



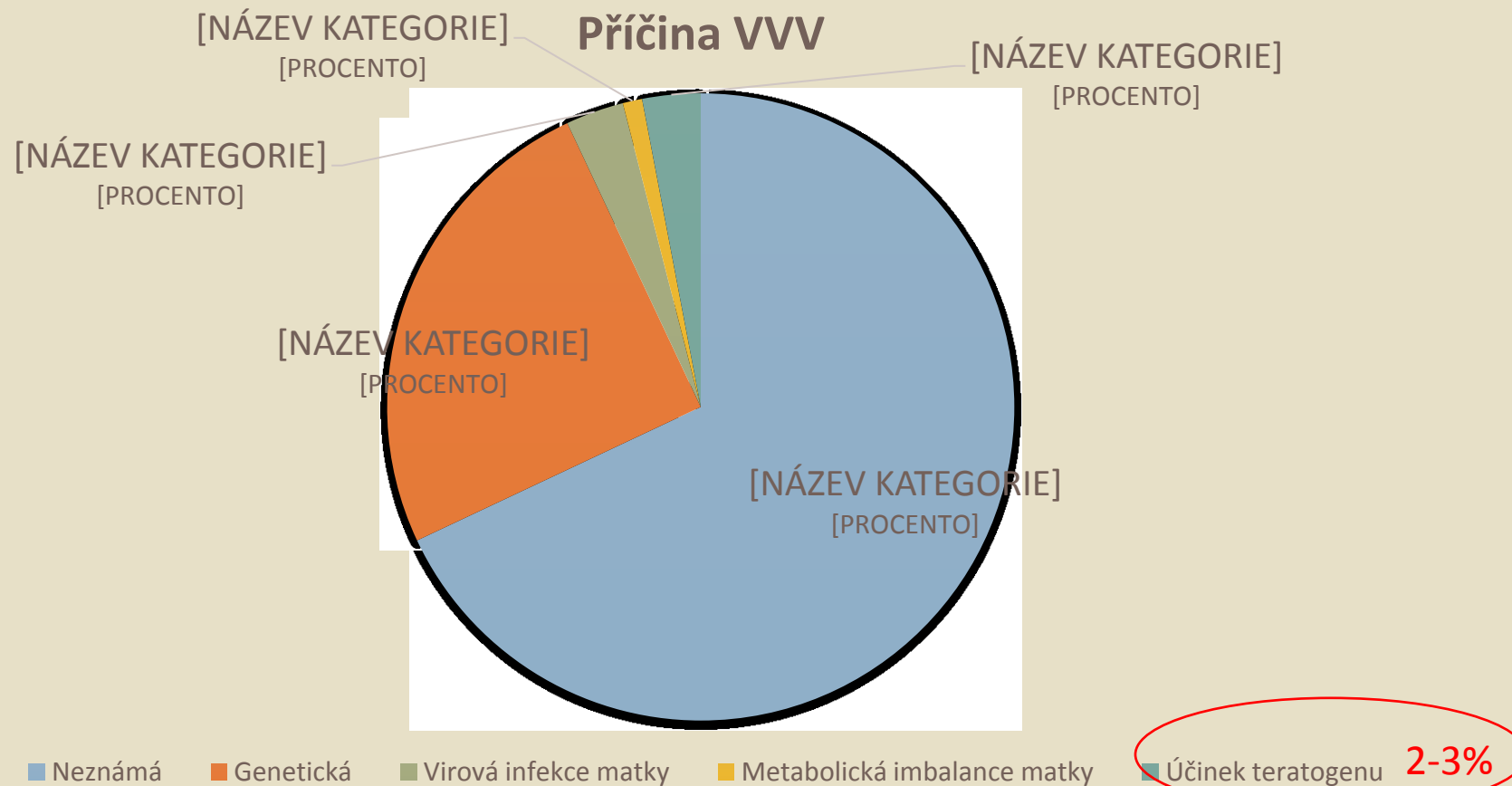
LÉKY V TĚHOTENSTVÍ Z HLEDISKA GENETIKY

Marie Klumplerová

Vývojová toxicita

- Je vlastnost látek/léčiv, která se projevuje nepříznivými účinky na embryo/plod či nedospělého jedince.
- Zahrnuje efekty vyvolané nebo manifestované prenatalně i ty efekty, které byly vyvolané či manifestované postnatálně.
- Vrozená vývojová vada – je přítomna při narození
- Embryotoxicita/ Fetotoxicita – toxický vliv na zárodek či plod vyvolané prenatalně.
Zahrnuje strukturální i funkční změny, smrt zárodku/porod mrtvého dítěte, růstovou retardaci
- Teratogenita – konkrétní případ emryo/fetotoxicity. Schopnost daného faktoru indukovat vrozenou vývojovou vadu / navýšit frekvenci výskytu vady v populaci.

Vrozené vývojové vady (VVV)



Teratologie - historie

- Hale 1933 – Nedostatečná dieta (deficience vit. A) u prasnic vede k narození selat bez očí
- Gregg 1941 – souvislost mezi epidemií zarděnek a zvýšeným výskytem VVV u potomků u žen těhotných v době epidemie
- Toxoplazmóza & hydrocephalus
- 1961 - Thalidomid

Teratogeny

- Záření (mikrocefalie, katarakta, hypotrofie)
- Mechanické poškození - např. útlak plodu při úbytku plodové vody
- Vysoká teplota (rozštěp neurální trubice)

- Chemické látky
- Léčiva

- Toxoplazmoza (porucha CNS, zraku)
- Rubeola (hypotrofie, mikrocefalie)
- Cytomegalovirus (poškození CNS)
- Herpesviry (zvýšené riziko odumření plodu, VVV CNS)

Thalidomid

- Uveden na trh v Německu v roce 1957 jako mírné sedativum, na léčbu nevolnosti (registrovaný název Contergan)
- Volně prodejný a doporučovaný pro těhotné
- 1961 - první hlášení malformací spojených s užíváním léku v rané fázi těhotenství
- Chybění prstů/končetin, fokomelie (phocomelie) – jeden prst či zdánlivě normální ruka nasedající přímo na trup, deformity očí, srdce, trávicího traktu, vylučovací soustavy, hluchota, slepota
- Německo 5,000-7,000 případů fokomelie, celkem celosvětově 10,000 (40-50% mortalita)
- Dnes nová registrace thalidomidu: léčba mnohočetného myelomu a lepry
- Mechanismus účinku: anti-angiogenní účinek, oxidativní stres

