the simultaneous occurrence of a few autoimmune diseases and often ambiguous effect of such a condition on the risk of a miscarriage.

Objective:

Evaluation of gene mutation occurrence that could impact the risk of pregnancy loss as well as the assessment of other immunological causes of pregnancy loss in women with autoimmune thyroiditis. The *MTHFR* mutation.

Materials and methods:

Only women with an adverse obstetric history of pregnancy loss were included in the study. Ultimately, 288 female patients participated in the study. The first group comprised 91 patients with AITD who have experienced at least one pregnancy loss of undetermined etiology. The other group comprised 197 patients without AITD who have experienced at least one pregnancy loss of undetermined etiology. The patients were analyzed in terms of the prevalence of four gene polymorphisms that correlated with the occurrence of congenital thrombophilia and two autoimmune factors, which along with the autoimmune thyroid disease may be involved in the cause of pregnancy loss. The patients underwent the following assessments: TSH, anti-TPO antibodies, anti-TG antibodies, a test for the presence of Factor V Leiden (1691G>A) mutation, a test for the presence of the prothrombin gene mutation (20210G>A), a test for the *MTHFR* 677C>T gene mutation, a test for the *MTHFR* 1298A>C gene mutation, ANA as well as APLA.

Results:

1. In the group of women with AITD who have a history of miscarriages, the positive titer of ANA antibodies, as well as the occurrence of at least one mutated allele in the *MTHFR* A1298C range, was more frequently observed than in the group of women without AITD with a history of miscarriages.
2. No significant difference was found in the prevalence of the antiphospholipid syndrome, Factor V Leiden (1691G>A) mutation, prothrombin gene mutation (20210G>A), and mutation in the *MTHFR* C677T gene between the group of women with AITD with a history of miscarriages and the group of women without AITD who had a history of miscarriages.

Conclusions:

1. Positive ANA results as well as polymorphism within the single allele of the *MTHFR* A1298C gene was observed to be more frequent in the group of patients with AITD and a history of miscarriages which may suggest the role of these factors in the etiology of miscarriages in women with AITD. However, this requires further research.

WSTĘP

Niedoczynność tarczycy w ciąży

Niewykryta i/lub nieleczona niedoczynność tarczycy u matki może wikłać przebieg ciąży, prowadząc m.in. do przedwczesnego jej zakończenia, zagrażających zdrowiu matki i/lub płodu powikłań (1). Czas trwania, a także nasilenie hipotyroksynemii matki, są powiązane z nieprawidłowym rozwojem płodu (1). W związku z tym, iż w ciąży na skutek fizjologicznie zachodzących procesów dochodzi do zmian w gospodarce hormonów tarczycowych, konieczna jest ścisła opieka tyreologiczna nad ciężarnymi i to zarówno tymi ze zdiagnozowanymi przed ciążą schorzeniami gruczołu tarczowego, jak i tymi bez dodatkowego wywiadu w kierunku tych chorób, a z wywiadem utrat ciąży.

Postać jawna niedoczynności obserwowana jest u 0,3–0,5% ciężarnych, natomiast subkliniczna u 2–3%. Najczęstszą przyczyną niedoczynności gruczołu tarczowego jest przewlekłe autoimmunologiczne zapalenie tarczycy (2).

W trakcie ciąży możemy wyróżnić trzy stany niedoborów hormonów tarczycy:

- pełna niedoczynność tarczycy (overt hypothyroidism – OH), gdy dochodzi do podwyższenia stężenia TSH > 2,5 mIU/l, czemu towarzyszy obniżone stężenie FT4 lub jeśli FT4 jest w granicach normy, a TSH > 10 mIU/l;
- subkliniczna niedoczynność tarczycy w ciąży (subclinical hypothyroidism – SCH), gdy podwyższonemu stężeniu TSH powyżej górnej granicy normy dla danego trymestru towarzyszy prawidłowa wartość FT4. W niniejszej pracy odpowiada to stężeniu TSH w surowicy w zakresie 2,5–10 mIU/l;
- izolowana hypotyroksynemia (isolated hypothyroxinemia – IH) – gdy prawidłowemu stężeniu TSH towarzyszy obniżone stężenie FT4 (3).

Podwyższone miano przeciwciał anti-TPO i/lub anti-TG wykrywa się u 6–11% pacjentek w eutyreozy oraz u 40–60% z subkliniczną niedoczynnością tarczycy w grupie kobiet ciężarnych i kobiet planujących ciążę. Szacuje się, iż częstość poronień u kobiet w eutyreozy z dodatnim mianem przeciwciał przeciwtarczycowych wynosi 12–17% i jest w przybliżeniu 2–3-krotnie wyższa w porównaniu z populacją ciężarnych, u których nie stwierdzono obecności anti-TPO i/lub anti-TG (2,4,5).

Częstość występowania choroby Gravesa-Basedowa (GD) u kobiet ciężarnych szacuje się na 0,2%, a przejściowy zespół nadczynności tarczycy dotyczy od 1 do 5% kobiet (6).

Wpływ zaburzeń hormonalnych gruczołu tarczowego matki na rozwój płodu

Znamienny jest natomiast wpływ zaburzeń hormonalnych gruczołu tarczowego matki na rozwój płodu. Pod koniec I trymestru ciąży tarczyca płodu pod wpływem wydzielanego przez płodową przysadkę TSH rozpoczyna syntezę jodotyronin. Do tego czasu jedynym źródłem hormonów tarczycy płodu są hormony transportowane od matki (7).

Obecność hormonów tarczycowych jest niezbędna do prawidłowego rozwoju płodu już we wczesnych tygodniach ciąży, jest to okres intensywnego rozwoju układu nerwowego oraz organogenezy (8,9,10).

Tyroksyna należy do kluczowych hormonów warunkujących prawidłowy rozwój nie tylko układu nerwowego, ale także oddechowego i szkieletowego, dlatego niezwykle istotna jest szybka diagnostyka schorzenia i leczenie przyszłej matki lewotyroksyną (11).

Już w 16–20 tygodniu ciąży płód wytwarza dostateczną ilość hormonów tarczycy, lecz pełna sprawność układu podwzgórze–przysadka–tarczyca jest osiągnięta dopiero po porodzie (7).

Dodatkowo szereg procesów zachodzących fizjologicznie w ciąży wpływa na gospodarkę hormonalną tarczycy. Należą do nich:

– wzrost stężenia białek wiążących hormony tarczycy, m.in. globuliny wiążącej tyroksynę – TBG w odpowiedzi na pojawiające się już od wczesnych tygodni ciąży zwiększenie poziomu estrogenów, co prowadzi do wzrostu stężenia całkowitych hormonów tarczycy. Wzrost TBG razem z niedoborem jodu może być przyczyną relatywnej hipotyroksynemii w drugiej połowie ciąży (12,13);

– wzrost stężenia gonadotropiny kosmówkowej (hCG), która wykazuje strukturalne podobieństwo do tyreotropiny. Produkowana przez syncytiotrofoblast hCG, wiążąc się z receptorem dla TSH, uzyskuje własną aktywność tyreotropową, mającą znaczenie jedynie przy wysokich poziomach hCG. Dochodzi wówczas do supresji wydzielania TSH oraz wzrostu stężenia w surowicy FT3 i FT4 powyżej wartości referencyjnych z maksymalnymi stężeniami osiąganymi pod koniec I trymestru ciąży, co wymaga różnicowania z innymi przyczynami tyreotoksykozy (14);

- wzmożone wydalanie jodu z moczem związane ze zwiększeniem filtracji kłębuszkowej w ciąży;
- obecność symportera sodowo-jodowego – NIS w kosmkach łożyska, co umożliwia przeniesienie jodu do płodu wbrew gradientowi stężeń. Aktywność NIS w łożysku stwierdza się od 6 tygodnia ciąży ze stopniowym narastaniem jego aktywności do 12 tygodnia (15);
- zmiany w aktywności dejodynaz w trakcie ciąży. Tylko aktywność 5'-monodejodynazy tyroksyny typu 1 nie zmienia się w istotny sposób w okresie ciąży. Aktywność pozostałych dejodynaz ulega zmianie. Aktywność 5'-monodejodynazy typu 2 zlokalizowanej w łożysku ulega podwyższeniu w przypadku zmniejszonej dostępności tyroksyny lub jodu, co chroni przed niedoborami hormonów tarczycy u płodu. Dodatkowo dla okresu ciąży charakterystyczna jest wysoka aktywność 5'-monodejodynazy typu 3 katalizująca przekształcenie T4 do rT3 oraz T3 do dijonotyroniny, co chroni płód w przypadku nadczynności tarczycy u matki (16).

W trakcie ciąży dochodzi również do:

- wzrostu wielkości tarczycy o 10% w rejonach o prawidłowym zaopatrzeniu w jod;
- wzrostu wielkości tarczycy aż do 20–40% w rejonach o nieprawidłowym zaopatrzeniu w jod;
- wzrostu dziennego zapotrzebowania na jod o 50%;
- wzrostu produkcji FT3 i FT4 o 50%.

Istnieje więc wiele mechanizmów przystosowawczych, charakterystycznych dla okresu ciąży zaangażowanych w prawidłowy tyreometabolizm jednostki matka–płód. Ciąża jest dla tarczycy matki swego rodzaju „wysiłkiem” i jeśli kobieta nie będzie w stanie przystosować się do zmian zachodzących w trakcie ciąży, dochodzi do rozwoju niedoczynności.

Fizjologiczna ciąża powoduje znaczne zmiany stężeń TSH i hormonów tarczycy, dlatego zakresy referencyjne dla stężeń wolnych hormonów tarczycy oraz TSH powinny być dostosowane zarówno do okresu ciąży, jak i zmieniać się w kolejnych trymestrach ciąży i różnić od tych przyjętych dla ogólnej populacji.

Normy powinny być dobrane do danej ludności zamieszkującej określony rejon geograficzny z uwagi na rolę, jaką odgrywa wpływ środowiska, np. spożycie jodu czy różnice metodologiczne oznaczeń w poszczególnych laboratoriach na wynik TSH, FT3, FT4. Większość pracowni nie podaje przy wynikach odpowiednich wartości referencyjnych dla poszczególnych trymestrów ciąży, zamieszczając tylko normy odnoszące się do całej populacji (17). Dodatkowo niejednoznaczne wyniki badań naukowych dotyczące wpływu niedoczynności tarczycy na przebieg ciąży przyczyniły się do zauważalnej rozbieżności zaleceń organizacji eksperckich. W związku z powyższym w kolejnym podrozdziale zostaną omówione obecnie obowiązujące wytyczne (2, 18, 19, 20).

Omówienie wytycznych dotyczących diagnostyki i leczenia chorób tarczycy u kobiet ciężarnych ze szczególnym uwzględnieniem AITD

Obecnie obowiązujące wytyczne

Obecnie obowiązujące wytyczne dotyczące diagnostyki i leczenia chorób tarczycy u kobiet ciężarnych ze szczególnym uwzględnieniem autoimmunologicznego zapalenia tarczycy zostały wydane m.in. przez towarzystwa:

Amerykańskie Towarzystwo Tyreologiczne – ATA (American Thyroid Association)

Amerykańskie Towarzystwo Endokrynologów Klinicznych (AACE – American Association of Clinical Endocrinologists)

Amerykańskie Kolegium Położników i Ginekologów (ACOG – American College of Obstetricians and Gynecologists)

Europejskie Towarzystwo Tyreologiczne – ETA (European Thyroid Association)

Polskie Towarzystwo Endokrynologiczne – PTE (Polish Society of Endocrinology)

W 2011 roku po raz pierwszy ukazały się zalecenia dotyczące postępowania w chorobach tarczycy u kobiet w ciąży oraz w okresie poporodowym wydane przez ATA (19) . Również w 2011 roku zostały opublikowane przez PTE pierwsze polskie wytyczne, które obowiązują do dnia dzisiejszego (2).

Amerykańskie Towarzystwo Endokrynologów Klinicznych AACE opublikowało swoje zalecenia w 2012 roku (21). Europejskie Towarzystwo Tyreologiczne – ETA – ogłosiło swoje

wytyczne w 2014 roku (18). Najnowsze obecnie opublikowane zalecenia zostały przedstawione w 2017 roku przez ATA jako aktualizacja pierwszej edycji wytycznych z 2011 roku (20). Aktualizacja wynikała ze znaczącego postępu w dziedzinie tyreologii. W opracowaniu amerykańskiej wersji wytycznych z 2017 roku brało udział wielu specjalistów, w tym endokrynolodzy, perinatolodzy, ginekolodzy, chirurdzy i epidemiolodzy, członkowie towarzystw ATA, AACE, ACOG, ETA. Przegląd literatury dotyczącej danego zagadnienia obejmował analizę wszystkich badań opublikowanych po 1990 roku oraz selektywny przegląd przełomowych danych sprzed 1990 roku. Należy pamiętać, że w przypadku tylko około 25% przedstawionych rekomendacji ATA ich podstawą były dane o najwyższej wiarygodności, co według autorów wskazuje na konieczność dalszych dobrze zaprojektowanych badań.

Przesiewowe badanie TSH w ciąży

PTE, jak również obowiązujące od niedawna (01.01.2019 r.) wytyczne Ministerstwa Zdrowia, zalecają przesiewowe badanie TSH u każdej kobiety planującej ciążę oraz podczas pierwszej wizyty położniczej w 4–8 tygodniu ciąży (22). Podobnie Amerykańskie Towarzystwo Endokrynologów Klinicznych – AACE – w wytycznych z 2012 roku rekomenduje rutynową ocenę TSH w pierwszym trymestrze ciąży (21). W przeciwieństwie do tego autorzy wytycznych ETA wskazują, iż brakuje przekonujących dowodów na korzyść z takich oznaczeń, ETA nie zaleca więc jednoznacznie badania TSH u wszystkich ciężarnych, a jedynie badanie w grupie wysokiego ryzyka (18). Według wytycznych ATA z 2017 roku nie ma wiarygodnych dowodów wskazujących na przydatność wykonywania rutynowych badań przesiewowych stężenia TSH u wszystkich kobiet w okresie przedkoncepcyjnym i we wczesnej ciąży. ATA więc podobnie do ETA zaleca wybiórczą ocenę TSH ograniczoną do grupy wysokiego ryzyka (20) (tabela 1).

Podobnie Amerykańskie Kolegium Położników i Ginekologów – ACOG – nie zaleca przesiewowych badań TSH u każdej ciężarnej, wyjaśniając swoje stanowisko brakiem wystarczających dowodów na przydatność rozpoznawania i leczenia kobiet z bezobjawową, subkliniczną niedoczynnością tarczycy. ACOG zaleca badanie funkcji tarczycy tylko u pacjentek z objawami dysfunkcji tarczycy (23).

Tabela 1. Wskazania do przesiewowego badania TSH u ciężarnych według wytycznych PTE 2011 i ATA 2017

Zalecenia polskie (PTE)	Zalecenia amerykańskie (ATA)
<p>Zaleca rutynowe oznaczenie TSH w 4–8 tc oraz bezwzględnie w przypadku czynników ryzyka takich jak:</p> <ul style="list-style-type: none"> • dodatni wywiad w kierunku chorób tarczycy, • wole, • dodatnie miano anty-TPO, • objawy hipotyreozy, • wyniki badań sugerujące hipotyreozę (lipidogram, elektrolity), • niepowściągliwe wymioty, • cukrzyca typu 1, • choroby autoimmunologiczne • przebyte poronienia i przedwczesne porody, • dodatni wywiad rodzinny w kierunku chorób tarczycy, • przebyte naświetlanie głowy i szyi. 	<p>Nie zaleca rutynowego oznaczenia w ciąży TSH. Należy wykonywać TSH w przypadku czynników ryzyka takich jak w zaleceniach polskich oraz dodatkowo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • wiek >30 lat, • ciąża mnoga, • niepłodność, • zamieszkanie na terenie umiarkowanego i ciężkiego niedoboru jodu, • stosowanie amiodaronu, soli litu, • niedawne badanie z zastosowaniem kontrastów jodowych, • otyłość III stopnia (BMI>40 kg/m²). <p>Czynnikami ryzyka są również określone choroby autoimmunologiczne częściej występujące razem z AITD (cukrzyca typu 1, celiakia, bielactwo, reumatoidalne zapalenie stawów, anemia Addisona i Biermera, niedoczynność kory nadnerczy, niedoczynność przytarczyc, twardzina układowa, toczeń rumieniowaty układowy, zespół Sjögrena).</p>

Źródło: Na podstawie (2, 20).

Normy stężenia TSH

Amerykańskie Towarzystwo Tyreologiczne w wytycznych z 2017 roku rekomenduje, aby zakresy referencyjne dla TSH były wyznaczane dla każdej populacji na podstawie lokalnych badań kobiet ciężarnych z ujemnymi przeciwciałami, prawidłową podażą jodu. Gdy takie normy nie są dostępne, należy posłużyć się zakresami referencyjnymi TSH dla kobiet ciężarnych uzyskanymi w podobnej populacji pacjentów i przeprowadzonymi przy użyciu

podobnych testów do oznaczania TSH (20). W przypadku braku powyższych według ATA za górną wartość normy w czasie ciąży uznaje się wartość 4,0 mIU/l. W poprzedniej wersji wytycznych z 2011 roku ATA zalecało, aby za górną granicę normy w pierwszym trymestrze uznać 2,5 mIU/l, w drugim – 3,0 mIU/l, w trzecim – 3,5 mIU/l. Wartości podawane przez ETA z 2014 roku są takie same jak podawane przez ATA w 2011 roku. Natomiast obowiązujące obecnie wytyczne Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego z 2011 roku wyznaczają górną granicę stężenia TSH dla wszystkich trymestrów ciąży na poziomie 2,5 mIU/l. W przypadku zaś stwierdzenia podwyższonego stężenia TSH u kobiety ciężarnej wszystkie towarzystwa zalecają wykonanie badania FT4, jak również przeciwciał anty-TPO. Jest to spowodowane faktem, iż najczęstszą przyczyną hipotyreozy w ciąży w krajach rozwiniętych jest autoimmunologiczne zapalenie tarczycy. (2,18,19,20) (tabela 2).

Tabela 2. Górna granica normy TSH w zależności od trymestru wg wytycznych ATA, ETA, PTE

ATA 2011 i ETA 2014	I trymestr – 2,5 mIU/l, II trymestr – 3,0 mIU/l III trymestr – 3,5 mIU/l
PTE 2011	2,5 mIU/l niezależnie od trymestru
ATA 2017	4,0 mIU/l niezależnie od trymestru

Źródło: Na podstawie (2, 18, 19, 20).

Leczenie i monitorowanie niedoczynności tarczycy

Zalecenia ATA z 2017 roku rekomendują leczenie subklinicznej niedoczynności tarczycy przy stężeniu TSH > 4,0 mIU/l, jeśli towarzyszy jej podwyższone stężenie anty-TPO, natomiast przy ujemnych przeciwciałach anty-TPO dopiero przy TSH > 10 mIU/l. Według ATA z 2017 roku można rozważyć włączenie lewotyroksyny, jeżeli TSH mieści się między 2,5 a 4,0 mIU/l przy dodatnim wyniku anty-TPO i między 4,0 a 10 mIU/l przy ujemnym wyniku anty-TPO (20).

Wytyczne ETA zalecają leczenie subklinicznej niedoczynności tarczycy wykrytej w ciąży u pacjentek ze stężeniem TSH powyżej przyjętej górnej granicy zakresu normy zależnej od trymestru (18) (tabela 2). Wytyczne PTE zalecają leczenie subklinicznej niedoczynności tarczycy wykrytej w ciąży u pacjentek ze stężeniem TSH powyżej 2–2,5 mIU/l, szczególnie przy dodatnim mianie przeciwciał anty-TPO (2). Celem leczenia jest osiągnięcie we krwi stężeń poniżej górnej normy dla danego trymestru. W przypadku leczenia lewotyroksyną PTE

zaleca monitorowanie stężenia TSH co 4 tygodnie, podczas gdy ETA sugeruje badanie TSH co 4–6tygodni w I trymestrze i następnie raz na trymestr (2,18). ATA ze względu na zwiększone ryzyko hipotyreozy u kobiet z dodatnim mianem przeciwciał anti-TPO zaleca u nich monitorowanie TSH co 4 tygodnie w pierwszej połowie ciąży i przynajmniej raz między 26 a 32 tygodniem ciąży (20).

Przeciwciała przeciwarczycowe

Przeciwciała przeciw tyreoglobulinie oraz przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej to grupa autoprzeciwciał należących do klasy IgG. Przeciwciała te pozostają w krwioobiegu kobiet, które chorowały na autoimmunologiczną nadczynność lub niedoczynność tarczycy także w okresie uzyskanej dzięki leczeniu farmakologicznemu prawidłowej czynności tarczycy. Przeciwciała anti-TG i anti-TPO występują także w surowicy krwi u kobiet, u których nigdy nie zdiagnozowano zaburzeń funkcji tarczycy (24).

Dodatnie miano przeciwciał stwierdza się u 6–11% pacjentek w eutyreozy, 40–60% z subkliniczną niedoczynnością tarczycy oraz u 80% z jawną hipotyreozą. Mimo iż wykazano, że w populacji ogólnej to oznaczenie anti-TPO jest znacząco związane z niedoczynnością tarczycy, nie należy lekceważyć pomiaru przeciwciał przeciwko tyreoglobulinie. W przypadku stwierdzenia subklinicznej niedoczynności tarczycy przy ujemnym mianie anti-TPO zaleca się dodatkowe oznaczenie przeciwciał anti-TG. Za jednoczesnym oznaczaniem anti-TG przemawia wynik badania z udziałem prawie tysiąca kobiet, gdzie wykazano izolowane występowanie przeciwciał anti-TPO i anti-TG odpowiednio u 4% i 5% pacjentek. Kobiety z izolowanym wynikiem anti-TG miały znacząco wyższe poziomy TSH w surowicy w porównaniu z innymi kobietami z niedoczynnością tarczycy (2, 25, 26).

Oznaczenie przeciwciał w ciąży powinno być wykonywane w I trymestrze, gdyż w II i III trymestrze badanie może być negatywne z powodu supresji immunologicznej obserwowanej podczas ciąży. W takich przypadkach pomocne może być badanie ultrasonograficzne, w którym obecność hipoechogenego miększu sugeruje proces autoimmunologiczny w tarczycy mimo prawidłowego poziomu przeciwciał (27).

W przypadku podwyższonego wyniku TSH u kobiety ciężarnej ETA oraz ATA zalecają wykonanie przeciwciał anti-TPO. Gdy otrzymamy prawidłowy wynik anti-TPO, powyższe towarzystwa zalecają dodatkowe oznaczenie przeciwciał anti-TG (2, 18, 20).

Wytyczne PTE rekomendują oznaczanie miana przeciwciał anty-TPO u kobiet ciężarnych/planujących ciążę w następujących przypadkach:

- ze współwystępującymi chorobami autoimmunizacyjnymi, przede wszystkim z cukrzycą typu 1;
- z dodatnim wywiadem w kierunku innych autoimmunizacyjnych chorób w rodzinie;
- w przypadku wartości stężenia TSH > 2,5 mIU/l;
- z wynikiem badania USG tarczycy sugerującym autoimmunizacyjną chorobę tarczycy, niezależnie od wyniku TSH;
- z przebyłym poporodowym zapaleniem tarczycy w przeszłości;
- leczonych z powodu niepłodności;
- z dodatnim wywiadem w kierunku poronień i porodów przedwczesnych;
- w miarę możliwości u każdej ciężarnej.

Leczenie lewotyroksyną w stanie eutyreozy kobiet z dodatnimi przeciwciałami

Zalecenie ATA dotyczące rozważenia włączenia lewotyroksyny, jeżeli TSH mieści się między 2,5 a 4,0 mIU/l przy dodatnim wyniku anty-TPO, zostało oparte na wynikach analizy dotychczasowych badań dotyczących kobiet z subkliniczną niedoczynnością tarczycy ze zwiększonym stężeniem przeciwciał przeciwtarczycowych leczonych lewotyroksyną, u których zauważono znacznie zmniejszony odsetek poronień w porównaniu do kobiet ze zwiększonym stężeniem przeciwciał przeciwtarczycowych nieotrzymujących lewotyroksyny (20). ATA wskazało jednocześnie na wiele ograniczeń w przeprowadzonych badaniach, na podstawie których sformułowano powyższe zalecenie, m.in. małą liczebność grup, złożone punkty końcowe, zakończenie badań w I trymestrze ciąży, późne włączenie leczenia lewotyroksyną. ATA podsumowuje, iż ze względu na potencjalny korzystny efekt i minimalne ryzyko skutków niepożądanych można rozważać włączenie lewotyroksyny u kobiet ciężarnych w stanie eutyreozy ze zwiększonym stężeniem anty-TPO, szczególnie jeśli wcześniej wystąpiło już poronienie (20).

Natomiast polskie wytyczne z 2011 roku dopuszczają włączenie leczenia lewotyroksyną u kobiet ze zwiększonym stężeniem przeciwciał przeciwtarczycowych i stężeniem TSH w górnej połowie przedziału referencyjnego (>2–2,5 mIU/l) zarówno w okresie planowania

ciąży, jak i w trakcie ciąży (2). Rekomendacje PTE opierają się m.in. na badaniu Negro i wsp. z 2006 roku oraz pracy Lepoutre'a i wsp. cytowanych w polskich wytycznych (28,29).

Poronienia i niepłodność

Niemожność posiadania potomstwa jest dużym problemem dotykającym około 8–10% par. W chwili obecnej mimo znacznego postępu medycyny prawie w połowie przypadków nie można ustalić przyczyn niepłodności oraz poronień (30).

Aktualnie według Sekcji Płodności i Niepłodności Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego ocenia się, że niepłodność w Polsce dotyczy nawet 1,2 do 1,5 miliona par (31). Równie częstym problemem jest strata ciąży, która dotyczy dużej grupy kobiet i obejmuje poronienia samoistne, poronienia nawracające i zgony wewnątrzmaciczne w II połowie ciąży. W niedawno opublikowanym badaniu dotyczącym poronień w I trymestrze ciąży w grupie 53 479 kobiet z przynajmniej jedną ciążą trwającą 24 tygodnie lub więcej odnotowano aż u 27% kobiet utratę jednej rozpoznanej ciąży, 10% utraciło dwie, a 6% kobiet utraciło trzy i więcej ciąż (32).

Rozróżnia się kilka podziałów dotyczących poronień, jednym z nich jest podział na poronienie biochemiczne oraz kliniczne.

Poronienie biochemiczne to utrata ciąży, która potwierdzona została poprzez pozytywny wynik hormonu beta-hCG w moczu lub w surowicy krwi przed potwierdzeniem ultrasonograficznym. Poronienie takie najczęściej ma miejsce przed 6 tygodniem ciąży.

Poronieniem klinicznym określamy sytuację, kiedy nastąpiło zakończenie ciąży po potwierdzeniu ultrasonograficznym jej istnienia. Poronienia te można podzielić na poronienia wczesne przed 13 tygodniem ciąży oraz poronienia późne pomiędzy 13 a 22 tygodniem czasu trwania ciąży. Poronienia w przypadkach powtarzających się nazywamy nawracającymi lub nawykowymi i podlegają one wówczas rozszerzonej diagnostyce.

