# Blok 4 Časný vývoj embrya - časná gravidita

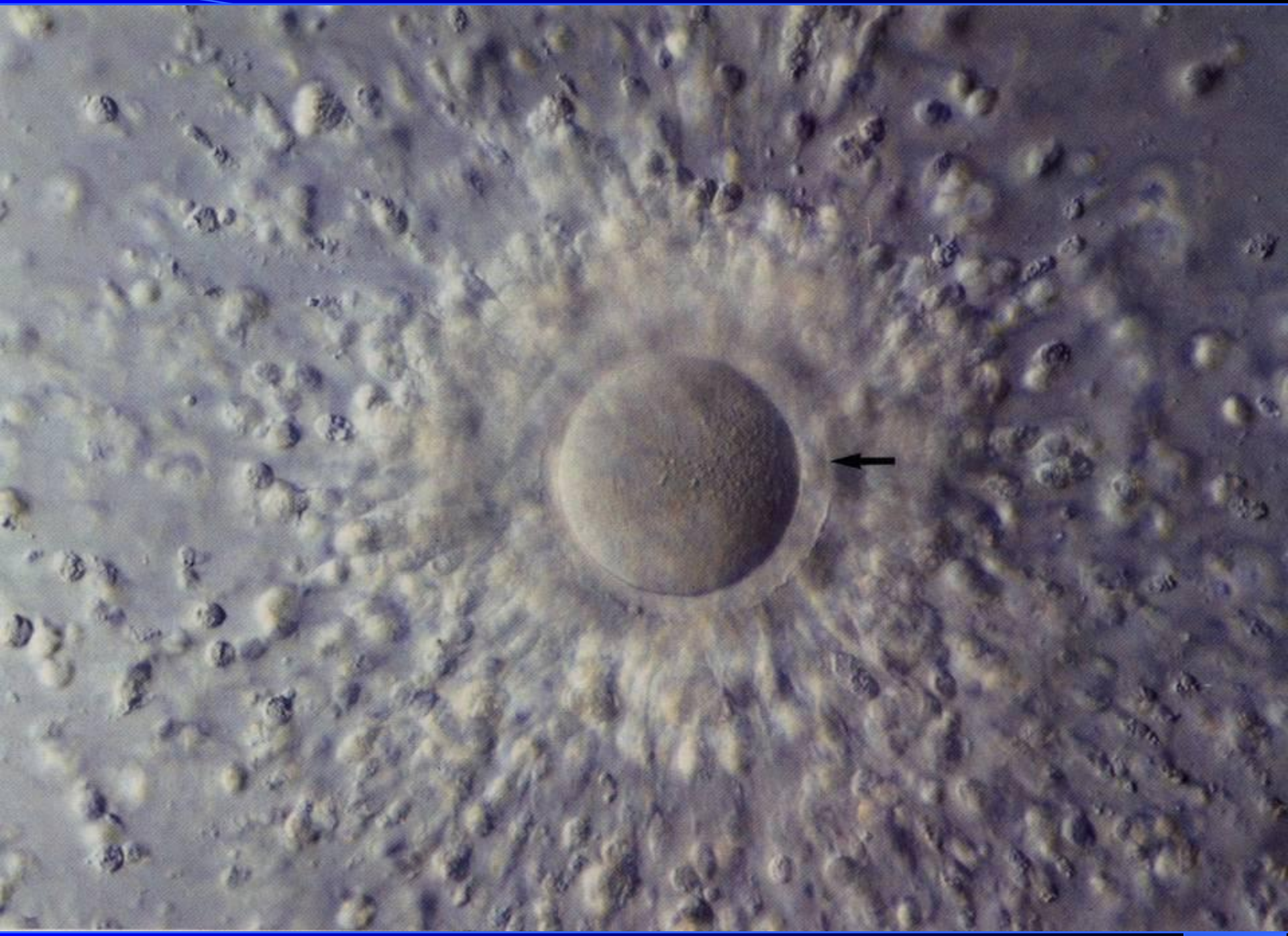
M. Sedláčková
Ústav histologie a embryologie LF MU

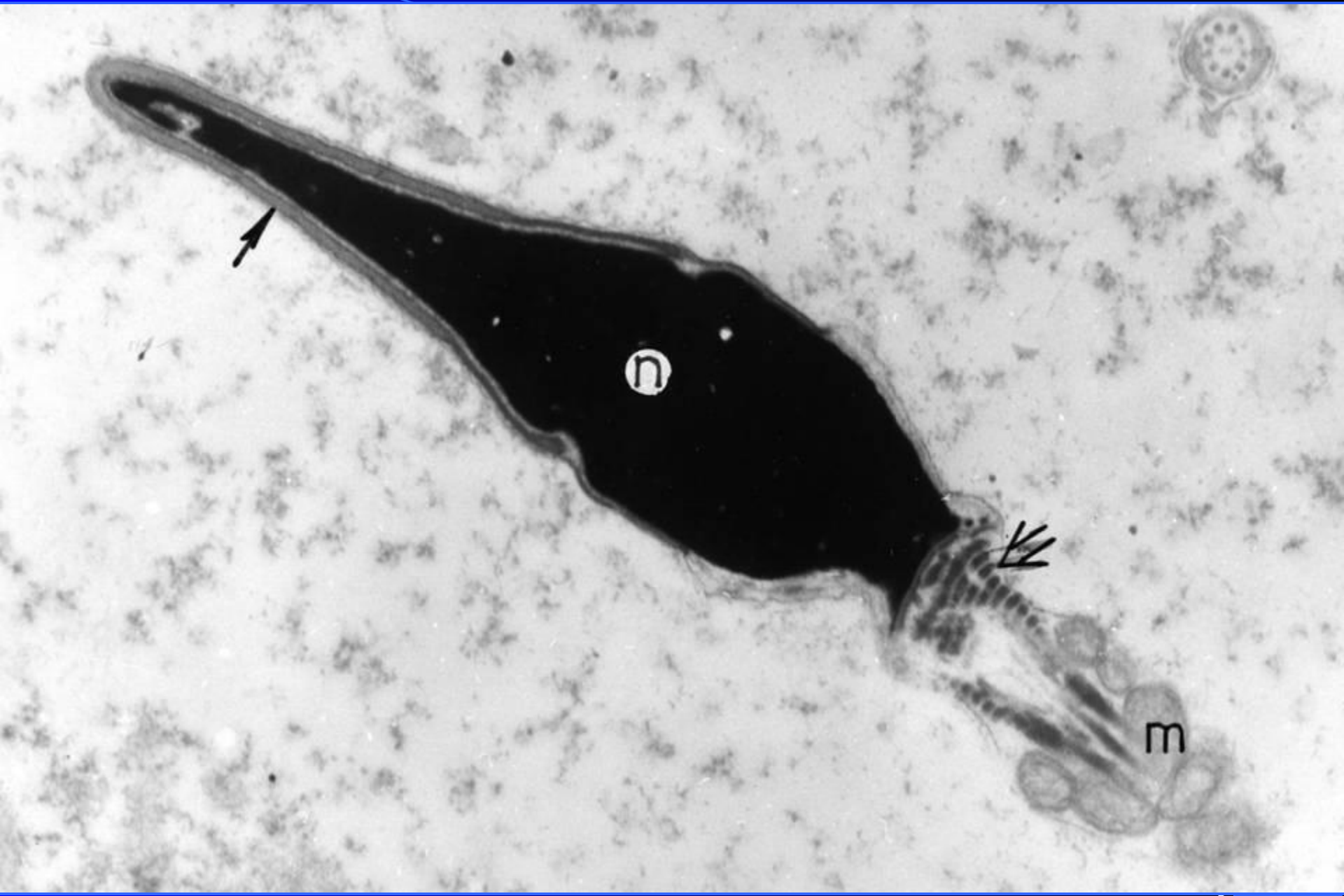
Brno, 6.6.2008

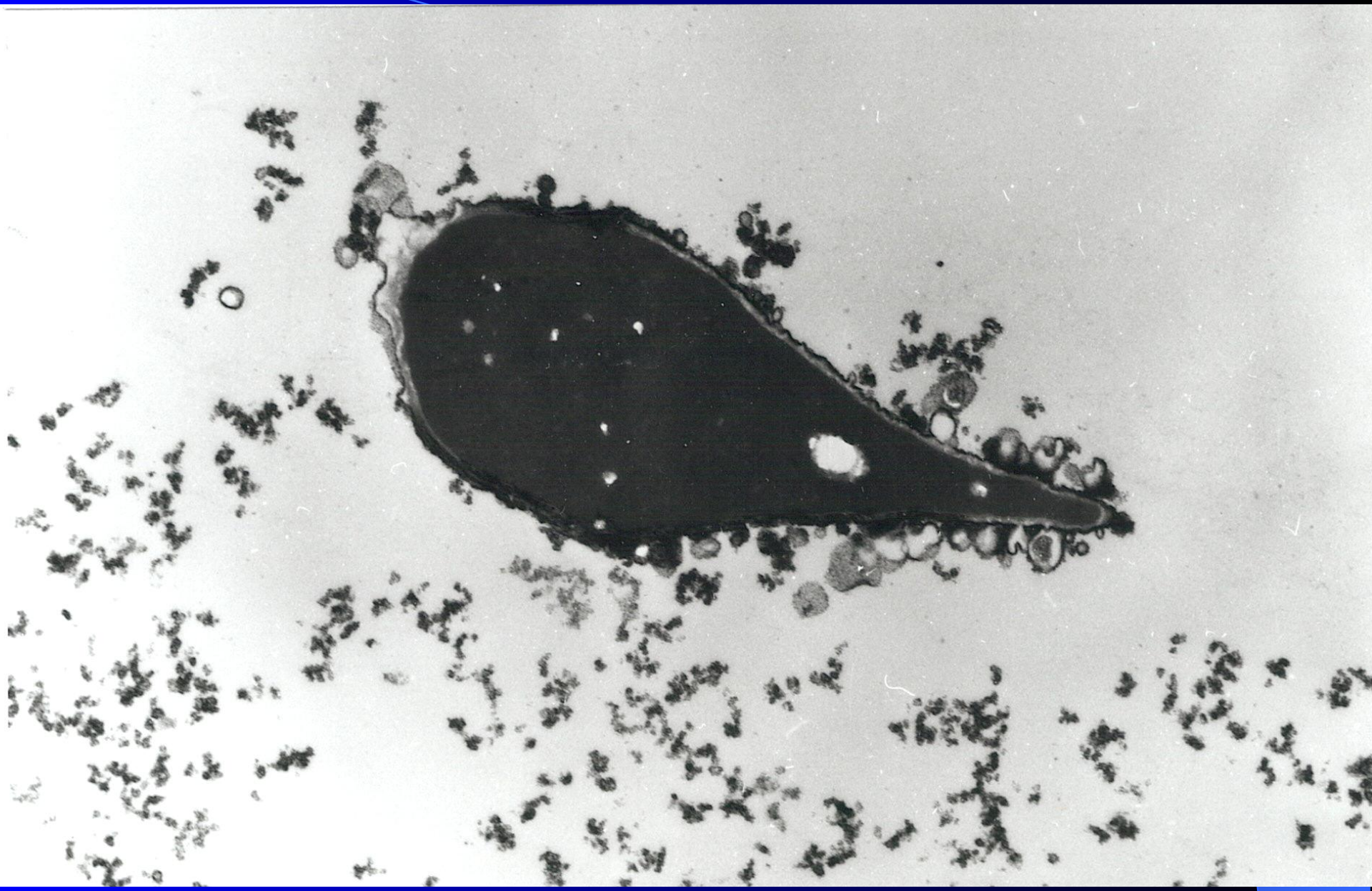
- 4.1 Od interakce gamet po první dělení
- 4.2 Embryonální vývoj- od prvního dělení po implantaci
- 4.3 Implantace
- 4.4 Postimplantační embryologie
- 4.5 Výsledek IVF
- 4.6 Selhání časné gravidity

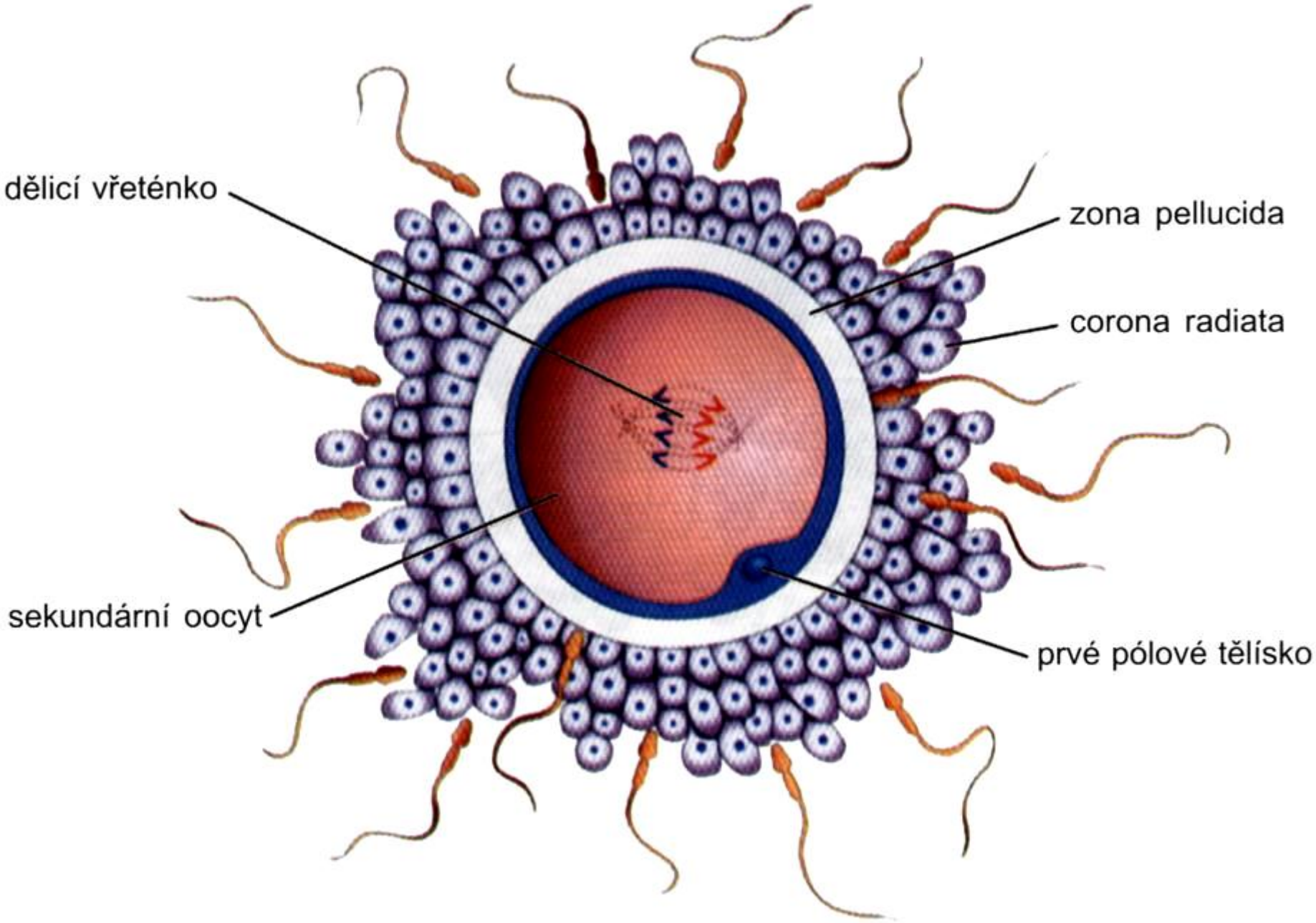
# 4.1 Od interakce gamet po první dělení