Co odhalila thalidomidová aféra

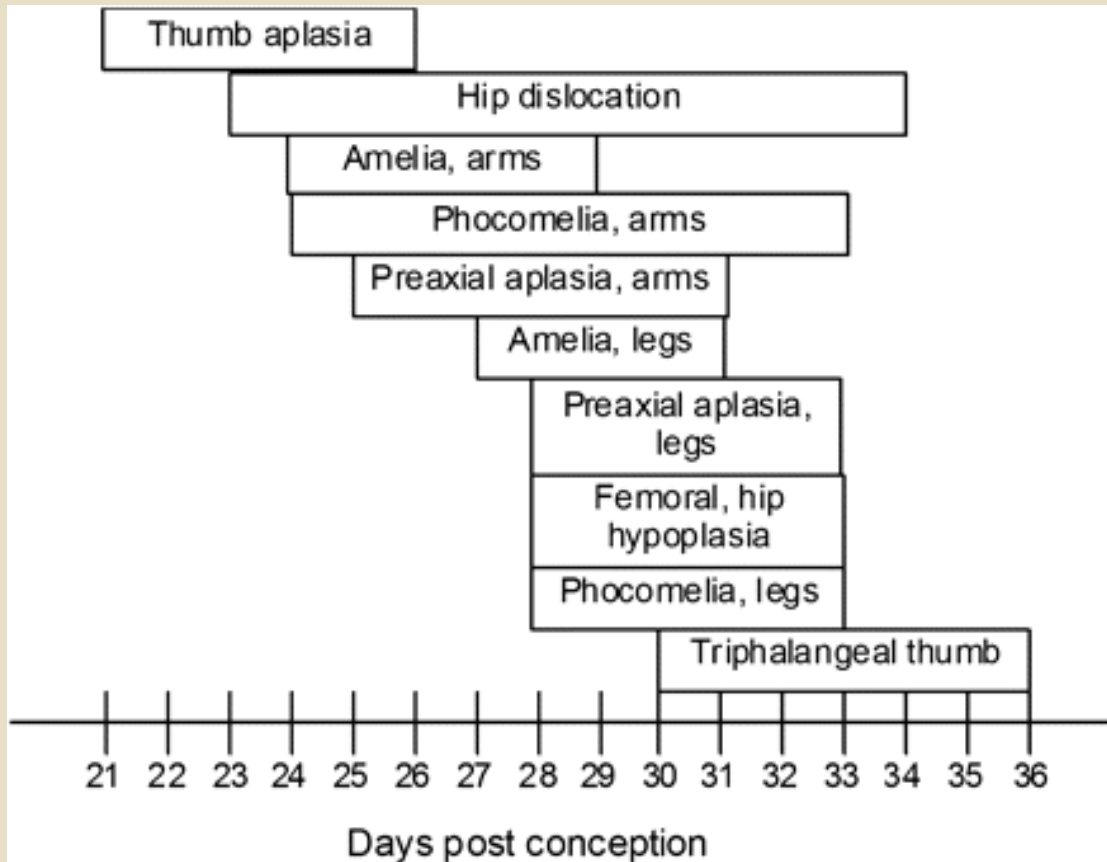
- Placenta nejsou „železná vrata“ bezpečně uzavírající plod a chránící jej před xenobiotiky v těle matky
- Nedokonalá prediktivní hodnota experimentálních modelů:
 - Dávka způsobující malformace je u člověka (a primátů) velmi nízká v porovnání s používanými zvířecími modely (potkani)
 - 0,1 mg/kg versus 20-300 mg/kg
 - Rozdíly mezi lidskou placentou a placentou hlodavců
- Důležitý je čas expozice - teratogenní okno
- Nedostatečné dosavadní hodnocení bezpečnosti léčiv

Změny hodnocení bezpečnosti léčiv

- Frances Oldham Kelsey
- Lékařka farmakoložka FDA (Food and drug administration)
- Odmítla registraci Thalidomidu v USA, požadovala další klinické zkoušky z důvodu existence studie spojující užívání thalidomidu v těhotenství s malformacemi. Vytrvala i přes nátlak výrobce.
- Je považována za osobu, která prosadila přísnější hodnocení bezpečnosti léčiv.



Teratogenní účinek souvisí s načasováním expozice teratogenní látky



Teratogenní účinky thalidomidu v závislosti na času expozice.

- Souvislost terat. účinku s načasováním expozice se nazývá **teratogenní okno, kritická perioda**
- Teratogenní okno je okamžik maximální zranitelnosti vyvíjejícího se plodu, ve kterém stačí jednorázové podání teratogenu pro vyvolání příslušné malformace.

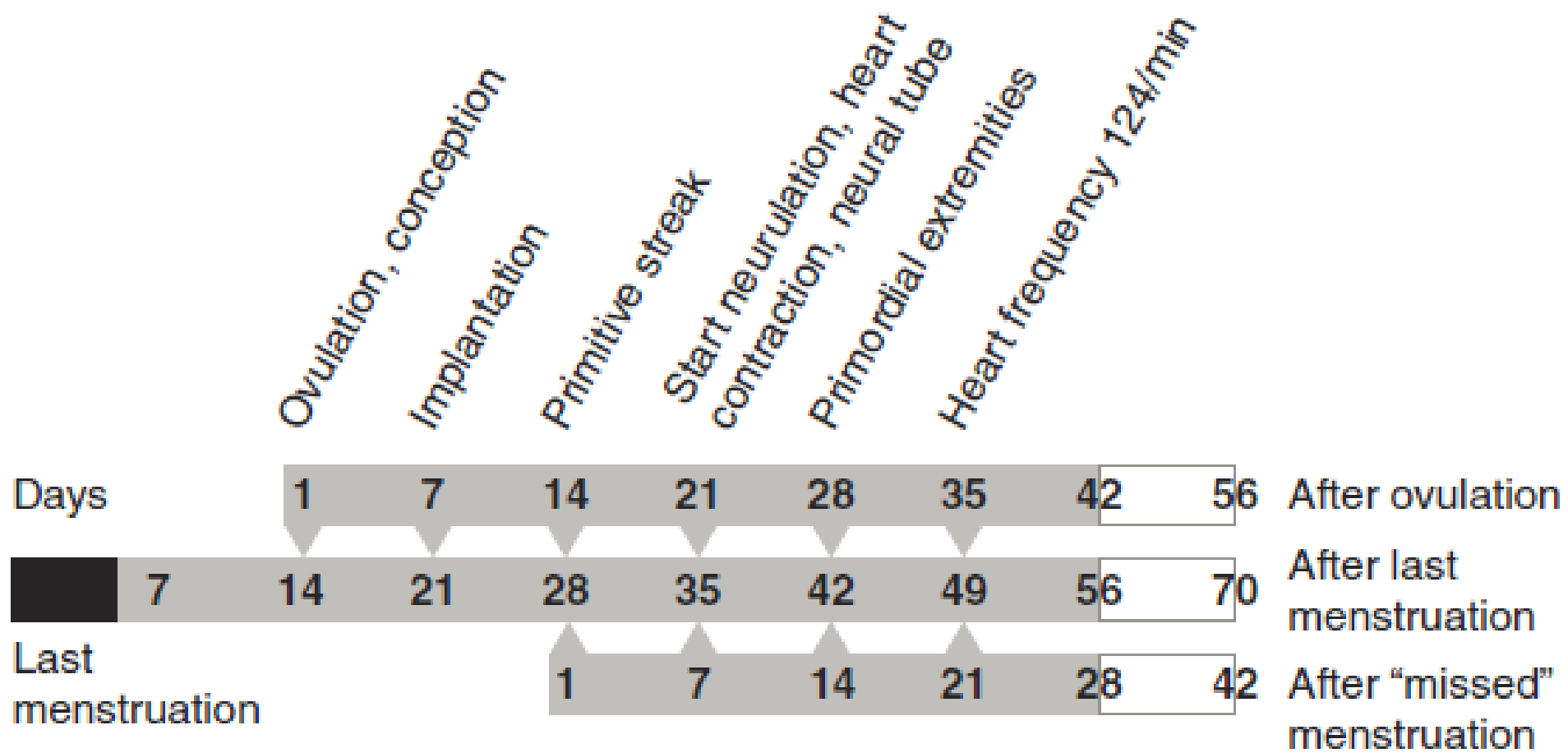
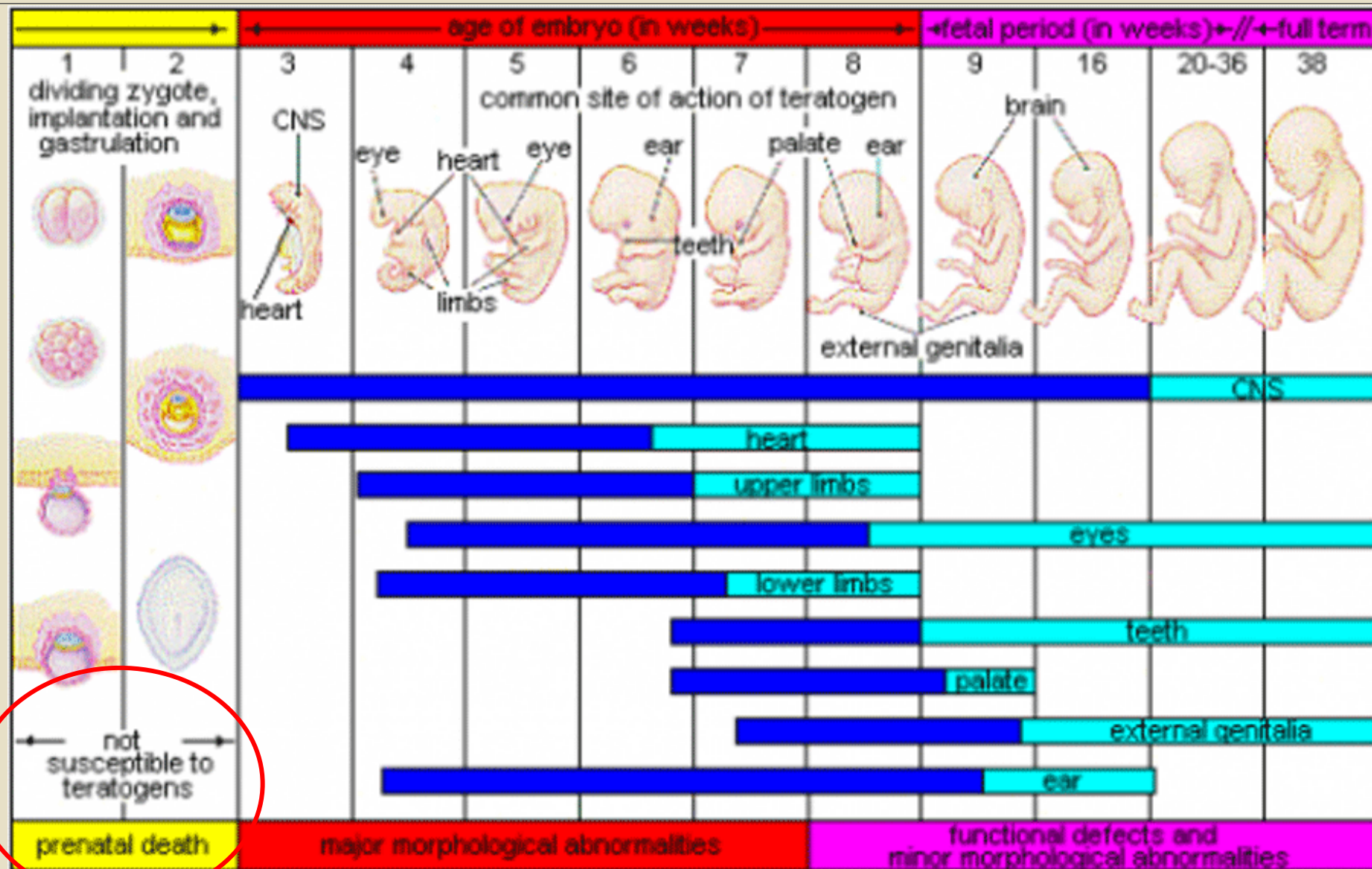