Diagnostyka utrat/y ciąż/y powinna obejmować wszystkie poniższe przyczyny: anatomiczne, genetyczne, immunologiczne, hormonalne i infekcyjne. Analizę taką należy rozpocząć od przeprowadzenia wywiadu położniczego oraz internistycznej oceny stanu zdrowia kobiety i jej partnera. Pod uwagę należy wziąć także styl życia kobiety, wpływ stresu, stosowane używki. U każdej kobiety należy przeprowadzić badanie ultrasonograficzne mogące wskazać na wady macicy jako przyczynę utrat ciąż/y. Koniecznym jest badanie kariotypu kobiety

i mężczyzny. Należy wykonać diagnostykę w kierunku występowania zakażeń układu rozrodczego. Zagadnienie to zawsze wymaga zindywidualizowanego podejścia diagnostyczno-terapeutycznego i niejednokrotnie jest to problem złożony. Mimo znaczącego postępu medycyny nadal istnieje duża populacja kobiet z poronieniami idiopatycznymi, u których mimo przeprowadzenia całej diagnostyki nie zdiagnozowano przyczyn/y poronienia (33).

Trombofilia

Uwarunkowanym genetycznie, znanym od dawna czynnikiem ryzyka poronień jest występowanie trombofilii. Trombofilia jest najczęściej definiowana jako zakrzepica żylna spontaniczna lub nadmierna odpowiedź na czynnik prozakrzepowy, która rozwinęła się u danej osoby po raz drugi lub w młodym wieku. Trombofilia może być nabyta lub wrodzona (34).

Przykładami trombofilii wrodzonej, które zostały poddane analizie w prezentowanej pracy jako czynnik ryzyka występowania poronień, są jedno lub dwualleliczne mutacje Leiden genu czynnika V (1691G>A), jedno lub dwualleliczne mutacje genu protrombiny (20210G>A) oraz polimorfizm genu reduktazy 5,10-metylenotetrahydrofolianowej *MTHFR* (677 C>T oraz 1298A>C).

Do rzadszych przyczyn wrodzonych trombofilii należą również: niedobór białka C, niedobór białka S, niedobór antytrombiny, dysfibrinogenemia, homozygotyczna postać homocystynurii, zwiększona aktywność czynnika VIII, niedobór plazminogenu (34).

Przykładem analizowanej przez nas trombofilii nabytej jest zespół antyfosfolipidowy. Do rzadszych przyczyn trombofilii nabytej należą hiperhomocysteinemia (z innej przyczyny niż genetyczna), nabyta oporność na aktywowane białko C, zwiększona aktywność czynnika VIII, zwiększone stężenie czynnika IX lub XI (34).

Obecność jednego z wyżej wymienionych defektów w warunkach zmienionych przez ciążę powoduje stan nadkrzepliwości, który może prowadzić do zakrzepicy w naczyniach łożyska. Już sama ciąża inicjuje stan tzw. hiperkoagulacji przez wzrost stężenia czynników prozakrzepowych, zmniejszenie stężenia białka S, nabytą oporność na aktywowane białko C i obniżoną fibrylizę. Równowaga między czynnikami prokoagulacyjnymi i antykoagulacyjnymi zapewnia prawidłową hemostazę w trakcie ciąży, ale obecność jednego z czynników trombofilii powoduje, iż ta równowaga może zostać zaburzona (35).

Czynnik V krzepnięcia – polimorfizm 1691G>A

Czynnik V krzepnięcia nazywany również proakceleryną należy do grupy glikoprotein. W procesie krzepnięcia połączenie aktywnego czynnika V oraz czynnika X powoduje znaczne przyspieszenie reakcji przejścia protrombiny w trombinę w porównaniu do działania samego czynnika X. W naturalnych warunkach krzepnięcia aktywna postać czynnika V jest unieczynniana dzięki działaniu aktywnego białka C. W przypadku mutacji czynnika V staje się on niewrażliwy na proteolityczne działanie białka C, co powoduje zwiększenie ryzyka powstania zmian zakrzepowo-zatorowych (36).

W 1994 roku zostało opisane istnienie mutacji punktowej *1691G>A* w eksonie dziesiątym genu kodującego V czynnik krzepnięcia. Tranzycja guaniny na adeninę powoduje zmianę sekwencji w łańcuchu białkowym czynnika V, gdzie w pozycji 506 dochodzi do zamiany argininy na glutaminę. W naturalnych warunkach pozycja 506 jest pozycją biorącą udział w proteolitycznym cięciu w procesie inaktywacji czynnika V przez aktywne białko C, zaś w przypadku mutacji i obecności glutaminy w pozycji 506 inaktywacja czynnika V zachodzi 10 razy wolniej. Zmutowany czynnik V nadal wykazuje taką samą aktywność prokoagulacyjną, będąc jednocześnie opornym na rozkład przez aktywne białko C (37).

Częstość występowania mutacji czynnika V Leiden w populacji ogólnej rasy kaukaskiej oceniana jest w większości badań na 5–8%. Obecność wariantu heterozygotycznego *1691GA* podnosi ryzyko wystąpienia powikłań zakrzepowych 4–8 razy. U homozygot ryzyko zakrzepicy wzrasta do nawet około 80 razy (38). Sugeruje się, iż zaburzenia naczyniowe w łożysku mogą być spowodowane nieprawidłowościami wynikającymi z obecności mutacji czynnika V Leiden (39).

Czynnik II krzepnięcia – polimorfizm 20210G>A

Czynnik II krzepnięcia zwany protrombiną w kaskadzie krzepnięcia ulega przekształceniu do trombiny przy współdziałaniu czynnika X, protrombinyazy. Protrombina jest przekształcana do trombiny tylko w sytuacjach czynnego krwawienia. Odwrotną sytuacją jest niedobór trombiny charakteryzujący się tendencją do przedłużonego krwawienia, co jest związane z niedoborem witaminy K, niezbędnej do syntezy czynnika II w wątrobie. Protrombina jest glikoproteina, syntetyzowana w wątrobie w obecności witaminy K. Wydzielenie do osocza poprzedza potranslacyjna modyfikacja przez karboksylazę zależną od witaminy K, co

skutkuje zamianą glutaminianu w karboksylglutaminian, który wiąże jony wapnia, co pozwala na oddziaływanie protrombiny z ujemnie naładowanymi fosfolipidami na płytkach krwi. Przekształcenie protrombiny w trombinę powoduje rozkład fibrynogenu i powstanie fibryny – głównego składnika skrzepu krwi(40).

Gen kodujący czynnik II zlokalizowany jest na chromosomie 11, zawiera 14 eksonów, 13 intronów oraz sekwencje niekodujące. W najczęściej występującym wariacie genu protrombiny adenina ulega tranzycji na guaninę w pozycji 20210 (polimorfizm *20210G>A*). Powyższa mutacja wpływa nie tylko na wzrost stężenia protrombiny w osoczu nawet o 20%, ale także na wzrost jej aktywności, co prowadzi do zwiększenia ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych (40). Polimorfizm genu protrombiny jest drugą najczęstszą przyczyną trombofilii wrodzonej po mutacji czynnika V Leiden. Ryzyko wystąpienia zakrzepicy u osób dotkniętych tą mutacją wzrasta 2-3-krotnie (41).

Wysokie stężenie protrombiny prowadzi do nieprawidłowego funkcjonowania łożyska poprzez wpływ na aktywację płytek, mięśni gładkich, fibroblastów. Szacuje się, że u heterozygot *20210G>A* ryzyko poronienia jest zwiększone ponad dwukrotnie (42).

Zespół antyfosfolipidowy

Przykładem analizowanej w pracy trombofilii nabytej jest zespół antyfosfolipidowy. Aby rozpoznać zespół antyfosfolipidowy spełnione muszą być kryteria opracowane w 2006 roku w Sydney obejmujące: 1 kryterium kliniczne (zakrzepica naczyń, niepowodzenia położnicze) oraz 1 kryterium laboratoryjne (antykoagulant toczeniowy, przeciwciała antykardiolipinowe, przeciwciała przeciwko beta 2-glikoproteinie wykryte ≥ 2 -krotnie w odstępie ≥ 12 tygodni (43). Wiele opublikowanych dotychczas badań wskazuje na związek pomiędzy obecnością przeciwciał antyfosfolipidowych a występowaniem wczesnych poronień w I trymestrze ciąży. U 5–15% kobiet, u których doszło do utraty ciąży, stwierdza się podwyższone miano przeciwciał antyfosfolipidowych (44). Przeciwciała antyfosfolipidowe są odpowiedzialne za powstawanie zmian prozakrzepowych w naczyniach łożyska, co może prowadzić także do wczesnej postaci stanu przedrzucawkowego, zespołu HELLP, porodu przedwczesnego, przedwczesnego oddzielenia się łożyska (45).

Reduktaza metylenotetrahydrofolianu – MTHFR

Kwas foliowy

Kwas foliowy jest najczęstszą witaminą suplementowaną u kobiet planujących ciążę i ciężarnych. Zapasy ustrojowe kwasu foliowego sięgają 5–10 mg. Organizm sam nie potrafi go zsyntetyzować, dlatego należy spożywać kwas foliowy w wystarczających ilościach z pokarmem lub przyjmować zawierające go suplementy diety. Lepszą biodostępność wykazuje kwas foliowy pochodzący z suplementów niż przyjmowany z pożywieniem. Zapasy ustrojowe kwasu foliowego ulegają wyczerpaniu w ciągu 3–4 miesięcy. Najbardziej narażone na niedobory folianów są kobiety ciężarne. Niedostateczne spożycie kwasu foliowego jest niebezpieczne dla rozwijającego się płodu, prowadząc do powstania wad wrodzonych, a nawet utraty ciąży (46).

Kwas foliowy po dostarczeniu do organizmu przechodzi przez szereg reakcji, aby powstała jego forma aktywna – 5-metylotetrahydrofolian. Aktywna forma pełniąc funkcję koenzymu przenosi jednowęglowe fragmenty w reakcjach syntezy kwasów nukleinowych, puryn, przemianach wielu aminokwasów przez co kwas foliowy reguluje wzrost i funkcjonowanie wszystkich komórek w organizmie. Wyjściowo kwas foliowy ulega przemianie z udziałem enzymu reduktazy 5,10-metylenotetrahydrofolianu (MTHFR), tworząc aktywną postać folianu. Jednym z istotnych kofaktorów tych przemian jest witamina B12. W związku z dużą częstością występowania mutacji genu *MTHFR* coraz więcej uwagi poświęca się formom aktywnym folianów. Foliany nowej generacji są związkami pozyskiwanymi na drodze syntezy chemicznej – są to sole 5-metylotetrahydrofolianu i wykazują aktywność niezależnie od działania enzymu MTHFR (47).

Podaż kwasu foliowego zalecana kobietom ciężarnym i planującym ciążę zależy od grupy ryzyka, w której znalazła się kobieta, i zostało ujęte w rekomendacjach Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników z 2017 roku, które przedstawiono poniżej(48).

W grupie niskiego ryzyka wad płodu zaleca się stosowanie 0,4 mg/dobę kwasu foliowego przez okres 12 tygodni przed planowaną ciążą, w czasie ciąży oraz w trakcie laktacji.

Drugą wyodrębnioną grupą jest grupa pośredniego ryzyka. Zalicza się do niej m.in. kobiety z **obniżoną aktywnością enzymu reduktazy 5,10-metylenotetrahydrofolianu – MTHFR**, a także pacjentki z cukrzycą typu 1 lub cukrzycą typu 2, insulinoopornością (hiperglikemia oraz niezależnie sama insulinooporność mogą zaburzać przemiany metaboliczne folianów),

IUGR, stanem przedrzucawkowym w wywiadzie, chorobami układu pokarmowego (wrzodziejące zapalenie jelita grubego, choroba Crohna, celiakia) niewydolnością wątroby, niewydolnością nerek, po operacji bariatrycznej, z otyłością, przyjmujące leki przeciwpadaczkowe oraz inne leki, tzn. metforminę, metotreksat, cholestyraminę, sulfasalazynę, palące papierosy, nadużywające alkoholu. W grupie tej rekomenduje się przyjmowanie folianów w dawce 0,8 mg/dobę, w tym aktywnych folianów oraz dodatkowo witaminy B12. Okres przyjmowania kwasu foliowego powinien wynosić przynajmniej 12 tygodni przed poczęciem, obejmować także okres ciąży oraz laktacji.

Grupa wysokiego ryzyka dotyczy osób, u których wady cewy nerwowej wystąpiły w najbliższej rodzinie. W tej grupie rekomendowane jest przyjmowanie folianów w dawce 5 mg/dobę przez okres 12 tygodni przed planowaną ciążą, w I trymestrze ciąży oraz 0,8 mg/dobę w II i III trymestrze i w okresie laktacji (48).

Metylacja

Dotychczasowe wyobrażenie na temat dziedziczenia i powstawania białek opierało się głównie na ugruntowanej wiedzy z genetyki molekularnej dotyczącej sekwencji kodującej. Na podstawie kodu genetycznego, informacji genetycznej zawartej w sekwencji nukleotydów kwasu nukleinowego dochodzi do powstania I-rzędowej struktury białek, czyli liniowego układu aminokwasów. Na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat odkryto, że określone białka mogą regulować ekspresję genów poprzez wpływ na transkrypcję DNA, co doprowadziło do powstania nowej gałęzi genetyki zwanej epigenetyką. Epigenetyczne modyfikacje obejmują acetylacje/deacetylacje histonów i metylację DNA. Sam proces metylacji polega na zamianie atomu wodoru na grupę metylową, czyli przenoszeniu grup metylowych z jednej cząsteczki na inną. Metylacji mogą ulegać DNA, RNA, białka. Hipermetylacja powoduje wyciszenie genów, hipometylacja zaś wywołuje niestabilność chromosomów (49).

Polimorfizm MTHFR

Gen *MTHFR* zlokalizowany jest na chromosomie 1, koduje enzym reduktazę 5-10-metylenotetrahydrofolianu. W obrębie genu *MTHFR* odnotowano dotąd występowanie kilku polimorfizmów, które powodują spadek aktywności enzymu. W 1995 roku w eksonie 4 opisano polimorfizm *677C>T* jako punktową tranzycję cytozyny na tyminę w pozycji 677 powodującą w łańcuchu białkowym enzymu wbudowanie się waliny w miejsce alaniny. Mutacja znajduje się w miejscu wiązania się dinukleotydu flawinoadeninowego (FAD) –

kofaktora MTHFR. W wyniku powyższej mutacji powstaje termolabilna forma MTHFR o obniżonej aktywności (50).

Drugi z opisywanych polimorfizmów MTHFR A1298C został zidentyfikowany w 1998 roku w eksonie 7 jako punktowa tranzycja adeniny na cytozynę w pozycji 1298, co powoduje wymianę glutaminianu na alaninę w pozycji 429 łańcucha białkowego. Transwersja jest zlokalizowana w obrębie domeny regulatorowej, gdzie dochodzi do wiązania S-adenozylometioniny (SAM), co skutkuje zmniejszeniem aktywności enzymu (51).

Enzym reduktaza MTHFR wspólnie z dinukleotydem nikotynoamidoadeninowym NADPH prowadzi do redukcji 5,10-metylenotetrahydrofolianu do 5-metylotetrahydrofolianu. 5-metylotetrahydrofolian jest niezbędny do reakcji przekształcenia aminokwasu homocysteiny do metioniny przez syntazę metioninową. Następnie z metioniny powstaje S-adenozyl L-metionina (SAM), do czego niezbędna jest zmetylowana forma kwasu foliowego.

Wpływ na organizm opisanych powyżej wariantów polimorfizmu genu *MTHFR* odbywa się również poprzez występowanie hiperhomocysteinemii wtórnie do zmniejszenia aktywności enzymu MTHFR. Również uwarunkowany genetycznie spadek aktywności innych enzymów zaangażowanych w metabolizm homocysteiny wpływa na wzrost stężenia homocysteiny. Do innych możliwych przyczyn hiperhomocysteinemii należą niedobory żywieniowe, łuszczyca, choroby nerek, choroby wątroby, nowotwory, nadczynność tarczycy, alkoholizm. Niedobory kofaktorów oraz substratów enzymów związanych z metabolizmem homocysteiny, jak witamina B6, witamina B12, również przyczyniają się do wzrostu stężenia homocysteiny we krwi (52).

MTHFR występuje w różnych formach uwarunkowanych genetycznie, za co odpowiedzialny jest polimorfizm genu MTHFR. W postaci dzikiej – zdrowej obserwowana jest pełna aktywność metaboliczna. Postać heterozygotyczna wiąże się z obecnością jednego zmutowanego genu, co powoduje obniżenie aktywności o około 30–40%, zaś postać homozygotyczna wiąże się z występowaniem dwóch zmutowanych genów, co prowadzi do zmniejszenia aktywności MTHFR o 70% (51).

Jak wspomniano powyżej, najczęstsze modyfikacje genu MTHFR występują w pozycji 677 i 1298, stąd nazwa mutacji. W zależności od miejsca mutacji możemy wyróżnić:

- *MTHFR 677CC* – gen bez mutacji (dwa allele prawidłowe);
- *MTHFR 677CT* – mutacja heterozygotyczna (jeden allel nieprawidłowy);

- *MTHFR* 677T – mutacja homozygotyczna (dwa allele nieprawidłowe);
- *MTHFR* 1298AA – gen bez mutacji (dwa allele prawidłowe);
- *MTHFR* 1298AC – mutacja heterozygotyczna (jeden allel nieprawidłowy);
- *MTHFR* 1298CC – mutacja homozygotyczna (dwa allele nieprawidłowe).

Polimorfizm genu *MTHFR* różni się w zależności od regionu i grup etnicznych. Częstość występowania polimorfizmu genu *MTHFR* C677T jest wysoka w Europie (24,1–64,3%), niska w Afryce (0–35,5%) (53). W przypadku polimorfizmu genu *MTHFR* A1298C stwierdza się wysoki odsetek mutacji w Azji (20–70%) i w Europie (24–46%) (54).

Tabela 3. Opis badanych w pracy polimorfizmów

GEN	NAZWA ZWYCZAJOWA	NR W BAZIE DANYCH NCBI
<i>MTHFR</i> C677T	677C>T (A222V)	rs1801133
<i>MTHFR</i> A1298C	1298A>C (E429A)	rs1801131
F5	1691G>A (R506Q)	rs6025
F2	20210G>A	rs3136516

Wpływ metylacji na występowanie chorób autoimmunologicznych

Polimorfizm pojedynczego nukleotydu genu reduktazy metylenotetrahydrofolianu – *MTHFR* zmienia aktywność enzymu, co powoduje spadek jego aktywności i przekłada się na metabolizm komórkowy oraz stabilność genomu. Metylotetrahydrofolian – produkt *MTHFR* jest niezbędny jako donator grupy metylowej w reakcji konwersji homocysteiny do metioniny. Mutacja *MTHFR* może powodować niekorzystny wzrost poziomu homocysteiny i spadek poziomu metioniny oraz S-adenozylometioniny, co może negatywnie wpływać na poziom metylacji (48, 51). Zarówno metylacja cytozyny, jak i metylacja białek histonowych są elementami tzw. epigenetycznej regulacji transkrypcji. Coraz więcej danych sugeruje, że modyfikacje epigenetyczne, w tym zmiany w metylacji DNA, kowalencyjne modyfikacje ogonów histonowych, wyciszanie genów, odgrywają istotną rolę w patogenezie zaburzeń autoimmunologicznych, wpływając na ujawnienie się chorób autoimmunologicznych. Badania na komórkach i tkankach pacjentów z autoimmunologicznymi chorobami tarczycy, a szczególnie w chorobie Gravesa-Basedowa i chorobie Hashimoto, coraz częściej ujawniają zmiany w metylacji prowadzącej do deregulacji ekspresji genów. Wynika z tego, iż nieprawidłowy metabolizm kwasu foliowego może wpływać na hipometylację DNA, co jest obserwowane w przypadku chorób autoimmunologicznych (55).

II. CEL PRACY

W pracy doktorskiej wykonano równocześnie dwa niezależne badania oceniające wpływ autoimmunologicznej choroby tarczycy na ryzyko poronień.

Badanie I

Cel główny: Ocena częstości występowania niedoczynności tarczycy oraz poronień u ciężarnych z chorobą autoimmunologiczną tarczycy.

Cele dodatkowe :

I. Ocena konieczności monitorowania TSH u każdej kobiety przez cały okres ciąży zarówno w grupie kobiet z AITD, jak i bez AITD.

I. Ocena konieczności wykonywania poza przeciwciałami anty-TPO przeciwciał anty-TG w celu diagnostyki AITD.

I. Określenie związku pomiędzy niepłodnością a AITD.

I. Określenie związku pomiędzy poziomem witaminy D a AITD.

I. Określenie związku pomiędzy poziomem witaminy D a poronieniami nawracającymi.

I. Określenie związku pomiędzy masą urodzeniową a AITD.

Badanie II

Cel główny: Ocena częstości występowania mutacji wybranych genów mogących mieć wpływ na ryzyko poronień oraz ocena innych immunologicznych przyczyn utrat ciąży u kobiet z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy. Mutacja *MTHFR*.

Idea prowadzenia II badań:

W badaniu I obejmującym kobiety ciężarne poza oceną niedoczynności tarczycy analizowano również związek pomiędzy występowaniem poronień (w trakcie ciąży i/lub w wywiadzie) z AITD. Równocześnie zaprojektowano badanie II, do którego włączono tylko kobiety z wywiadem poronień. Pacjentki podzielono na dwie grupy, grupę kobiet z AITD i grupę kobiet bez AITD, gdzie analizowano inne przyczyny, które jednocześnie, addytywnie z autoimmunologiczną chorobą tarczycy mogą brać udział w etiologii utrat ciąży.

III. MATERIAŁY I METODY

Badanie I:

Częstość występowania niedoczynności tarczycy oraz poronień u ciężarnych z chorobą autoimmunologiczną tarczycy.

Do badania włączono kobiety ciężarne, będące w I trymestrze ciąży, które spełniły wszystkie kryteria włączające i ani jednego kryterium wykluczającego. Pacjentki pozostawały pod opieką Poradni przy Klinice Endokrynologii Ginekologicznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie.

Kryteria włączenia:

- Kobiety, które wyraziły zgodę na udział w badaniu.
- Kobiety będące w I trymestrze ciąży.
- Rasa kaukaska, narodowość polska.

Kryteria wykluczenia:

- Brak zgody pacjentki na udział w badaniu.
- Brak tarczycy.
- Choroba nowotworowa obecnie/w wywiadzie.
- Choroba Gravesa-Basedowa.
- Wole guzkowe z nadczynnością.
- Inne choroby autoimmunologiczne.
- Sterydoterapia w dawce ≥ 5 mg prednizonu/dobę lub równoważna dawka innego kortykosteroidu.

W sumie do badania włączono 1077 kobiet ciężarnych będących w I trymestrze ciąży.

Do końcowej analizy nie zakwalifikowano pacjentek, które mimo włączenia do badania nie zgłosiły się powtórnie do kliniki w I trymestrze ciąży w celu pobrania krwi (82 kobiety).

Ostatecznie w analizie uwzględniono 995 kobiet w wieku od 18 do 41 lat będących w I trymestrze ciąży w trakcie kwalifikacji do badania.

Badane kobiety zostały podzielone na dwie grupy: pierwsza grupa to 330 ciężarnych z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy – dalej zwana grupą z AITD (średnia wieku 30,73 lat, SD=5,57) oraz druga grupa 665 ciężarnych kobiet bez choroby autoimmunologicznej tarczycy, dalej zwana grupą bez AITD (średnia wieku 30,6 lat, SD=6,1). Okres obserwacji pacjentek był tożsamy z okresem trwania ciąży.

Pacjentki były kwalifikowane do badania w okresie 01.2015–03.2017 roku. Zakończenie badania nastąpiło 30.01.2018 roku.

U pacjentek zostały wykonane pomiary :

- TSH w I trymestrze ciąży (u wszystkich pacjentek);
- przeciwciał anty-TPO, przeciwciał anty-TG (u wszystkich pacjentek);
- TSH w II trymestrze ciąży (u 846 pacjentek);
- TSH w III trymestrze ciąży (774 pacjentek).

Nie u wszystkich pacjentek zostały wykonane oznaczenia TSH w II i III trymestrze ciąży. Brak oznaczeń TSH w II i III trymestrze ciąży był spowodowany wystąpieniem poronienia i/lub brakiem pojawienia się pacjentek na wyznaczonych wizytach kontrolnych.

Dodatkowo u części pacjentek oznaczono:

- poziom witaminy D3 (oznaczono u 279 pacjentek);
- urodzeniową masę ciała dziecka (oznaczono u 597 noworodków).

Oznaczenie witaminy D tylko u części pacjentek było spowodowane ostatecznie brakiem włączenia do analizy wyników dostarczonych przez pacjentki (różnice w normach laboratoryjnych wynikające z różnych odczynników i urządzeń pomiarowych w różnych laboratoriach). Urodzeniowa masa ciała nie została odnotowana u dzieci pacjentek, które nie zgłosiły się na wizytę po porodzie. Urodzeniowe masy ciała dzieci matek z cukrzycą w ciąży oraz cukrzycą ciążową nie zostały poddane analizie, podobnie w przypadku innych znanych przyczyn zaburzeń wzrastania płodu.

Poza szczegółowym wywiadem lekarskim u każdej pacjentki został zebrany wywiad w kierunku niepłodności oraz występowania poronień w wywiadzie rozumianych jako:

Niepłodność małżeńska określona według kryterium WHO jako niemożność zajścia w ciążę po roku regularnego współżycia bez stosowania antykoncepcji.

Poronienie definiowane jako utrata co najmniej 1 ciąży przed 22 tygodniem czasu jej trwania z nieznaną przyczyną.

Poronienia nawracające definiowane tutaj jako utrata przynajmniej 2 następujących po sobie ciąż przed 22 tygodniem czasu ich trwania z nieznaną przyczyną.

Pobieranie próbek krwi odbywało się jak przy rutynowych badaniach diagnostycznych w Poradni Endokrynologii Ginekologicznej pod warunkiem wyrażenia zgody przez pacjentki na udział w badaniu. Zbieranie informacji dotyczących przebiegu ciąży odbywało się z przestrzeganiem ustalonych wcześniej protokołów zatwierdzonych przez lokalną komisję bioetyczną.

Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej działającej przy Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego (KBET/253/B/214 z dnia 27 listopada 2014 r.).

Analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą pakietu statystycznego PQStat wersja 1.6.6.246. Zależności między zmiennymi dychotomicznymi analizowano testem niezależności χ^2 oraz szacując iloraz szans wraz z jego 95% przedziałem ufności. Porównania wyników zmiennych ilościowych między grupami przeprowadzono testem U Manna-Whitneya (po uprzedniej analizie normalności rozkładu testem Shapiro-Wilka). Za istotne przyjęto prawdopodobieństwo testowe na poziomie $p < 0,05$.