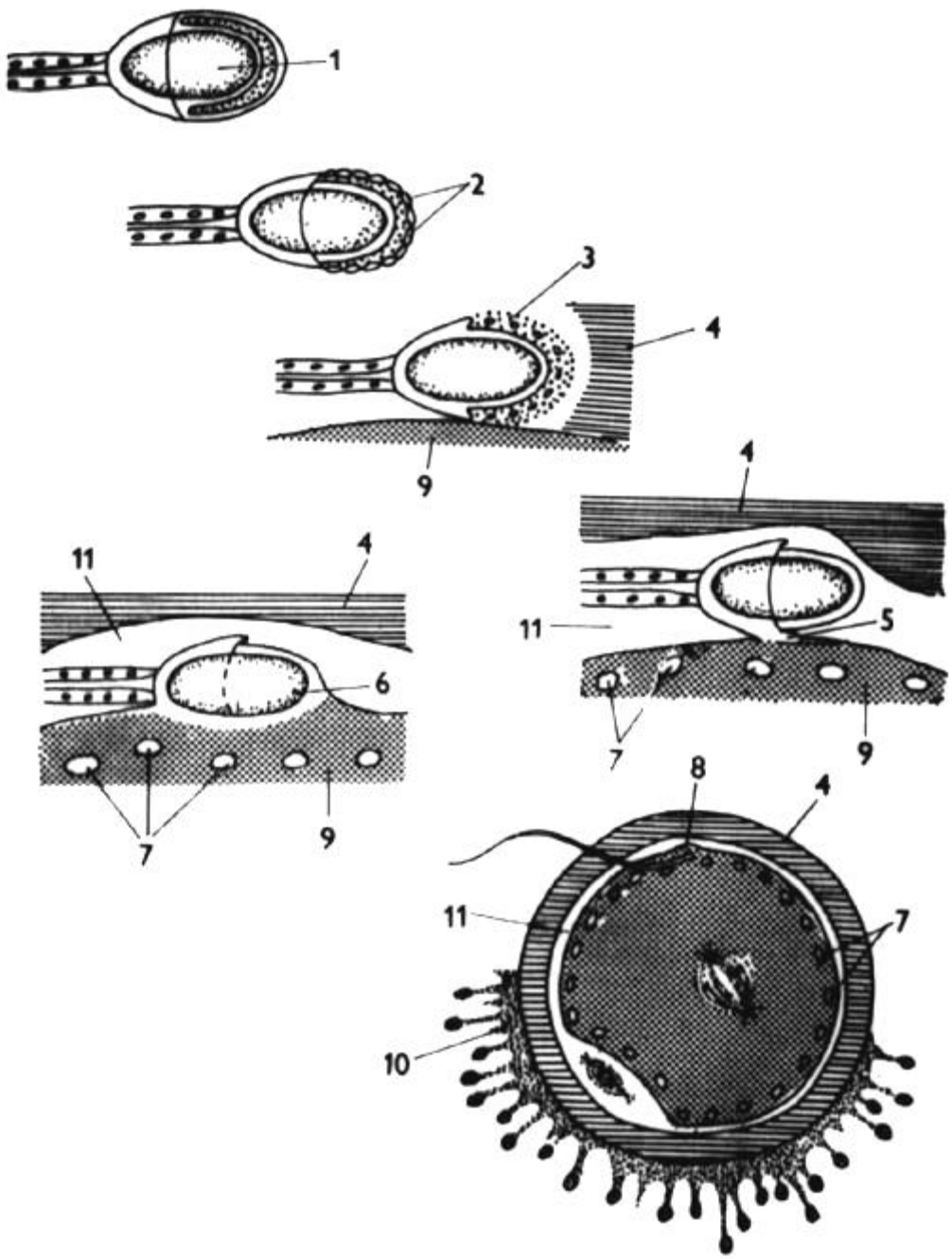
- kapacitace spermií
- signalizace mezi oocytem a spermií
- akrozomální reakce
- průnik spermie kumulem
- interakce spermie se zonou pellucidou
- splynutí spermie s oocytem
- aktivace oocytu (kortikální reakce, dokončení 2. meiotického dělení, vznik samičího prvojádra)
- dekondenzace jádra spermie a vznik samčího prvojádra
- replikace chromosomů

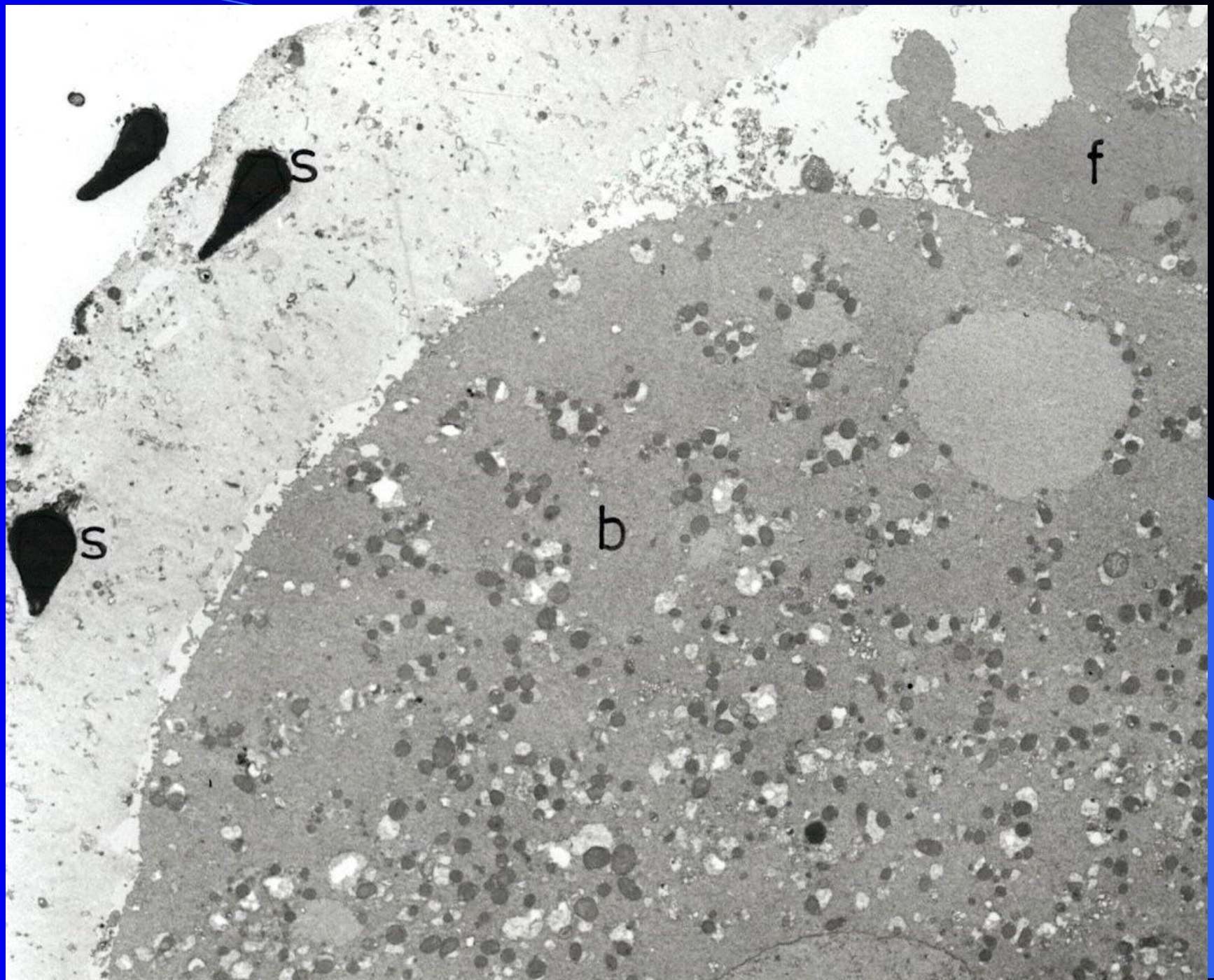


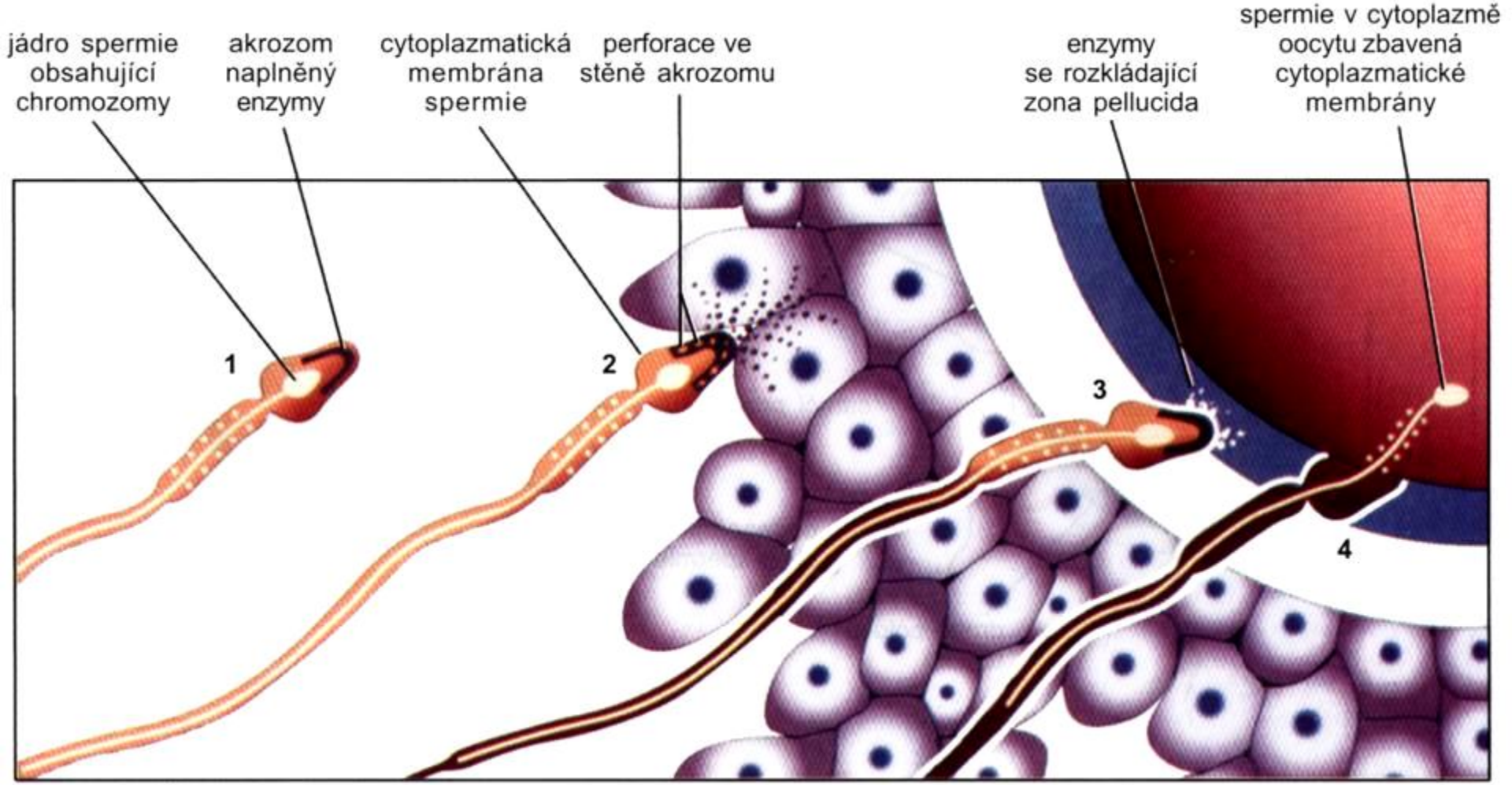

n
m

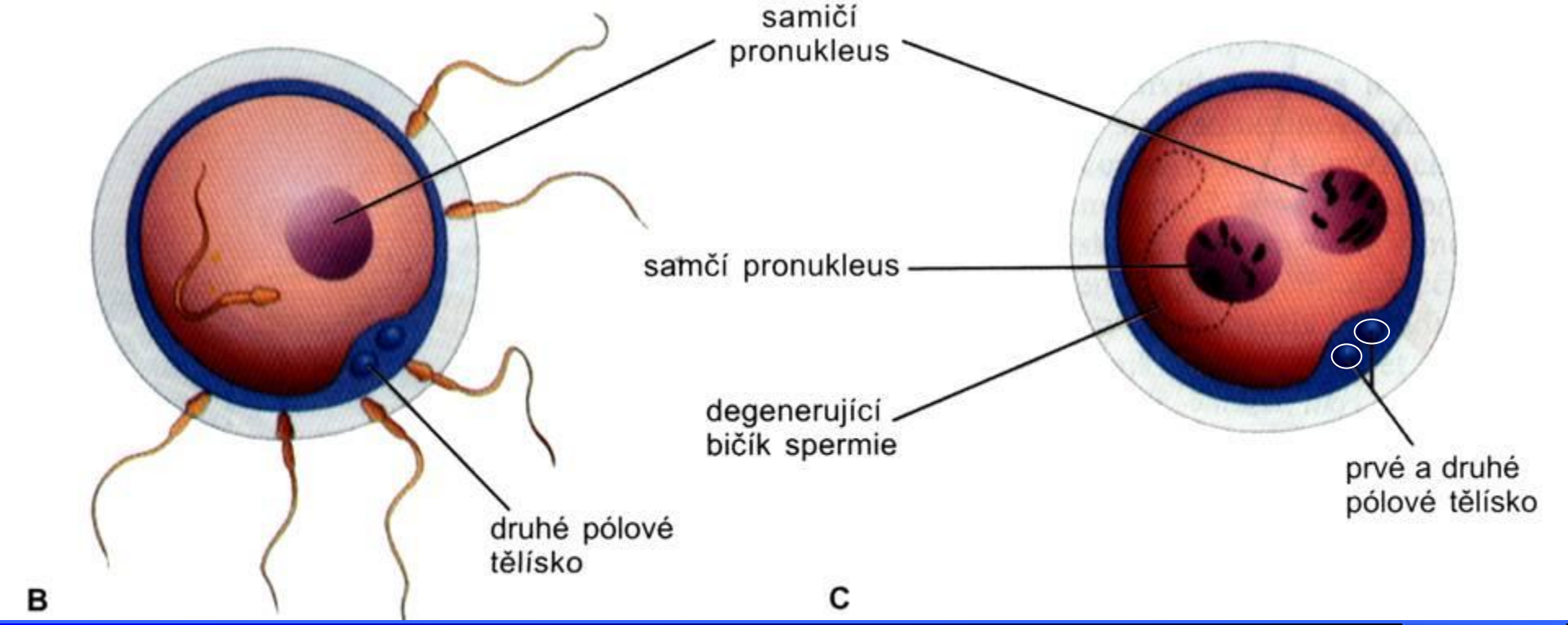


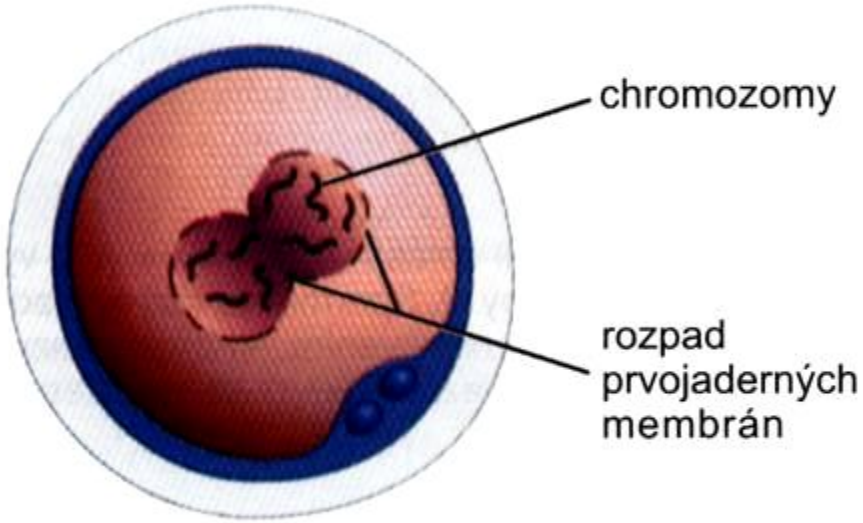

dělicí vřeténko
zona pellucida
corona radiata
sekundární oocyt
prvé pólové tělísko