Figure 1 Timetable of early human development.

Na obrázku je představa o působení teratogenů, která již není zcela platná.

Nové poznatky ukazují, že teratogeny v prvních dnech po oplození **mají významné efekty.**

Neplatné



Organogeneze 15-60 den po oplození

Čas expozice chemikáliím/léčivům

- Prenatální a raná expozice

Poruchy: chování, reprodukce, endokrinních funkcí, imunitní kompetence, metabolismu xenobiotik, schopnosti učit se, ...

- Organogeneze

Především strukturní malformace

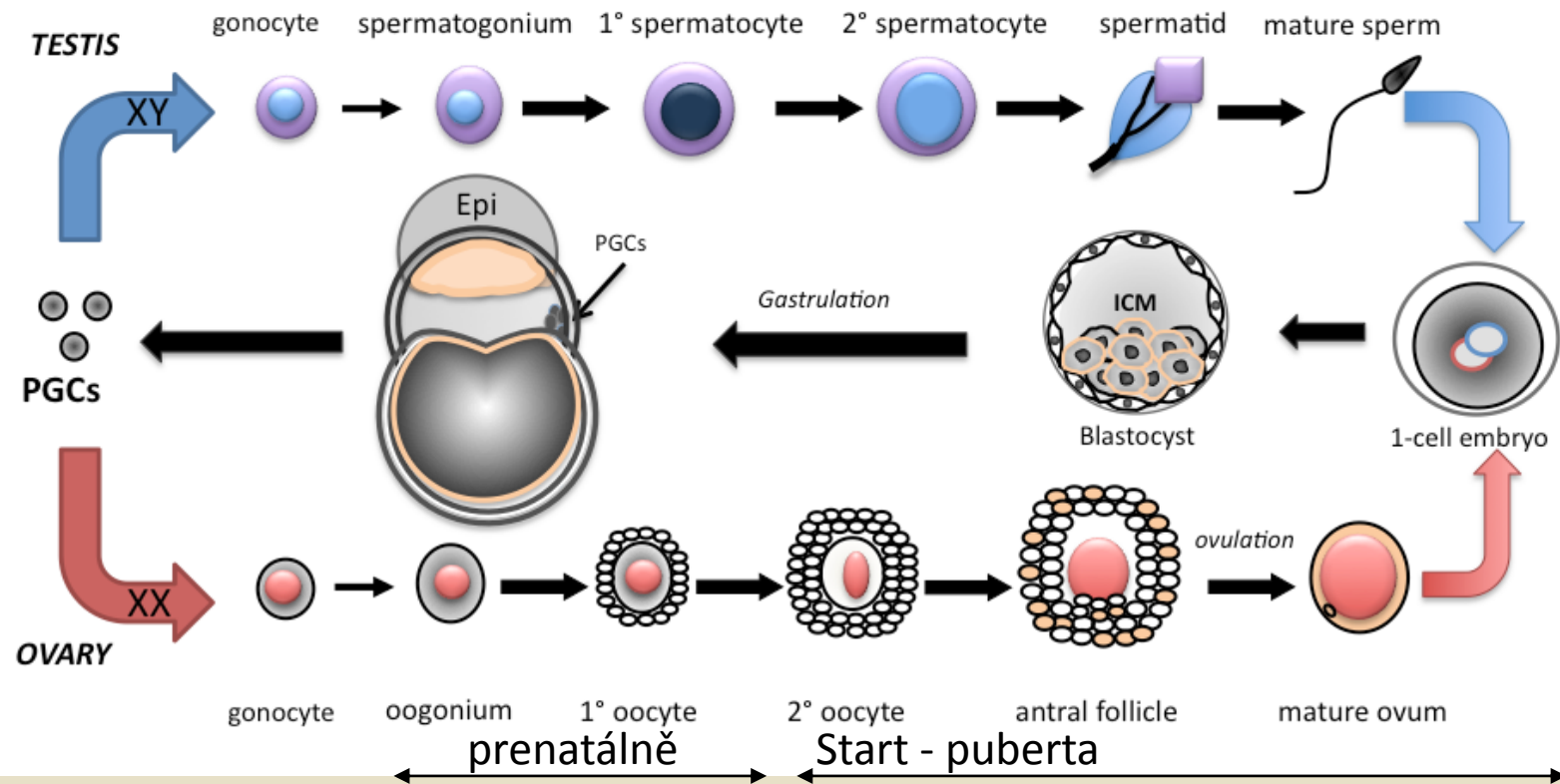
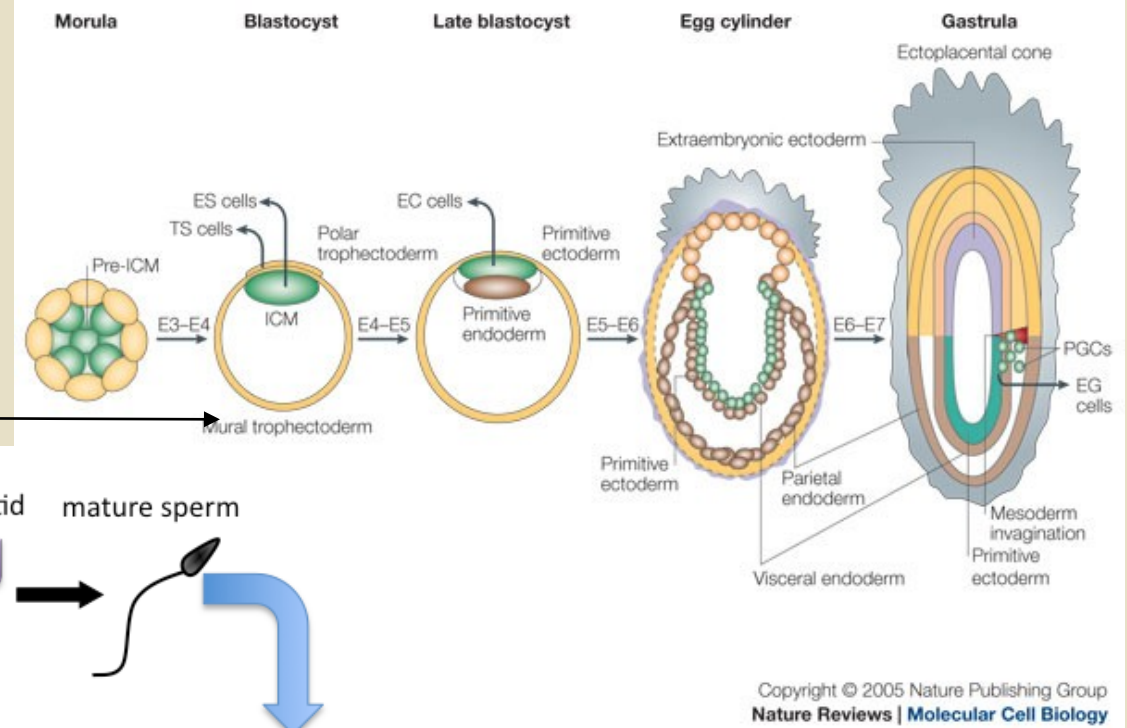
Negativní efekt na primordiální zárodečné buňky