Badanie II:

Ocena częstości występowania mutacji wybranych genów mogących mieć wpływ na ryzyko poronień oraz ocena innych immunologicznych przyczyn utrat ciąż u kobiet z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy. Mutacja MTHFR.

Do badania włączono tylko kobiety z niekorzystnym wywiadem położniczym utrat ciąż/y, które spełniły wszystkie kryteria włączające i ani jednego kryterium wykluczającego. Pacjentki były hospitalizowane w Klinice Endokrynologii Ginekologicznej po uprzedniej utracie ciąż/y,

Kryteria włączenia:

- Zgoda pacjentki na udział w badaniu.
- Utrata co najmniej 1 ciąży przed 22 tygodniem czasu jej trwania z nieznanej przyczyny.
- Rasa kaukaska, narodowość polska.

Kryteria wykluczenia:

- Brak zgody Pacjentki na udział w badaniu.
- Kobiety po menopauzie.
- Brak tarczycy.
- Choroba nowotworowa obecnie/w wywiadzie.
- Choroba Gravesa-Basedowa.
- Wole guzkowe z nadczynnością.
- Wady budowy narządu rodneho.
- Czynniki zakaźne jako przyczyna poronień.
- Nieprawidłowy karyotyp u pacjentki/partnera.
- Cukrzyca typu 1.
- Cukrzyca typu 2.
- Wady anatomiczne i genetyczne płodu.

W sumie do badania zakwalifikowano 419 pacjentek rasy kaukaskiej, narodowości polskiej z wywiadem utrat ciąż/y.

W końcowej analizie nie uwzględniono pacjentek, które przerwały diagnostykę przed zakończeniem hospitalizacji (3 pacjentki), nie zgłosiły się na kolejną hospitalizację celem dokończenia diagnostyki (19 pacjentek) i/lub nie miały wykonanych badań w zakresie mutacji MTHFR (111 pacjentek).

W badaniu wzięło ostatecznie udział 288 pacjentek rasy kaukaskiej, narodowości polskiej. Pierwszą grupę stanowiło 91 pacjentek z autoimmunologiczną chorobą tarczycy z utratą przynajmniej jednej ciąży o niewyjaśnionej etiologii (średnia wieku 34,61 lat, SD=4,88) – dalej zwana grupą z AITD. Druga grupa to 197 kobiet bez choroby autoimmunologicznej tarczycy z utratą przynajmniej jednej ciąży o niewyjaśnionej etiologii (średnia wieku 34,54 lat SD=5,14) – dalej zwana grupą bez AITD. U pacjentek analizowano częstość występowania czterech polimorfizmów genów mających związek z występowaniem wrodzonej trombofilii oraz dwóch czynników autoimmunologicznych, które wraz z autoimmunologiczną chorobą tarczycy mogą brać udział w etiologii utrat ciąży.

Pacjentki były kwalifikowane do badania w terminie 01.2015–01.2018 roku.

U wszystkich pacjentek włączonych do badania zostały wykonane oznaczenia:

- TSH;
- przeciwciał anty-TPO, przeciwciał anty-TG;
- test na obecność mutacji genu reduktazy tetrahydrofolianowej *MTHFR* C677T;
- test na obecność mutacji genu reduktazy tetrahydrofolianowej *MTHFR* A1298C.

U większości pacjentek włączonych do badania zostały wykonane oznaczenia:

- przeciwciał przeciwjądrowych ANA (oznaczono u 268 kobiet);
- przeciwciał antyfosfolipidowych (APLA) (oznaczono u 275 kobiet);
- test na obecność mutacji czynnika V Leiden (1691G>A) (oznaczono u 252 kobiet);
- test na obecność mutacji genu protrombiny (20210G>A) (oznaczono u 242 kobiet).

Pacjentki z wywiadem poronień, u których oznaczono test na obecność mutacji MTHFR, przeciwciała przeciwtarczycowe oraz TSH, zostały włączone do analizy mimo braku innych pojedynczych oznaczeń. Brak wyników innych danych wynikał z mechanizmu w pełni losowego.

W przypadku oznaczeń przeciwciał przeciwjądrowych ANA uzyskano 85 wyników niejednoznacznych – ostatecznie nie włączono ich do analizy.

Pobieranie próbek krwi odbywało się jak przy rutynowych badaniach diagnostycznych w Klinice Endokrynologii Ginekologicznej pod warunkiem wyrażenia zgody przez pacjentki na udział w badaniu.

Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej działającej przy Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego (KBET/253/B/214 z dnia 27 listopada 2014 r.).

Analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą pakietu statystycznego PQStat wersja 1.6.6.246. Zależności między zmiennymi dychotomicznymi analizowano testem niezależności χ^2 oraz szacując iloraz szans wraz z jego 95% przedziałem ufności. Porównania wyników zmiennych ilościowych między grupami przeprowadzono testem U Manna-Whitneya (po uprzedniej analizie normalności rozkładu testem Shapiro-Wilka). Za istotne przyjęto prawdopodobieństwo testowe na poziomie $p < 0,05$.

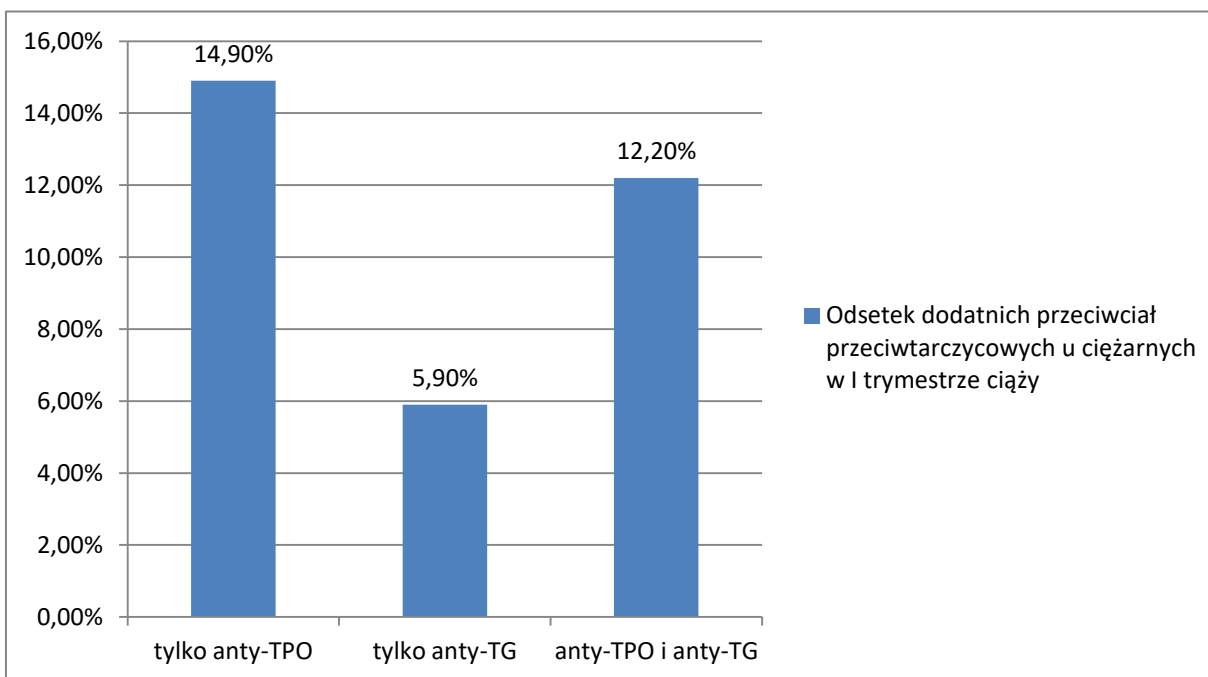
WYNIKI BADANIE I

Badanie I: Częstość występowania niedoczynności tarczycy oraz poronień u ciężarnych z chorobą autoimmunologiczną tarczycy.

W analizie uwzględniono 995 kobiet w wieku od 18 do 41 lat będących w trakcie kwalifikacji do badania w I trymestrze ciąży. Badane kobiety zostały podzielone na dwie grupy: pierwsza grupa to 330 ciężarnych z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy – dalej zwana grupą z AITD – oraz druga grupa 665 ciężarnych kobiet bez choroby autoimmunologicznej tarczycy – dalej zwana grupą bez AITD. Okres obserwacji pacjentek był tożsamy z okresem trwania ciąży.

Tabela 4. Odsetek występowania dodatnich wyników przeciwciał anti-TPO, anti-TG u ciężarnych w I trymestrze ciąży

Pacjentki zakwalifikowane do badania	Pacjentki z izolowane dodatnimi przeciwciałami anti-TPO	Pacjentki z izolowane dodatnimi przeciwciałami anti-TG	Pacjentki z dodatnimi przeciwciałami anti-TPO i przeciwciałami anti-TG
N=995, 100%	N = 149 14,9%	N=59 5,9%	N=122 12,2%



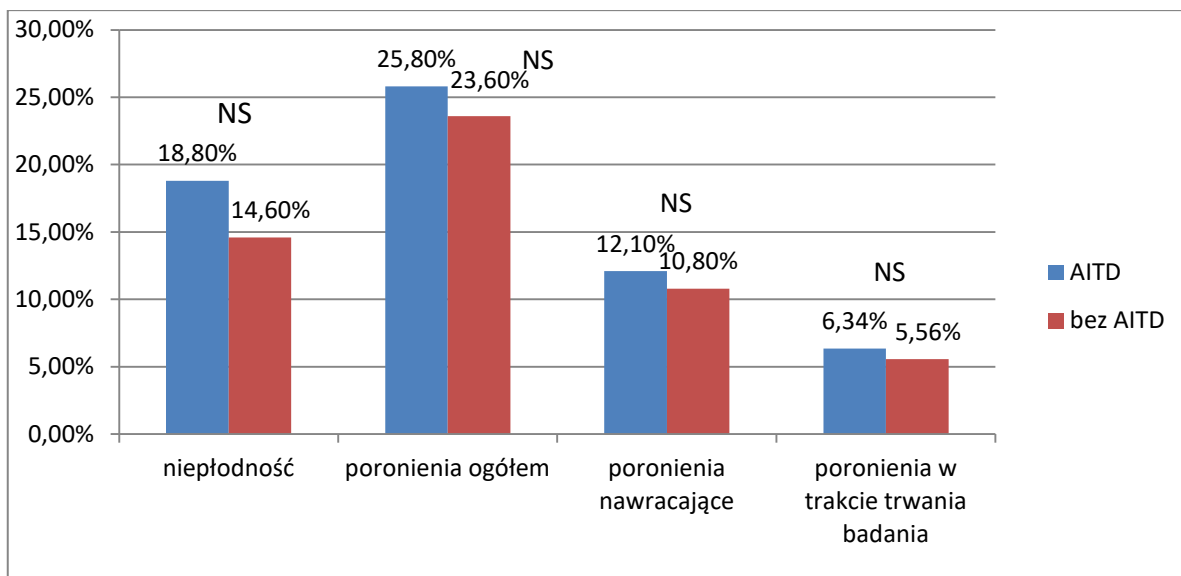
Rycina 1. Odsetek dodatnich wyników przeciwciał anti-TPO, anti-TG u ciężarnych w I trymestrze ciąży

W analizowanej grupie ciężarnych u 14,9% kobiet wykazano izolowane występowanie przeciwciał anty-TPO, w 5,9% przypadków wykazano izolowane występowanie przeciwciał anty-TG, zaś w 12,2% przypadków dodatkowo były oba typy przeciwciał przeciwarczycowych anty-TPO i anty-TG.

Analiza porównawcza w grupach wyodrębnionych na podstawie występowania autoimmunologicznego zapalenia tarczycy.

Tabela 5. Odsetek kobiet z wywiadem niepłodności i poronień w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD

		AITD				Chi ²	OR (95% CI)
		TAK		NIE			
		N	%	N	%		
Niepłodność	Nie	268	81,2	568	85,4	Chi ² =2,90 p=0,0886	OR=1,3547 (0,95-1,92)
	Tak	62	18,8	97	14,6		
Poronienia ogółem	Nie	245	74,2	508	76,4	Chi ² =0,55 p=0,4570	OR=1,1226 (0,83-1,52)
	Tak	85	25,8	157	23,6		
Poronienia nawracające	Nie	290	87,9	593	89,2	Chi ² =0,37 p=0,5431	OR=1,1360 (0,75-1,71)
	Tak	40	12,1	72	10,8		
Poronienia w trakcie trwania badania	Nie	310	93,6	629	94,4	Chi ² =0,251 p=0,6162	OR=1,1516 (0,66-2,01)
	Tak	21	6,34	37	5,56		



Rycina 2. Odsetek kobiet z wywiadem niepłodności i poronień w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD

Niepłodność małżeńska określona według kryterium WHO jako niemożność zajścia w ciążę po roku regularnego współżycia bez stosowania antykoncepcji wystąpiła u 62 (18,8%) kobiet w grupie z AITD oraz u 97 (14,6%) kobiet w grupie bez AITD (tabela 5, rycina 2).

Poronienia ogółem definiowane jako utrata co najmniej 1 ciąży przed 22 tygodniem czasu jej trwania z nieznanego przyczyny w wywiadzie i/lub w trakcie trwania badania wystąpiły u 85 (25,8%) kobiet w grupie z AITD i u 157 (23,6%) kobiet w grupie bez AITD (tabela 5, rycina 2).

Poronienia nawracające definiowane tutaj jako utrata przynajmniej 2 następujących po sobie ciąży przed 22 tygodniem czasu ich trwania z nieznanego przyczyny w wywiadzie i/lub w trakcie trwania badania wystąpiły u 40 (12,1%) kobiet w grupie z AITD oraz 72 (10,8%) kobiet w grupie bez AITD (tabela 5, rycina 2).

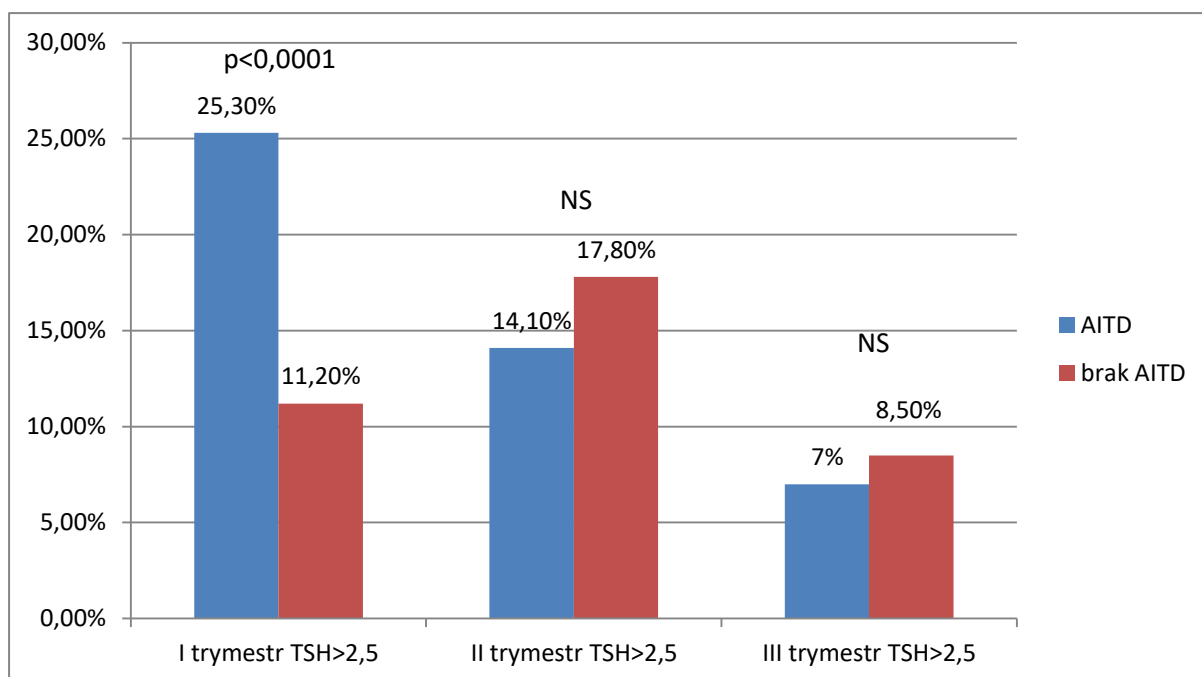
Poronienie w trakcie trwania badania definiowane jako utrata ciąży przed 22 tygodniem czasu jej trwania z nieznanego przyczyny, które nastąpiło po włączeniu kobiet do badania, wystąpiło u 21 (6,34%) kobiet w grupie z AITD i u 37 (5,56%) kobiet w grupie bez AITD (tabela 5, rycina 2).

Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy niepłodnością, poronieniami ogółem, poronieniami nawracającymi, poronieniami w trakcie trwania badania a występowaniem autoimmunologicznej choroby tarczycy. Problem niepłodności i poronień dotyczył z podobną częstością grupę pacjentek z autoimmunologiczną chorobą tarczycy oraz kobiety wolne od tego schorzenia ($p > 0,05$, NS).

Mimo iż nie stwierdzono istotnych statystycznie zależności pomiędzy występowaniem niepłodności a AITD, to na podstawie wyników widzimy, iż niepłodność występowała częściej w grupie kobiet z AITD.

Tabela 6. Odsetek kobiet z TSH >2,5 w zależności od trymestru w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD

		AITD				Chi ²	OR (95% CI)
		TAK		NIE			
		N	%	N	%		
TSH>2,5 w I tr	Nie	245	74,7	585	88,8	Chi ² =32,44 p<0,0001	OR=2,6782 (1,89-3,79)
	Tak	83	25,3	74	11,2		
TSH>2,5 w II tr	Nie	238	85,9	468	82,2	Chi ² =1,82 p=0,1775	OR=0,7593 (0,51-1,13)
	Tak	39	14,1	101	17,8		
TSH>2,5 w III tr	Nie	238	93,0	474	91,5	Chi ² =0,50 p=0,4805	OR=0,8147 (0,46-1,44)
	Tak	18	7,0	44	8,5		



Rycina 3. Odsetek kobiet z TSH>2,5 w zależności od trymestru w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD

U 8 kobiet ciężarnych włączonych do analizy ostatecznie nie uwzględniono wyniku TSH w I trymestrze z uwagi na przyjmowanie biotyny w trakcie wykonywania oznaczenia.

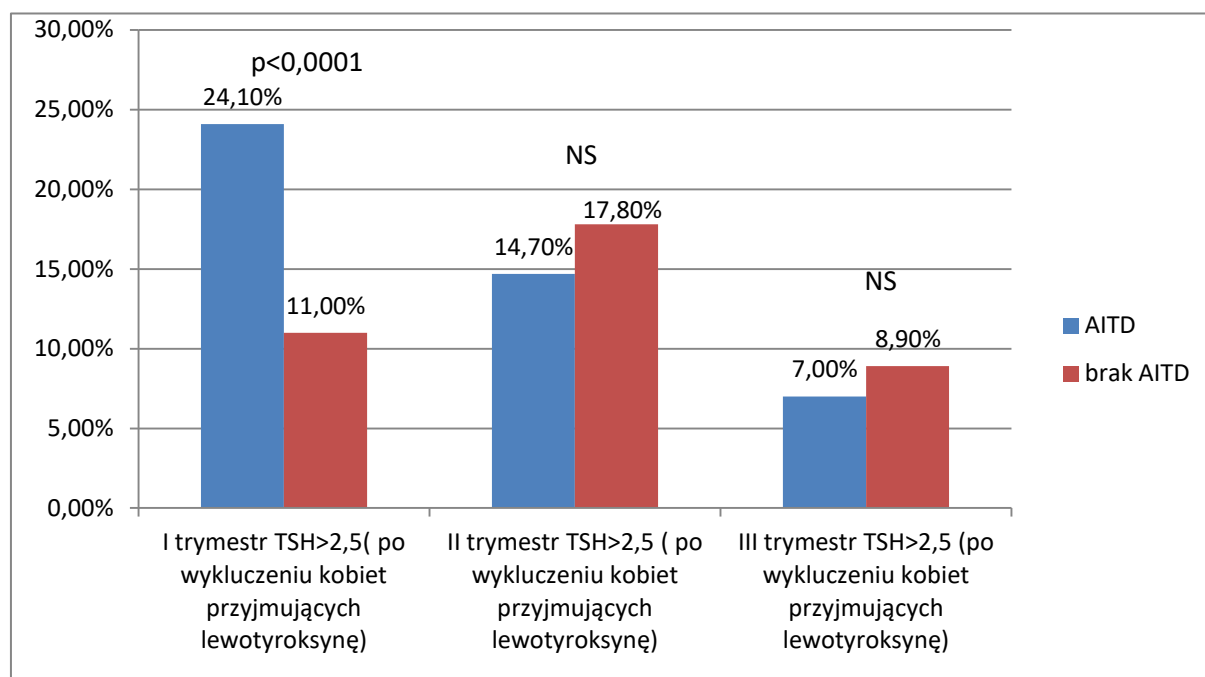
W I trymestrze ciąży wartość TSH>2,5 mIU/l wystąpiła u 83 (25,3%) kobiet w grupie z AITD oraz u 74 (11,2%) kobiet w grupie bez AITD. Różnice między badanymi grupami okazały się istotne statystycznie ($p < 0,05$). Pacjentki z AITD miały blisko 2,7 razy większe szanse na podwyższony poziom TSH w I trymestrze ciąży niż kobiety wolne od tej choroby (mimo włączenia do analizy kobiet przyjmujących lewotyroksynę przed ciążą) (tabela 6, rycina 3).

W II trymestrze ciąży wartość TSH>2,5 mIU/l wystąpiła u 39 (14,1%) kobiet w grupie z AITD oraz u 101 (17,8%) kobiet w grupie bez AITD. Różnice między badanymi grupami okazały się nieistotne statystycznie ($p > 0,05$) (tabela 6, rycina 3).

W III trymestrze ciąży wartość TSH>2,5 mIU/l wystąpiła u 18 (7%) kobiet w grupie z AITD oraz u 44 (8,5%) kobiet w grupie bez AITD. Różnice między badanymi grupami okazały się nieistotne statystycznie ($p > 0,05$) (tabela 6, rycina 3).

Tabela 7. Odsetek kobiet z TSH >2,5 w zależności od trymestru w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD z wyłączeniem pacjentek przyjmujących lewotyroksynę

	AITD				Chi ²	OR (95% CI)	
	TAK		NIE				
	N	%	N	%			
TSH>2,5 w I tr (po wykluczeniu kobiet przyjmujących lewotyroksynę)	Nie	195	75,9	503	89,0	Chi ² =23,85 p<0,0001	OR=2,5795 (1,75-3,81)
	Tak	62	24,1	62	11,0		
TSH>2,5 w II tr (po wykluczeniu kobiet przyjmujących lewotyroksynę)	Nie	186	85,3	387	82,2	Chi ² =1,06 p=0,3033	OR=0,7926 (0,51-1,23)
	Tak	32	14,7	84	17,8		
TSH>2,5 w III tr (po wykluczeniu kobiet przyjmujących lewotyroksynę)	Nie	186	93,0	390	91,1	Chi ² =0,63 p=0,4261	OR=0,7725 (0,41-1,46)
	Tak	14	7,0	38	8,9		



Rycina 4. Odsetek kobiet z TSH >2,5 w zależności od trymestru w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD z wyłączeniem pacjentek przyjmujących lewotyroksynę

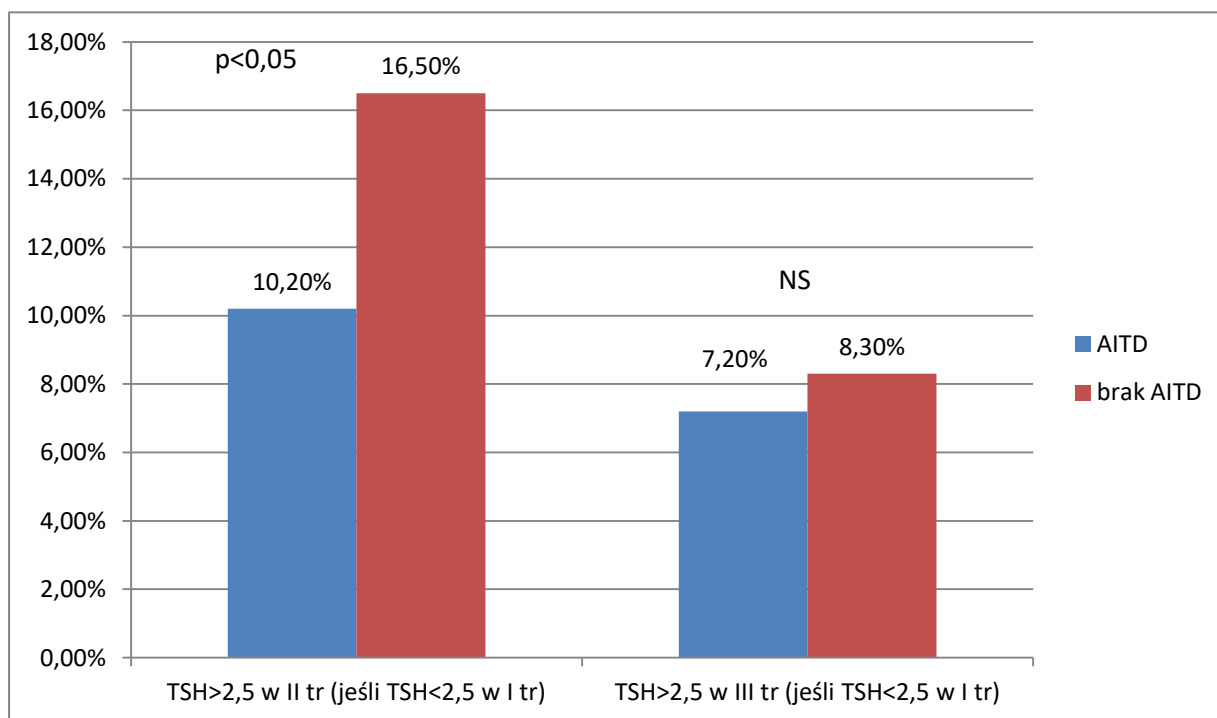
W I trymestrze ciąży wartość TSH>2,5 mIU/l wystąpiła u 62 (24,1%) kobiet w grupie z AITD oraz u 62 (11,0%) kobiet w grupie bez AITD. Z analizy wykluczono kobiety przyjmujące lewotyroksynę przed ciążą lub w trakcie ciąży. Różnice między badanymi grupami okazały się istotne statystycznie ($p<0,05$). Pacjentki z AITD miały blisko 2,6 razy większe szanse na podwyższony poziom TSH w I trymestrze ciąży niż kobiety wolne od tej choroby po wykluczeniu z analizy kobiet w trakcie leczenia lewotyroksyną (tabela 7, rycina 4).