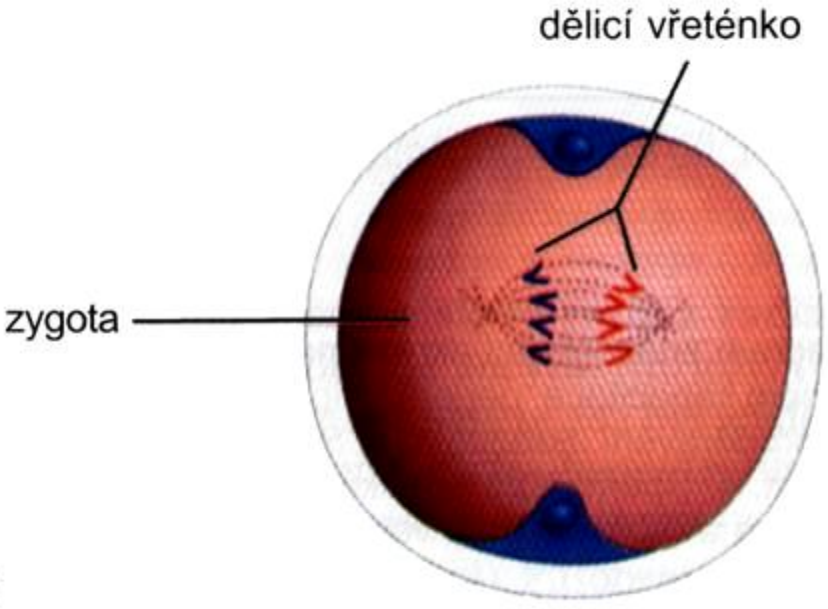

1
2
3
4
9
4
11
5
7
9
11
4
6
7
9
8
4
11
7
10


s
s
f
b


jádro spermie obsahující chromozomy
akrozom naplněný enzymy
cytoplazmatická membrána spermie
perforace ve stěně akrozomu
enzymy se rozkládající zona pellucida
spermie v cytoplazmě oocytu zbavená cytoplazmatické membrány
1
2
3
4


samičí
pronukleus
samčí pronukleus
degenerující
bičík spermie
druhé pólové
tělísko
prvé a druhé
pólové tělísko
B
C


chromozomy
rozpad
prvojaderných
membrán


dělicí vřeténko
zygota
E

# Lidské vajíčko

- oligolecitální
- izolecitální

↓

rýhování totální a ekvální

↓

osa polarity vzniká až v průběhu vývoje embrya, po jeho implantaci do dělohy

# Buněčný cyklus lidské zygoty

- variabilní trvání jednotlivých fází i u zygot z téhož souboru
- první dělení proběhne po ICSI o 2-4 hod. dříve než po IVF
- $G_1$ fáze začíná odloučením 2. pólového tělíska (3-14 hod. po inseminaci)
- S fáze začíná 8-14 hod. a končí 14-24 hod. po inseminaci
- $G_2$ fáze končí obvykle do 30 hod. po inseminaci
- M fáze trvá konstantně 3-4 hod.
- většina zygot dokončí první mitózu mezi 24 a 30 hod.
  (27-33 hod.)

# Rýhování

- zahrnuje zhruba 5 následujících mitotických dělení (32 buněk)
- dochází postupně k zapojení embryonálního genomu (mezi 4- a 8-bun. stadiem), do té doby se uplatňují geny a jejich produkty mateřského původu (některé geny však mohou být exprimovány i dříve, několik genů určujících pohlaví je aktivních již od stadia prvojader)
- projevuje se rozdílná exprese genů v závislosti na tom, zda pocházejí od otce či od matky (imprinting)
- začíná diferenciace buněk (postupné omezování vývojového potenciálu) v závislosti na lokalizaci buněk (vně, uvnitř)
- po 8-bun. stadiu se začínají vytvářet mezibuněčné kontakty (spoje) – kompaktace, komunikace a vzájemné působení buněk, umožnění vzniku dutin

# Rýhování

- rozdělení zygoty by mělo proběhnout za 24-30 hod. po inseminaci (27-33 hod.)
- k zastavení vývoje může dojít ve kterémkoli stadiu (vícejadernost, cytoplazmatické anomálie)
- zastavení po 8-bun. stadiu znamená selhání zapojení embryonálního genomu

# Realizace genomu zygoty

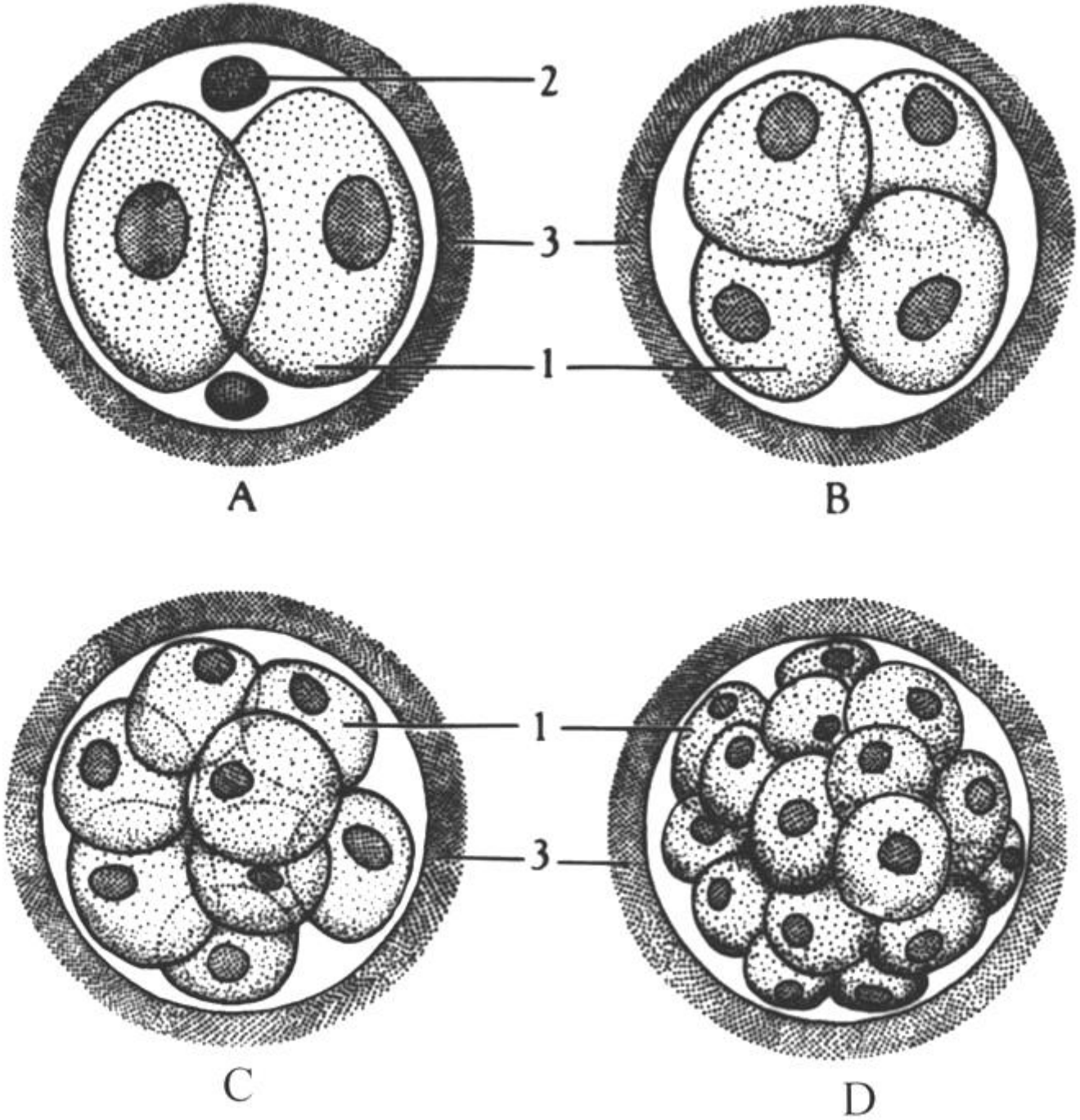
- ontogeneze představuje řadu morfologických a funkčních procesů, které jsou přesně naprogramovány a probíhají v určeném pořadí (v čase i prostoru)
- genom zygoty (i každé další buňky) obsahuje úplnou genetickou informaci, která je však v různých etapách vývoje různě využívána (diferenciace)
- některé geny se transkribují kontinuálně, jiné jsou aktivovány jen ve vztahu ke specializované funkci buňky
- na diferenciaci má vliv poloha buněk, polarizace buněk a uplatňuje se embryonální indukce – interakce mezi buňkami a tkáněmi, kdy jedna má určující vliv na diferenciaci jiné

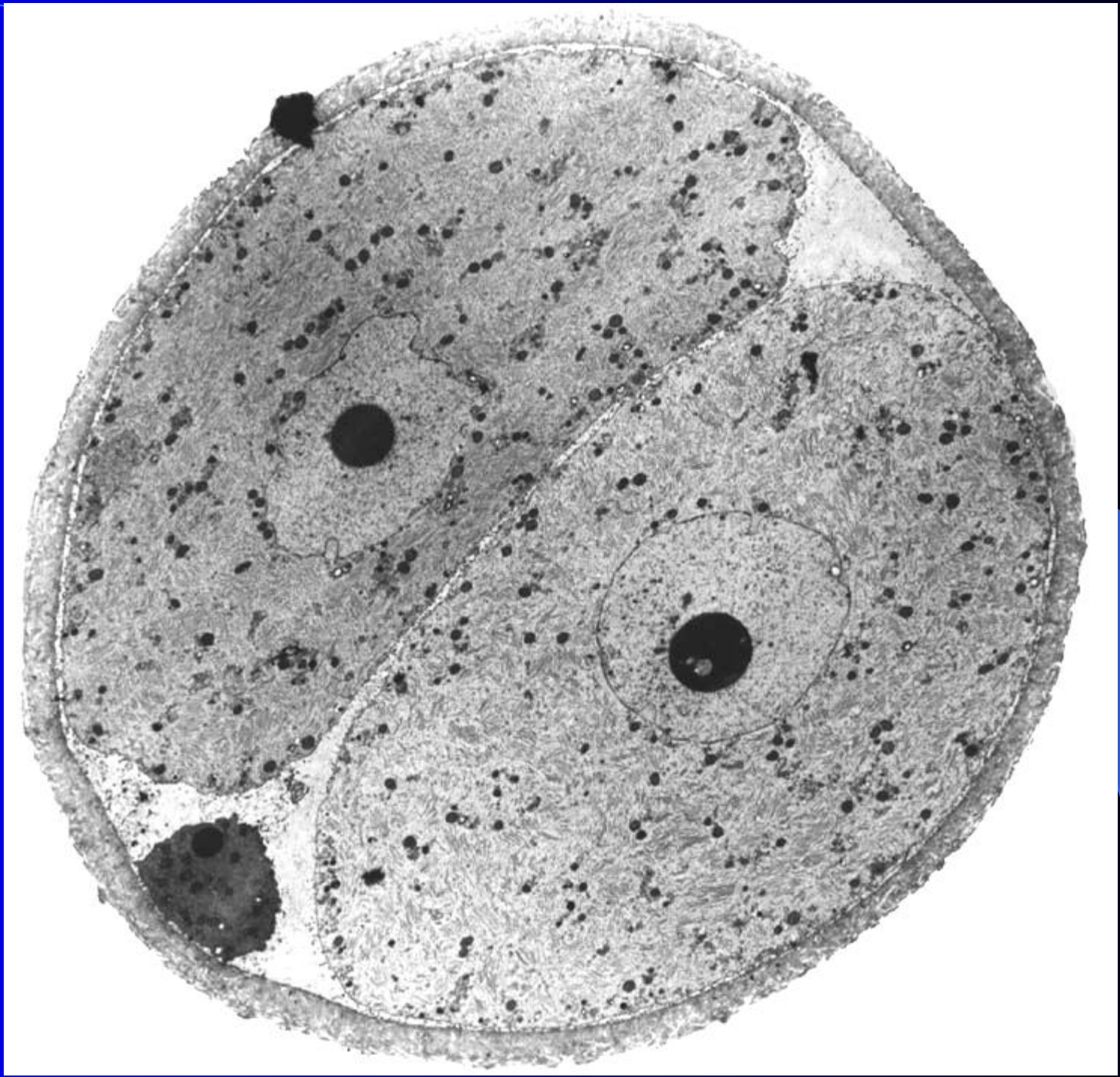
# Geny podílející se na řízení pochodů embryonálního vývoje

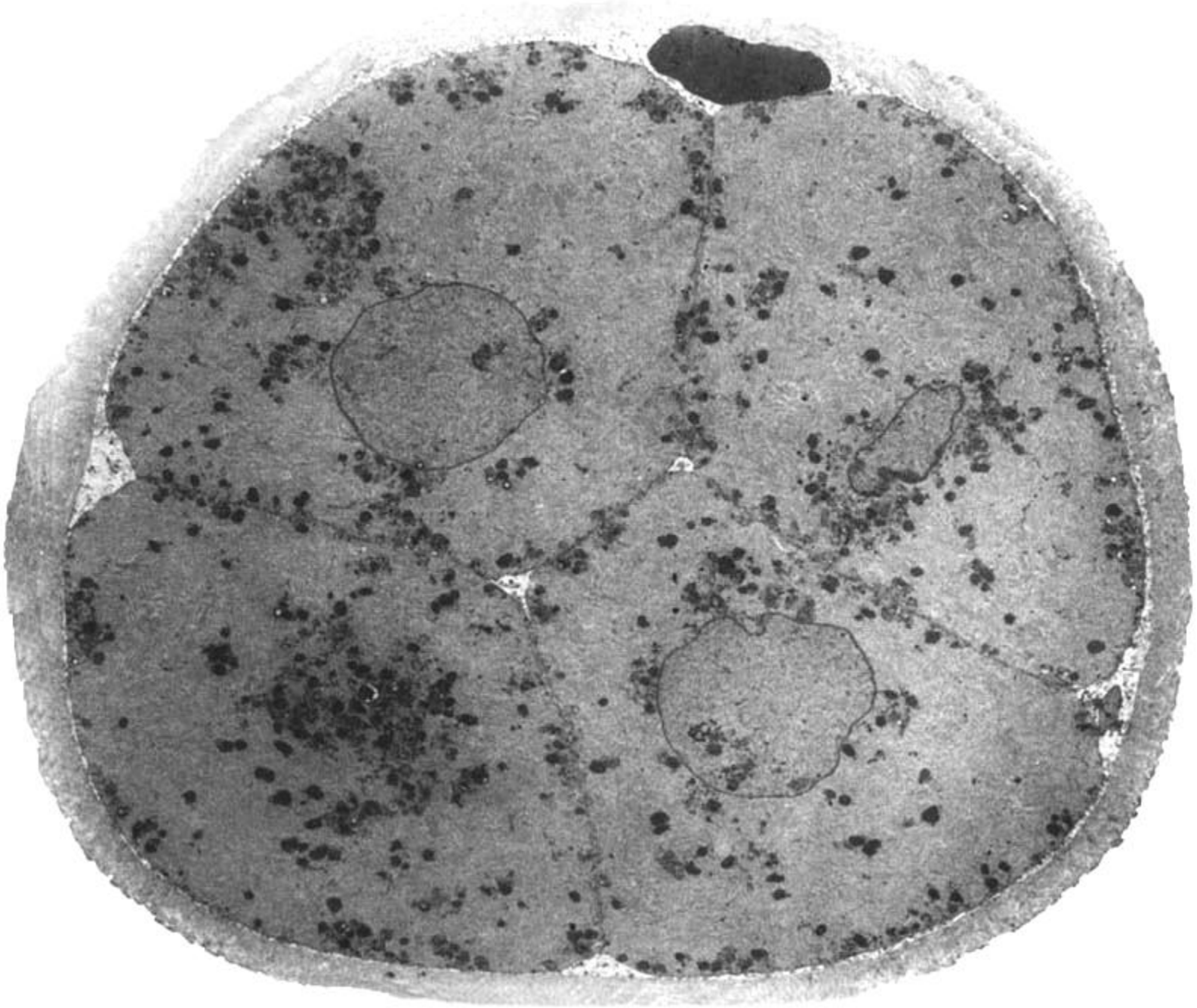
- homeotické geny (HOX geny, homeoboxy) – odpovědné za základní životní funkce, kódují transkripční faktory, jsou nadřazeny ostatním genům
- PAX geny – kódují další transkripční faktory