- Fetální období

Některé formy strukturních malformací, poškození fce již vyvinutých organů (např. inhibitory ACE), funkční poškození, transplacentární karcinogeneze (DES – diethylstilbestrol - daughters), omezení růstu plodu, předčasný porod, porod mrtvého dítěte, ...

Primordiální zárodečné buňky (PGCs)

Start - puberta



1. PGCs 
2. Vajíčka x spermie 

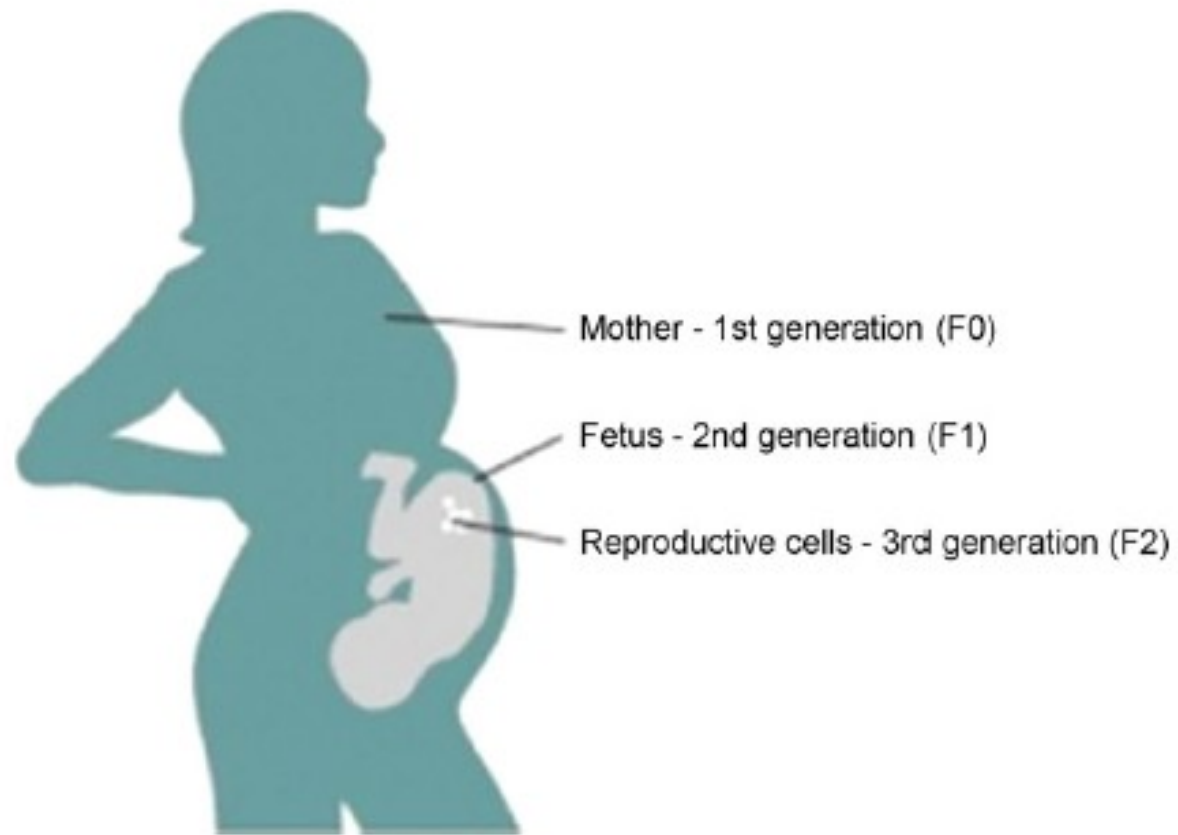


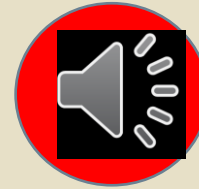
Fig. 2. Three generations at once are exposed to the some environmental conditions (diet, toxics, hormones, etc.).

Epigenetika

1.



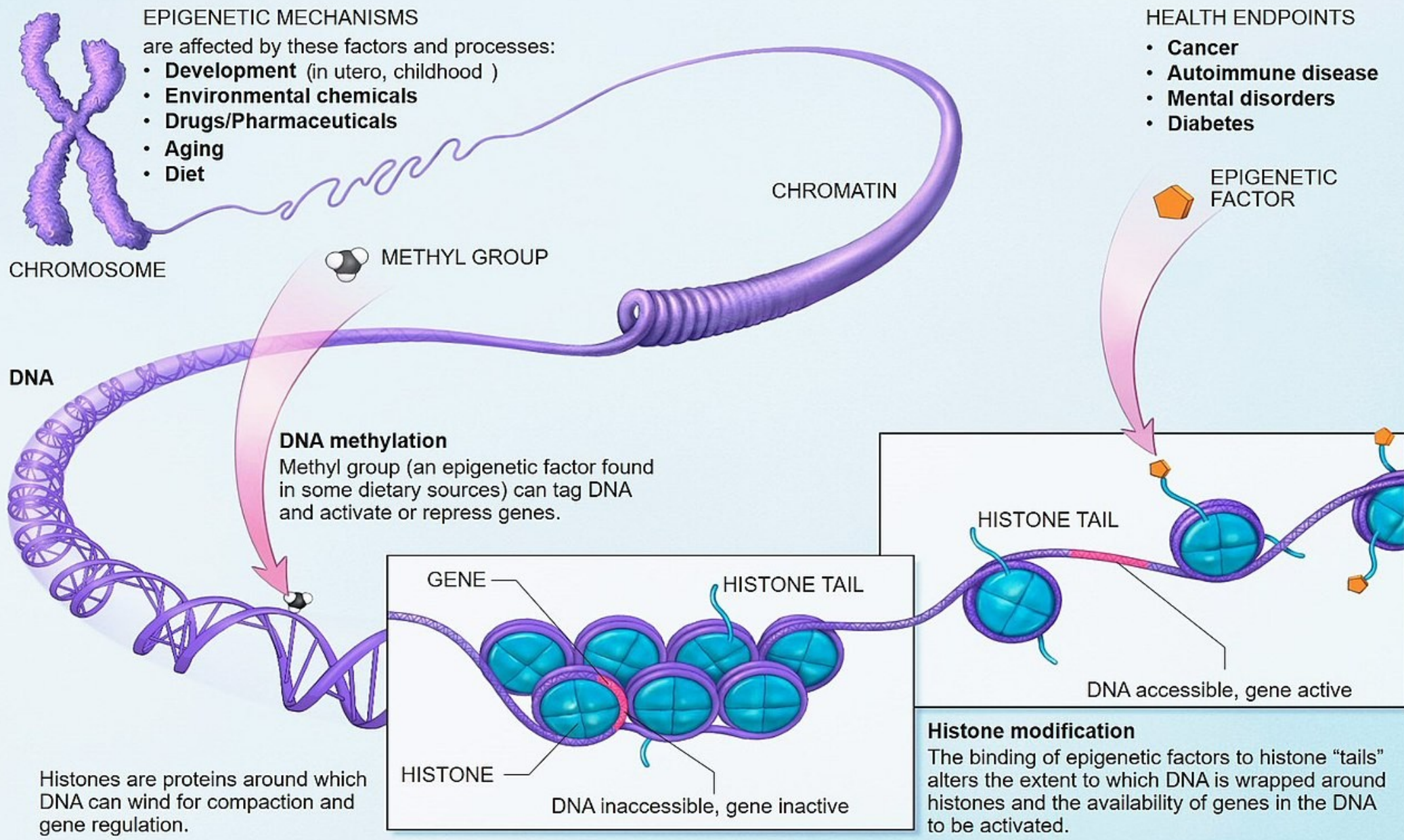
2.