W II trymestrze ciąży wartość TSH>2,5 mIU/l wystąpiła u 32 (14,7%) kobiet w grupie z AITD oraz u 84 (17,8%) kobiet w grupie bez AITD. Z analizy wykluczono kobiety przyjmujące lewotyroksynę przed ciążą lub w trakcie ciąży. Różnice między badanymi grupami okazały się nieistotne statystycznie ($p>0,05$) (tabela 7, rycina 4).

W III trymestrze ciąży wartość TSH>2,5 mIU/l wystąpiła u 14 (7,0%) kobiet w grupie z AITD oraz u 38 (8,9%) kobiet w grupie bez AITD. Z analizy wykluczono kobiety przyjmujące lewotyroksynę przed ciążą lub w trakcie ciąży. Różnice między badanymi grupami okazały się nieistotne statystycznie ($p>0,05$) (tabela 7, rycina 4).

Tabela 8. Odsetek kobiet z TSH>2,5 w II, III trymestrze ciąży w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD, u których w I trymestrze TSH<2,5

		AITD				Chi ²	OR (95% CI)
		TAK		NIE			
		N	%	N	%		
TSH>2,5 w II tr (jeśli TSH<2,5 w I tr)	Nie	185	89,8	421	83,5	Chi ² =4,60 p=0,0319	OR=0,5758 (0,35-0,96)
	Tak	21	10,2	83	16,5		
TSH>2,5 w III tr (jeśli TSH<2,5 w I tr)	Nie	180	92,8	418	91,7	Chi ² =0,23 p=0,6310	OR=0,8556 (0,45-1,62)
	Tak	14	7,2	38	8,3		



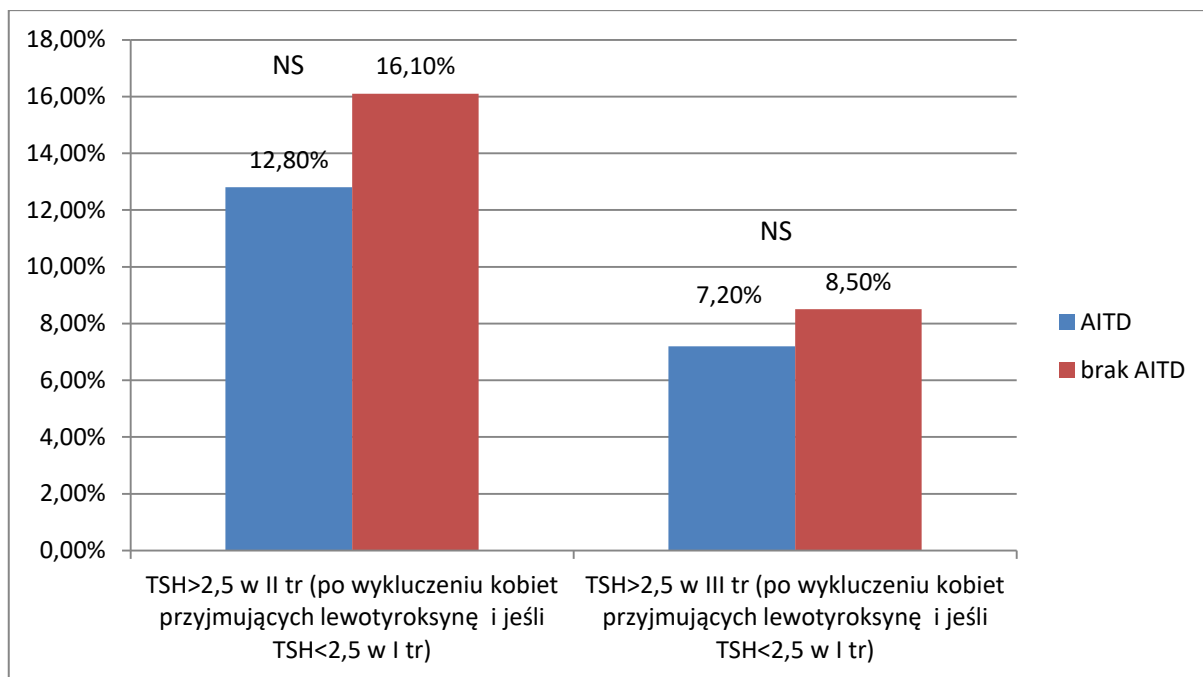
Rycina 5. Odsetek kobiet z TSH>2,5 w II, III trymestrze ciąży w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD, u których w I trymestrze TSH<2,5

W grupie kobiet, które w I trymestrze miały TSH<2,5 mIU/l, wartość TSH>2,5 mIU/l w II trymestrze ciąży wystąpiła u 21(10,2%) kobiet w grupie z AITD oraz u 83 (16,5%) kobiet w grupie bez AITD. Różnice między badanymi grupami okazały się istotne statystycznie (p<0,05) (tabela 8, rycina 5).

W grupie kobiet, które w I trymestrze miały TSH<2,5 mIU/l, wartość TSH>2,5 mIU/l w III trymestrze ciąży wystąpiła u 14 (7,2%) kobiet w grupie z AITD oraz u 38 (8,3%) kobiet w grupie bez AITD. Różnice między badanymi grupami okazały się nieistotne statystycznie ($p>0,05$) (tabela 8, rycina 5).

Tabela 9. Odsetek kobiet z TSH>2,5 w II, III trymestrze ciąży w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD, u których w I trymestrze TSH<2,5 po wykluczeniu kobiet przyjmujących lewotyrosynę

		AITD				Chi ²	OR (95% CI)
		TAK		NIE			
		N	%	N	%		
TSH>2,5 w II tr (po wykluczeniu kobiet przyjmujących lewotyrosynę i jeśli TSH<2,5 w I tr)	Nie	143	87,2	350	83,9	Chi ² =0,97 p=0,3235	OR=0,7671 (0,45-1,30)
	Tak	21	12,8	67	16,1		
TSH>2,5 w III tr (po wykluczeniu kobiet przyjmujących lewotyrosynę i jeśli TSH<2,5 w I tr)	Nie	143	92,8	346	91,5	Chi ² =0,26 p=0,6117	OR=0,8317 (0,41-1,69)
	Tak	11	7,2	32	8,5		



Rycina 6. Odsetek kobiet z TSH > 2,5 w II, III trymestrze ciąży w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD u których w I trymestrze TSH < 2,5 po wykluczeniu kobiet przyjmujących lewotyroksynę.

W grupie kobiet, które w **I trymestrze miały TSH < 2,5 mIU/l**, wartość TSH > 2,5 mIU/l w **II trymestrze** ciąży wystąpiła u 21 (12,8%) kobiet w grupie z AITD oraz u 67 (16,1%) kobiet w grupie bez AITD. Z analizy wykluczono kobiety przyjmujące lewotyroksynę przed ciążą lub w trakcie jej trwania. Różnice między badanymi grupami okazały się nieistotne statystycznie ($p > 0,05$) (tabela 9, rycina 6).

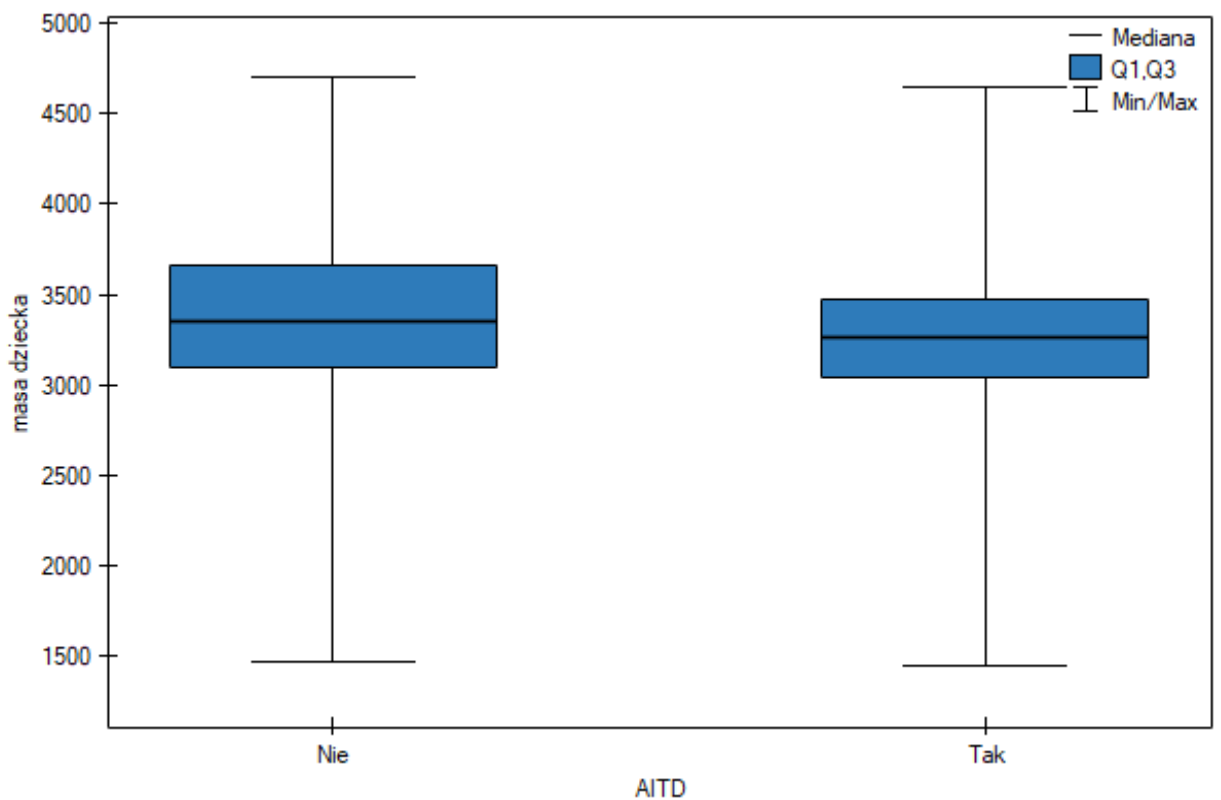
W grupie kobiet, które w **I trymestrze miały TSH < 2,5 mIU/l**, wartość TSH > 2,5 mIU/l w **III trymestrze** ciąży wystąpiła u 11 (7,2%) kobiet w grupie z AITD oraz u 32 (8,5%) kobiet w grupie bez AITD. Z analizy wykluczono kobiety przyjmujące lewotyroksynę przed ciążą lub w trakcie jej trwania. Różnice między badanymi grupami okazały się nieistotne statystycznie ($p > 0,05$) (tabela 9, rycina 6).

Urodzeniowa masa ciała noworodków

Rozkłady masy ciała noworodków różnią się istotnie statystycznie między oboma grupami, choć zakres wyników był bardzo podobny w obu grupach. Mediana wyników masy dzieci była niższa w grupie noworodków matek z AITD, jednak różnica 90g nie wydaje się istotna z klinicznego punktu widzenia (tabela 10, rycina 7).

Tabela 10. Rozkład masy ciała noworodka w gramach w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD

	AITD	
	Nie	Tak
Mediana	3350	3260
Dolny kwartyl	3100	3040
Górny kwartyl	3655	3470
Minimum	1470	1450
Maksimum	4700	4640
Statystyka Z	2,6830	
Wartość p	0,0073	



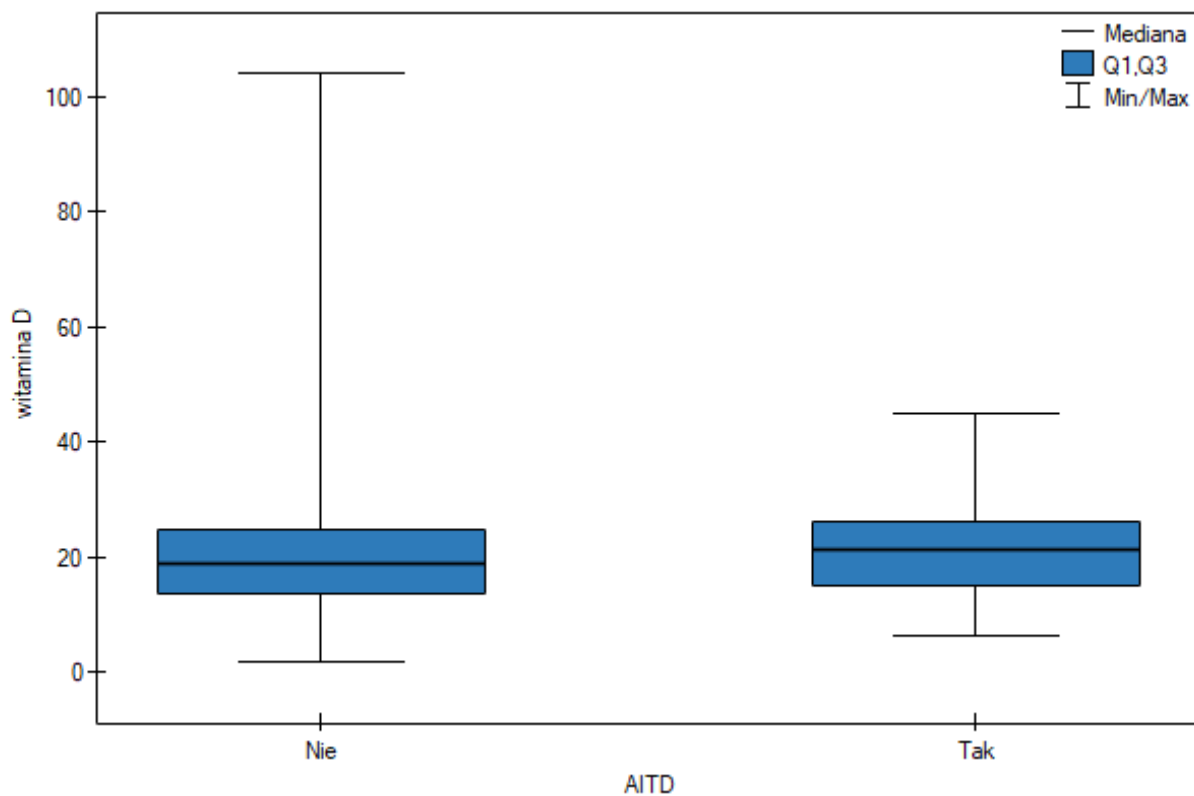
Rycina 7. Rozkład masy ciała noworodka w gramach w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD

Stężenie witaminy D w surowicy ciężarnych

Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy rozkładem stężenia witaminy D a występowaniem AITD (tabela 11, rycina 8).

Tabela 11. Rozkład stężenia witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD

	AITD	
	Nie	Tak
Mediana	18,88	21,4
Dolny kwartyl	13,5	15,01
Górny kwartyl	24,8	26,08
Minimum	1,79	6,23
Maksimum	104	44,86
Statystyka Z	1,2396	
Wartość p	0,2151	

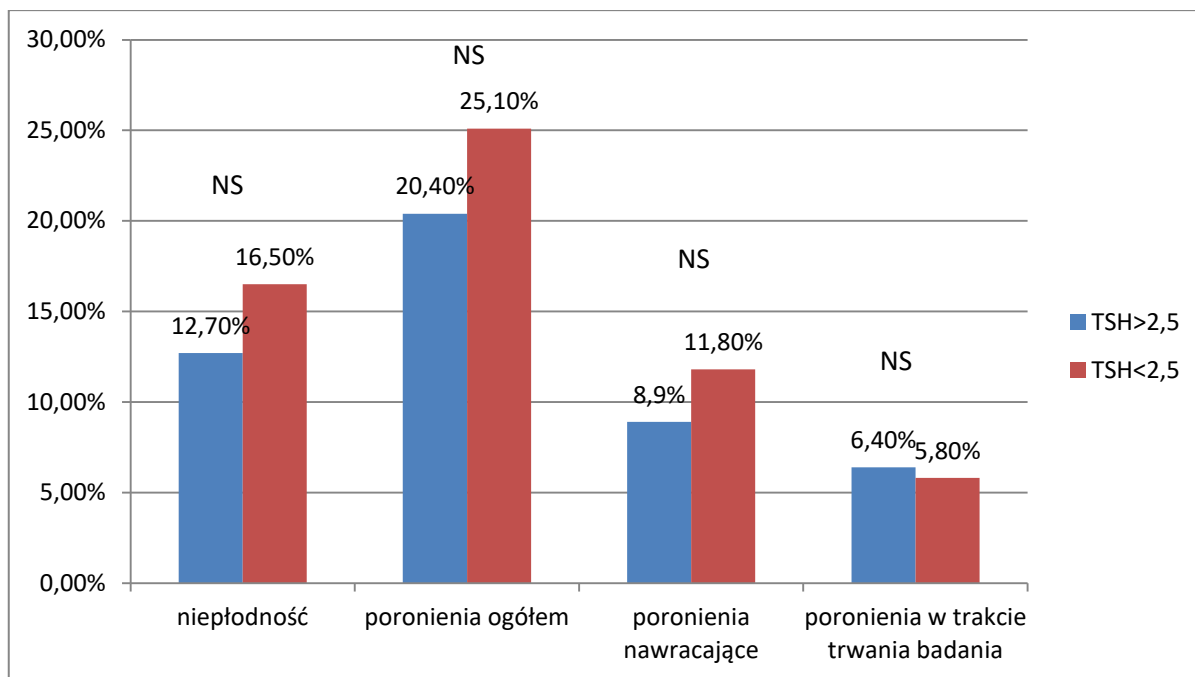


Rycina 8. Rozkład stężenia Witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD

Analiza porównawcza w grupach wyodrębnionych w zależności od wartości TSH na grupę z TSH>2,5 w I trymestrze ciąży i grupę z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży.

Tabela 12. Odsetek kobiet z wywiadem niepłodności i poronień w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży

		TSH>2,5 w I tr				Chi ²	OR (95% CI)
		TAK		NIE			
		N	%	N	%		
Niepłodność	Nie	137	87,3	693	83,5	Chi ² =1,40 p=0,2366	OR=0,7938 (0,45-1,22)
	Tak	20	12,7	137	16,5		
Poronienia ogółem	Nie	125	79,6	622	74,9	Chi ² =1,57 p=0,2102	OR=0,7655 (0,50- 1,16)
	Tak	32	20,4	208	25,1		
Poronienia nawracające	Nie	143	91,1	732	88,2	Chi ² =1,096 p=0,2951	OR=0,7313 (0,40-1,31)
	Tak	14	8,9	98	11,8		
Poronienie w trakcie badania	Nie	147	93,6	782	88,7	Chi ² =0,095 p=0,7573	OR=1,173 (0,55-2,23)
	Tak	10	6,4	48	5,8		



Rycina 9. Odsetek kobiet z wywiadem niepłodności i poronień w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży

Niepłodność określona według kryterium WHO jako niemożność zajścia w ciążę po roku regularnego współżycia bez stosowania antykoncepcji wystąpiła u 20 (12,7%) kobiet w grupie z TSH>2,5 mIU/l w I trymestrze oraz u 137 (16,5%) kobiet z TSH<2,5 mIU/l w I trymestrze (tabela 12, rycina 9).

Poronienia ogółem definiowane jako utrata co najmniej 1 ciąży przed 22 tygodniem czasu jej trwania z nieznaną przyczyną w wywiadzie i/lub w trakcie trwania badania wystąpiło u 32 (20,4%) kobiet w grupie z TSH>2,5 mIU/l w I trymestrze ciąży oraz u 208 kobiet (25,1%) w grupie z TSH<2,5 mIU/l w I trymestrze ciąży (tabela 12, rycina 9).

Poronienia nawracające definiowane tutaj jako utrata przynajmniej 2 następujących po sobie ciąż: przed 22 tygodniem czasu ich trwania z nieznaną przyczyną w wywiadzie i/lub w trakcie trwania badania wystąpiły u 15 (9%) kobiet w grupie z TSH>2,5 mIU/l w I trymestrze oraz 101 (11,8%) kobiet w z TSH<2,5 mIU/l w I trymestrze (tabela 12, rycina 9).

Poronienie w trakcie trwania badania definiowane jako utrata ciąży przed 22 tygodniem czasu jej trwania z nieznaną przyczyną, które nastąpiło po włączeniu kobiet do badania, wystąpiło u 10 (6,4%) kobiet w grupie z TSH>2,5 mIU/l w I trymestrze ciąży oraz u 48 (5,8%) kobiet w grupie z TSH<2,5 mIU/l w I trymestrze ciąży (tabela 12, rycina 9).

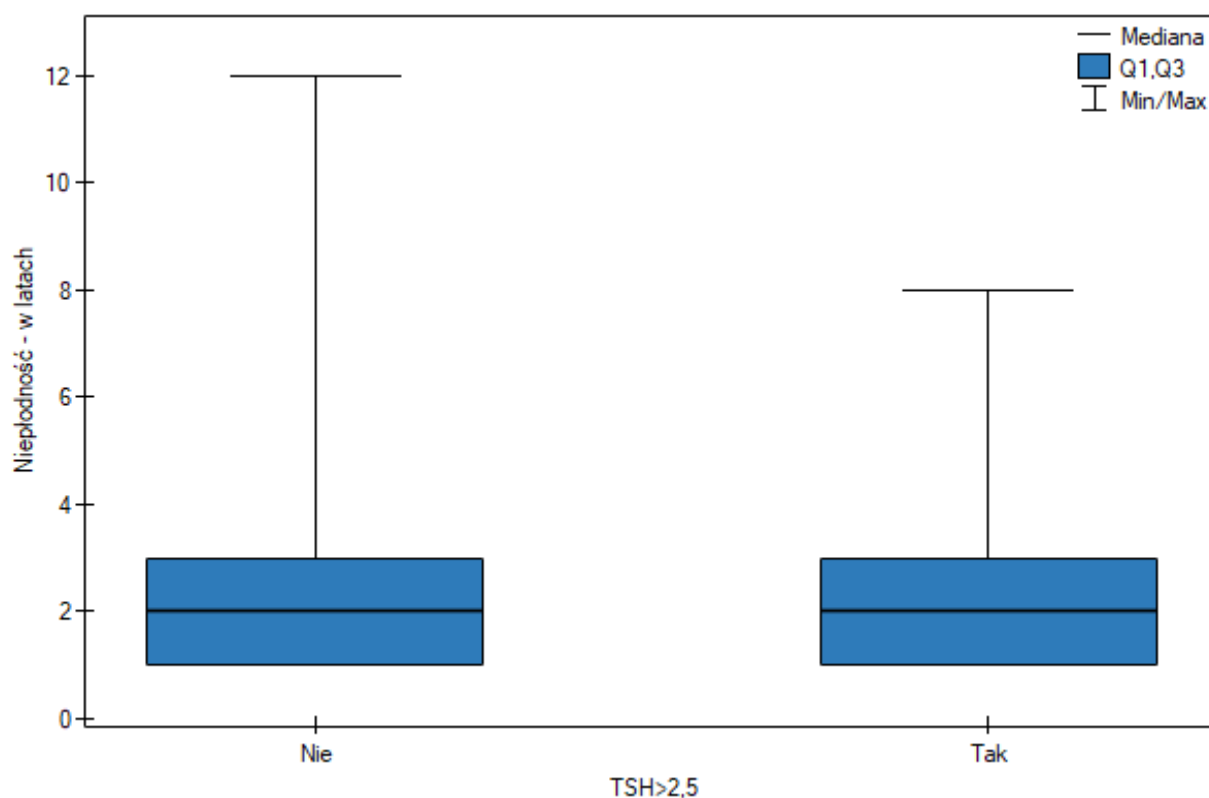
Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy niepłodnością, poronieniami ogółem, poronieniami nawracającymi, poronieniami w trakcie trwania badania a występowaniem TSH>2,5 mIU/l w I trymestrze. Problem niepłodności i poronień dotyczył z podobną częstością grupę pacjentek z TSH>2,5 mIU/l w I trymestrze w porównaniu do grupy kobiet z TSH<2,5 mIU/l w I trymestrze ($p>0,05$).

Niepłodność

Kobiety z TSH>2,5 mIU/l w I trymestrze ciąży nie różniły się istotnie czasem trwania niepłodności w latach od kobiet z TSH<2,5 mIU/l w I trymestrze ciąży ($p>0,05$) (tabela 13, rycina 10).

Tabela 13. Rozkład czasu trwania niepłodności w latach w grupie kobiet z TSH> 2,5 i w grupie kobiet z TSH <2,5 w I trymestrze ciąży

	TSH>2,5 w I tr	
	Nie	Tak
Mediana	2	2
Dolny kwartył	1	1
Górny kwartył	3	3
Minimum	1	1
Maksimum	12	8
Statystyka Z	0,3408	
Wartość p	0,7332	



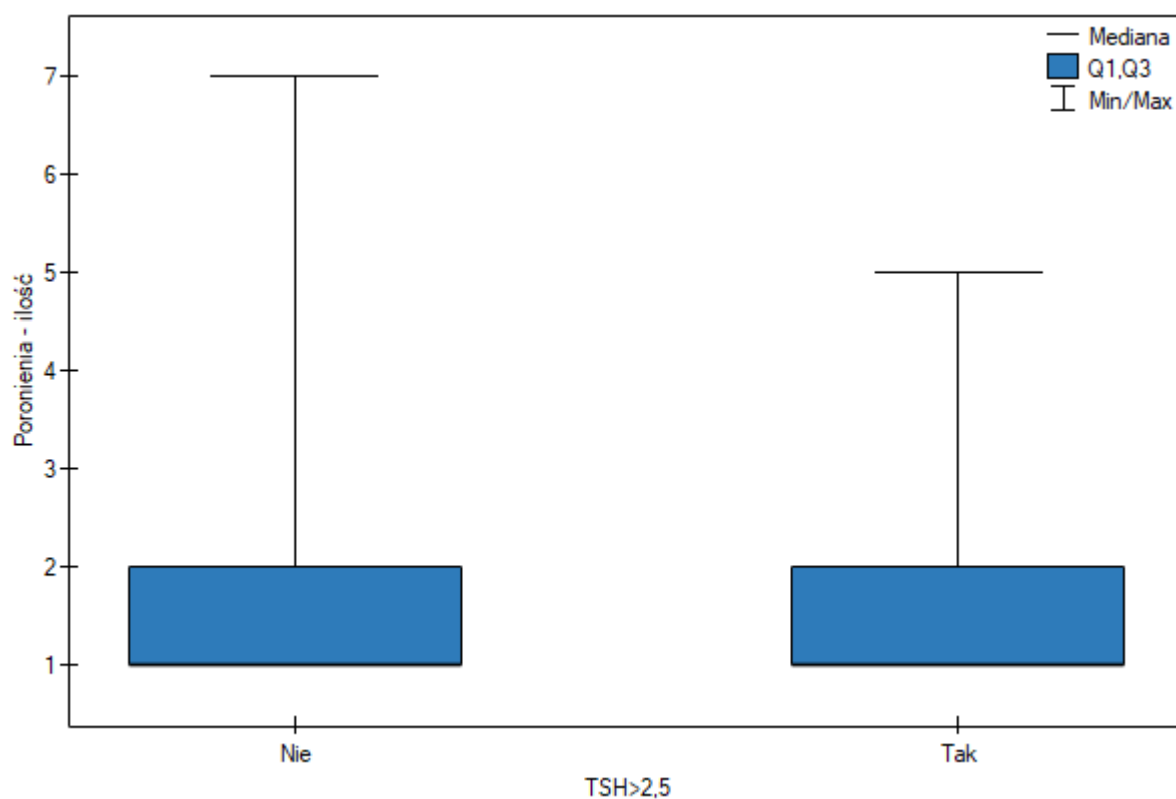
Rycina 10. Rozkład czasu trwania niepłodności w latach w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH <2,5 w I trymestrze ciąży

Poronienia

Nie stwierdzono istotnej różnicy w rozkładzie liczby poronień między grupą kobiet z TSH>2,5 mIU/l a grupą kobiet z TSH<2,5 mIU/l w I trymestrze ciąży ($p>0,05$) (tabela 14, rycina 11).