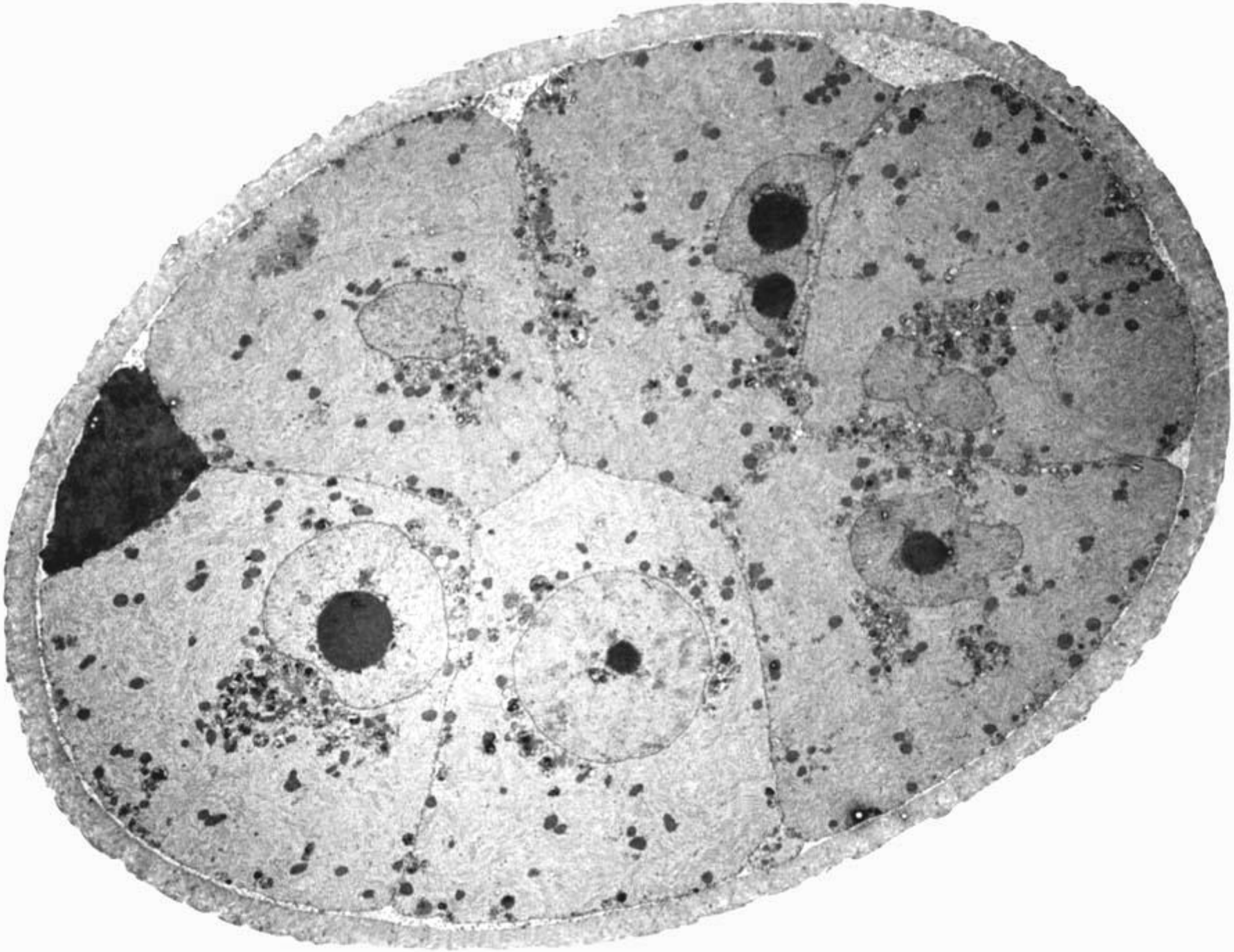
# HOX geny

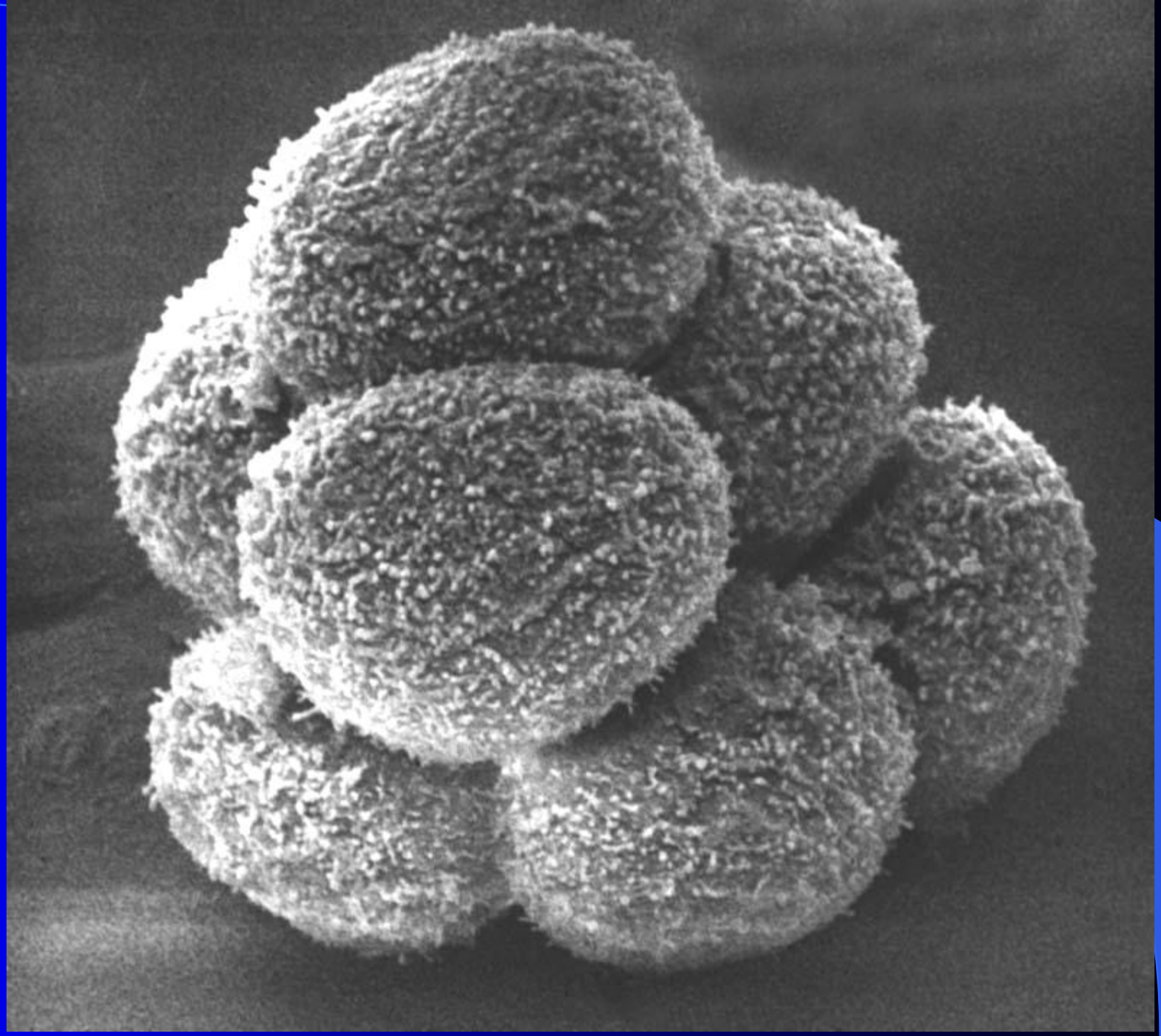
- jsou uspořádány do komplexů, vždy přesně určeném pořadí, ve kterém se také realizují
- u člověka jsou 4 komplexy HOX genů (A, B, C, D) lokalizované na různých chromozomech (7, 17, 12, 2), jejich exprese je odlišná v čase i prostoru, jsou aktivní jen v určitých obdobích vývoje
- jejich produkty – transkripční faktory – zahajují transkripci cílových genů
- to vede k regulaci základních procesů embryogeneze jako je segmentace, indukce, migrace buněk, diferenciace i programovaná smrt (apoptóza)
- podmiňují organogenezi neurální trubice, ledvin, plic, střeva, apod.
- jejich mutace vedou ke vzniku závažných vývojových vad