- Z řeckého *epi* = okolo / nad / kolem
- Popisuje dynamické změny transkripčního potenciálu buňky beze změny nukleotidové sekvence
- Epigenetické mechanismy – methylace DNA, modifikace histonů, nekódující RNA (micro-RNA, si-RNA)
- Methylace DNA – methylace cytosinu v CpG dinukleotidech

CpG ostrůvky se nacházejí především v regulačních oblastech genů – jejich methylace brání vazbě transkripčních faktorů – inhibice transkripce – funkční umlčení genu

- Epigenetické mechanismy se uplatňují při diferenciaci buněk, nastavují a udržují konkrétní expresní profil daného buněčného typu
- Epigenetika zahrnuje také genomový imprinting, umlčení jednoho z X chromozomů u žen a další
- Epigenom = genom včetně epigenetických změn



EPIGENETIC MECHANISMS
 are affected by these factors and processes:

- **Development** (in utero, childhood)
- **Environmental chemicals**
- **Drugs/Pharmaceuticals**
- **Aging**
- **Diet**

HEALTH ENDPOINTS

- **Cancer**
- **Autoimmune disease**
- **Mental disorders**
- **Diabetes**

DNA methylation
 Methyl group (an epigenetic factor found in some dietary sources) can tag DNA and activate or repress genes.

Histone modification
 The binding of epigenetic factors to histone "tails" alters the extent to which DNA is wrapped around histones and the availability of genes in the DNA to be activated.

Histones are proteins around which DNA can wind for compaction and gene regulation.

Enviromentální epigenetika

- Popisuje souhru mezi vnitřním (hormony, imunitní systém) i vnějším prostředím (chemikálie, léčiva) a epigenomem
- Epigenom je citlivý na dysregulaci po celý život, ale nejvíce během embryonálního vývoje, což je období nejen rychlého dělení buněk ale také remodelace epigenomu
- Po oplození, před implantací dochází k demethylaci genomu (kromě imprintovaných genů)
- V období 5-7 dní po oplození je genom (kromě imprintovaných genů) methylován *de novo*

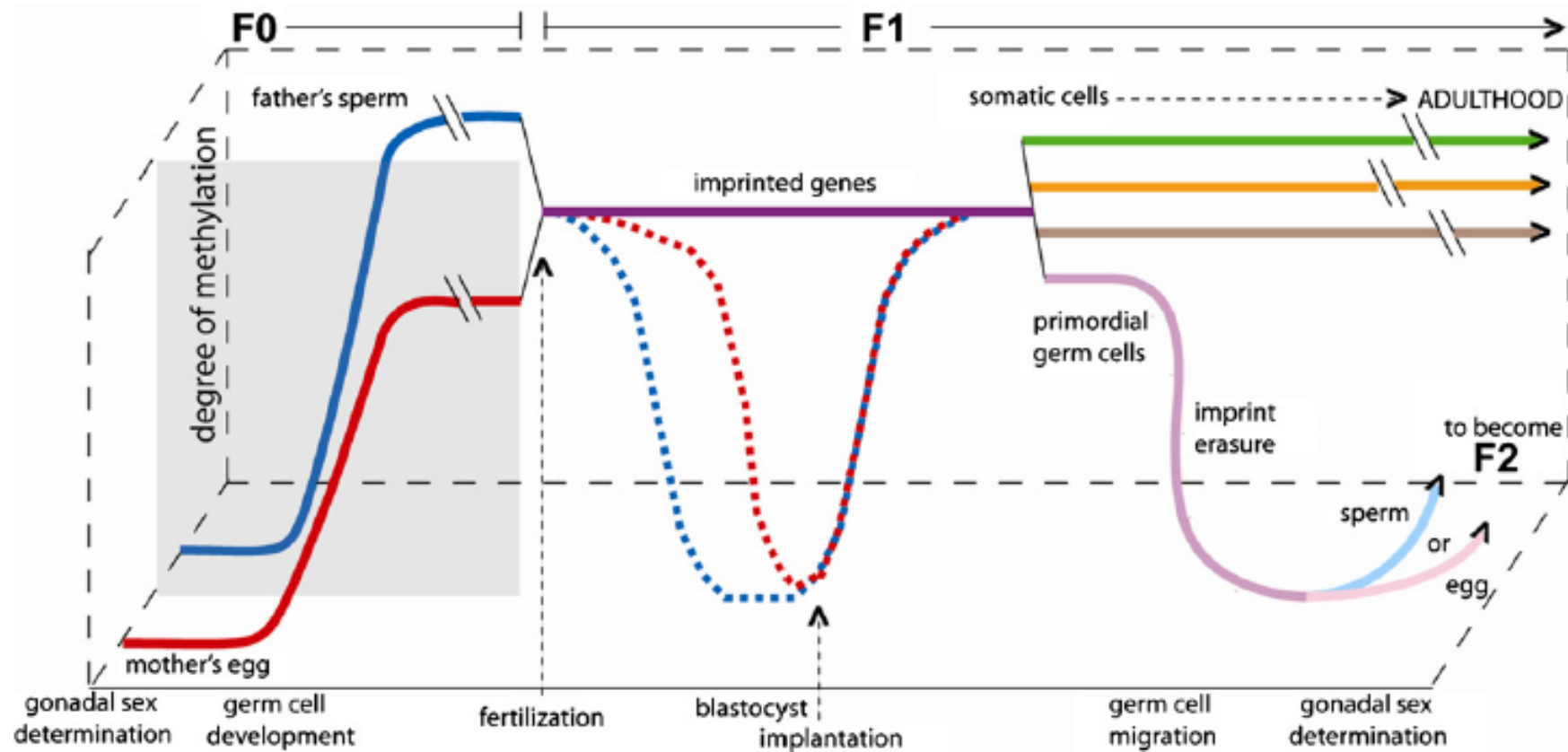


Fig. 1. There are multiple periods during which environmental exposures could affect the F₁ individual's methylation status, potentially affecting the F₁ phenotype. The first window is during F₀ (parental) germ cell development when methylation is reprogrammed following imprint erasure in the father's sperm (solid blue line) and the mother's egg (solid red line). The second window is post-conception, during F₁ embryonic development, when all but imprinted genes are demethylated, with the male germ line (dashed blue line) demethylating more quickly, followed by the female germ line (dashed red line). Imprinted genes (purple line) maintain their methylation marks throughout this reprogramming, allowing for the inheritance of parental-specific monoallelic expression in somatic tissues throughout adulthood [203]. All of the non-imprinted genes are subsequently remethylated once the embryo reaches the early blastocyst stage. During the gonadal sex determination of the F₁ embryo, primordial germ cells undergo epigenetic reprogramming, where parental imprinting is erased, as the germ cells of the F₁ individual mature (solid light blue or pink line).