Tabela 14. Rozkład liczby poronień w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży

	TSH>2,5 w I tr	
	Nie	Tak
Mediana	1	1
Dolny kwartyl	1	1
Górny kwartyl	2	2
Minimum	1	1
Maksimum	7	5
Statystyka Z	0,3968	
Wartość p	0,6915	



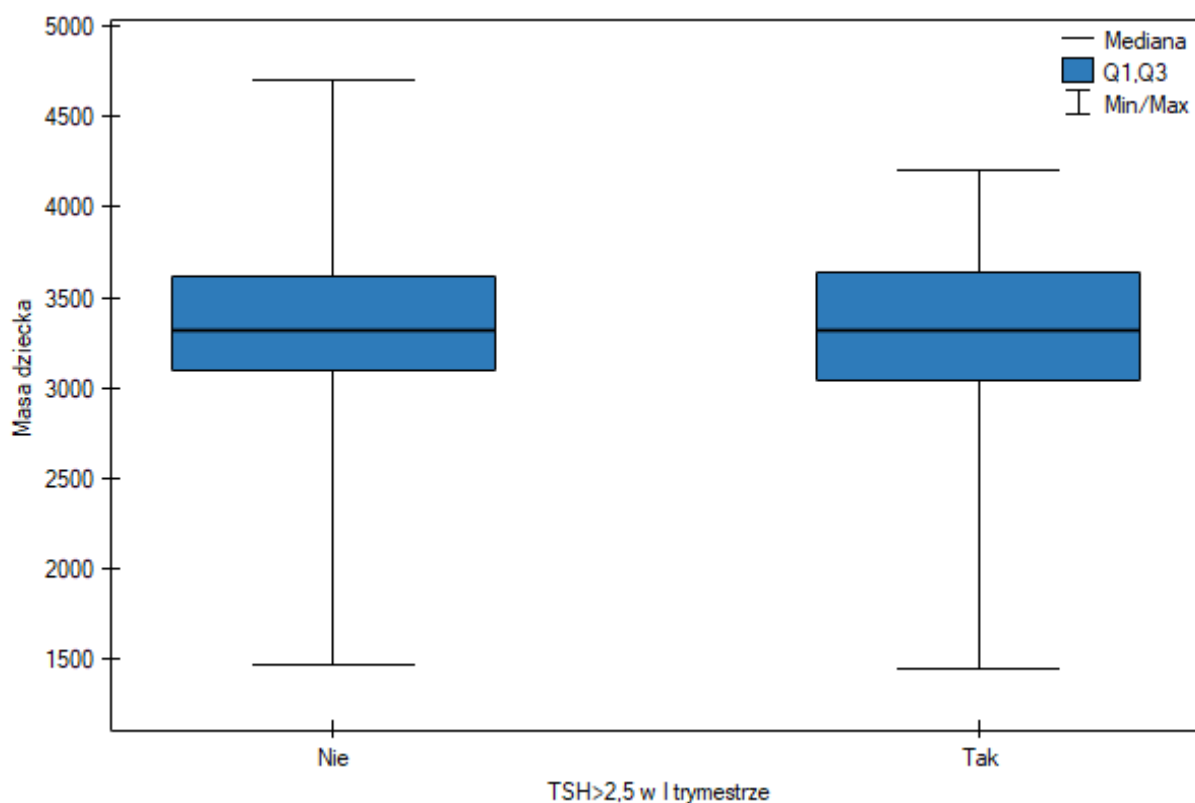
Rycina 11. Rozkład liczby poronień w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży

Urodzeniowa masa ciała noworodków

Nie stwierdzono istotnej różnicy w rozkładzie masy ciała dzieci w grupie matek z TSH>2,5mIU/l i matek z TSH<2,5 mIU/l w I trymestrze ciąży ($p>0,05$) (tabela 15, rycina 12).

Tabela 15. Rozkład masy ciała noworodka w gramach w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży

	TSH>2,5 w I tr	
	Nie	Tak
Mediana	3305	3300
Dolny kwartyl	3082	3033
Górny kwartyl	3600	3620
Minimum	1470	1450
Maksimum	4700	4130
Statystyka Z	0,5196	
Wartość p	0,6033	



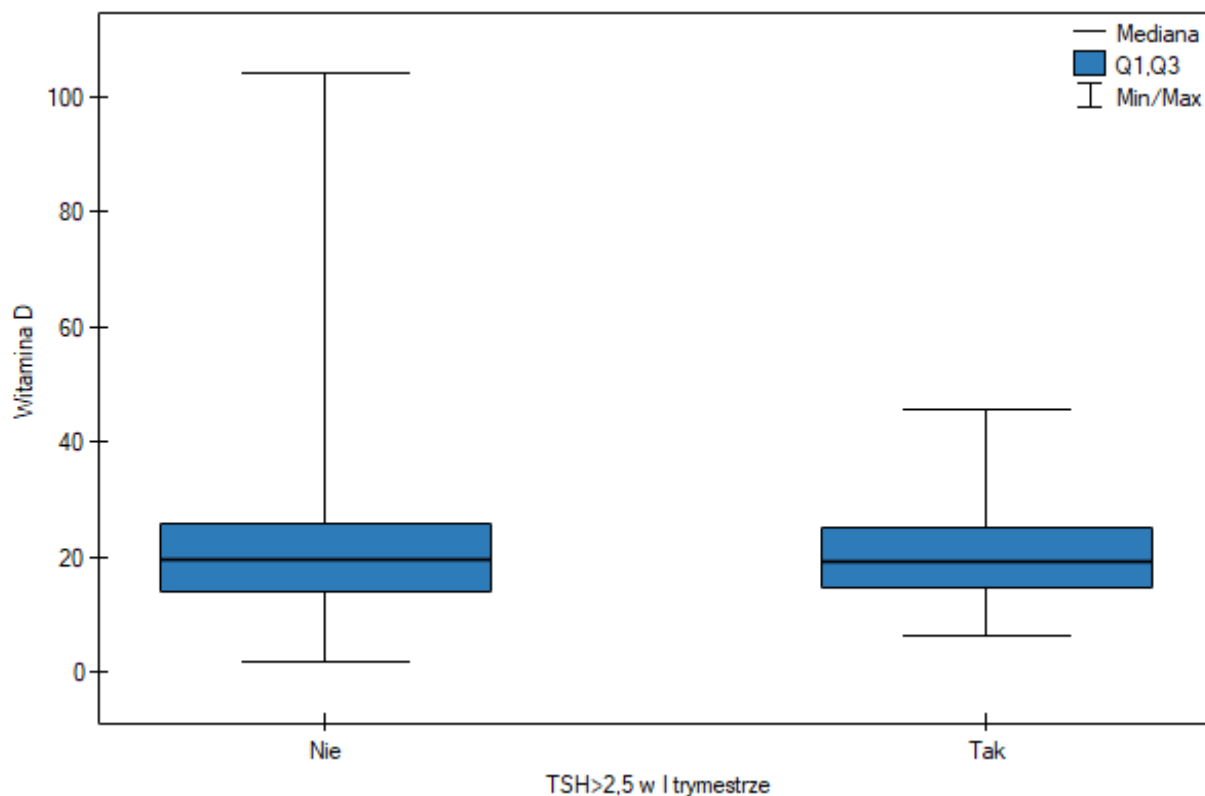
Rycina 12. Rozkład masy ciała noworodkach w gramach w grupie kobiet z TSH > 2,5 i w grupie kobiet z TSH < 2,5 w I trymestrze ciąży

Stężenie witaminy D w surowicy ciężarnych

Nie stwierdzono istotnej różnicy rozkładu stężenia witaminy D między grupą kobiet z TSH > 2,5 mIU/l a grupą kobiet z TSH < 2,5 mIU/l w I trymestrze ciąży ($p > 0,05$) (tabela 16, rycina 13).

Tabela 16. Rozkład stężenia witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z TSH > 2,5 i w grupie kobiet z TSH < 2,5 w I trymestrze ciąży

	TSH > 2,5 w I tr	
	Nie	Tak
Mediana	19,35	19,29
Dolny kwartył	13,85	14,52
Górny kwartył	25,62	24,95
Minimum	1,79	6,23
Maksimum	104	45,7
Statystyka Z	0,1073	
Wartość p	0,9146	



Rycina 13. Stężenie witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży

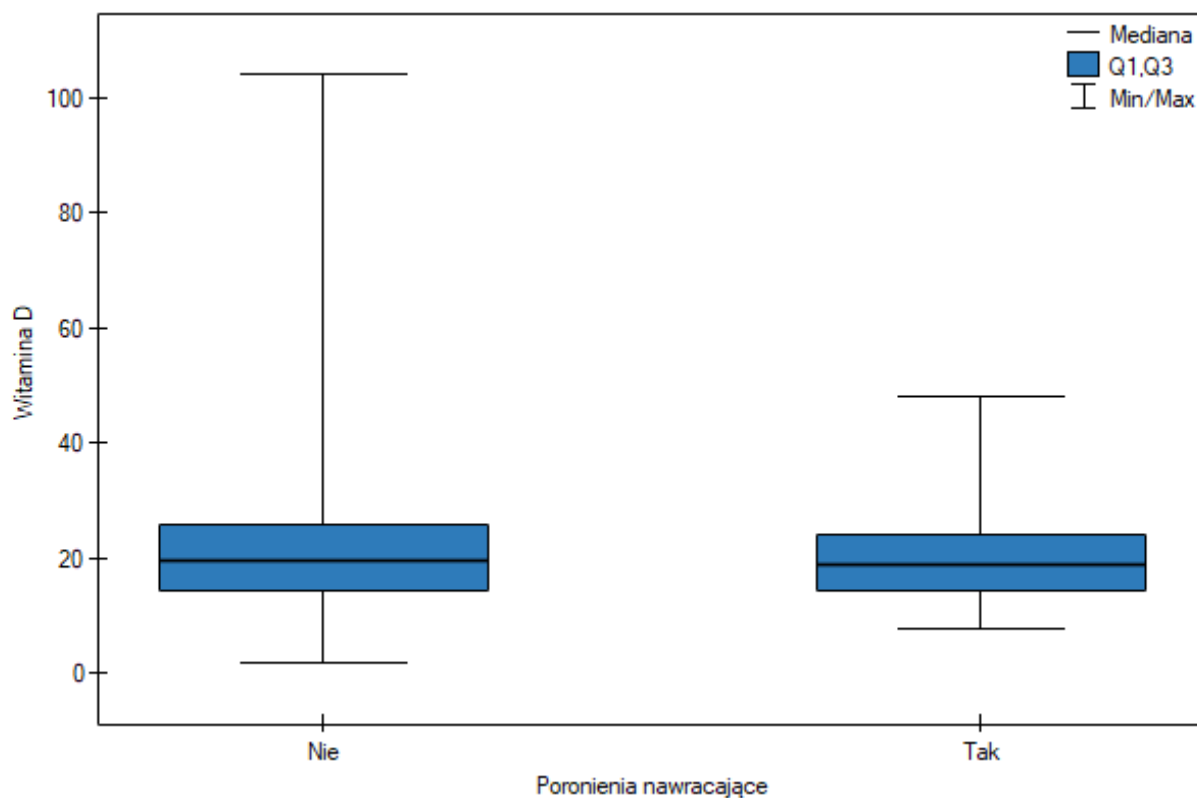
Analiza porównawcza w grupach wyodrębnionych w zależności od występowania poronień nawracających na grupę z poronieniami nawracającymi w wywiadzie i grupę bez poronień nawracających w wywiadzie.

Stężenie witaminy D w surowicy ciężarnych

Nie stwierdzono istotnej różnicy rozkładu stężenia witaminy D między grupą kobiet z wywiadem poronień nawracających a grupą kobiet bez wywiadu poronień nawracających ($p > 0,05$) (tabela 17, rycina 14).

Tabela 17. Rozkład stężenia witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z wywiadem nawracających poronień i w grupie kobiet bez wywiadu nawracających poronień

	Poronienia nawracające	
	Nie	Tak
Mediana	19,45	18,66,
Minimum	1,79	7,62
Maksimum	104	48,1
Dolny kwartyl	14,15	14,22
Górny kwartyl	25,65	24,02
Statystyka Z	0,794	
Wartość p	0,4272	



Rycina 14. Rozkład stężenia witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z wywiadem nawracających poronień i w grupie kobiet bez wywiadu nawracających poronień

WNIOSKI BADANIE I

Badanie I: Częstość występowania niedoczynności tarczycy oraz poronień u ciężarnych z chorobą autoimmunologiczną tarczycy.

1. W badaniu wykazano, iż wartość TSH $>2,5$ mIU/l w I trymestrze ciąży występuje częściej u kobiet z chorobą autoimmunologiczną tarczycy (niezależnie od przyjmowania lewotyroksyny przed ciążą). Kobiety z AITD należą więc do grupy ryzyka rozwoju subklinicznej niedoczynności tarczycy w I trymestrze, dlatego tak ważne jest możliwie jak najszybsze oznaczenie TSH w tej grupie kobiet i włączenie leczenia.

2. Wartość TSH $>2,5$ mIU/l w II trymestrze ciąży u kobiet z prawidłowym wynikiem TSH (TSH $<2,5$ mIU/l) w I trymestrze ciąży występuje częściej u kobiet bez choroby autoimmunologicznej tarczycy. Konieczne wydaje się monitorowanie TSH w kolejnych trymestrach ciąży niezależnie od prawidłowego wyniku TSH w I trymestrze również u kobiet bez autoimmunologicznej choroby tarczycy.

Oznaczanie TSH w kolejnych trymestrach ciąży prowadzone wyłącznie u kobiet zaliczanych do grupy ryzyka rozwoju chorób tarczycy może prowadzić do pominięcia ciężarnych z podwyższonymi wartościami TSH w późniejszej ciąży, które mogłyby odnieść korzyści z włączonego leczenia lewotyroksyną.

3. Wskazane jest jednoczesne oznaczenie przeciwciał anty-TPO i anty-TG, co wynika z wysokiego odsetka występowania pozytywnych wyników w zakresie tylko jednego przeciwciała (14,9% anty-TPO, 5,9% anty-TG).

WYNIKI BADANIE II

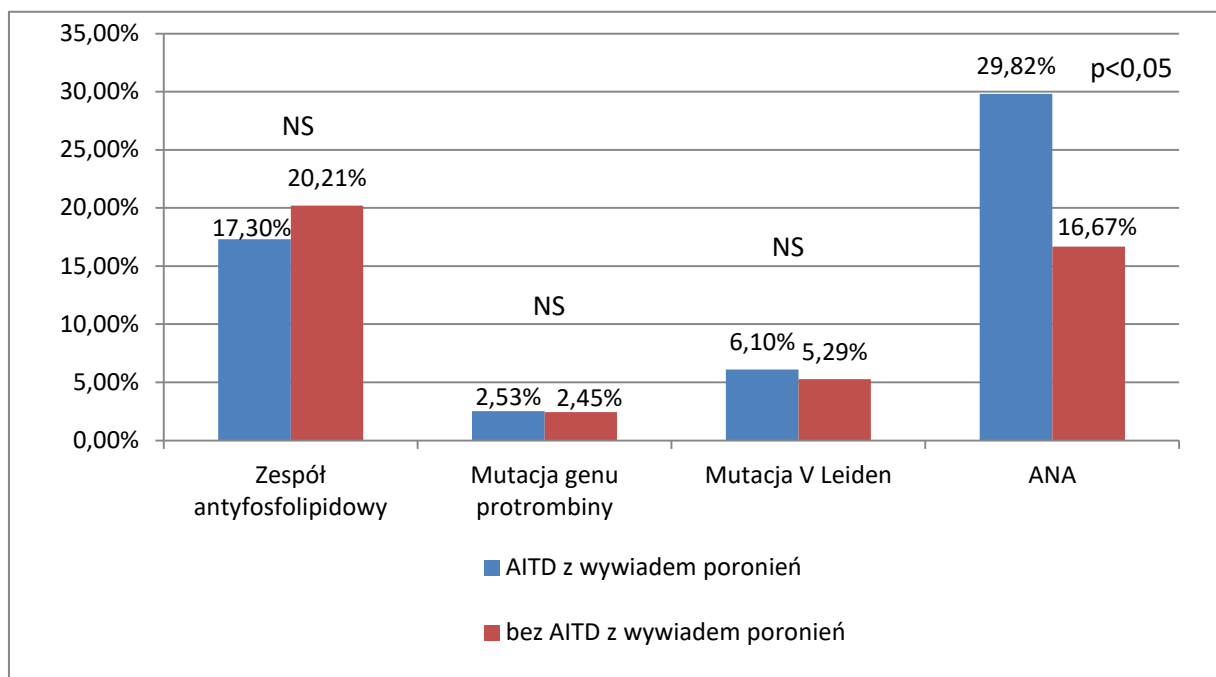
Badanie II: Ocena częstości występowania mutacji wybranych genów mogących mieć wpływ na ryzyko poronień oraz ocena innych wybranych immunologicznych przyczyn utrat ciąży u kobiet z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy. Mutacja *MTHFR*.

W badaniu wzięło ostatecznie udział 288 pacjentek. Pierwszą grupę stanowiło 91 pacjentek z autoimmunologiczną chorobą tarczycy oraz z utratą przynajmniej jednej ciąży o niewyjaśnionej etiologii dalej zwaną grupą z AITD. Druga grupa to 197 kobiet bez choroby autoimmunologicznej tarczycy z utratą przynajmniej jednej ciąży o niewyjaśnionej etiologii dalej zwana grupą bez AITD.

Tabela 18. Porównanie częstości występowania poszczególnych oznaczeń w grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień oraz w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień

		AITD				Chi ²	OR (95% CI)
		TAK		NIE			
		N	%	N	%		
Zespół antyfosfolipidowy	(+)	14	17,3	38	20,21	Chi ² =0,66 p=0,4170	OR=0,7570 (0,39-1,48)
	(-)	73	82,7	150	79,79		
Mutacja genu protrombiny 20210 (heterozygota lub homozygota)	(+)	2	2,53	4	2,45	Chi ² =0,001 p=0,9709	OR=1,0325 (0,18-5,76)
	(-)	77	97,47	159	97,55		
Mutacja V Leiden 1691G>A (heterozygota lub homozygota)	(+)	5	6,1	9	5,29	Chi ² =0,07 p=0,7942	OR=1,1616 (0,38-3,58)
	(-)	77	93,9	161	94,71		
Zespół antyfosfolipidowy lub PT20210 lub V-Leiden	(+)	20	21,97	48	24,87	Chi ² =0,28 p=0,5940	OR=0,8509 (0,47-1,54)
	(-)	71	78,03	145	75,13		

ANA	(+)	17	29,8 2	21	16,67	Chi ² =4,13 p=0,0421	OR=2,1250 (1,02–4,43)
	(-)	40	70,1 8	105	83,33		



Rycina 15. Porównanie częstości występowania poszczególnych oznaczeń w grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień oraz w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień

Zespół antyfosfolipidowy stwierdzono u 14 kobiet w grupie z AITD (17,3% spośród wszystkich badanych kobiet w grupie z AITD) oraz 38 kobiet w grupie bez AITD (20,21% spośród wszystkich badanych kobiet w grupie bez AITD). Różnice między badanymi grupami okazały się statystycznie nieistotne ($p>0,05$) (tabela 18, rycina 15).

Mutacja Leiden genu czynnika V. W analizie polimorfizmu *1691G>A* genu czynnika V zaobserwowano genotyp heterozygotyczny u 5 (6,1%) pacjentek w grupie z AITD oraz 9 (5,29%) pacjentek w grupie bez AITD. Obecność genotypu homozygotycznego zmutowanego *1691AA* odnotowano tylko u jednej pacjentki w grupie z AITD i jednej pacjentki w grupie bez AITD. Częstość występowania przynajmniej jednego zmutowanego allela nie różniła się statystycznie istotnie pomiędzy badanymi grupami: ($p>0,05$) (tabela 18, rycina 15).

Mutacja genu protrombiny. W analizie polimorfizmu $20210G>A$ genu czynnika II zaobserwowano genotyp heterozygotyczny u 2 (2,53%) pacjentek w grupie z AITD oraz 4 (2,45%) pacjentek w grupie bez AITD. Obecność genotypu homozygotycznego zmutowanego $20210AA$ odnotowano tylko u jednej pacjentki z grupy bez AITD.

Częstość występowania przynajmniej jednego zmutowanego allela nie różniła się statystycznie istotnie pomiędzy badanymi grupami: ($p>0,05$) (tabela 18, rycina 15).

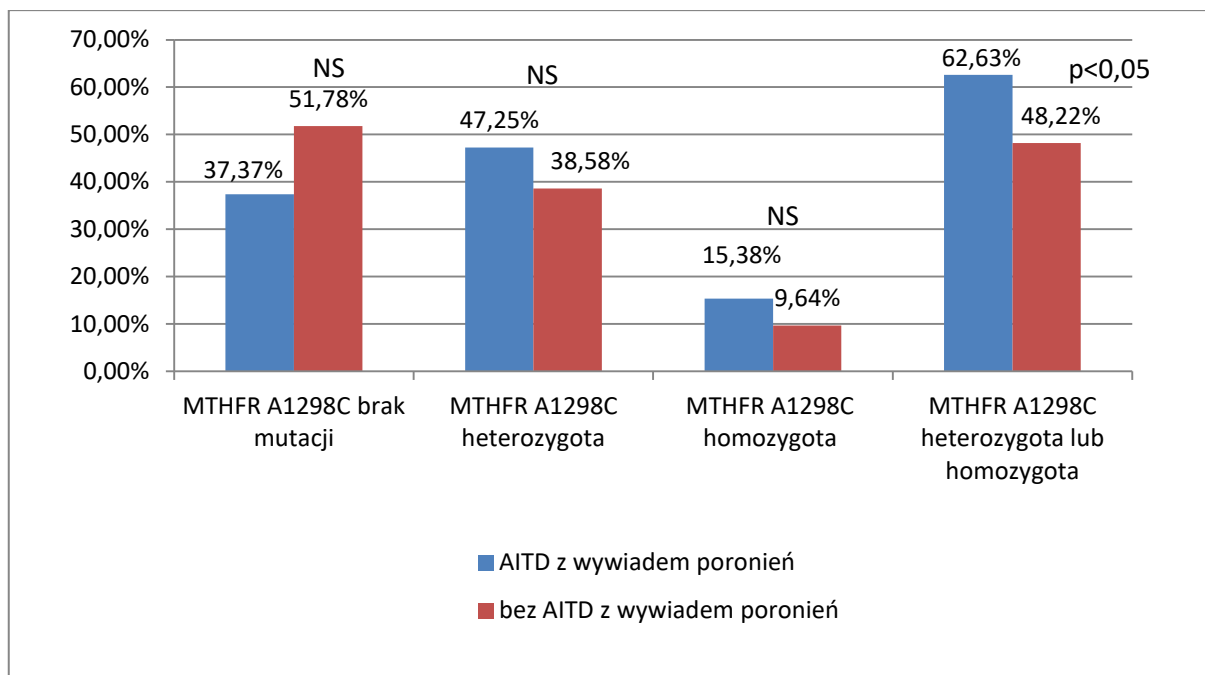
Spośród 288 kobiet z niewyjaśnioną utratą przynajmniej jednej ciąży 19 (6,6%) było nosicielkami wrodzonej trombofilii (definiowanej tu jako mutacja czynnika V Leiden i/lub mutacja genu protrombiny 20210). U 14 (4,86%) z nich wykryto mutację czynnika V Leiden, u 6 (2,08%) kobiet mutację G20210A genu protrombiny, przy czym u jednej kobiety wystąpiły obie mutacje jednocześnie (mutacja czynnika V Leiden i genu protrombiny).

Występowanie przeciwciał przeciwjądrowych ANA stwierdzono u 17 (29,82%) kobiet w grupie z AITD oraz 21 (16,67%) kobiet w grupie bez AITD. Różnice między badanymi grupami okazały się statystycznie istotne ($p<0,05$). W grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień częściej stwierdzano dodatnio miano przeciwciał ANA niż w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień (tabela 18, rycina 15).