2
3
1
A
B
1
3
C
D



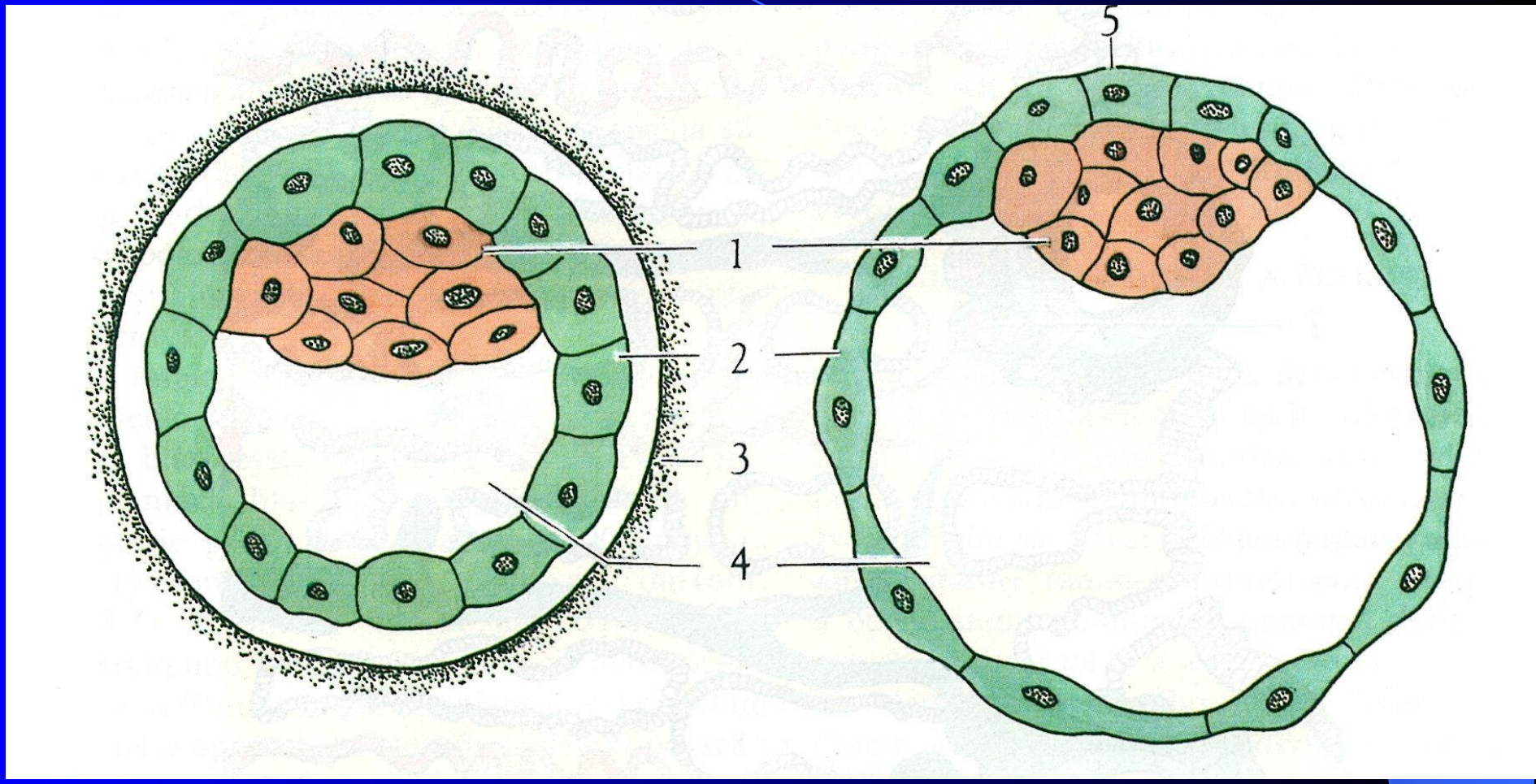


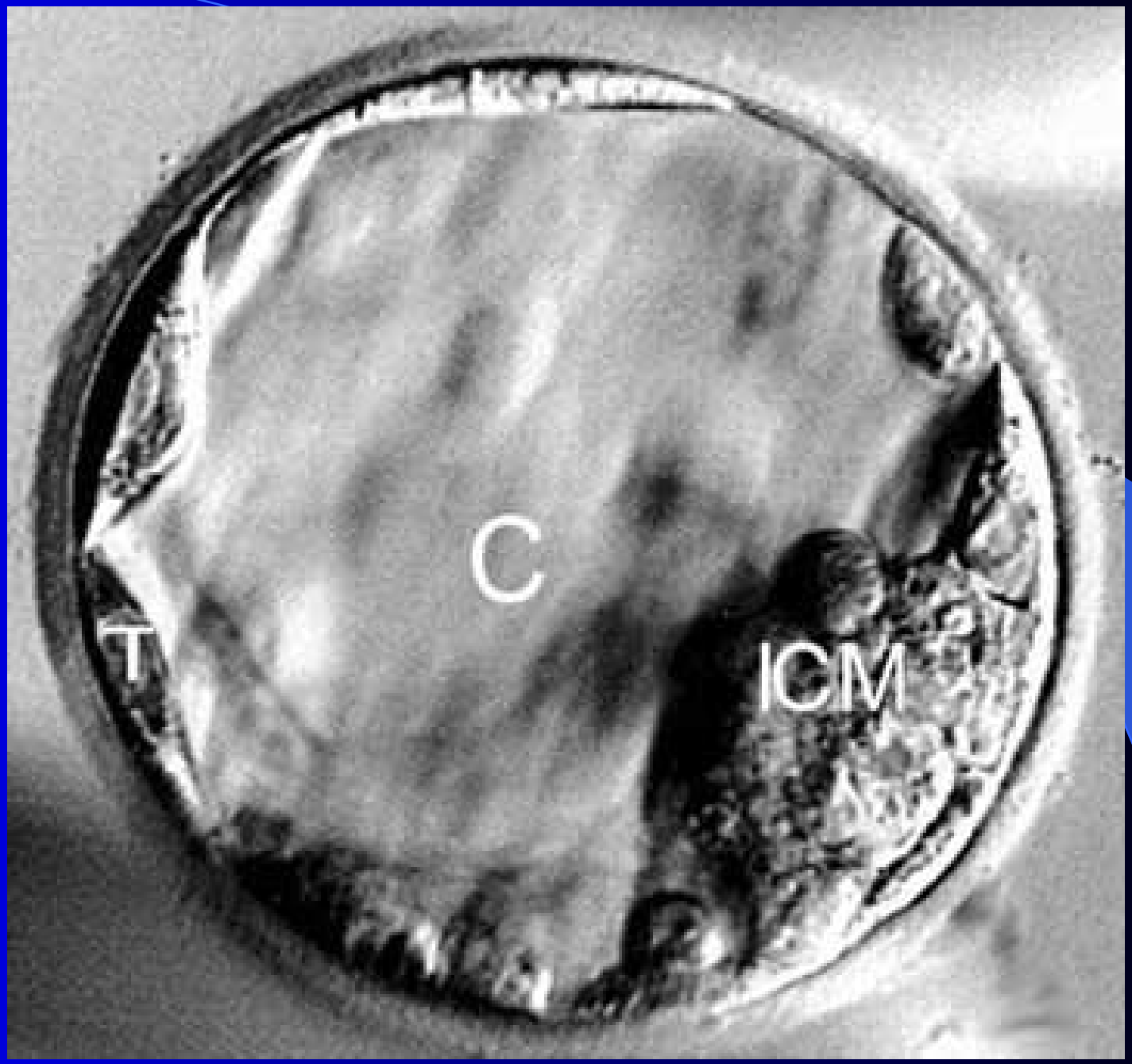


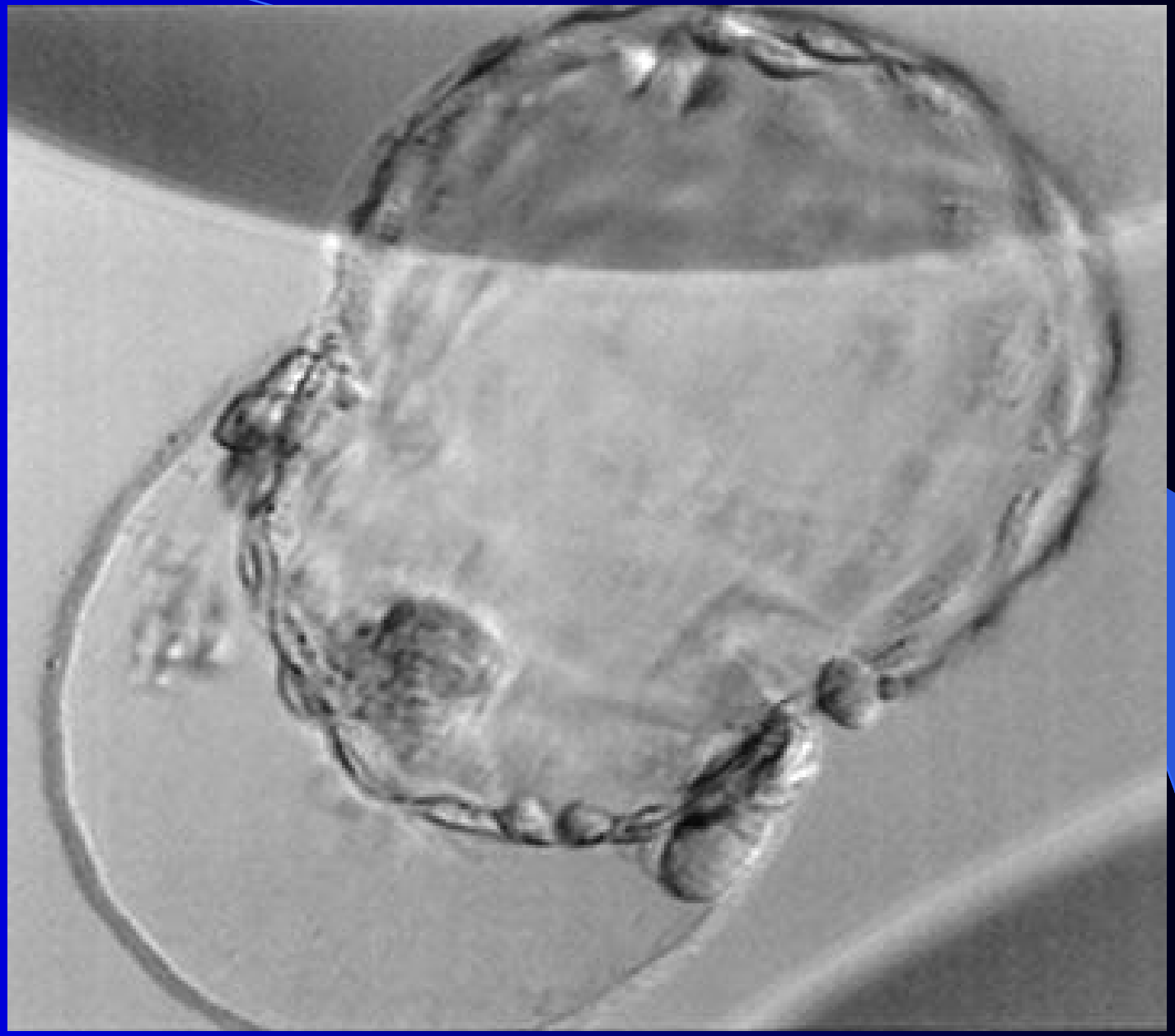


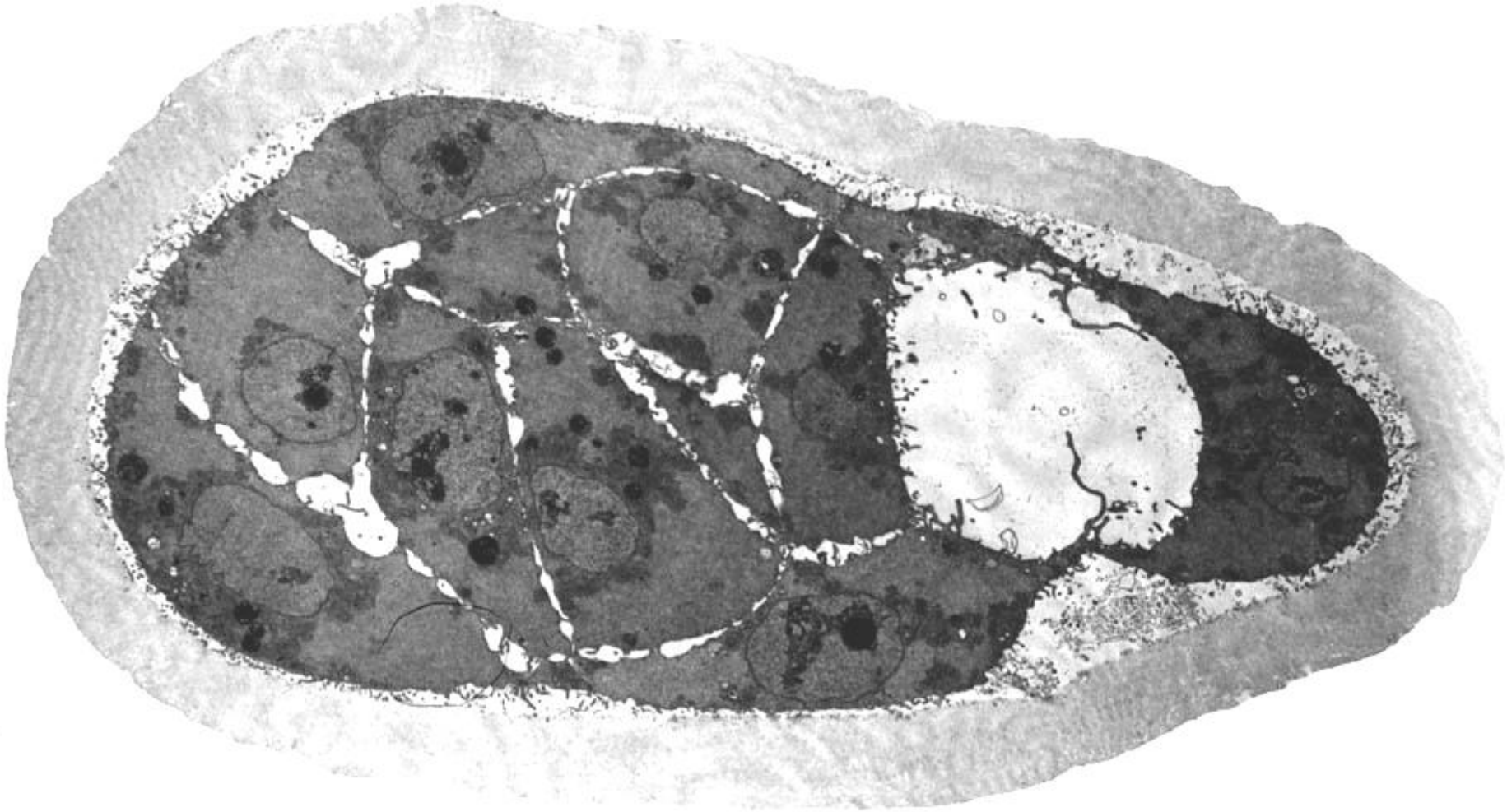
# Blastocysta

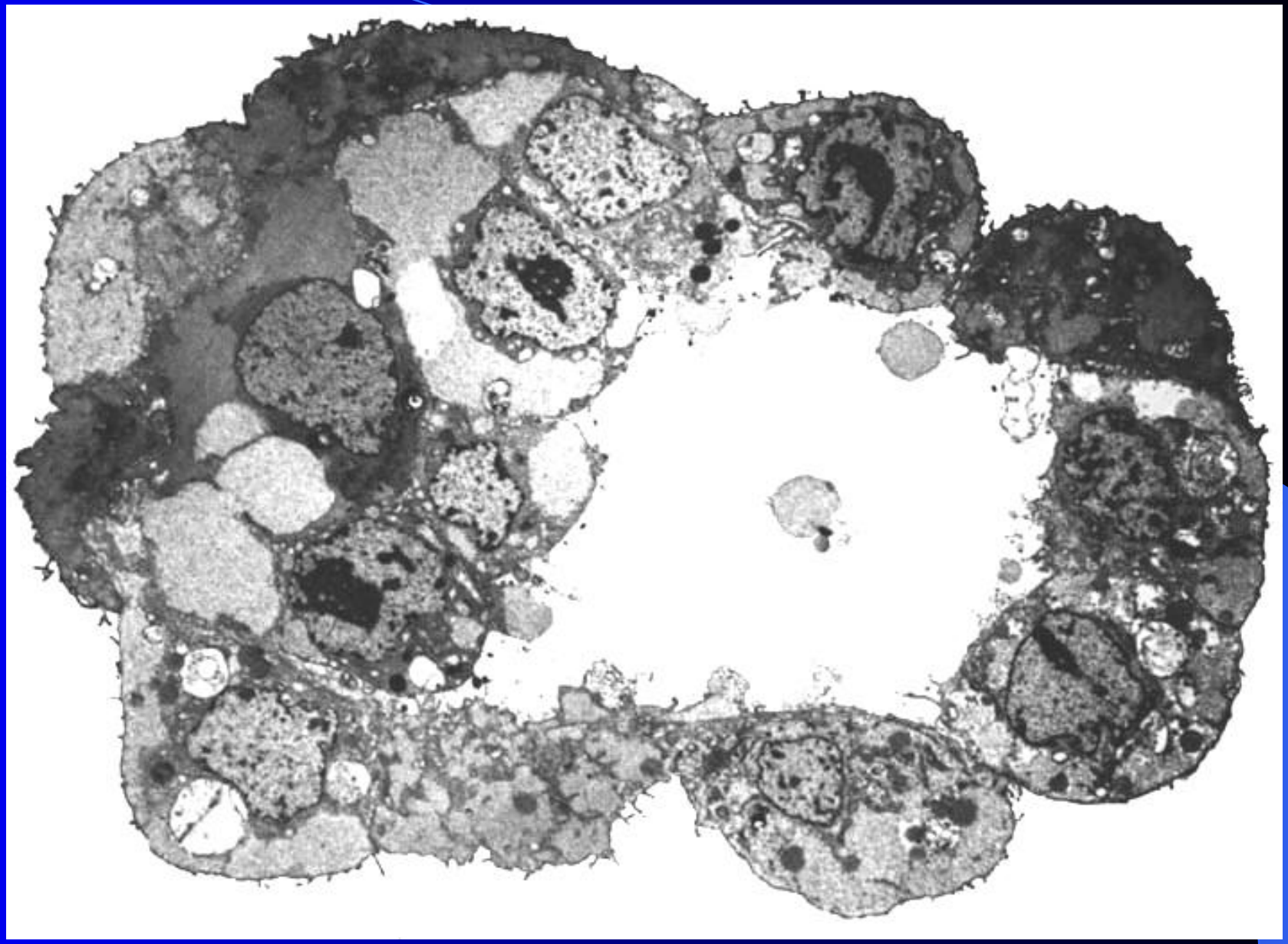
- 5. den po oplození
- ireverzibilní diferenciace: 2 typy buněk
- vnitřní buněčná masa (embryoblast) a trofektoderm (trofoblast)
- hatching mezi 6. a 7. dnem
- zahájení implantace


5
1
2
3
4


C
T
ICM







# Implantace

- fáze implantace: apozice, adheze, invaze (diferenciace trofoblastu na syncytiotrofoblast a cytotrofoblast)
- endometrium – fáze receptivní a nonreceptivní (v receptivní fázi dochází k apozici - kontakt blastocysty s apikálním povrchem epitelu – rozhodující krok implantace)
- implantační okno –nejpříznivější podmínky pro implantaci: 17.-19. den cyklu, uterinní receptivita dovolí adhezi a invazi embrya

# Úspěch implantace závisí na:

- kvalitě embrya
- kvalitě endometria (malá tloušťka: záněty, tumory)
- vnitřek dělohy musí být bez polypů a jizev
- imunologických faktorech
- technice transferu
- dalších faktorech (psychická zátěž, fyzická zátěž, ..)

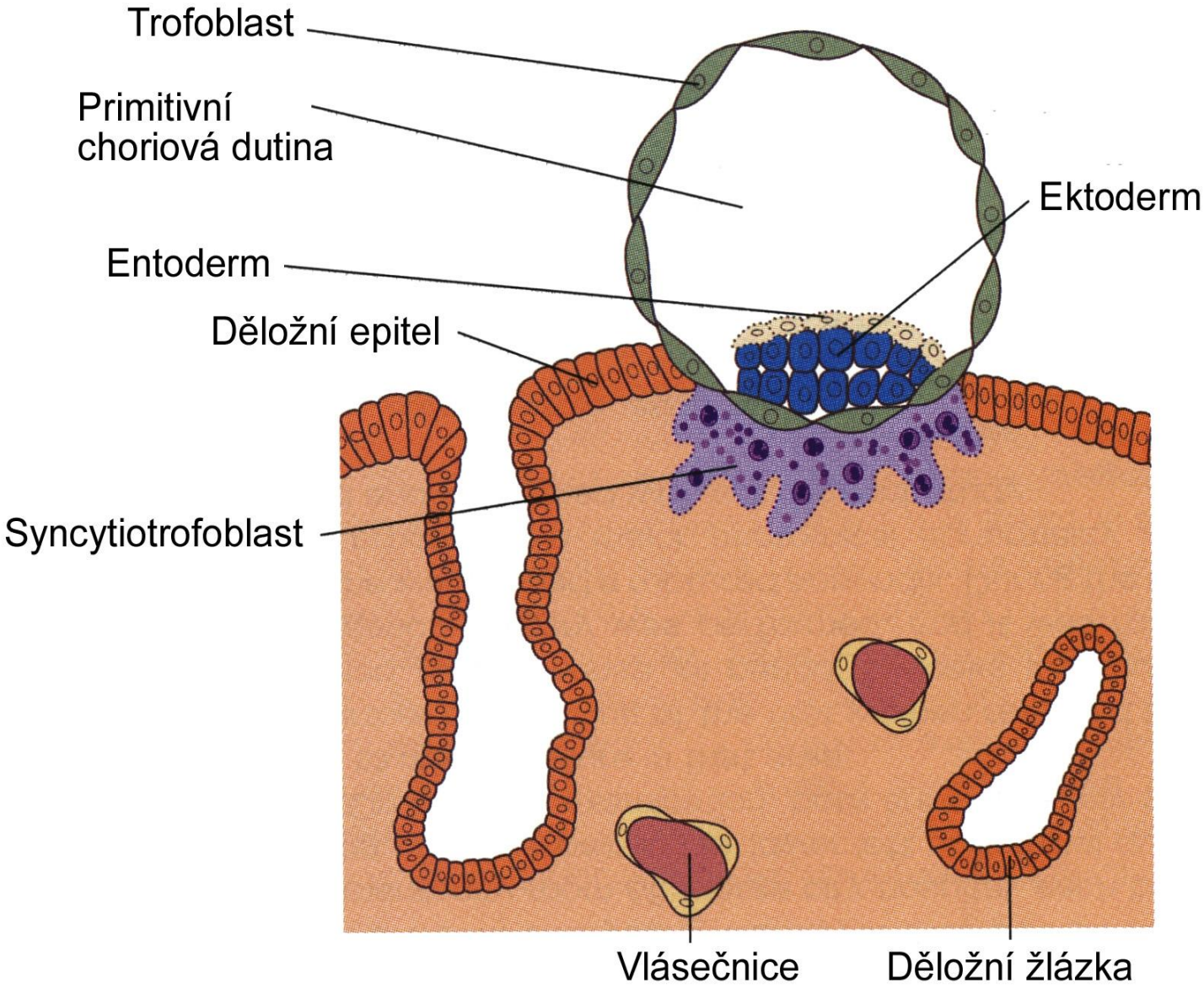
# Selhání implantace:

- absolutně nejčastější příčinou jsou chromozomální poruchy (více než 60% preimplantačních embryí je nositeli chromozomální poruchy, u těch, která se implantovala, je to přibližně10%) – genetická porucha má častěji původ na straně vajíčka (80%) než spermie
- endometriální faktory, ….