Mechanismus embryo/fetotoxicity

- Nadměrná / nedostatečná apoptóza
- Inhibice mitózy
- Poškození integrity / funkce DNA
- Omezení biosyntézy - nedostatek prekurzorů, substrátu
- Narušení morfogenetických pohybů
- Mechanické narušení tkání
- Narušení enzymatických funkcí

Mechanismus embryo/fetotoxicity

- Interakce receptor – ligand (receptory pro hormony, růstové faktory, buněčnou signalizaci,
- Kovalentní vazba na DNA, proteiny
 - Porucha replikace, transkripce DNA nebo porucha fce proteinu
- Peroxidace proteinu a lipidů
 - Zejména prostřednictvím volných radikálů, poškození fce proteinu
- Inteference s thiolovými skupinami proteinů (často v aktivním, katalytickém místě proteinu)
 - Rtuť, kadmium
- Inhibice proteinové funkce (inhibice katalyckého místa, regulačního místa, místa pro vazbu jiných makromolekul) Methotrexát, inhibitory ACE

Vnímavost k teratogenezi závisí na genotypu zárodku



Fenotypová variabilita

- Většina teratogenů způsobuje charakteristický vzorec malformací, který se může mezi postiženými jedinci lišit

Variabilita ve vnímavosti

- Jen u části novorozenců vystavených *in utero* teratogenům se opravdu projeví nežádoucí efekt
- Např. anitepileptikum hydantoin: pouze 10% s novorozenců vystavených *in utero* hydantoinům má VVV

Farmakokinetika v těhotenství

- Farmakokinetika – se zabývá tím, co dělá tělo s léčivem (farmakodynamika – co dělá léčivo s tělem)
- Popisuje osud léčiva od podání až po jeho vyloučení
 - Absorpce
 - Distribuce
 - Metabolismus
 - Eliminace

Farmakokinetika v těhotenství - matka

- Absorpce

Zpomalení peristaltiky

Zvýšené prokrvení pokožky a plic

= zvýšené vstřebání léčiva, navýšení biologické dostupnosti

- Distribuce

- Zvětšení intravaskulárního a extravaskulárního objemu vody (až o 8 litrů) = zvětšení V_D hydrofilních léčiv

- Relativní pokles koncentrace plazmatických bílkovin + obsazení částí vazebných míst hormony

= Větší frakce volného (aktivního) léčiva

- Eliminace

- Zvýšená glomerulární filtrace

= Zvýšená eliminace látek, které se nezměněné vylučují ledvinami

Farmakokinetika v těhotenství - plod

- Placenta – lipidová bariéra – lipofilní látky rychlejší prostup než hydrofilní
- Pasivní difuze – neoionizovaná léčiva o malé molekulové hmotnosti rychleji než ionizovaná a léčiva o větší mol. hmotnosti (některé velké molekuly přes placentu nepřečázejí – např. heparin, insulin)
- Aktivní transport
- Po dostatečně dlouhé době se koncentrace většiny léčiv na obou stranách placenty vyrovná = tj. koncentrace v kompartmentu plodu je stejná jako v krvi matky, což je většinou nežádoucí

Absence detoxikačních mechanismů (či velmi nízká míra)

Absence hematoencefalické bariéry

Absence eliminačních mechanismů (eliminace do plodové vody, možnost hromadění léčiva)

Efluxové pumpy – aktivní transport látek ven z kompartmentu plodu

Farmakokinetika v těhotenství - plod

- Efluxové pumpy:
- Účinnost je dána lipofilitou léčiva
- Hydrofilní léčiva, která jsou substrátem efluxních pump – vhodnější pro užití v těhotenství
- Léčiva, která nejsou substrátem efluxních pump jsou vhodná pro cílenou léčbu plodu
- Léčiva, která se vylučují v nezměněné podobě a koncentrují se v plodové vodě mohou recirkulovat (mohou být znovu spolknuta) jsou také vhodná pro cílenou léčbu plodu (např. antivirotika, antibiotika při prevenci přenosu HIV z matky na plod)
- Při výběru léčiva je vždy třeba vzít v potaz existenci inter-individuálních (farmakogenetika) a intra-individuálních rozdílů v aktivitě pump a ostatních enzymů placenty

Understanding the mechanisms of variable susceptibility is key to identifying high-risk mother-infant pairs.

Finnell, 1999: Teratology: General considerations and principles

Paternální expozice léčivům/chemikáliím

- Možné cesty účinku (některé spíše teoretické):
- Přímé poškození spermií (např. mutageneze), narušení spermatogeneze či vyžívání spermií, látka může být ve spermiích přenesena během oplození do vajíčka
- Látka/léčivo může být při ejakulaci přeneseno do těla matky a zde vstřebáno poševní sliznicí do oběhu. (Léčiva však v semeni většinou dosahují mnohem nižších koncentrací než v krvi.)
- Při pohlavním styku po oplození se mohou škodlivé látky ze semene dostat přímo k vyvíjecímu se embryu/plodu.
- **Důležité doporučení při primární prevenci VVV** – při léčbě muže toxickými léčivy používat kondom, s plánovaným těhotenstvím počkat 2 spermatogenní cykly (6 měsíců)

Posouzení embryo/fetotoxicity

- **Nová léčiva**

- Preklinické hodnocení léčiv - Experimentální studie na laboratorních zvířatech a extrapolace výsledků na bezpečnost při použití lidmi.
- Problém: ne všechna léčiva toxická pro zvířata jsou toxická pro člověka a naopak. Otázka velikosti dávky.
- Klinické studie na těhotných nejsou povoleny

- **Léčiva již na trhu**

- Epidemiologické studie
- Zaznamenávání a sběr informací – registry VVV celosvětově
- Prospektivní studie
- Kohortové studie

Posouzení embryo/fetotoxicity

- WEC test – Whole embryo culture test
- Potkaní nebo myší embrya stará 9,5 dne
- Kultivace 48 hodin
- s testovaným léčivem, koncentrační řada
- pozitivní kontrolou – 5-fluorouracyl
- Negativní kontrolou – penicilin
- Hodnotí se: růstové parametry, morfologické znaky, přítomnost malformací

Posouzení embryo/fetotoxicity

- FETAX – Frog Embryo Teratogenity Assay Xenopus
- Drápatka vodní – *Xenopus laevis*
- Test probíhá na vajíčkách a raných embryonálních stadiích
- Hodnotí se: úhyn, malformace
- Další testy: Ryby, obojživelníci
- Výhoda – velký počet vajíček