Analiza polimorfizmu MTHFR

Tabela 19. Porównanie częstości występowania poszczególnych polimorfizmów *MTHFR* A1298C i *MTHFR* C677T w grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień oraz w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień

Nazwa polimorfizmu		AITD				Chi ²	OR (95% CI)
		TAK		NIE			
		N	%	N	%		
MTHFR A1298C	(+)	57	62,63	95	48,22	Chi ² =5,19 p=0,0227	OR=1,8000 (1,08-2,99)
Heterozygota lub Homozygota	(-)	34	37,37	102	51,78		
MTHFR A1298C	(++)	14	15,38	19	9,64	Chi ² =5,66 P=0,0589	OR=1,6974 (0,99-2,91) OR=2,2105 (1,00-4,88)
Homozygota							
Heterozygota	(+-)	43	47,25	76	38,58		
Brak mutacji (rozkład mutacji)	(-)	34	37,36	102	51,78		
MTHFR C677T	(+)	41	45,05	91	46,19	Chi ² =0,03 p=0,8570	OR=0,9552 (0,58-1,57)
Heterozygota lub Homozygota	(-)	50	54,95	106	53,81		
MTHFR C677T	(++)	6	6,59	15	7,61	Chi ² =0,10 P=0,9493	OR=0,9763 (0,58-1,65) OR=0,8480 (0,31-2,32)
Homozygota							
Heterozygota	(+-)	35	38,46	76	38,58		
Brak mutacji (rozkład mutacji)	(-)	50	54,95	106	53,81		



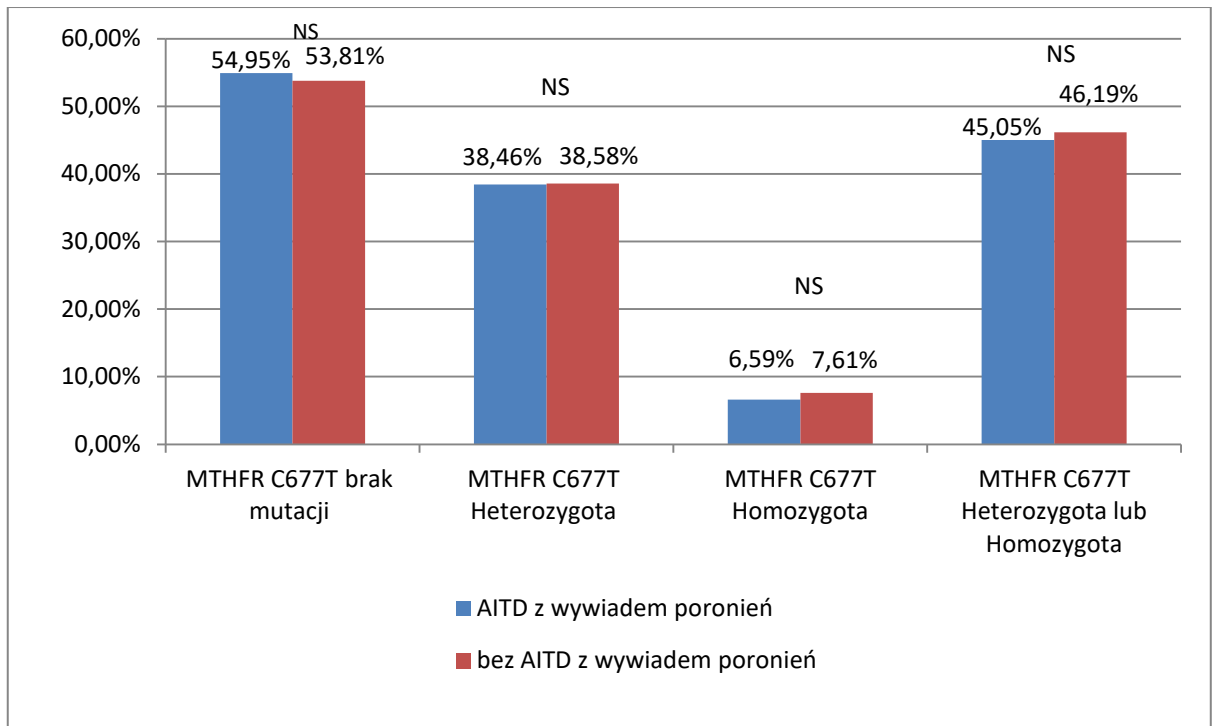
Rycina 16. Porównanie częstości występowania poszczególnych mutacji/braku mutacji w genie *MTHFR* A1298C w grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień oraz w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień

MTHFR A1298C

Analizując polimorfizm genu *MTHFR* A1298C, odnotowano brak mutacji u 34 (37,37%) pacjentek w grupie z AITD oraz u 102 (51,78%) pacjentek w grupie bez AITD. Polimorfizm jednego allele genu *MTHFR* A1298C wystąpił u 43 (47,25%) pacjentek w grupie z AITD oraz u 76 (38,58%) pacjentek w grupie bez AITD. Mutacja homozygotyczna genu *MTHFR* A1298C wystąpiła u 14 (15,38%) pacjentek w grupie z AITD oraz u 19 (9,64%) pacjentek w grupie bez AITD. Nie stwierdzono różnic w rozkładzie mutacji genu *MTHFR* A1298C pomiędzy grupą pacjentek z AITD z wywiadem poronień a grupą pacjentek bez AITD z wywiadem poronień ($p>0,05$) (tabela 19, rycina 16).

Wystąpienie przynajmniej jednego zmutowanego allele w zakresie *MTHFR* A1298C stwierdzono u 57 (62,63%) kobiet w grupie z AITD oraz 95 (48,22%) kobiet w grupie bez AITD, różnice były istotne statystycznie. W grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień częściej stwierdzano wystąpienie przynajmniej jednego zmutowanego allele w zakresie *MTHFR* A1298C niż w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień. Pacjentki z AITD z wywiadem poronień miały 1,8 razy wyższe szanse na wystąpienie przynajmniej jednego zmutowanego allele w genie *MTHFR* A1298C niż kobiety wolne od tej choroby z wywiadem poronień ($p<0,05$) (tabela 19, rycina 16).

MTHFR C677T



Rycina 17. Porównanie częstości występowania poszczególnych mutacji/braku mutacji w genie *MTHFR C677T* w grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień oraz w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień

Analizując drugi z omawianych w pracy polimorfizmów genu *MTHFR – C677T* odnotowano brak mutacji u 50 (54,95%) pacjentek w grupie z AITD oraz u 106 (53,81%) pacjentek w grupie bez AITD. Polimorfizm jednego allele genu *MTHFR C677T* wystąpił u 35 (38,46%) pacjentek w grupie z AITD oraz u 76 (38,58%) pacjentek w grupie bez AITD. Mutacja homozygotyczna genu *MTHFR C677T* wystąpiła u 6 (6,59%) pacjentek w grupie z AITD oraz u 15 (7,61%) pacjentek w grupie bez AITD. Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładzie mutacji genu *MTHFR C677T* pomiędzy grupą pacjentek z AITD z wywiadem poronień a grupą pacjentek bez AITD z wywiadem poronień.

Wystąpienie przynajmniej jednego zmutowanego allele w zakresie *MTHFR C677T* stwierdzono u 41 (45,05%) kobiet w grupie z AITD oraz u 91 (46,19%) kobiet w grupie bez AITD. Różnice między badanymi grupami okazały się statystycznie nieistotne (tabela 19, rycina 17).

WNIOSKI BADANIE II

Badanie II: Ocena częstości występowania mutacji wybranych genów mogących mieć wpływ na ryzyko poronień oraz ocena innych immunologicznych przyczyn utrat ciąży u kobiet z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy. Mutacja MTHFR.

1. U pacjentek z wywiadem poronień w grupie z AITD częściej stwierdzano dodatnie wyniki ANA. Statystycznie istotnie wyższa częstość występowania dodatnich wyników ANA w grupie kobiet z AITD może wskazywać na rolę tych przeciwciał w etiologii występowania poronień w grupie kobiet z AITD. Wymaga to jednak dalszych badań.

2. U pacjentek z wywiadem poronień w grupie z AITD częściej stwierdzano polimorfizm w zakresie przynajmniej jednego allela genu MTHFR A 1298C. Statystycznie istotna przewaga zmutowanych alleli polimorfizmu genu MTHFR A1298C w grupie kobiet z AITD może wskazywać na rolę tego wariantu w etiologii poronień w grupie z AITD.

3. Badanie MTHFR A1298C wydaje się użytecznym testem do wyodrębnienia kobiet z ryzykiem utrat ciąży w grupie kobiet z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy. Wymaga to jednak dalszych badań na większych grupach pacjentów.

OGRANICZENIA BADANIA

1. U części chorych nie uzyskano dokumentacji medycznej dotyczącej wywiadu poronień oraz występowania/leczenia z powodu niepłodności w przeszłości.
2. Część oznaczeń z powodu braku zgłoszenia się pacjentek na wizyty kontrolne została wykonana w późniejszym terminie, przez co nie zostały one włączone do analizy (wyniki uzyskane po zakończeniu badania).
3. W Poradni/Oddziale u kobiet z wywiadem niepłodności/poronień diagnozowano czynniki ryzyka ze strony kobiety, zalecano równoczesną diagnostykę u partnera. Badania partnera nie były wykonywane w Klinice, gdzie przeprowadzano badanie kobiet, co powodowało brak nadzoru nad procesem diagnostyki.
4. Badanie odbywało się w Poradni/Oddziale Ośrodka o III stopniu referencyjności. Pacjentki z wywiadem poronień często wcześniej są diagnozowane w rejonie, co może być przyczyną większego odsetka kobiet z niepłodnością idiopatyczną/poronieniami idiopatycznymi wśród analizowanej grupy.
5. W badaniu I kobiet ciężarnych z uwagi na brak danych w przypadku stężeń witaminy D oszacowanie zależności pomiędzy rozkładem witaminy D a występowaniem AITD może się znacząco różnić od rzeczywistej wartości.
6. Podobnie w przypadku masy urodzeniowej ciała noworodka, z powodu braków danych nie można prawidłowo oszacować zależności pomiędzy rozkładem masy ciała a występowaniem AITD oraz stopnia, w jakim to oszacowanie odbiega od rzeczywistego wyniku.
7. Pacjentki z utratą ciąży po 22 tc nie zostały włączone do badania, tym samym przypadki kobiet z mutacją czynnika V Leiden, u których dochodzi również do utraty ciąży w późniejszym okresie, mogły nie zostać zakwalifikowane do analizy.

DYSKUSJA

Dyskusja ogólna

Omówienie aktualnie dostępnych badań oceniających obecność występowania przeciwciał anty-TPO, anty-TG jako czynnika ryzyka utrat ciąży oraz niezależnego czynnika ryzyka zarówno dla matki, jak i dla płodu jest niezwykle trudne, co wynika z faktu olbrzymich różnic dotyczących konstrukcji badań, punktów końcowych, pomiarów statystycznych, badanych populacji, definicji chorób i metod. Powszechnie uważa się, iż obecność przeciwciał przeciwtarczycowych w ciąży ma wpływ nie tylko na matkę, ale również na płód. Obecnie istnieje wiele danych w literaturze dotyczących związku przeciwciał anty-TPO oraz anty-TG z poronieniami. Green i wsp. w 1990 roku po raz pierwszy zaobserwowali korelację pomiędzy przeciwciałami anty-TG i anty-TPO a poronieniami. W przeprowadzonym przez badaczy prospektywnym badaniu obserwacyjnym pacjentki, które były dodatnie w kierunku przeciwciał anty-TG, przeciwciał anty-TPO, wykazały 2-krotny wzrost ryzyka utraty ciąży (17% w porównaniu do 8,4%, $p < 0,05$) (56). Od tego czasu w wielu innych badaniach analizowano związek pomiędzy występowaniem dodatnich przeciwciał przeciwtarczycowych a ryzykiem utraty ciąży (57, 58, 59, 60).

Na podstawie dostępnej literatury najsilniejszy związek między obecnością przeciwciał anty-TPO a poronieniem wykazano w pakistańskim badaniu 1500 kobiet w eutyreozie. Odsetek utrat ciąży w grupie kobiet anty-TPO dodatnich wynosił 36,3% w porównaniu do 1,8% u kobiet anty-TPO ujemnych. Tak duży iloraz szans – 49,2 – wynikał najpewniej z małego wskaźnika poronień w grupie anty-TPO ujemnej oraz znacznych różnic dotyczących chorób współistniejących u włączonych do badania pacjentek (57). Przeciwnie wnioski uzyskali badacze z Tunezji, którzy analizowali równie dużą grupę kobiet, stwierdzając, że nie ma istotnego związku między dodatnimi przeciwciałami anty-TPO a liczbą poronień w grupie kobiet z dodatnimi przeciwciałami anty-TPO (22,2%) w porównaniu z grupą kobiet z ujemnymi przeciwciałami anty-TPO (20%) (58). W metaanalizie ośmiu badań kliniczno-kontrolnych wykonanej przez badaczy z Chin iloraz szans dla utraty ciąży u kobiet z dodatnimi przeciwciałami przeciwtarczycowymi w porównaniu do kobiet bez przeciwciał przeciwtarczycowych wynosił 2,55. Ta sama metaanaliza uwzględniająca 14 badań kohortowych wykazała iloraz szans wynoszący 2,31 dla utraty ciąży u kobiet z dodatnimi przeciwciałami przeciwtarczycowymi w porównaniu do kobiet bez przeciwciał

przeciwtarczycowych. Stwierdzono, że kobiety z dodatnim wynikiem przeciwciał były nieco starsze i miały wyższe wartości TSH w surowicy (59). Wyniki kolejnej metaanalizy wykonanej przez badaczy z Wielkiej Brytanii wykazały 3,9 razy wyższe szanse na wystąpienie poronienia w grupie kobiet z dodatnimi przeciwciałami przeciwtarczycowymi (60).

Jak wynika z powyższego przeglądu literatury, w wielu pracach oryginalnych i metaanalizach stwierdzono zależność pomiędzy przeciwciałami przeciwtarczycowymi a zwiększonym ryzykiem poronień lub co najmniej tendencje w kierunku zwiększonego ryzyka.

Obecnie istnieją rozbieżne opinie dotyczące wpływu samej niedoczynności tarczycy na płodność kobiet. Nie ustalono, czy przyczyną poronień jest izolowany wpływ przeciwciał, czy wpływ ma sama niedoczynność tarczycy podczas ciąży i jej niekorzystne oddziaływanie na płód, a może według wyników wyżej cytowanej metaanalizy wpływ może mieć starszy wiek kobiet z podwyższonym mianem przeciwciał przeciwtarczycowych czy też współistnienie innych autoprzeciwciał bądź wrodzonych defektów genetycznych.

Ryzyko związane z poronieniem w związku z występowaniem anti-TPO w czasie ciąży próbuje się tłumaczyć za pomocą kilku hipotez. Pierwsza z nich nawiązuje do immunosupresji rozwijającej się w czasie ciąży u matki, która umożliwia tolerancję antygenów płodu. Immunosupresja prowadzi do złagodzenia autoimmunologicznej choroby tarczycy u matki, w tym zmniejszenia stężeń anti-TPO. Na poziomie molekularnym proces ten może wynikać z przewagi limfocytów T regulatorowych w czasie ciąży. Po porodzie dochodzi do zmniejszenia liczby limfocytów regulatorowych i wzrostu limfocytów T cytotoksycznych oddziałujących bezpośrednio na tarczycę (61). W przypadku choroby autoimmunologicznej u matki fizjologiczna immunosupresja w czasie ciąży jest zmniejszona, a reaktywacja komórek T po porodzie zwiększona (62). Brak prawidłowej immunosupresji koniecznej do tolerancji płodu może powodować częstsze występowanie poronień u kobiet anti-TPO dodatnich, jak również u kobiet z towarzyszącymi innymi przeciwciałami, dlatego w niniejszej pracy analizowano jednoczesne występowanie choroby autoimmunologicznej tarczycy z innymi czynnikami o podłożu genetycznym i immunologicznym (63). Druga hipoteza mówi, że same przeciwciała anti-TPO prowadzą do zmian w czynności tarczycy u matki, co wywołuje negatywny efekt. Obecność przeciwciał anti-TPO u kobiet w ciąży może wpływać na nieprawidłową pracę tarczycy matki, zwłaszcza w obliczu zwiększającego się zapotrzebowania na hormony tarczycy. Powiązanie między anti-TPO a zmienioną

czynnością tarczycy u matki pozwoliło wysunąć hipotezę, że niekorzystny wpływ anti-TPO w trakcie ciąży powoduje ilościowe zmiany w gospodarce hormonów tarczycy. Na tej podstawie zostały zaprojektowane przytoczone niżej badania Negro i wsp. oraz badanie Lepoutre'a i wsp., gdzie podawano kobietom z dodatnimi przeciwciałami anti-TPO w eutyreozy lewotyroksynę, obserwując wpływ na ryzyko występowania poronień (28, 29).

Kolejną koncepcję dotyczącą wpływu przeciwciał anti-TPO na ryzyko poronień opublikował na podstawie własnych badań Korevaar i wsp. w 2017 roku, wskazując, że u kobiet, u których wykrywa się przeciwciała anti-TPO, może dochodzić do nieprawidłowej odpowiedzi tarczycy na stymulujące działanie ludzkiej gonadotropiny łożyskowej, co prowadzi do zmniejszenia dostępności hormonów tarczycy dla płodu, w wyniku czego może dojść do poronienia. W analizie Korevaara wzięło udział 7587 ciężarnych, wzrost częstości poronień zaobserwowano w grupie kobiet, u których stwierdzono dodatnie przeciwciała przeciwtarczycowe w trakcie ciąży, a w odpowiedzi na rosnące stężenie gonadotropiny łożyskowej nie dochodziło do spodziewanego zmniejszenia TSH oraz wzrostu stężenia FT4. W grupie kobiet również z podwyższonym poziomem przeciwciał przeciwtarczycowych, ale prawidłową odpowiedzią na działanie hCG, nie odnotowano zwiększonego ryzyka poronień. Według autorów omawianej pracy w przypadku gdy pomimo podwyższonego poziomu przeciwciał przeciwtarczycowych odpowiedź tarczycy na działanie hCG była zachowana, nie stwierdzano zwiększonego ryzyka utrat ciąży (64).

Kwestią sporną pozostaje nadal oznaczanie poziomu przeciwciał przeciwtarczycowych u kobiet w okresie okołokoncepcyjnym oraz wczesnej ciąży będących w eutyreozy oraz ich wpływ na ryzyko poronień.

Omówione wyżej teorie dotyczące wpływu przeciwciał przeciwtarczycowych na osłabienie funkcji tarczycy u matki i ich wpływ na ryzyko poronień wydają się przekonującym argumentem za wykonywaniem oznaczeń tych przeciwciał u ciężarnych w eutyreozy. Na podstawie jednej z powyższych hipotez w 2006 Negro i wsp. przeprowadzili kontrolowane badanie z randomizacją u kobiet z wyrównaną funkcją tarczycy i dodatnim wynikiem przeciwciał anti-TPO. Kobiety anti-TPO dodatnie podzielono na grupę kobiet otrzymujących lewotyroksynę i grupę kobiet nieleczonych. W grupie kobiet przyjmujących lewotyroksynę wykazano zmniejszenie ryzyka poronień z 14% do 4% (28).

Podobne wyniki uzyskali Lepoutre i wsp., którzy retrospektywnie ocenili efekty podawania 50 µg lewotyroksyny u anti-TPO dodatnich kobiet z TSH > 1 mIU/l. Częstość poronień była

istotnie wyższa w grupie kobiet z dodatnimi przeciwciałami anty-TPO nieotrzymujących lewotyroksyny w porównaniu do grupy kobiet z dodatnimi przeciwciałami otrzymujących lewotyroksynę. Nie stwierdzono jednak różnic w częstości występowania poronień między nieleczonymi kobietami w grupie kobiet z przeciwciałami anty-TPO a grupą kobiet bez przeciwciał anty-TPO. Ograniczeniem wyżej omówionych badań była mała liczebność badanych prób (29).

Negro i wsp. w 2016 roku powtórzyli analizę, projektując badanie prospektywne z interwencją na większej grupie kobiet oceniające wpływ stosowania lewotyroksyny na częstość występowania poronień u kobiet z dodatnimi przeciwciałami anty-TPO i stężeniem TSH poniżej 2,5 mIU/l, nie stwierdzając istotnej statystycznie różnicy w liczbie poronień pomiędzy kobietami z dodatnim mianem przeciwciał otrzymującymi i nieotrzymującymi lewotyroksyny (65).

W styczniu 2019 roku zostały opublikowane wyniki dużej metaanalizy dotyczącej m.in. wpływu stosowania lewotyroksyny u kobiet z subkliniczną niedoczynnością tarczycy i/lub AITD na ryzyko poronień. Metaanaliza objęła ostatecznie 13 badań (8 badań randomizowanych i 5 badań retrospektywnych) i dotyczyła 7970 kobiet. W wynikach odnotowano zmniejszenie częstości występowania poronień w grupie kobiet z AITD i/lub SCH przyjmującej lewotyroksynę w porównaniu do grupy z AITD i/lub SCH nieotrzymującej lewotyroksyny (66).

W listopadzie 2018 roku ukazały się częściowe wyniki randomizowanego badania TABLET prowadzonego w Wielkiej Brytanii. Założeniem tego badania było wykazanie, czy stosowanie lewotyroksyny obniży ryzyko porodów przedwczesnych w porównaniu z placebo w grupie kobiet z dodatnimi przeciwciałami oraz wywiadem poronień lub niepłodności. Do badania zakwalifikowano 1420 kobiet, ostatecznie wytypowano 952 pacjentki, które zostały losowo przydzielone do jednej z dwóch grup, pierwszej grupy otrzymującej lewotyroksynę lub drugiej grupy otrzymującej placebo. Przy przyjęciu normy dla TSH do 4,5 mIU/l jawna niedoczynność tarczycy wystąpiła u 0,4% kobiet, subkliniczna u 3,6%. Dodatkowo przeciwciała anty-TPO stwierdzono u 9,5% kobiet, przy czym ponad 90% kobiet z dodatnimi przeciwciałami było w eutyreozy. Zastosowanie niższej wartości odcięcia 2,5 mIU/l dla TSH spowodowało istotne zwiększenie do 19,9% częstości występowania subklinicznej niedoczynności tarczycy w tej grupie kobiet wobec 3,6% przy przyjęciu normy dla TSH do 4,5 mIU/l (67).

Obecnie prowadzone jest jeszcze jedno badanie randomizowane – T4 Life – dotyczące wpływu lewotyroksyny u pacjentek w eutyreozy z dodatnimi przeciwciałami. Badanie T4 Life prowadzone jest w Holandii, do badania włączane są pacjentki z dwoma lub więcej poronieniami oraz obecnością przeciwciał anty-TPO będących w eutyreozy. Założeniem badania ma być porównanie odsetka pomyślnych porodów po 24 tygodniu w grupie kobiet otrzymujących lewotyroksynę w porównaniu do kobiet nieotrzymujących leczenia. Planowy termin zakończenia badania to 31.12.2020 roku (68). Ostateczne wyniki powyższych badań powinny pozwolić na wyraźne sformułowanie zaleceń dotyczących leczenia lewotyroksyną kobiet w eutyreozy z dodatnimi przeciwciałami.

Pomimo wielu przedstawionych powyżej analiz dotyczących wpływu przeciwciał przeciwtarczycowych na ryzyko występowania poronień wyniki własne badania I dotyczącego 995 ciężarnych kobiet nie wykazały zależności pomiędzy występowaniem poronień w wywiadzie i/lub w trakcie trwania ciąży w grupie kobiet z dodatnimi przeciwciałami przeciwtarczycowymi w porównaniu do grupy kobiet bez obecności przeciwciał.

Dyskusja badanie I

Uzupełnienie dyskusji dotyczącej częstości występowania niedoczynności tarczycy u ciężarnych z chorobą autoimmunologiczną tarczycy.

Za jednoczesnym oznaczaniem przeciwciał anty-TPO i anty-TG przemawia wynik badania Unuane i wsp. z udziałem prawie tysiąca kobiet z wywiadem niepłodności, gdzie częstość występowania autoimmunologicznej choroby tarczycy wynosiła 16%, w przypadku 8% wszystkich kobiet obecne były oba typy przeciwciał, u 5% kobiet wykazano izolowane występowanie przeciwciała anty-TG, a u 4% izolowane występowanie anty-TPO (26). Podobne wyniki zostały przedstawione w prezentowanej pracy, w grupie kobiet ciężarnych w 12,2% przypadków dodatnie były oba typy przeciwciał anty-TPO i anty-TG, u 14,9% kobiet wykazano izolowane występowanie anty-TPO, zaś w 5,9% przypadków wykazano izolowane występowanie przeciwciał anty-TG, co wskazuje na wysoką częstość występowania pozytywnych wyników w zakresie tylko jednego przeciwciała.

Związek między autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy a bezpłodnością jest nadal kwestią kontrowersyjną, a wyniki badań są sprzeczne. Nie ustalono dotychczas jednoznacznie, czy niepłodność może być związana bezpośrednio z dodatnimi przeciwciałami

przeciwtarczycowymi, czy AITD tylko towarzyszy innym procesom autoimmunologicznym będącym przyczyną niepłodności. Związek między jawną niedoczynnością tarczycy a niepłodnością jest oczywisty, gdyż wiąże się ze zwiększoną produkcją TRH, która stymuluje przysadkę do wydzielania TSH i PRL. Hiperprolaktynemia jest znanym czynnikiem bezpłodności, ponieważ zaburza wydzielanie pulsacyjne GnRH, a tym samym prawidłowe funkcjonowanie jajnika (69, 70). Analizując wyniki własnych badań w grupie 995 kobiet ciężarnych, nie zaobserwowano zależności pomiędzy niepłodnością w wywiadzie a występowaniem AITD. W grupie kobiet z AITD niepłodność występowała na poziomie 18,8%, zaś w grupie kobiet bez AITD 14,6%. Problemy z niepłodnością z podobną częstością dotyczyły grupy kobiet z występowaniem TSH > 2,5 mIU/l w I trymestrze w porównaniu do grupy kobiet z TSH < 2,5 mIU/l w I trymestrze, nie stwierdzono również istotnej różnicy rozkładu czasu trwania niepłodności w wyżej wymienionych grupach.

Dla porównania częstości występowania niepłodności w populacji ogólnej warto przytoczyć wyniki badania francuskiego z 2012 roku, gdzie próbowano oszacować częstość występowania tego problemu w skali całego kraju. Do badania wytypowano prawie 16 000 gospodarstw, które zamieszkiwały kobiety w wieku 18–44 lat. Ostatecznie zakwalifikowano do analizy 1089 kobiet spełniających warunki włączenia do badania (regularne stosunki bez zabezpieczenia, brak stosowania jakichkolwiek środków antykoncepcji), stwierdzając odsetek braku ciąży na poziomie 46% w ciągu 6 miesięcy, 24% w ciągu 12 miesięcy i 11% w ciągu 24 miesięcy (71).

Interesujące wyniki dotyczące niepłodności uzyskali Quintino Moro i wsp. w grupie kobiet z chorobą Hashimoto. Według autorów to sam krótszy czas od rozpoznania choroby Hashimoto wiązał się częściej z niepłodnością. Pacjentki, u których zdiagnozowano mniej niż sześć lat wcześniej chorobę Hashimoto, miały sześciokrotnie wyższe ryzyko wystąpienia niepłodności (72). Według badaczy pomimo że ilość komórek T pamięci immunologicznej wzrasta wraz z czasem trwania choroby Hashimoto, to początkowo sam proces autoimmunologiczny jest bardziej intensywny, a tym samym stwierdza się wyższe poziomy przeciwciał. Bardziej nasilona odpowiedź autoimmunologiczna organizmu może się wiązać z zaburzeniami płodności prowadzącymi do niepłodności. W miarę upływu czasu dochodzi do zastąpienia właściwego miększu tarczycy naciekiem zapalnym, dochodzi do zwłóknienia narządu, wyciszeniu ulega reakcja autoimmunologiczna, co może powodować powrót płodności (73).

Na podstawie ankiety przeprowadzonej przez Quintino Moro i wsp. wśród kobiet w wieku 45 lat lub starszych, które już zakończyły plany prokreacyjne, zaobserwowano więcej ciąż przed rozpoznaniem zarówno choroby Gravesa-Basedowa, jak i choroby Hashimoto. Autorzy sugerują, iż zmniejszenie średniej liczby ciąż po rozpoznaniu autoimmunologicznych chorób tarczycy może wskazywać na mechanizm autoimmunologiczny będący przyczyną zmniejszenia płodności (72). W prezentowanej analizie własnej nie uwzględniono długości czasu trwania AITD przed diagnostyką w kierunku niepłodności, co na podstawie powyższego badania mogło mieć wpływ na uzyskane wyniki.

Wyniki własne wskazują, iż niezależnie od przyjmowania lewotyroksyny przed ciążą i/lub w trakcie ciąży wartość $TSH > 2,5$ mIU/l występuje istotnie częściej w I trymestrze ciąży w grupie kobiet z AITD w porównaniu do grupy kobiet bez AITD.