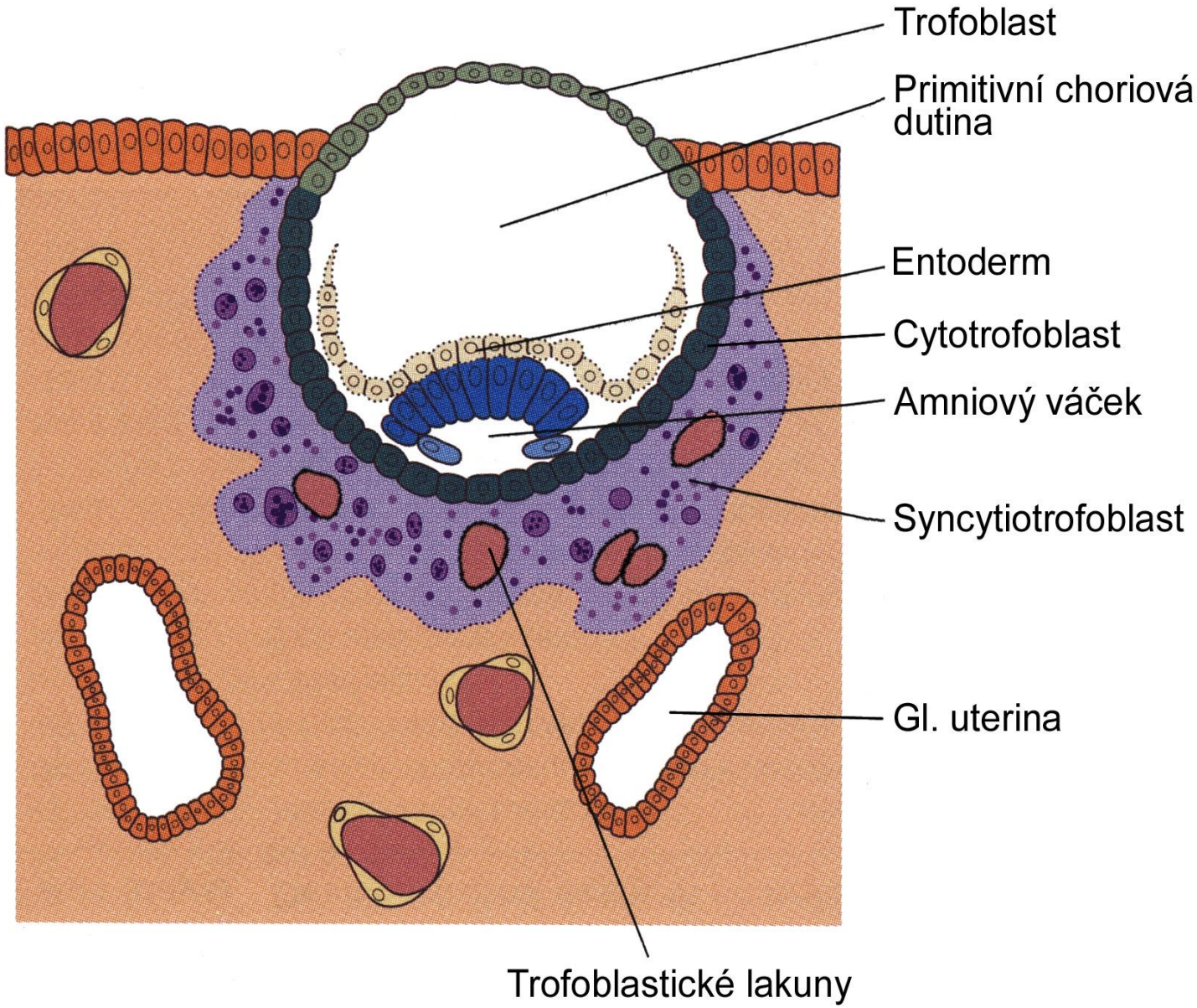
# Imunologická tolerance embrya

- embryo je pro mateřský organismus cizorodý objekt
- povrch syncytiotrofoblastu postrádá hlavní histokompatibilní komplex antigenů
- cytotrofoblast má povrchové antigeny ve formě, která je špatně rozeznatelná T-lymfocyty
- deciduální buňky produkují imunosupresivní molekuly (prostaglandiny, interleukiny, růstové faktory)
- trofoblast brání vstupu aktivovaných mateřských leukocytů do placenty pomocí povrchových molekul spouštějících jejich apoptózu