Posouzení embryo/fetotoxicit

y

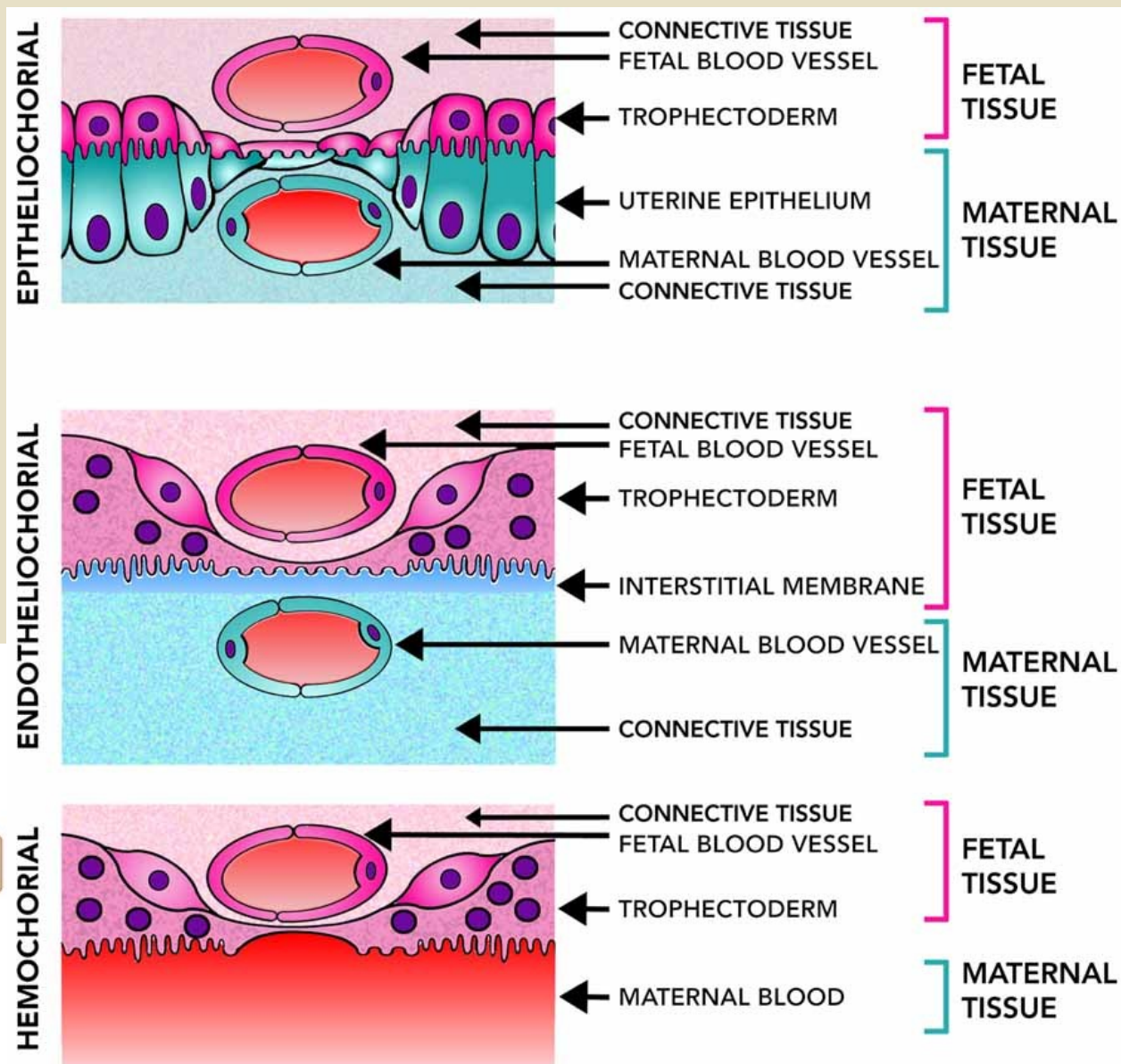
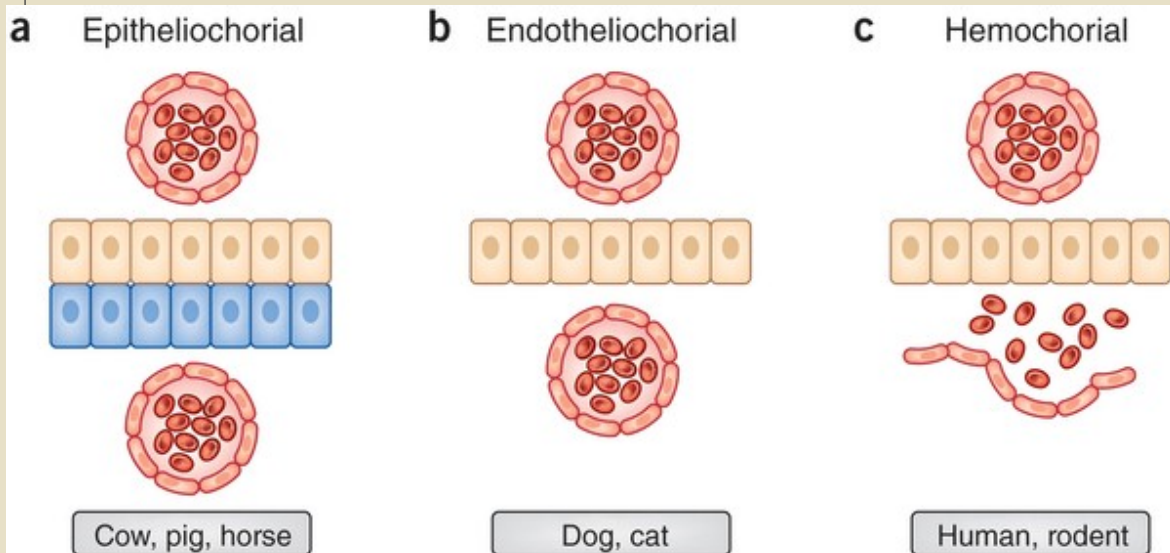
- Obojživelníci i ryby jsou člověku vývojově vzdáleni.
- Vhodnější jsou Savčí modely
- Oblíbený model – myš – nemusí být dostačující
- Thalidomidová aféra prokázala nutnost testování na primátech (Thalidomid – testy na potkanech)

Table 1

Comparison of pregnancy and placentation in mouse and human

	Mouse	Human
Implantation	Secondarily interstitial	Primarily interstitial
Yolk sac	Inverted yolk sac placenta functions to term	Yolk sac floats free in exocoelom during first trimester
Trophoblast invasion of uterine arteries	Shallow; limited to proximal decidua	Extensive; reaching myometrial vessels
Transformation of uterine arteries	Dependent on maternal factors (uterine natural killer cells)	Dependent on trophoblast
Placental exchange area	Labyrinthine	Villous
Interhaemal barrier	Three trophoblast layers; outer one cellular, inner two syncytial	Single layer of syncytial trophoblast (Langhans layer not part of barrier)
Trophospongium	Extensive	Absent
Placental hormones	Placental lactogens	Chorionic gonadotropin, chorionic somatomammotrophin, placental growth hormone; major source of progesterone
Gestation	Three weeks	Nine months

Typ placenty



http://www.nature.com/ni/journal/v16/n4/images_article/ni.3131-F1.jpg

http://www.frontiersin.org/files/Articles/52035/fnana-07-00022-HTML/image_m/fnana-07-00022-g002.jpg

Léčiva v těhotenství

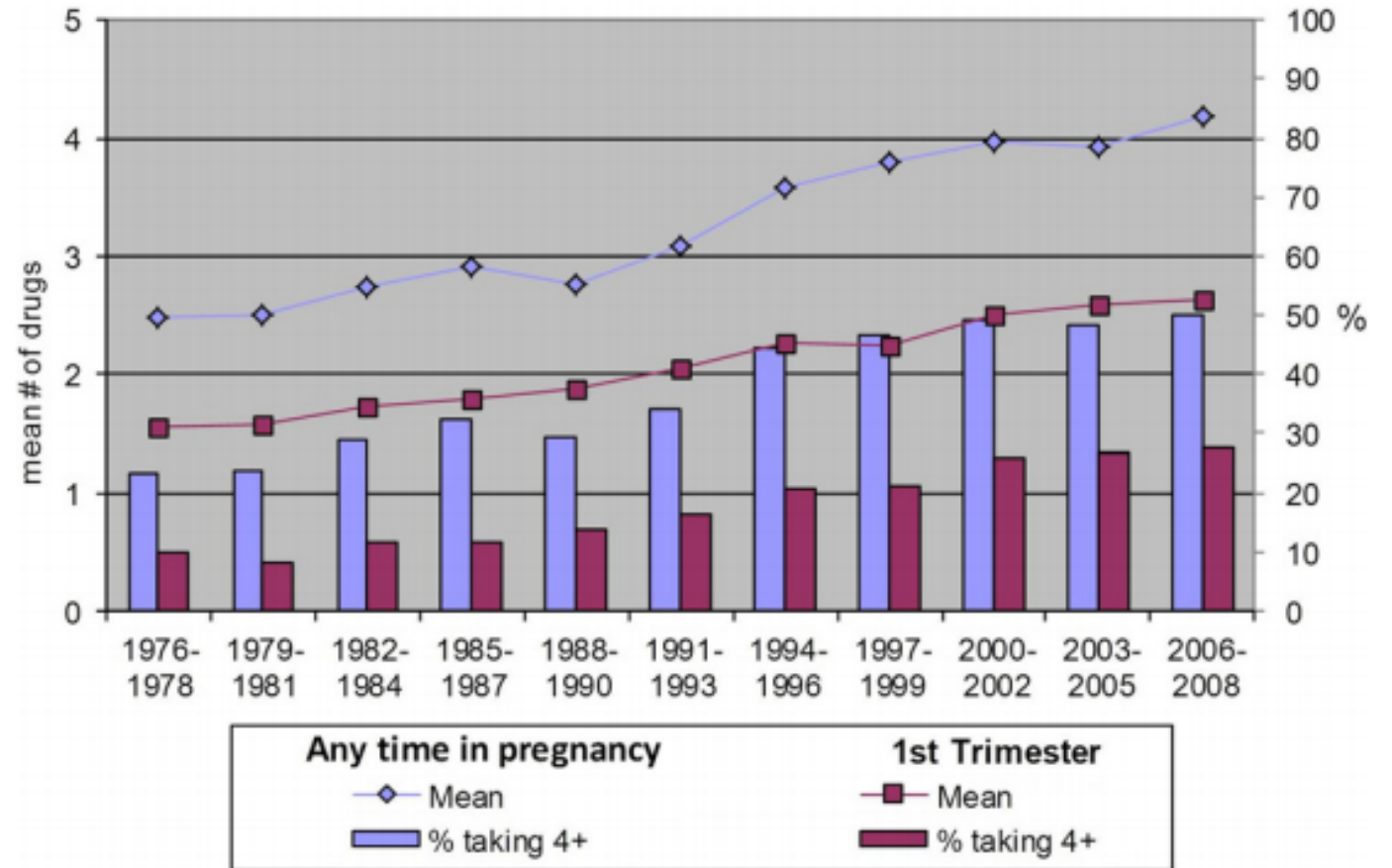
- K řešení situace je potřeba přistoupit různě podle toho v jaké situaci se žena nachází:
- 1) Před početím nebo před samotným užitím léčiva/před rozhodnutím které léčivo vybrat
- 2) V těhotenství pokud už expozice léčivu proběhla
- 3) Pokud se narodí dítě s VVV a žena užívala v těhotenství léky