Podobne wyniki uzyskali Glior i wsp., którzy jako pierwsi w 1994 roku opisali wzrost TSH u matki w miarę postępu ciąży pomimo naturalnego spadku przeciwciał anti-TPO. U 87 kobiet w ciąży mających przeciwciała anti-TPO wykazali wyższą wyjściową wartość TSH w pierwszym trymestrze ciąży w porównaniu do grupy kontrolnej bez anti-TPO (74). Również badanie kohortowe Dutch Generation z 2012 roku obejmujące 5393 kobiet w ciąży wykazało podobnie silny związek między anti-TPO w pierwszym trymestrze a zwiększeniem ryzyka subklinicznej i jawnej niedoczynności tarczycy (75).

Mimo opisywanego w literaturze naturalnego mechanizmu wyczerpania rezerw tarczycy w trakcie ciąży u kobiet z autoimmunologiczną chorobą tarczycy wyniki własne wskazują, iż wartość $TSH > 2,5$ mIU/l w II trymestrze ciąży wystąpiła częściej w grupie kobiet bez AITD niż w grupie kobiet z AITD (w grupie pacjentek, które w I trymestrze miały $TSH < 2,5$ mIU/l). Wskazuje to na ryzyko rozwinięcia subklinicznej niedoczynności tarczycy w II trymestrze ciąży również w grupie kobiet bez AITD. Jednocześnie w grupie kobiet z AITD odnotowano wyższy odsetek wyników $TSH < 2,5$ mIU/l w kolejnych trymestrach ciąży w porównaniu do I trymestru najpewniej wtórnie do włączenia/zwiększenia dawki lewotyroksyny u dużej części kobiet z AITD w I trymestrze ciąży.

W grupie kobiet z AITD w I pierwszym trymestrze ciąży stężenie $TSH > 2,5$ mIU/l stwierdzono u 20,83% kobiet, zaś żadna z kobiet z grupy z AITD nie miała $TSH > 10$ mIU/l, czyli pełnej niedoczynności tarczycy.

Podobną analizę przeprowadzili Taylor i wsp., którzy retrospektywnie badali wyrównanie niedoczynności tarczycy we wczesnej ciąży w grupie 1013 kobiet przyjmujących lewotyroksynę przed ciążą. Według badaczy w pierwszym trymestrze ciąży stężenie TSH > 2,5 mIU/l miało aż 62,8% badanych, zaś TSH > 10 mIU/l, czyli pełną niedoczynność tarczycy, odnotowano u 7,4% kobiet (76).

Na podstawie uzyskanych wyników własnych wydaje się zasadne u każdej kobiety ciężarnej wykonywanie oznaczeń TSH, anty-TPO, anty-TG oraz ścisła kontrola przez cały okres ciąży zarówno pacjentek z AITD, jak i bez AITD.

Do podobnych wniosków doszli Lepoutre i wsp., wskazując na potencjalne korzyści badania TSH u wszystkich ciężarnych w I trymestrze ciąży, oraz Dosiou i wsp., którzy wykazali opłacalność dla budżetu z przeprowadzania badań przesiewowych w I trymestrze (29,77). Badania Validaya i wsp. wskazują, że pomiary TSH ograniczone tylko do grup ryzyka mogą pominąć aż 1/3 przypadków ciężarnych z niedoczynnością tarczycy (78). Wielkimi zwolennikami skriningu są także Pop i wsp., którzy wskazali na wysoki odsetek niedoczynności tarczycy w Holandii wśród ciężarnych oraz niski koszt oznaczeń TSH, a w przypadku diagnozy efektywne, tanie i bezpieczne leczenie niedoczynności (79).

Innego zdania są natomiast Vissenberg i wsp., którzy po wykonaniu metaanalizy w 2012 roku stwierdzili brak dowodów na wydanie zalecenia dotyczącego powszechnego badania przesiewowego TSH (80). Podobnie w przytoczonych we wstępie zaktualizowanych obecnie rekomendacjach Amerykańskiego Towarzystwa Tyreologicznego z 2017 roku autorzy wycofują się z tak niskich wartości referencyjnych TSH dla kobiet niemających choroby tarczycy będących w I trymestrze ciąży (20). Korevaar w swojej analizie z 2018 roku zwraca uwagę na powszechne przyjęcie zbyt restrykcyjnych wartości TSH dla okresu ciąży, wskazując, iż przy tak przyjętych wartościach odcięcia dla TSH aż u 8–28% ciężarnych stężenie TSH jest uważane za zbyt wysokie. Gdyby w zamian przyjęto normy populacyjne dla okresu ciąży, to tylko 3–4% ciężarnych miałyby zbyt wysoki poziom TSH (81). Według obecnie obowiązujących zaleceń w pierwszej kolejności zakresy referencyjne dla TSH powinny być wyznaczane dla każdej populacji na podstawie przeprowadzonych lokalnie badań w grupie kobiet w ciąży z ujemnymi przeciwciałami i prawidłową podażą jodu. Gdy takie normy nie są dostępne, należy posłużyć się zakresami referencyjnymi TSH dla kobiet ciężarnych uzyskanymi w podobnej populacji pacjentek i przy użyciu podobnych testów do oznaczania TSH. Dopiero w ostateczności przy braku powyższych danych w celu ustalenia

poziomu TSH powinno się przyjmować ustanowione według wytycznych ATA, ETA, PTE górne granice normy dla TSH w zależności od trymestru ciąży (20) (tabela 2).

W uzyskanych przez nas wynikach nie stwierdzono zależności pomiędzy rozkładem stężeń witaminy D a występowaniem podwyższonych stężeń TSH w I trymestrze ciąży czy występowaniem AITD.

Podobne wnioski zostały opublikowane w 2017 roku na podstawie badania randomizowanego z podwójnie ślepą próbą, oceniającego związek pomiędzy chorobami tarczycy a niedoborem witaminy D. Do badania zostali zakwalifikowani pacjenci z chorobą Hashimoto i niedoborem witaminy D ≤ 20 ng/ml. Przez 12 tygodni jedna grupa pacjentów otrzymywała witaminę D, a druga placebo. Poza wzrostem średniego stężenia witaminy D w grupie przyjmującej witaminę D poziom przeciwciał anty-TPO oraz stężenie TSH nie zmieniło się znacząco w obu grupach (82). W przeglądzie dotychczasowego piśmiennictwa dotyczącego wpływu witaminy D na AITD wykonanym w 2014 roku przez włoski zespół Federica D'Aurizio i wsp. autorzy stwierdzili, iż dotychczasowe wyniki badań dotyczące wpływu witaminy D na patogenezę chorób tarczycy są często sprzeczne, co może wynikać z ograniczeń w projektowaniu badań takich jak: heterogenność badanej populacji, sezonowość pobierania krwi czy różne testy analityczne. Obecnie na podstawie dostępnych danych literaturowych nie można wnioskować, że suplementacja witaminą D w jakikolwiek sposób wpływa na przebieg AITD (83).

W uzyskanych w pracy wynikach nie stwierdzono zależności pomiędzy rozkładem stężeń witaminy D a występowaniem poronień. Analiza piśmiennictwa dotycząca powyższego zagadnienia została wykonana w 2018 roku przez portugalski zespół Gonçalves D. i wsp., do której zakwalifikowano 11 artykułów. Według autorów w literaturze można znaleźć wiele badań dotyczących związku pomiędzy niskim poziomem witaminy D a poronieniami nawracającymi, zaś sam wpływ witaminy D na płodność tłumaczy się występowaniem receptora i enzymów dla witaminy D w endometrium oraz doczesnej (84,85). Dodatkowo witamina D odgrywa rolę immunoregulacyjną, wspomagając implantację. Powyższe wnioski odnoszą się do dwóch badań randomizowanych wykonanych na małej liczności, dlatego badacze wskazują na otwartość problemu i potrzebę większej ilości badań (86,87,88).

W literaturze dostępnych jest wiele publikacji dotyczących wpływu przeciwciał przeciwtarczycowych na płód również w późniejszym okresie ciąży.

Przeciwciała anty-TPO przechodzą od matki do płodu i wpływają na czynność tarczycy płodu. Wiele badań wykazało istotną korelację między poziomem przeciwciał anty-TPO u matki i u dziecka. Szacuje się, że 40% dzieci urodzonych przez matki anty-TPO dodatnie ma dodatni wynik przeciwciał anty-TPO (89, 90). Matczyne anty-TPO mogą przechodzić do płodu, jednak wydaje się, iż nie wywierają wpływu na czynność tarczycy płodu lub noworodka (91,92). W wielu wykonanych pracach nie stwierdzono związku między anty-TPO a stężeniem tyroksyny i TSH u noworodka (90). Jak wynika z powyższej analizy piśmiennictwa, obecność anty-TPO wiąże się z zaburzeniami czynności tarczycy u matki, przeciwciała anty-TPO przechodzą przez barierę łożyskową, ale wydaje się, że nie powodują zagrożenia dla czynności tarczycy noworodka. Dostępne obecnie dane w literaturze odnoszące się do wpływu przeciwciał przeciwtarczycowych na masę urodzeniową są niespójne. Własne analizy i wyniki innych autorów wskazują na brak zależności pomiędzy obecnością przeciwciał a masą urodzeniową płodu (93, 94), inne badanie wskazuje na zwiększoną masę urodzeniową (95), inne zaś na zmniejszoną masę urodzeniową u noworodków kobiet z dodatnimi przeciwciałami przeciwtarczycowymi w porównaniu do grupy noworodków matek bez przeciwciał przeciwtarczycowych (96, 97).

Dyskusja badanie II

Mimo wielu przedstawionych teorii odnoszących się do wpływu przeciwciał przeciwtarczycowych na prawidłowy przebieg ciąży dotychczas nie wypracowano jednoznacznej opinii, czy sama obecność związku pomiędzy przeciwciałami anty-TPO, anty-TG a poronieniami oznacza, iż jest to związek przyczynowo skutkowy. Dyskusyjnym zagadnieniem pozostaje obserwacja, dlaczego tylko u części kobiet z dodatnimi przeciwciałami anty-TPO i anty-TG dochodzi do utraty ciąży, a u reszty pacjentek mimo dodatnich przeciwciał nigdy nie dochodzi do poronienia. Podobny problem dotyczy nosicielek mutacji prozakrzepowych, tylko u części nosicielek dochodzi do powikłań w krążeniu łożyskowym, prowadząc do zakończenia ciąży, a u innych kobiet z mutacją/mutacjami przebieg ciąży pozostaje prawidłowy. W literaturze dotyczącej tej tematyki często wskazuje się na możliwy sumaryczny efekt kilku polimorfizmów prowadzących do zakrzepicy bądź współistnienie występowania trombofilii wrodzonej i nabytej (98, 99). Inną grupą pacjentek są kobiety z jednoczesnym wystąpieniem kilku chorób autoimmunologicznych i często niejednoznaczny wpływ takiego stanu na ryzyko poronień (55). Z tego powodu wytypowanie innych przeciwciał oraz innych markerów

genetycznych biorących udział w patogenezie poronień u kobiet z przeciwciałami anti-TPO i anti-TG jest ważne zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia.

W odniesieniu do zespołu antyfosfolipidowego przeprowadzone w pracy badanie nie potwierdziło doniesień o istotnie statystycznie częstszym współistnieniu zespołu antyfosfolipidowego z AITD u pacjentek z poronieniami w wywiadzie. Mimo rozpowszechnienia obu jednostek chorobowych, jakimi są zespół antyfosfolipidowy oraz autoimmunologiczne zapalenie tarczycy, przeprowadzono stosunkowo mało badań analizujących wystąpienie obydwu stanów chorobowych jednocześnie u kobiet z wywiadem poronień. Wyniki badań w tej grupie są często niejednoznaczne, co wynika z faktu, iż najczęściej kobiety z przeciwciałami anti-TPO i anti-TG są wyłączone z badania bądź analizowane osobno (63, 100, 101). W 2017 roku Versini i wsp. przeprowadzili analizę dostępnego piśmiennictwa, wskazując, iż skojarzenie przeciwciał przeciwtarczycowych z występowaniem zespołu antyfosfolipidowego jest zjawiskiem powszechnym u kobiet z wywiadem poronień. Według autorów w większości przypadków korelacja ta nie ma konsekwencji klinicznych i jest prawdopodobnie wynikiem podatności układu immunologicznego na występowanie chorób z autoagresji. Autorzy zwracają uwagę, iż obecność zarówno zespołu antyfosfolipidowego, jak i przeciwciał przeciwtarczycowych jest niezależnym czynnikiem ryzyka zmniejszonej płodności (102).

Najczęściej badanym polimorfizmem prozakrzepowym w przypadku występowania poronień jest mutacja czynnika V Leiden. Częstość występowania polimorfizmu czynnika V Leiden wśród ludności rasy kaukaskiej oceniana jest w większości badań na 5–8%, w grupie kobiet z wywiadem poronień odsetek ten sięga nawet 30%. Uważa się, iż obecność mutacji heterozygotycznej zwiększa 4-7-krotnie, a homozygotycznej wielokrotnie ryzyko powikłań zakrzepowych (38, 42, 103). Widoczne różnice w częstości występowania tej mutacji między wynikami badań innych autorów a wynikami badań uzyskanych w prezentowanej pracy w grupie kobiet z wywiadem poronień (mutacja czynnika V Leiden wystąpiła u 6,1% u pacjentek w grupie z AITD i 5,29% u pacjentek bez AITD) można tłumaczyć faktem, iż obecność tej mutacji zwiększa również ryzyko wystąpienia poronienia w II trymestrze ciąży oraz obumarcia płodu w późniejszym okresie ciąży. Przypadki późnego obumarcia płodu często były poddane analizie w cytowanych pracach i określane jako „niepowodzenia położnicze”. W prezentowanej pracy pacjentki z utratą ciąży po 22 tc nie zostały włączone do badania, tym samym przypadki kobiet z mutacją czynnika V Leiden mogły nie zostać zakwalifikowane do analizy.

Zmniejszony odsetek kobiet z mutacją czynnika V Leiden w zależności od przyjętego kryterium czasowego poronień potwierdza badanie Reznikoff-Etievant i wsp., którzy analizowali występowanie poronień przed 10 tygodniem ciąży. W grupie 260 kobiet z utratą ciąży 10,3% z tych kobiet było nosicielkami mutacji czynnika V Leiden w porównaniu do 4,6% kobiet z grupy kontrolnej (42).

Celem metaanalizy wykonanej w 2017 roku przez Shi i wsp. była ocena związku pomiędzy występowaniem polimorfizmów genetycznych u matki a poronieniami nawracającymi. Analizie poddano 369 badań z lat 1991–2016, 70 badań dotyczyło wpływu mutacji czynnika V Leiden na ryzyko poronień. W wynikach wskazano na znaczący wpływ mutacji czynnika V Leiden na ryzyko poronień (104).

Odmienne wyniki otrzymali badacze niemieccy, którzy u kobiet z poronieniami nawracającymi analizowali mutację czynnika V Leiden, polimorfizm genu protrombiny oraz polimorfizm *MTHFR C677T*. W badaniu nie wykazano związku pomiędzy występowaniem polimorfizmu w zakresie któregośkolwiek analizowanego czynnika trombofilii wrodzonej a występowaniem poronień (105).

W niniejszej pracy nie stwierdzono związku pomiędzy występowaniem mutacji czynnika V Leiden a AITD u kobiet z wywiadem poronień.

Kolejnym badaniem wykonywanym w kierunku wrodzonej nadkrzepliwości jest mutacja genu protrombiny 20210. Mutacja ta występuje w populacji europejskiej z częstością 1,7–3% (w analizowanej grupie kobiet z wywiadem poronień: 2,53% u pacjentek z AITD i 2,45 % u pacjentek bez AITD). Jej efektem biologicznym jest zwiększenie stężenia protrombiny w osoczu, co powoduje 2-3-krotny wzrost ryzyka zakrzepicy żyłnej (41, 106).

Autorzy prac dotyczących mutacji genu protrombiny 20210 a zwiększonym ryzykiem poronień zwracają uwagę, iż w przypadku polimorfizmu protrombiny do poronień dochodzi zwłaszcza we wczesnej ciąży (107). Na szczególną uwagę zasługuje metaanaliza z 2017 roku badająca związek pomiędzy występowaniem polimorfizmów genetycznych a poronieniami, do której włączono 55 badań dotyczących mutacji 20210G>A czynnika II. W wynikach odnotowano znaczący wpływ polimorfizmu genu protrombiny na ryzyko poronień (104).

Kolejna metaanaliza dotycząca mutacji genu protrombiny obejmowała 37 badań, gdzie analizowano w sumie grupę 5400 kobiet z poronieniem w wywiadzie oraz 4640 kobiet

będących w grupie kontrolnej, odnotowując podwyższone ryzyko utrat ciąży w grupie kobiet z polimorfizmem genu protrombiny (108).

Wyniki dotyczące wpływu trombofilii wrodzonej (rozumianej jako mutacja czynnika V Leiden, mutacja genu protrombiny 20210) oraz nabytej (zespołu antyfosfolipidowego) na ryzyko poronień omawiane w powyższej analizie literatury były często rozbieżne, co można tłumaczyć nie tylko odmienną populacją badanych kobiet, ale także różną metodyką i niejednołitymi kryteriami wczesnych i późnych poronień.

W niniejszej pracy nie stwierdzono związku pomiędzy występowaniem polimorfizmu genu protrombiny 20210 a występowaniem AITD u kobiet z wywiadem poronień.

Na przestrzeni ostatnich kilku lat badacze dostarczyli pośrednich dowodów na osłabienie metylacji DNA w chorobach autoimmunologicznych tarczycy, odnosząc się również do roli genów zaangażowanych w metabolizm folianów. Cai i wsp. w 2016 roku badali związek polimorfizmów metylotransferaz DNA (DNMT) z autoimmunologicznymi chorobami tarczycy. W analizie wzięło udział 353 pacjentów z chorobą Hashimoto, 685 z chorobą Gravesa-Basedowa oraz 909 zdrowych osób będących w grupie kontrolnej. Wskazano, iż polimorfizm metylotransferaz DNMT3B, DNMT1 był związany z częstszym występowaniem autoimmunologicznej choroby tarczycy (109). Również w 2016 roku Sun i wsp. przedstawili znaczenie nieprawidłowej metylacji podczas rozwoju chorób autoimmunologicznych. Wyniki powyższych badań sugerują, że różne polimorfizmy genów DNMT mogą odpowiadać za wspólną podatność na choroby autoimmunologiczne, zaś samo upośledzenie metylacji może być przyczyną wystąpienia AITD (110).

Bezpośrednich dowodów potwierdzających tezę, iż upośledzenie metylacji DNA jest przyczyną wystąpienia AITD, dostarczyła analiza limfocytów i tyreocytów od pacjentów z AITD oraz bez AITD. W tyreocytach 35 pacjentów z AITD w porównaniu do 35 pacjentów z grupy kontrolnej dopasowanych pod względem płci i wieku wykazano nieprawidłową metylację DNA promotora genu ICAM1, co wiązało się ze zwiększoną ekspresją tego genu, a w konsekwencji prowadziło do ujawnienia się choroby autoimmunologicznej. Wyniki powyższych badań sugerują związek z występowaniem charakterystycznych zmian w metylacji w komórkach od pacjentów z AITD, jednak wymaga to dalszych badań na większych grupach pacjentów (111). Dalsze badania pozwolą zapewne lepiej zrozumieć patogenezę chorób autoimmunologicznych, otwierając tym samym drogę do potencjalnych

narzędzi diagnostycznych i prognostycznych, a także do interwencji epigenetycznych u pacjentów dotkniętych chorobami autoimmunologicznymi.

Wyniki badań przeprowadzonych na populacji kobiet i mężczyzn dotyczących mutacji genu *MTHFR* przedstawili także badacze z Japonii. Analizowali oni wpływ polimorfizmu genów zaangażowanych w metylację: metylotransferazy DNA – DNMT, genów reduktazy metylenotetrahydrofolianowej – *MTHFR* – i reduktazy syntazy metioninowej MTRR na występowanie chorób autoimmunologicznych u 125 pacjentów z chorobą Hashimoto, 176 pacjentów z chorobą Gravesa-Basedowa oraz u 83 zdrowych osób bez choroby autoimmunologicznej tarczycy. Nie stwierdzili istotnych różnic w mutacji *MTHFR* (C677T i A1289C) między osobami chorującymi na autoimmunologiczne choroby tarczycy a zdrowymi osobami, wyciągając wniosek, iż polimorfizm *MTHFR* nie jest związany z rozwojem choroby autoimmunologicznej tarczycy (55). Dane z Japonii odnoszą się do populacji ogólnej kobiet i mężczyzn, w prezentowanej pracy analizowano grupę kobiet z wywiadem poronień, co może mieć wpływ na otrzymane wyniki.

Wouters i wsp. już w 1993 roku opisali obecność mutacji genu *MTHFR* i jej korelację z poronieniami, od tego czasu na przestrzeni ostatnich 25 lat wpływ polimorfizmu genu *MTHFR* na występowanie poronień stał się tematem wielu prac naukowych (112).

Wpływ mutacji *MTHFR* na ryzyko poronień nawracających został poddany metaanalizie uwzględniającej 28 badań odnoszących się do mutacji *MTHFR* A1298C oraz 84 badania odnoszące się do mutacji *MTHFR* C677T. Kryteriami włączenia do metaanalizy były m.in.: wystąpienie przynajmniej 2 poronień oraz utrata ciąży poniżej 24 tygodnia ciąży. Odnotowano związek pomiędzy polimorfizmem genu *MTHFR* C677T oraz polimorfizmem genu *MTHFR* 1298C na występowanie poronień (104).

Należy zaznaczyć, iż wyniki dotyczące wpływu mutacji *MTHFR* na ryzyko poronień w kilku dotychczas wykonanych metaanalizach są sprzeczne i trudne do interpretacji (113, 114, 115, 116, 117).

Warto przytoczyć metaanalizę 26 badań obejmujących 5575 mężczyzn z wywiadem niepłodności zakwalifikowanych do grupy badanej i 5477 mężczyzn będących w grupie kontrolnej. Wykazano, iż polimorfizm *MTHFR* C677T znacząco wiązał się z ryzykiem niepłodności poprzez negatywny wpływ na m.in. metylację DNA plemników (118).

Do ciekawych wniosków doszli polscy badacze analizujący wpływ mutacji *MTHFR* C677T oraz *MTHFR* A1298C u kobiet na ryzyko poronień. Odnotowano związek pomiędzy mutacją *MTHFR* A1298C a poronieniami w grupie kobiet bez PCOS w porównaniu do grupy kobiet z PCOS (119).

Wyniki własne wskazują, że nawet co druga kobieta może mieć problem z metabolizmem kwasu foliowego. U pacjentek z wywiadem poronień mutacja *MTHFR* C677T w zakresie przynajmniej jednego allela wystąpiła u 45,05% kobiet w grupie kobiet z AITD i 46,19% w grupie kobiet bez AITD. W przypadku genu *MTHFR* A1298C polimorfizm przynajmniej jednego allela wystąpił u 62,63% kobiet z AITD i 48,22% w grupie bez AITD.

Zgodnie z prezentowanymi wynikami u kobiet z wywiadem poronień mutacja w zakresie genu *MTHFR* A1298C była częstsza u pacjentek, u których stwierdzono AITD, zaś nie stwierdzono takiej zależności w stosunku do mutacji *MTHFR* C677T. Określenie polimorfizmu genu *MTHFR* A1298C może się okazać użytecznym testem do wyodrębnienia kobiet z ryzykiem utrat ciąży w grupie kobiet z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy. Wymaga to jednak dalszych badań na większych grupach pacjentów.

Wyniki przeprowadzonych w pracy analiz wskazują również na częstsze występowanie przeciwciał przeciwjądrowych ANA u kobiet z AITD z wywiadem poronień. Podobne wnioski na populacji ogólnej otrzymali również Tektonidou i wsp., którzy badali częstość występowania ANA u pacjentów z autoimmunologiczną chorobą tarczycy. Badacze stwierdzili, iż w grupie osób z AITD występowanie przeciwciał przeciwjądrowych ANA było istotnie wyższe – 35% (w prezentowanej pracy 29,82%) w porównaniu do grupy kontrolnej 9% (w prezentowanej pracy 16,67%) (120). Porównywalne wyniki uzyskali Meftun Çelikci i wsp., analizując częstość występowania ANA u 118 pacjentów z chorobą autoimmunologiczną tarczycy oraz 56 pacjentów bez choroby autoimmunologicznej tarczycy (121). Liczne wyniki badań potwierdzają wpływ dodatniego miana ANA na ryzyko występowania poronień. Mechanizmem tego zjawiska może być dysfunkcja układu immunologicznego z predyspozycją do wystąpienia kilku chorób autoimmunologicznych jednocześnie (122, 123).