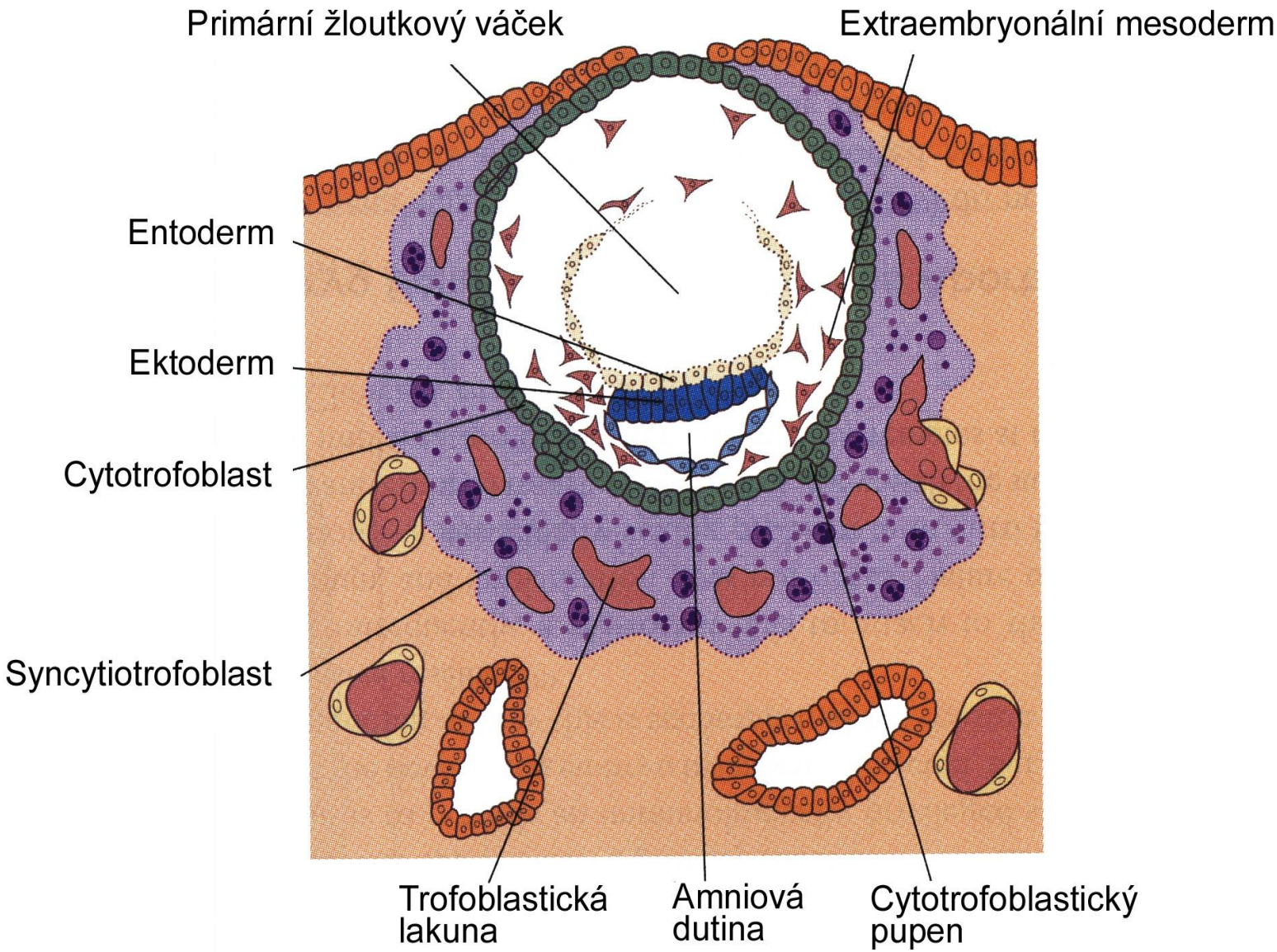
# IMPLANTACE - začátek 7. dne



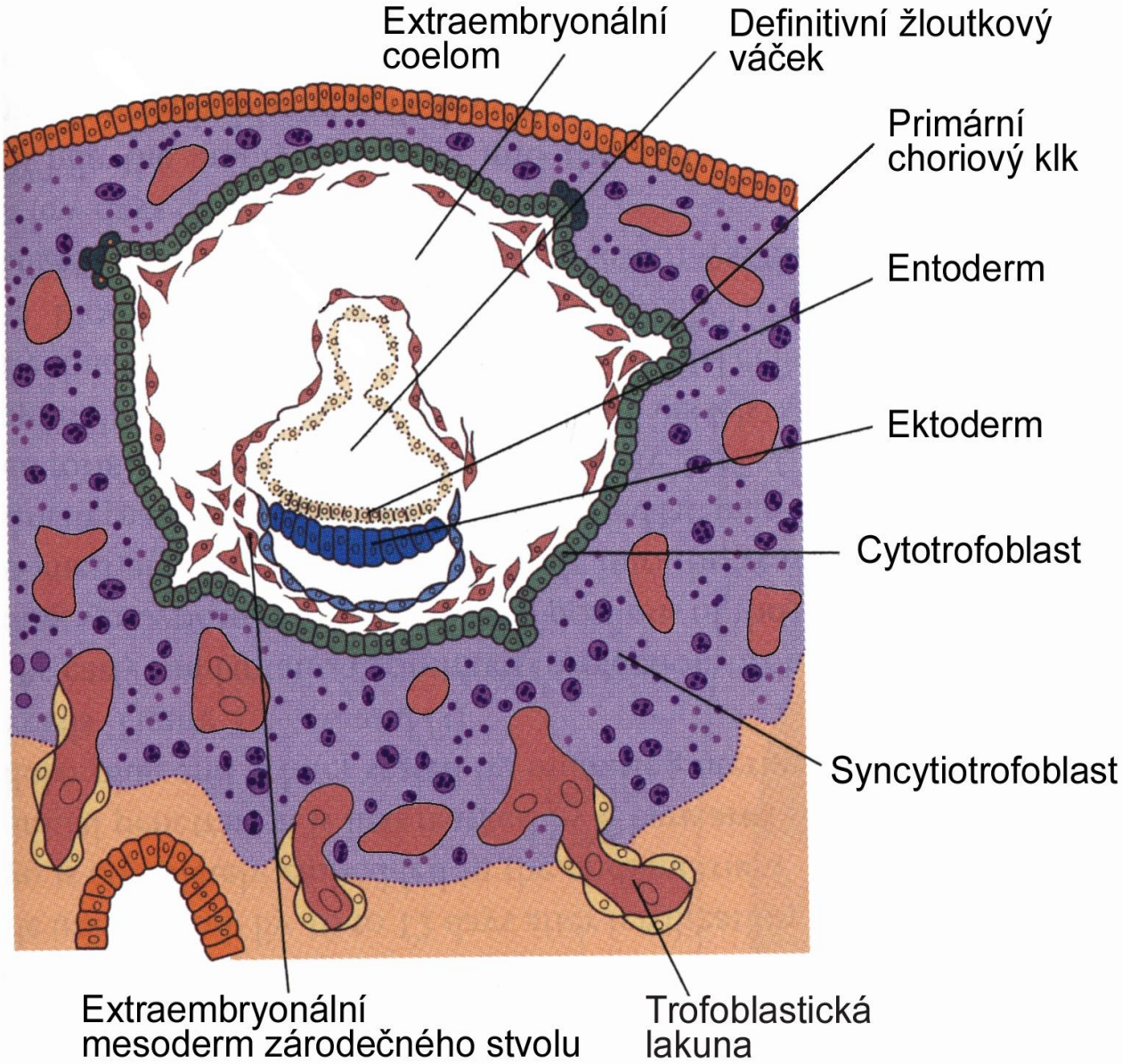
# IMPLANTACE - 8 1/2 dne

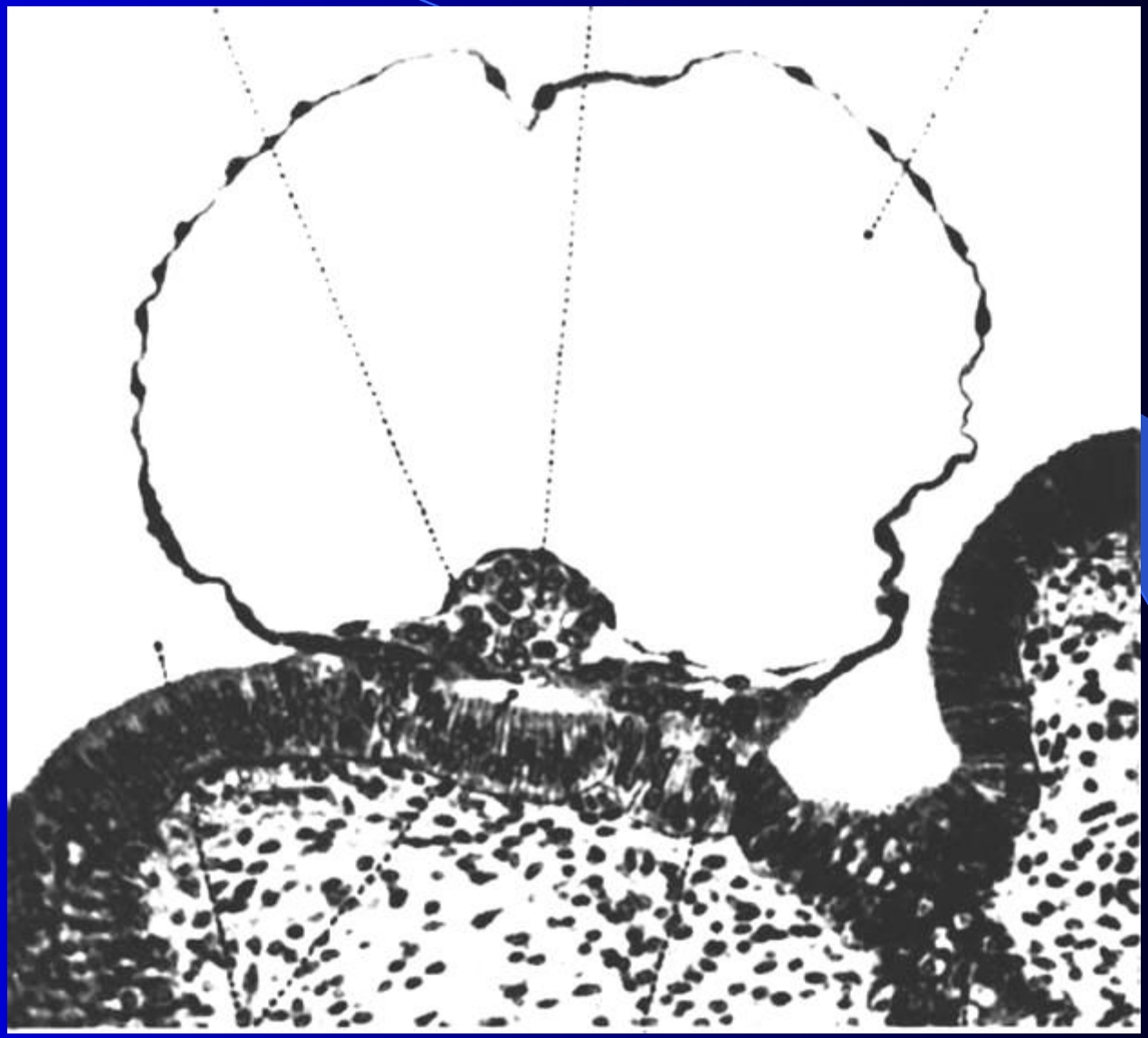


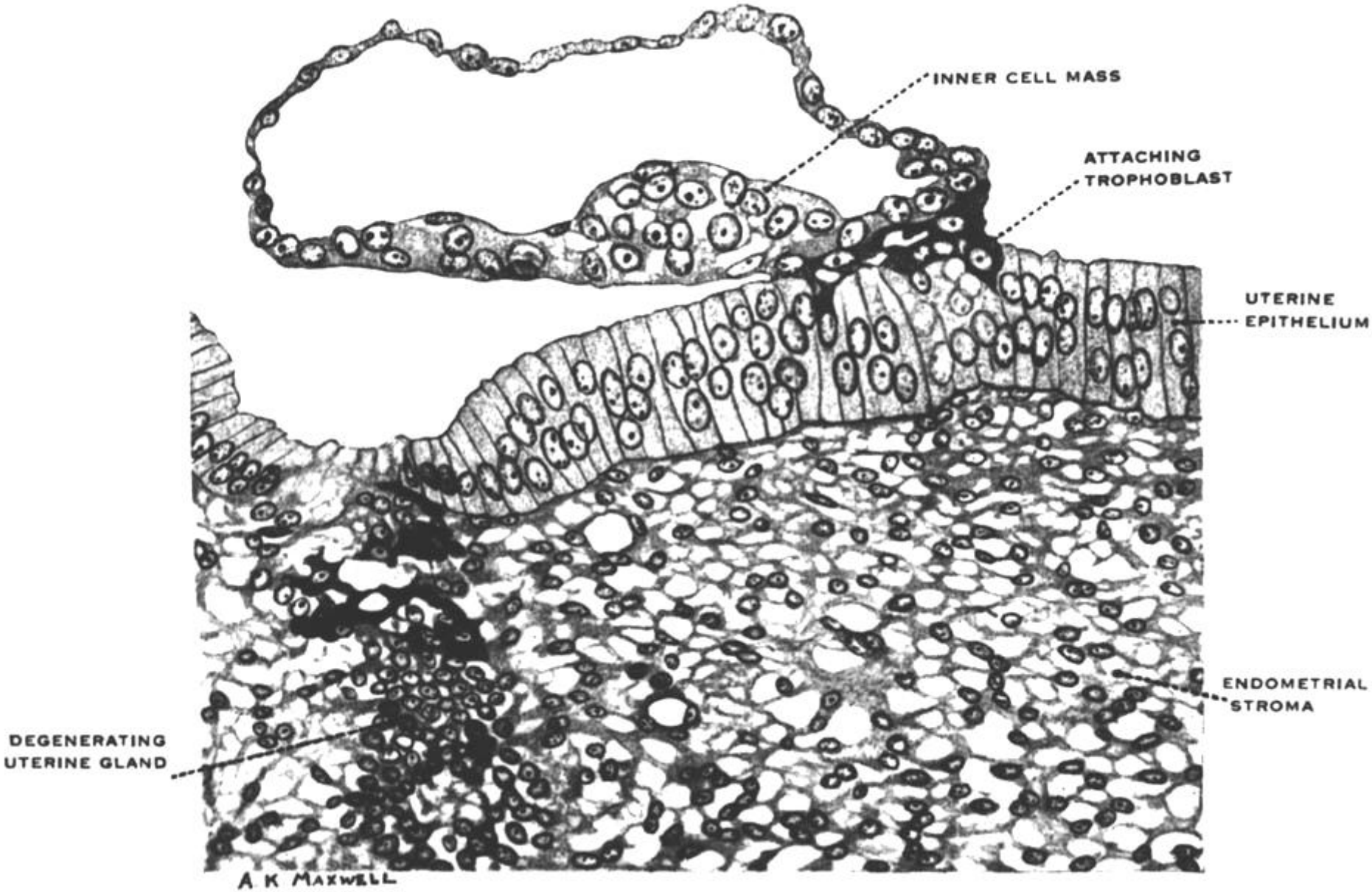
# IMPLANTACE - 10. den

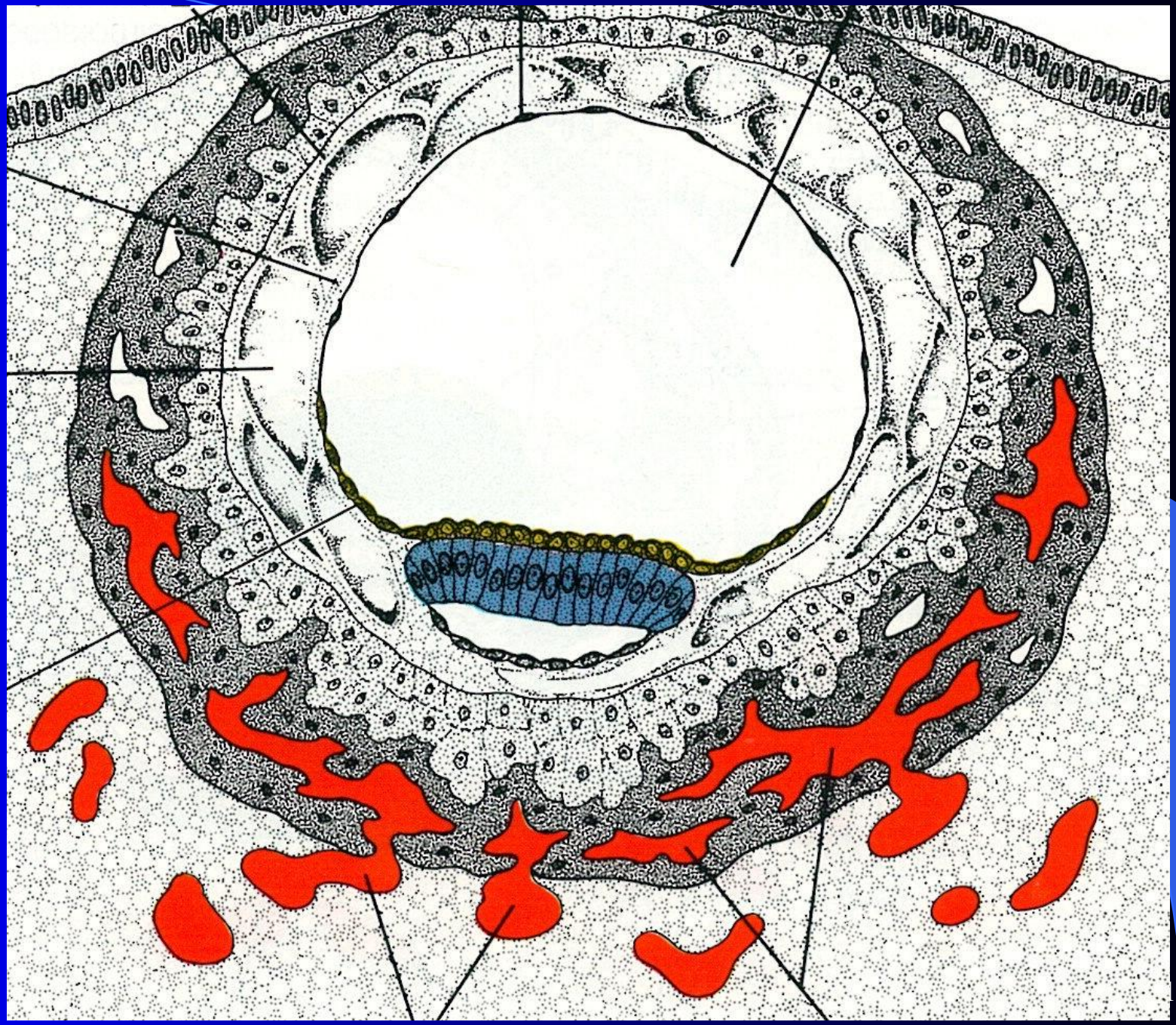


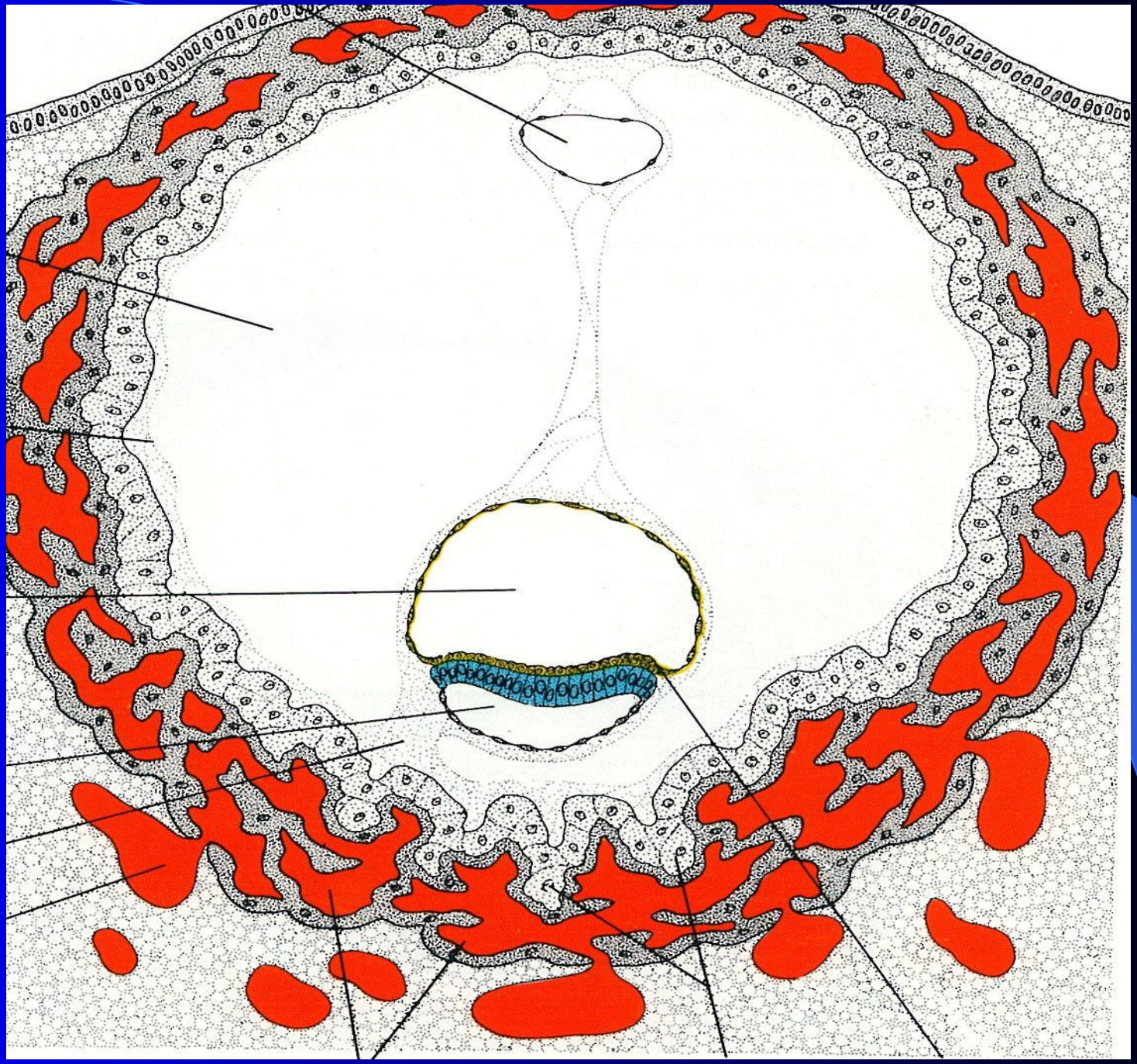
# IMPLANTACE - 13. den

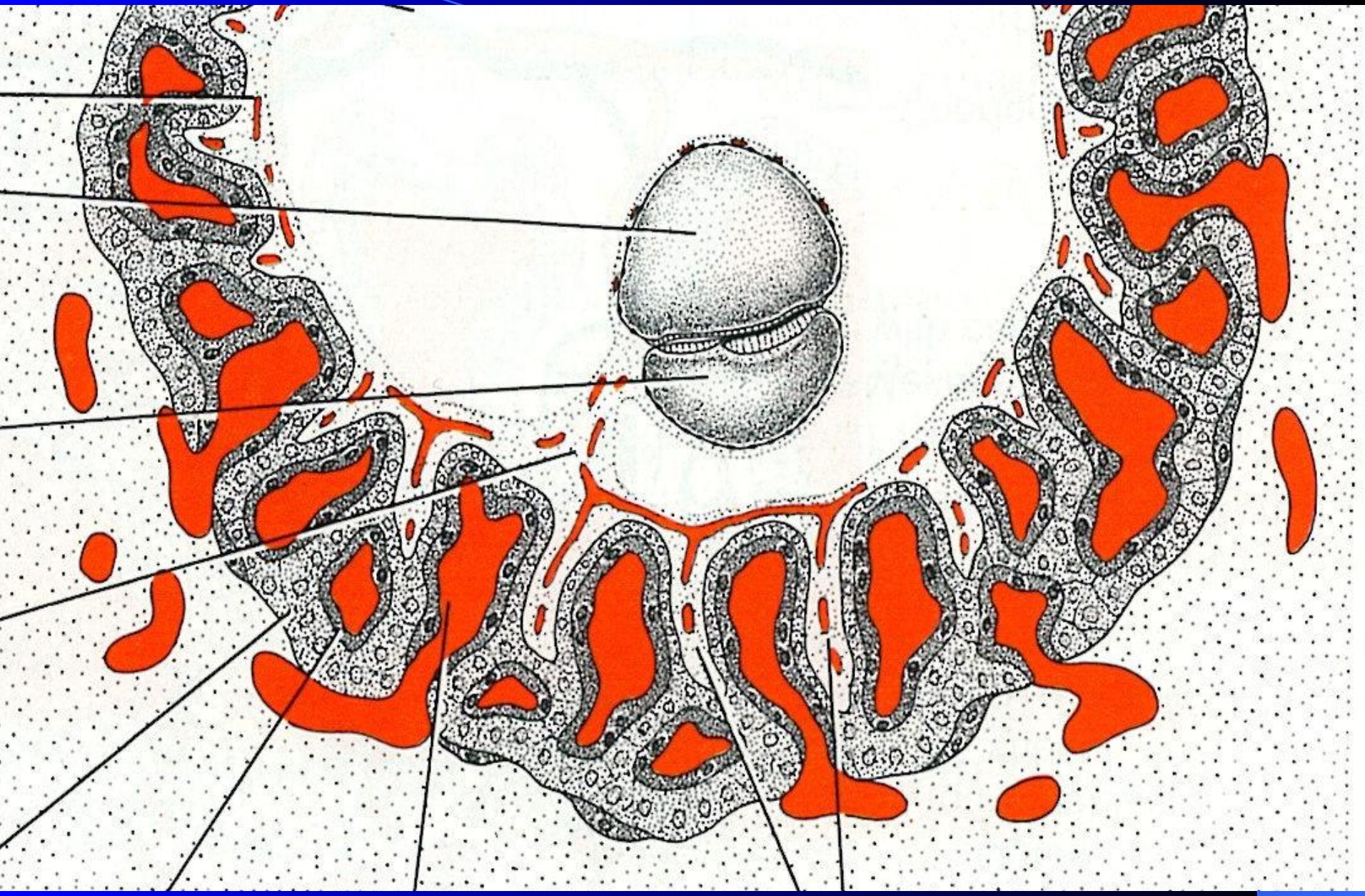




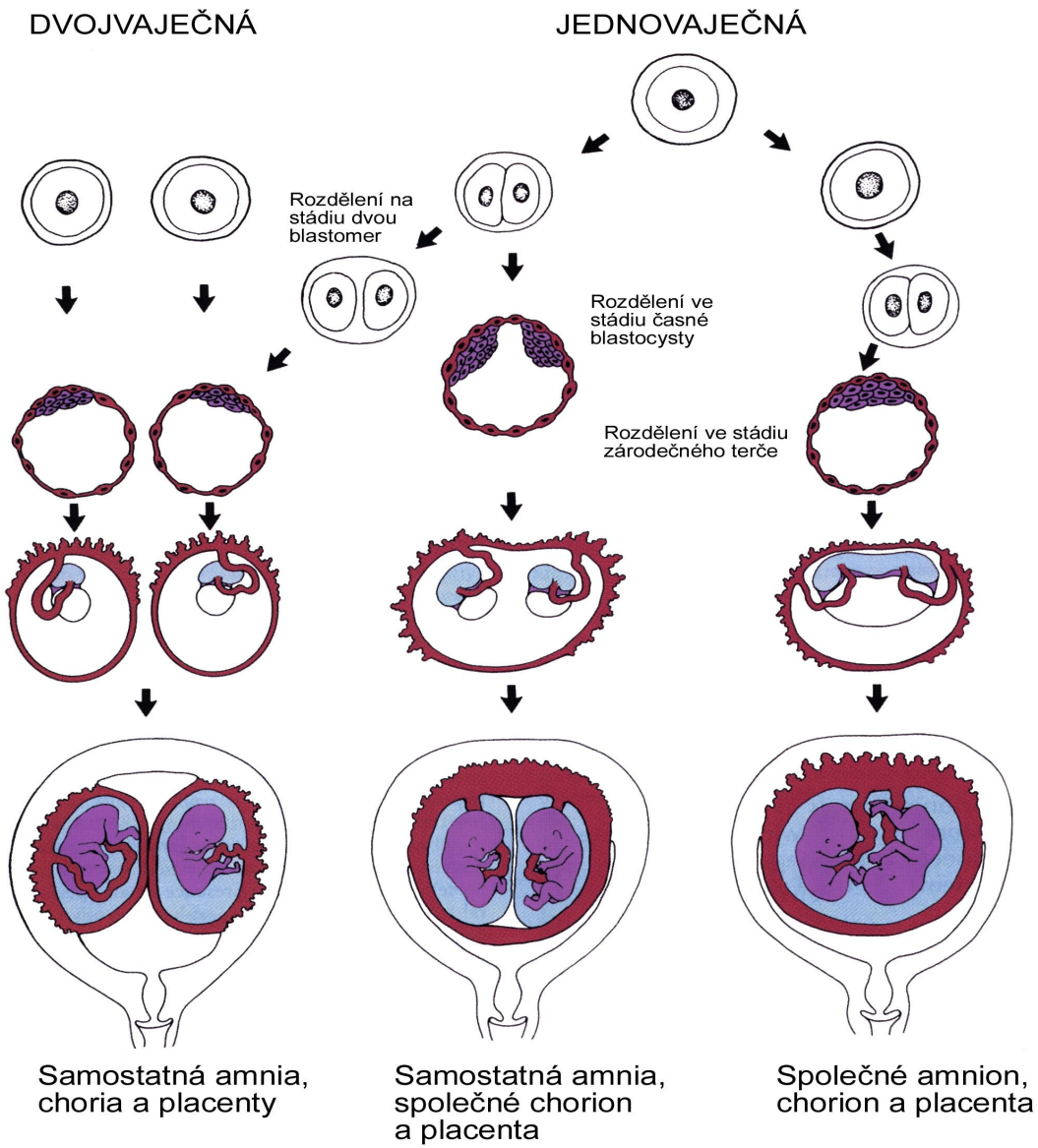

INNER CELL MASS
ATTACHING TROPHOBLAST
UTERINE EPITHELIUM
ENDOMETRIAL STROMA
DEGENERATING UTERINE GLAND
A K MAXWELL







# DVOJČATA


DVOJVAJEČNÁ
JEDNOVAJEČNÁ
Rozdělení na stádiu dvou blastomer
Rozdělení ve stádiu časné blastocysty
Rozdělení ve stádiu zárodečného terče
Samostatná amnia, choria a placenty
Samostatná amnia, společné chorion a placenta
Společné amnion, chorion a placenta