Výskyt malformací v populaci 3-5 %

Léčiva v těhotenství

FIGURE 1

BDS: secular patterns of use of any medication at any time during pregnancy and restricted to the first trimester



BDS, 1976-2008, Boston and Philadelphia centers. Secular patterns of use of any medication at any time during pregnancy and restricted to the first trimester. Average number of medications and proportion of women taking 4 or more medications ($n = 25,313$) is shown.

Léčiva v těhotenství

- Volíme raději monoterapii než kombinaci léčiv.
- Volíme léčiva, která jsou déle na trhu. Vyhýbáme se také „inovovaným“ léčivým látkám.
- Vyhýbáme se léčivům, u kterých neznáme vliv na plod (potenciálně škodlivý) pokud nemají jasně prokazatelný účinek (platí i pro potravní doplňky).
- Volíme nejnižší možnou **účinnou** dávku.

- **Všeobecně k terapii žen v reprodukčním věku:**
- Dotaz zda není těhotná či těhotenství neplánuje
- Dlouhodobá léčba léčivy bez teratogenních účinku (pokud to je možné) v opačném případě kontracepce

Léčiva v těhotenství

- Vždy nutné individuální, komplexní posouzení situace.
- Zvážit zda je možná jiná než medikamentózní terapie.
- Pozor na nemoci, které bez medikamentózní léčby, jsou větším rizikem pro plod než samotná terapie: epilepsie, diabetes, deprese i horečka

Výskyt vrozených vývojových vad po expozici vyšší teploty v rizikových obdobích těhotenství

Encefalokéla	3 – 4 týden těhotenství
Mikroftalmie	4 – 7 týden těhotenství
Rozštěpy rtu	4 -7 týden těhotenství
Mikrocefalie	18 – 26 týden těhotenství
Srdeční vady	5 – 6 týden těhotenství
Talipes equinovarus	7 – 20 týden těhotenství
Polydaktylie	7 – 15 týden těhotenství

Léčiva v těhotenství

Dříve používané kategorie léčiv v těhotenství dle FDA:

A	Kontrolované studie u těhotných nepotvrdily riziko poškození plodu
B	Studie na zvířatech nepotvrdily riziko, kontrolované studie na těhotných nebyly provedeny
C	Prokazatelně teratogenní nebo embryocidní efekt u zvířat, studie na těhotných nebyly provedeny; případně nejsou dostupné údaje u zvířat ani těhotných
D	Existují doklady rizika pro lidský plod, ale z důvodu nenahraditelnosti v kritických situacích může být lék podán
X	Riziko podání léku jednoznačně převažuje nad prospěchem

Léčiva v těhotenství

Use of OTC Pain Medications in Pregnancy

Drug name	FDA pregnancy risk classification by trimester (1st/2nd/3rd)	Drug class	Crosses placenta?	Use in pregnancy
Acetaminophen (Tylenol)	B/B/B	Non-narcotic analgesic/antipyretic	Yes	Pain reliever of choice
Aspirin	D/D/D	Salicylate analgesic/antipyretic	Yes	Not recommended except for specific indications*
Ibuprofen (Advil, Motrin)	B/B/D	NSAID analgesic	Yes	Use with caution; avoid in third trimester†
Ketoprofen (Orudis)	B/B/D	NSAID analgesic	Yes	Use with caution; avoid in third trimester†
Naproxen (Aleve)	B/B/D	NSAID analgesic	Yes	Use with caution; avoid in third trimester†

OTC = over-the-counter; FDA = U.S. Food and Drug Administration; NSAID = nonsteroidal anti-inflammatory drug.

*—Associated with increased perinatal mortality, neonatal hemorrhage, decreased birth weight, prolonged gestation and labor, and possible teratogenicity.⁵

†—Associated with oligohydramnios, premature closure of the fetal ductus arteriosus with subsequent persistent pulmonary hypertension of the newborn, fetal nephrotoxicity, and periventricular hemorrhage.⁶

Information from Collins E. Maternal and fetal effects of acetaminophen and salicylates in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1981;58(5 Suppl):57S–62S, and Macones GA, Marder SJ, Clothier B, Stamilio DM. The controversy surrounding indomethacin for tocolysis. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:264–72.

A	Kontrolované studie u těhotných nepotvrdily riziko poškození plodu
B	Studie na zvířatech nepotvrdily riziko, kontrolované studie na těhotných nebyly provedeny
C	Prokazatelně teratogenní nebo embryocidní studie provedeny; případně nejsou dostupné údaje u
D	Existují doklady rizika pro lidský plod, ale z důvodu může být lék podán
X	Riziko podání léku jednoznačně převažuje nad

The A, B, C, D and X risk categories, in use since 1979, are now replaced with narrative sections and subsections to include:

Pregnancy (includes Labor and Delivery):

- Pregnancy Exposure Registry
- Risk Summary
- Clinical Considerations
- Data

Lactation (includes Nursing Mothers)

- Risk Summary
- Clinical Considerations
- Data

Females and Males of Reproductive Potential

- Pregnancy Testing
- Contraception
- Infertility

Pregnancy and Lactation Labeling Rule (PLLR) platný od roku 2015 **ruší** kategorie A,B, C, D, X a nahrazuje je textem, který obsahuje



Léčiva v těhotenství

Prokazatelné teratogeny

LÉK	RIZIKO
fenytoin, karbamazepin, valproát	defekty neurální trubice (spina bifida)
lithium	srdeční malformace
warfarin	kostní deformity, chondrodysplazie, defekty CNS
retinoidy	defekty CNS, srdce, končetin, jater
danazol a ostatní androgeny	virilizace, pseudohermafroditismus
cytostatika	malformace končetin a CNS

Fetotoxický efekt

LÉK	RIZIKO
inhibitory ACE	renální selhání, oligohydramnion
beta-blokátory (atenolol)	zpomalení růstu
thyreostatika	hypothyreóza
benzodiazepiny, barbituráty, opioidy	vznik závislostí, útlum CNS
nesteroidní antirevmatika	konstrukce ductus arteriosus
anticholinergika	novorozenecký mekoniový ileus
tetracykliny	poruchy vývoje skloviny, kostní hmoty
warfarin	intrakraniální krvácení
kyselina acetylsalicylová (vyšší dávky)	neonatální krvácení
perorální antidiabetika	novorozenecká hypoglykémie
cytostatika	

Léčiva v těhotenství

Antiepileptika

- Zvyšují riziko VVV trojnásobně, u kombinované terapie až desetinásobně
- Neléčená epilepsie zvyšuje riziko VVV zpravidla více než samotné léky
- => převod na monoterapii
- => nejnižší možná účinná dávka
- => prevence VVV - kyselina listová

Alkohol

- Způsobuje Fetální alkoholový syndrom (FAS) – typická faciální dysmorfie, psychomotorická retardace, hypotrofie
- Vliv genetické predispozice matky: hrají roly geny kódující enzymy podílející se na metabolismu alkoholu