Spis tabel

Tabela 1. Wskazania do przesiewowego badania TSH u ciężarnych według wytycznych PTE 2011 i ATA 2017	20
Tabela 2. Górna granica normy TSH w zależności od trymestru wg wytycznych ATA, ETA, PTE	21
Tabela 3. Opis badanych w pracy polimorfizmów	31
Tabela 4. Odsetek występowania dodatnich wyników przeciwciał anti-TPO, anti-TG u ciężarnych w I trymestrze ciąży.....	39
Tabela 5. Odsetek kobiet z wywiadem niepłodności i poronień w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD	40
Tabela 6. Odsetek kobiet z TSH >2,5 w zależności od trymestru w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD	42
Tabela 7. Odsetek kobiet z TSH >2,5 w zależności od trymestru w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD z wyłączeniem pacjentek przyjmujących lewotyroksynę.....	44
Tabela 8. Odsetek kobiet z TSH>2,5 w II, III trymestrze ciąży w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD, u których w I trymestrze TSH<2,5	46
Tabela 9. Odsetek kobiet z TSH>2,5 w II, III trymestrze ciąży w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD, u których w I trymestrze TSH<2,5 po wykluczeniu kobiet przyjmujących lewotyroksynę	47
Tabela 10. Rozkład masy ciała noworodka w gramach w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD	49
Tabela 11. Rozkład stężenia witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD	50
Tabela 12. Odsetek kobiet z wywiadem niepłodności i poronień w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży	51
Tabela 13. Rozkład czasu trwania niepłodności w latach w grupie kobiet z TSH> 2,5 i w grupie kobiet z TSH <2,5 w I trymestrze ciąży	53
Tabela 14. Rozkład liczby poronień w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży.....	54
Tabela 15. Rozkład masy ciała noworodka w gramach w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży	55

Tabela 16. Rozkład stężenia witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży	56
Tabela 17. Rozkład stężenia witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z wywiadem nawracających poronień i w grupie kobiet bez wywiadu nawracających poronień.....	58
Tabela 18. Porównanie częstości występowania poszczególnych oznaczeń w grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień oraz w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień.....	60
Tabela 19. Porównanie częstości występowania poszczególnych polimorfizmów <i>MTHFR</i> A1298C i <i>MTHFR</i> C677T w grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień oraz w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień.....	63

Spis rycin

Rycina 1. Odsetek dodatnich wyników przeciwciał anti-TPO, anti-TG u ciężarnych w I trymestrze ciąży	39
Rycina 2. Odsetek kobiet z wywiadem niepłodności i poronień w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD	41
Rycina 3. Odsetek kobiet z TSH>2,5 w zależności od trymestru w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD	43
Rycina 4. Odsetek kobiet z TSH>2,5 w zależności od trymestru w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD z wyłączeniem pacjentek przyjmujących lewotyroksynę	44
Rycina 5. Odsetek kobiet z TSH>2,5 w II, III trymestrze ciąży w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD, u których w I trymestrze TSH<2,5	46
Rycina 6. Odsetek kobiet z TSH >2,5 w II, III trymestrze ciąży w grupie kobiet z AITD oraz w grupie kobiet bez AITD u których w I trymestrze TSH <2,5 po wykluczeniu kobiet przyjmujących lewotyroksynę.	48
Rycina 7. Rozkład masy ciała noworodka w gramach w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD	49
Rycina 8. Rozkład stężenia Witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z AITD i w grupie kobiet bez AITD	50
Rycina 9. Odsetek kobiet z wywiadem niepłodności i poronień w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży	52
Rycina 10. Rozkład czasu trwania niepłodności w latach w grupie kobiet z TSH> 2,5 i w grupie kobiet z TSH <2,5 w I trymestrze ciąży	54
Rycina 11. Rozkład liczby poronień w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży	55
Rycina 12. Rozkład masy ciała noworodkach w gramach w grupie kobiet z TSH> 2,5 i w grupie kobiet z TSH <2,5 w I trymestrze ciąży	56
Rycina 13. Stężenie witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z TSH>2,5 i w grupie kobiet z TSH<2,5 w I trymestrze ciąży	57
Rycina 14. Rozkład stężenia witaminy D (ng/ml) w grupie kobiet z wywiadem nawracających poronień i w grupie kobiet bez wywiadu nawracających poronień	58
Rycina 15. Porównanie częstości występowania poszczególnych oznaczeń w grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień oraz w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień.....	61

Rycina 16. Porównanie częstości występowania poszczególnych mutacji/braku mutacji w genie <i>MTHFR</i> A1298C w grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień oraz w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień.....	64
Rycina 17. Porównanie częstości występowania poszczególnych mutacji/braku mutacji w genie <i>MTHFR</i> C677T w grupie kobiet z AITD z wywiadem poronień oraz w grupie kobiet bez AITD z wywiadem poronień.....	65

BIBLIOGRAFIA

1. Maraka S, Ospina NM, O’Keeffe DT et al.: Subclinical Hypothyroidism in Pregnancy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Thyroid* 2016; 26(4): 580-90.
2. Hubalewska-Dydejczyk A, Bandurska-Stankiewicz E, Bar-Andziak E et al.: Management of thyroid diseases during pregnancy. *Pol J Endocrinol* 2011; 62: 362-381.
3. De Groot L, Abalovich M, Alexander EK, Amino N, Barbour L, Cobin RH et al.: Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: An endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97: 2543-65.
4. Iravatani AT, Saeedi MM, Pakravesht J, Hamidi S, Abbasi M.: Thyroid autoimmunity and recurrent spontaneous abortion in Iran: a case-control study. *Endocr Pract* 2008; 14: 458-464.
5. Mannisto T, Vaarasmaki M, Pouta A et al.: Perinatal outcome of children born to mothers with thyroid dysfunction or antibodies: a prospective population-based cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 772-779.
6. Nguyen CT, Sasso EB, Barton L, Mestman JH: Graves’ hyperthyroidism in pregnancy: a clinical review. *Clin Diabetes Endocrinol* 2018; 4:4.
7. Fuse Y: Development of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in humans. *Reprod Fertil Dev* 1996; 8(1): 1-21.
8. de Escobar GM, Ares S, Berbel P, Obregon MJ, Del Rey FE: The changing role of maternal thyroid hormone in fetal brain development. *Semin Perinatol* 2008; 32: 380-6.
9. Stenzel D, Huttner WB: Role of maternal thyroid hormones in the developing neocortex and during human evolution. *Front. Neuroanat.* 2013; 7: 1-9.
10. Patel J, Landers K, Li H, Mortimer RH, Richard K: Thyroid hormones and fetal neurological development. *J Endocrinol* 2011; 209: 1-8.
11. Mullur R, Liu YY, Brent GA: Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiol Rev.* 2014; 94(2): 355-82.
12. Brucker-Davis F, Panaia-Ferrari P, Gal J, et al.: Iodine Supplementation throughout Pregnancy Does Not Prevent the Drop in FT4 in the second and third trimesters in women with normal initial thyroid function. *Eur Thyroid J* 2013; 2: 187-94.
13. Santin AP, Furlanetto TW: Role of estrogen in thyroid function and growth regulation. *J Thyroid Res.* 2011; 2011: 875125.

14. Yoshimura M, Hershman JM: Thyrotropic action of human chorionic gonadotropin. *Thyroid* 1995; 5(5): 425-434.
15. Li H, Patel J, Mortimer RH, Richard K: Ontogenic changes in human placental sodium iodide symporter expression. *Placenta* 2012; 33: 946-948.
16. Larsen PR, Zavacki AM. The role of the iodothyronine deiodinases in the physiology and pathophysiology of thyroid hormone action. *Eur Thyroid J.* 2012; 1(4): 232-242.
17. Bliddal S, Feldt-Rasmussen U, Boas M et al.: Gestational age-specific reference ranges from different laboratories misclassify pregnant women's thyroid status: comparison of two longitudinal prospective cohort studies. *Eur J Endocrinol* 2013; 170: 329-339.
18. Lazarus J, Brown RS, Daumerie C et al.: 2014 European Thyroid Association Guidelines for the management of subclinical hypothyroidism in pregnancy and in children. *Eur Thyroid J* 2014; 3: 76-94.
19. Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E et al.: American Thyroid Association Taskforce on Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum: Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid* 2011; 21: 1081-1125.
20. Erik K, Alexander EK, Pearce EN: 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and the postpartum. *Thyroid* 2017; 27: 315-389.
21. Garber JR, Cobin RH, Gharib H et al.: American Association of Clinical Endocrinologists and American Thyroid Association Taskforce on Hypothyroidism in Adults. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. *Endocr. Pract.* 2012;18: 988-1028.
22. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 16 sierpnia 2018 r. w sprawie standardu organizacyjnego opieki okołoporodowej. Available at <http://prawo.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WDU20180001756> [Accessed: 03.03.2019].
23. American College of Obstetricians and Gynecologists Practice bulletin no. 148: thyroid disease in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2015; 125(4): 996-1005.
24. Fröhlich E, Wahl R: Thyroid autoimmunity: role of anti-thyroid antibodies in thyroid and extra-thyroidal diseases. *Front Immunol.* 2017; 8: 521.

25. Allan WC, Haddow JE, Palomaki GE et al.: Maternal thyroid deficiency and pregnancy complications: implications for population screening. *J Med Screen* 2000; 7: 127-130.
26. Unuane D, Velkeniers B, Anckaert E, Schiet-tecatte J, Tournaye H, Haentjens P, Poppe K: Thyroglobulin autoantibodies: is there any added value in the detection of thyroid autoimmunity in women consulting for fertility treatment? *Thyroid* 2013; 23: 1022-1028.
27. Rago T, Chiovato L, Grasso L, Pinchera A, Vitti P: Thyroid ultrasonography as a tool for detecting thyroid autoimmune diseases and predicting thyroid dysfunction in apparently healthy subjects. *Journal of Endocrinological Investigation* 2001; 24(10): 763-769.
28. Negro R, Formoso G, Mangieri T, Pezzarossa A, Dazzi D, Hassan H, et al.: Levothyroxine treatment in euthyroid pregnant women with autoimmune thyroid disease: Effects on obstetrical complications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91: 2587-91.
29. Lepoutre T, Debiève F, Gruson D, Daumerie C: Reduction of miscarriages through universal screening and treatment of thyroid autoimmune diseases. *Gynecol Obstet Invest* 2012; 74: 265-273.
30. Skrzypczak J: Poronienie. W: *Położnictwo i ginekologia.* ed. Bręborowicz G. Warszawa: PZWL, 2005, 111-119.
31. Wołczyński S, Kuczyński W, Kurzawa R: Rekomendacje dotyczące diagnostyki i leczenia niepłodności – skrót. *Ginekol. Pol.* 2012; 83: 149-154.
32. Cohain JS, Buxbaum RE, Mankuta D: Spontaneous first trimester miscarriage rates per woman among parous women with 1 or more pregnancies of 24 weeks or more. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2017; 17(1): 437.
33. Saravelos SH, Li TC: Unexplained recurrent miscarriage: how can we explain it? *Hum Reprod.* 2012; 27(7), 1882-1886.
34. Bick RL, Kaplan H: Syndromes of thrombosis and hypercoagulability. *Med Clin N Am.* 1998; 82: 409-58.
35. Coppens M, Folkeringa N, Teune J et al.: Outcome of the subsequent pregnancy after a first loss in women with the factor V Leiden or prothrombin 20210A mutations. *J Thromb Haemostat.* 2007; 5: 1444-1448.

36. Barhoover MA, Kalafatis M: Cleavage at both Arg306 and Arg506 is required and sufficient for timely and efficient inactivation of factor Va by activated protein C. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2011; 22(4): 317-324.
37. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH: Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64-67.
38. Rees DC, Chapman NH, Webster MT, Guerreiro JF, Rochette J, Clegg JB: Born to clot: the European burden. *Br J Haematol*. 1999; 105(2): 564-566.
39. Ament L: Factor V Leiden: a review of the literature. *J Perinat Neonatal Nurs*. 2003;17(3), 190-195.
40. Ceelie H, Bertina RM, Hylekama-Vlieg A, Rosendaal FR, Vos HL: Polymorphisms in the prothrombin gene and their association with plasma prothrombin levels. *Thromb Haemost*. 2001; 85: 1066-1070.
41. Lane DA, Grant PJ: Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood* 2000; 95(5): 1517-1532.
42. Reznikoff-Etiévant M, Cayol V, Carbonne B, Robert A, Coulet F, Milliez J: Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations are risk factors for very early recurrent miscarriage. *BJOG*. 2001; 108: 1251-1254.
43. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al.: International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*. 2006; 4: 295-306.
44. Clifford K, Rai R, Regan L: Future pregnancy outcome in unexplained recurrent first trimester miscarriage. *Hum Reprod*. 1997; 12: 387-9.
45. Patil R, Ghosh K, Vora S, Shetty S: Inherited and acquired thrombophilia in Indian women experiencing unexplained recurrent pregnancy loss. *Blood Cells Mol Dis*. 2015; 55(3): 200-205.
46. Gawęcki J, Hryniewski L: *Żywność człowieka. Podstawy nauki o żywieniu* (s. 268-269). PWN, Warszawa 2008.
47. Barua S, Kuizon S, Junaid MA: Folic acid supplementation in pregnancy and implications in health and disease. *Journal of Biomedical Science* 2014; 21: 77.
48. Bomba-Opoń D, Hirnle L, Kalinka J, et al.: Folate supplementation during the preconception period, pregnancy and puerperium. *Polish Society of Gynecologists and Obstetricians Guidelines*. *Ginekol. Pol*. 2017; 88(11): 633-636.

49. Vanyushin BF: Enzymatic DNA Methylation Is an Epigenetic Control for Genetic Functions of the Cell. *Biochemistry (Moscow)* 2005; 70 (5): 488-598.
50. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJH, den Heijer M, Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Rozen R: A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genet.* 1995; 10: 111-113.
51. Van der Put NM, Gabreëls F, Stevens EM et al.: A second common mutation in the methylenetetrahydrofolatereductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet.* 1998; 62(5): 1044-1051.
52. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE: Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med.* 1998; 49: 31-62.
53. ALFRED: the ALlele FREquency Database. Available at http://alfred.med.yale.edu/alfred/SiteTable1A_working.asp?siteuid=SI001032G. [Accessed: 02.03.2019].
54. ALFRED: the ALlele FREquency Database. Available at http://alfred.med.yale.edu/alfred/SiteTable1A_working.asp?siteuid=SI003687Y. [Accessed: 02.03.2019].
55. Arakawa Y, Watanabe M, Inoue N, Sarumaru M, Hidaka Y, Iwatani Y: Association of polymorphisms in DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, MTHFR and MTRR genes with global DNA methylation levels and prognosis of autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol.* 2012; 170(2): 194-201.
56. Stagnaro-Green A, Roman SH, Cobin RH, el-Hazary E, Alvarez-Marfany M, Davies TF: 1990 Detection of at-risk pregnancy by means of highly sensitive assays for thyroid autoantibodies. *JAMA* 264: 1422-1425.
57. Ghafoor F et al.: Role of thyroid peroxidase antibodies in the outcome of pregnancy. *J Coll Phys Surg Pak.* 2006; 16(7): 468-471.
58. Feki M, Omar S, Menif O, Tanfous NB, Slimane H, Zouari F et al.: Thyroid disorders in pregnancy: frequency and association with selected diseases and obstetrical complications in Tunisian women. *Clin Biochem.* 2008; 41: 927-31.
59. Chen L, Hu R: Thyroid autoimmunity and miscarriage: a meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011; 74: 513-519.
60. Thangaratinam S, Tan A, Knox E, Kilby MD, Franklyn J, Coomarasamy A: Association between thyroid autoantibodies and miscarriage and preterm birth: meta-analysis of evidence. *BMJ* 2011; 342.

61. Weetman AP: Immunity, thyroid function and pregnancy: molecular mechanisms. *Nat Rev Endocrinol.* 2010; 6(6): 311-8.
62. Kokandi AA, Parkes AB, Premawardhana LD, John R, Lazarus JH: Association of postpartum thyroid dysfunction with antepartum hormonal and immunological changes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88: 1126-1132.
63. Iijima T, Tada H, Hidaka Y, Mitsuda N, Murata Y, Amino N: Effects of autoantibodies on the course of pregnancy and fetal growth. *Obstet Gynecol.* 1997; 90: 364-9.
64. Korevaar TI, Steegers EA, Pop VJ et al.: Thyroid autoimmunity impairs the thyroidal response to human chorionic gonadotropin: two population-based prospective cohort studies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2017; 1: 102 (1): 69–77.
65. Negro R, Schwartz A, Stagnaro-Green A: Impact of levothyroxine in miscarriage and preterm delivery rates in first trimester thyroid antibody-positive women with TSH less than 2.5 mIU/L. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2016; 101 (10): 3685-3690.
66. Rao M, Zeng Z, Zhou F, et al.: Effect of levothyroxine supplementation on pregnancy loss and preterm birth in women with subclinical hypothyroidism and thyroid autoimmunity: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update* Published 2019 Feb 14.
67. Thyroid AntiBodies and LEvoThyroxine study (TABLET). Available at <http://www.isrctn.com/ISRCTN15948785> [Accessed: 10.03.2019].
68. T4-LIFE trial. Available at <https://zorgevaluatienederland.nl/projects/60> [Accessed: 10.03.2019].
69. Poppe K, Velkeniers B, Glinoeer D: The role of thyroid autoimmunity in fertility and pregnancy. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2008; 4: 394-405.
70. Abalovich M, Mitelberg L, Allami C et al.: Subclinical hypothyroidism and thyroid autoimmunity in women with infertility. *Gynecological Endocrinology* 2007; 23(5): 279-283.
71. Slama R, Hansen OKH, Ducot B et al.: Estimation of the frequency of involuntary infertility on a nation-wide basis. *Human Reproduction* 2012; 27(5): 1489-1498.
72. Quintino Moro A, Zantut-Wittmann DE, Tambascia M, Machado Hda C, Fernandes A: High Prevalence of Infertility among Women with Graves' Disease and Hashimoto's Thyroiditis. *Int J Endocrinol.* 2014; 982705.
73. Ehlers M, Thiel A, Bernecker C et al.: Evidence of a combined cytotoxic thyroglobulin and thyroperoxidase epitope-specific cellular immunity in hashimoto's

- thyroiditis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2012; 97(4): 1347-1354.
74. Glinoe D: What happens to the normal thyroid during pregnancy? *Thyroid Offic J Am Thyr Assoc.* 1999; 9: 631.
 75. Medici M, de Rijke YB, Peeters RP, Visser W, de Muinck Keizer-Schrama SM, Jaddoe VV et al.: Maternal early pregnancy and newborn thyroid hormone parameters: the Generation R study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97: 646-652.
 76. Taylor PN, Minassian C, Renhman A et al.: TSH levels and risk of miscarriage in women on long-term levothyroxine: a community-based study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99: 3895-902.
 77. Dosiou C, Barnes J, Schwartz A, Negro R, Crapo L, Stagnaro-Green A: Cost-effectiveness of universal and risk-based screening for autoimmune thyroid disease in pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97: 1536-46.
 78. Vaidya B, Anthony S, Bilous M, et al.: Detection of thyroid dysfunction in early pregnancy: universal screening or targeted high-risk case finding? *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 203-7.
 79. Pop V, Broeren M, Wiersinga W: The attitude toward hypothyroidism during early gestation: time for a change of mind? *Thyroid* 2014; 24(10): 1541-6.
 80. Vissenberg R, van den Boogaard E, van Wely M, van der Post JA, Fliers E, Bisschop PH, et al.: Treatment of thyroid disorders before conception and in early pregnancy: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2012; 18(4): 360-73.
 81. Korevaar TIM: The upper limit for TSH during pregnancy: why we should stop using fixed limits of 2.5 or 3.0 mU/l. *Thyroid Res.* 2018; 11: 5.
 82. Vahabi Anaraki P, Aminorroaya A, Amini M, et al.: Effect of Vitamin D deficiency treatment on thyroid function and autoimmunity markers in Hashimoto's thyroiditis: A double-blind randomized placebo-controlled clinical trial. *J Res Med Sci.* 2017; 22:103.
 83. D'Aurizio F, Villalta D, Metus P, Doretto P, Tozzoli R. Is vitamin D a player or not in the pathophysiology of autoimmune thyroid diseases? *Autoimmun Rev.* 2015; 14: 363-369.
 84. Chen X, Yin B, Lian R-C, et l.: Modulatory effects of vitamin D on peripheral cellular immunity in patients with recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol.* 2016; 76(6): 432-438.

85. Saraf R, Morton SMB, Camargo CA, Grant CC: Global summary of maternal and newborn vitamin D status – a systematic review. *Matern Child Nutr.* 2016; 12(4): 647-668.
86. Yan X, Wang L, Yan C, et al.: Decreased expression of the vitamin D receptor in women with recurrent pregnancy loss. *Arch Biochem Biophys.* 2016; 606: 128-133.
87. Li N, Wu HM, Hang F, Zhang YS, Li MJ: Women with recurrent spontaneous abortion have decreased 25(OH) vitamin D and VDR at the fetal-maternal interface. *Brazilian J Med Biol Res.* 2017; 50(11): e6527.
88. Gonçalves DR, Braga A, Braga J, Marinho A: Recurrent pregnancy loss and vitamin D: A review of the literature. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2018; e13022.
89. Glinoe D, Soto MF, Bourdoux P, Lejeune B, Delange F, Lemone M, et al.: Pregnancy in patients with mild thyroid abnormalities: maternal and neonatal repercussions. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991; 73(2): 421-427.
90. Bech K, Hertel J, Rasmussen NG, Hegedus L, Hornnes PJ, Feldt-Rasmussen U: Effect of maternal thyroid autoantibodies and post-partum thyroiditis on the fetus and neonate. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1991; 125: 146-149.
91. Yuan P, Wang Q, Huang R, Cao F, Zhu Z, Sun D, Zhou H, Yu B: Clinical evaluation with self-sequential longitudinal reference intervals: pregnancy outcome and neonatal thyroid stimulating hormone level associated with maternal thyroid diseases. *West Indian Med. J* 2013; 62(1): 28-34.
92. Oken E, Braverman LE, Platek D, Mitchell ML, Lee SL, Pearce EN: Neonatal thyroxine, maternal thyroid function, and child cognition. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(2): 497-503.
93. Cleary-Goldman J, Malone FD, Lambert-Messerlian G, Sullivan L, Canick J, Porter TF, Luthy D, Gross S, Bianchi DW, D'Alton ME: Maternal Thyroid Hypofunction and Pregnancy Outcome. *Obstetrics and Gynecology* 2008; 112: 85-92.
94. Wang S, Teng WP, Li JX et al.: Effects of maternal subclinical hypothyroidism on obstetrical outcomes during early pregnancy. *J Endocrinol Invest.* 2012; 35(3): 322-325.
95. Andersen SL, Olsen J, Wu CS, Laurberg P: Low Birth Weight in Children Born to Mothers with Hyperthyroidism and High Birth Weight in Hypothyroidism, whereas Preterm Birth Is Common in Both Conditions: A Danish National Hospital Register Study. *European Thyroid Journal* 2013; 2: 135-144.

96. Karakosta P, Alegakis D, Georgiou V, Roumeliotaki T, Fthenou E, Vassilaki M, Boumpas D, Castanas E, Kogevas M, Chatzi L: Thyroid Dysfunction and Autoantibodies in Early Pregnancy Are Associated with Increased Risk of Gestational Diabetes and Adverse Birth Outcomes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2012; 97, 4464-4472.
97. Su PY, Huang K, Hao JH, et al.: Maternal thyroid function in the first twenty weeks of pregnancy and subsequent fetal and infant development: a prospective population-based cohort study in China. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(10): 3234-3241.
98. Torabi R, Zarei S, Zeraati H, Zarnani AH, Akhondi MM, Hadavi R, Shiraz ES, Jeddi-Tehrani M: Combination of thrombophilic gene polymorphisms as a cause of increased the risk of recurrent pregnancy loss. *J Reprod Infertil.* 2012; 13(2): 89-94.
99. Martinelli I, Mannucci PM, De Stefano V, Taioli E, Rossi V, Crosti F, Paciaroni K, Leone G, Faioni EM: Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. *Blood* 1998; 92(7): 2353-2358.
100. Bussen SS, Steck T: Thyroid antibodies and their relation to antithrombin antibodies, anticardiolipin antibodies and lupusanticoagulant in women with recurrent spontaneous abortions(antithyroid, anticardiolipin and antithrombin autoantibodiesand lupus anticoagulant in habitual aborters). *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology* 1997; 74:139-143.
101. Mecacci F, Parretti E, Cioni R, Lucchetti R, Magrini A, La Torre P et al.: Thyroid autoimmunity and its association with non-organ-specific antibodies and subclinical alterations of thyroid function in women with a history of pregnancy loss or preeclampsia. *Journal of Reproductive Immunology* 2000; 46: 39-50.
102. Versini M: Thyroid Autoimmunity and Antiphospholipid Syndrome: Not Such a Trivial Association. *Frontiers in Endocrinology* 2017; 8: 175.
103. Martinelli I, De Stefano V, Taioli E, Paciaroni K, Rossi E, Mannucci PM. Inherited thrombophilia and first venous thromboembolism during pregnancy and puerperium. *Thromb Haemost.* 2002; 87(5), 791-795.
104. Shi X, Xie X, Jia Y, Li S: Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Genet.* 2017; 91: 265-284.
105. Pauer HU, Voigt-Tschirschwitz T, Hinney B, Burfeind P, Wolf C, Emons G, Neesen J: Analyzes of three common thrombophilic gene mutations in German women with recurrent abortions. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003; 82(10), 942-947.

106. Roberts NL, Patel KJ, Arya R, Venous thromboembolism and ethnicity. *British Journal of Hematology* 2009; 146: 4, 369-383.
107. Rey E, Kahn S, David M, Shrier I: Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet*. 2003; 361, 901-908.
108. Gao H, Tao FB: Prothrombin G20210A mutation is associated with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis update. *Thromb Res* 2015; 135(2), 339-346.
109. Cai TT, Zhang J, Wang X, Song RH, Qin Q, Muhali FS et al.: Gene-gene and gene-sex epistatic interactions of DNMT1, DNMT3A and DNMT3B in autoimmune thyroid disease. *Endocr J* 2016; 63: 643-53.
110. Sun B, Hu L, Luo ZY, Chen XP, Zhou HH, Zhang W: DNA methylation perspectives in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Clin Immunol*. 2016; 164: 21-27.
111. Liu T, Sun J, Wang Z, Yang W, Zhang H, Fan C et al.: Changes in the DNA methylation and hydroxymethylation status of the intercellular adhesion molecule 1 gene promoter in thyrocytes from autoimmune thyroiditis patients. *Thyroid* 2017; 27(6): 838-45.
112. Wouters M, Boers G, Blom H et al.: Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexpected recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril*. 1993; 60: 820-824.
113. Wu X, Zhao L, Zhu H, He D, Tang W, Luo Y: Association between the MTHFR C677T polymorphism and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; 16 (7): 806-811.
114. Cao Y, Xu J, Zhang Z et al.: Association study between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and unexplained recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Gene* 2013; 514 (2): 105-111.
115. Nair RR, Khanna A, Singh R, Singh K: Association of maternal and fetal MTHFR A1298C polymorphism with the risk of pregnancy loss: a study of an Indian population and a meta-analysis. *Fertil Steril* 2013; 99(5): 1311-1318.
116. Chen H, Yang X, Lu M: Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss in China: a systematic review and meta-analysis. *Arch. Gynecol. Obstet*. 2016; 293 (2): 283-290.
117. Yang Y, Luo Y, Yuan J et al.: Association between maternal, fetal and paternal MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms and risk of recurrent pregnancy loss: a comprehensive evaluation. *Arch. Gynecol. Obstet*. 2016; 293 (6): 1197-1211.

118. Gong M, Dong W, He T, Shi Z, Huang G, Ren R, Huang S, Qiu S, Yuan R: MTHFR 677 C>T polymorphism increases the male infertility risk: a meta-analysis involving 26 studies. *PLoS One* 2015;10: e0121147.
119. Szafarowska M, Segiet A, Jerzak MM: Methylenetetrahydrofolate reductase A1298C and C677T polymorphisms and adverse pregnancy outcome in women with PCOS. *Neuro Endocrinology Letters* 2016; 37: 141-146.
120. Tektonidou MG, Anapliotou M, Vlachoyiannopoulos P et al.: Presence of systemic autoimmune disorders in patients with autoimmune thyroid diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2004; 63: 1159-1161.
121. Çelikci M, Hacıhanefioğlu A, Türemen E, Tarkun P, Gönüllü E: İlhan Tarkun Lupus Anticoagulant Positivity in Autoimmune Thyroid Diseases. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism* 2008; 12(4): 88-90.
122. Molazadeh M, Karimzadeh H, Azizi MR: Prevalence and clinical significance of antinuclear antibodies in Iranian women with unexplained recurrent miscarriage. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* 2014; 12(3), 221-6.
123. Ticconi C, Pietropolli A, Borelli B, Bruno V, Piccione E, Bernardini S, Di Simone N: Antinuclear autoantibodies and pregnancy outcome in women with unexplained recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol.* 2016; 76: 396-399.