# 4.4 Postimplantační embryologie

- „Gastrulace“ – vznik zárodečných listů
- Organogeneze (morfogeneze a histogeneze)
- Diferenciace pohlaví

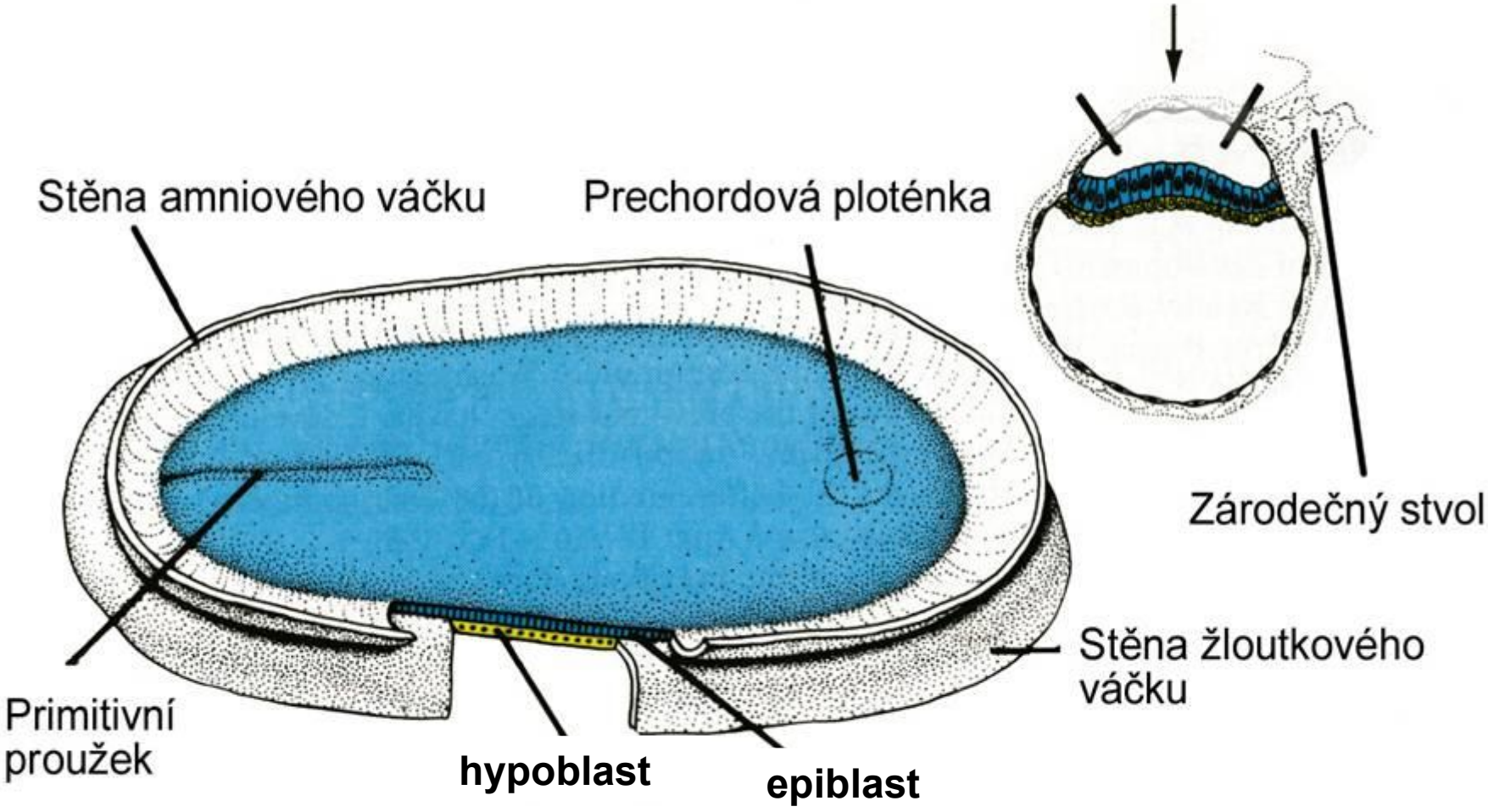
# 3. týden:
# („gastrulace“ - vývoj 3. zárodečného listu)

- 14. den: **epiblast a hypoblast -** prechordová ploténka
- 15. den: primitivní proužek a primitivní rýha
- 16. den: primitivní uzel a primitivní jamka, (alantois)
- 17. den: chordomezodermový (hlavový) výběžek, chorda dorsalis

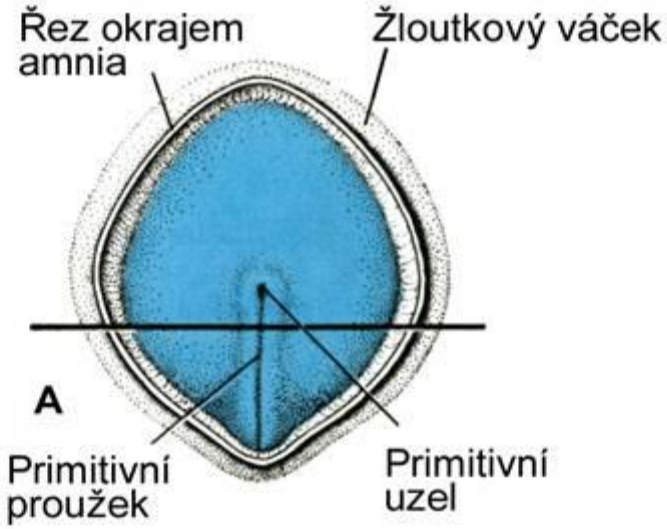
---

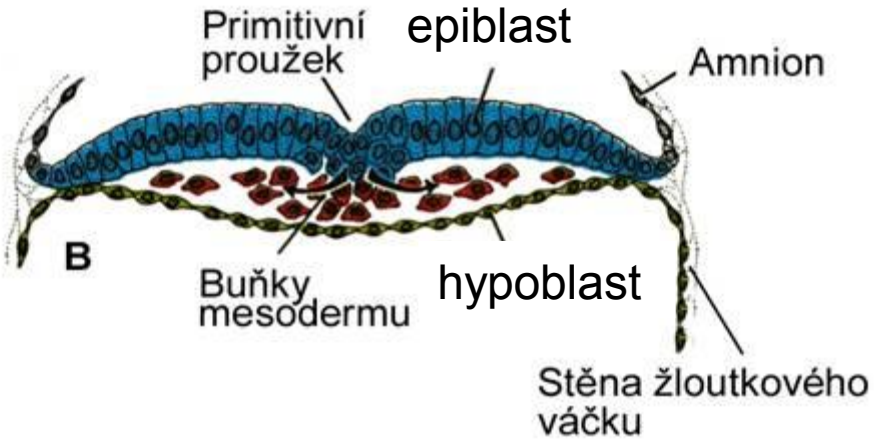
- 18. den: neurální ploténka
- 19. den: neurální rýha
- 20. den: somity, štítná žláza, krevní ostrůvky
- 21. den: somity, uzavírání nervové trubice, (mezi 21. a 22. dnem začíná tepat srdce)

# DORZÁLNÍ STRANA ZÁRODEČNÉHO TERČÍKU
## 14. den vývoje

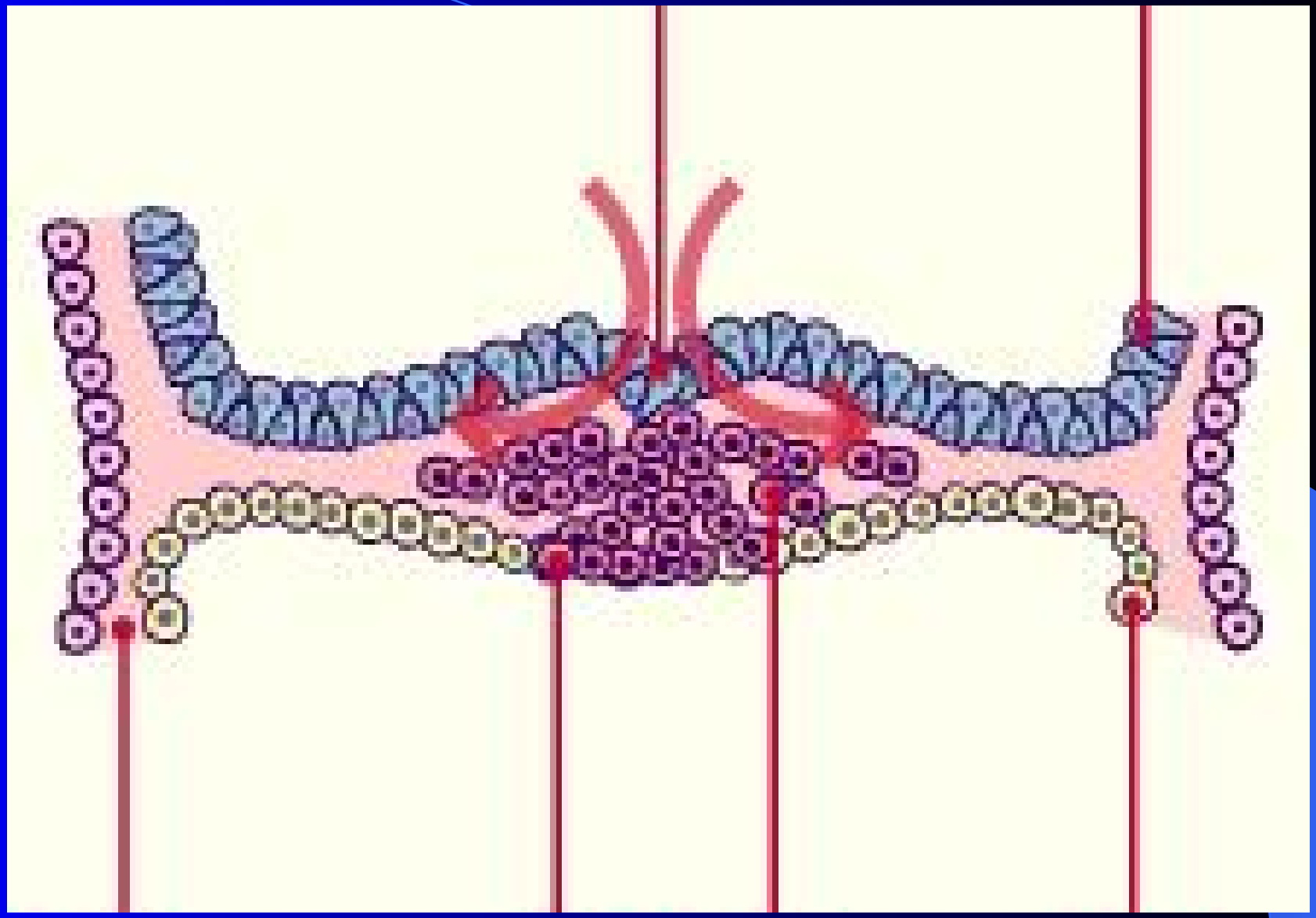


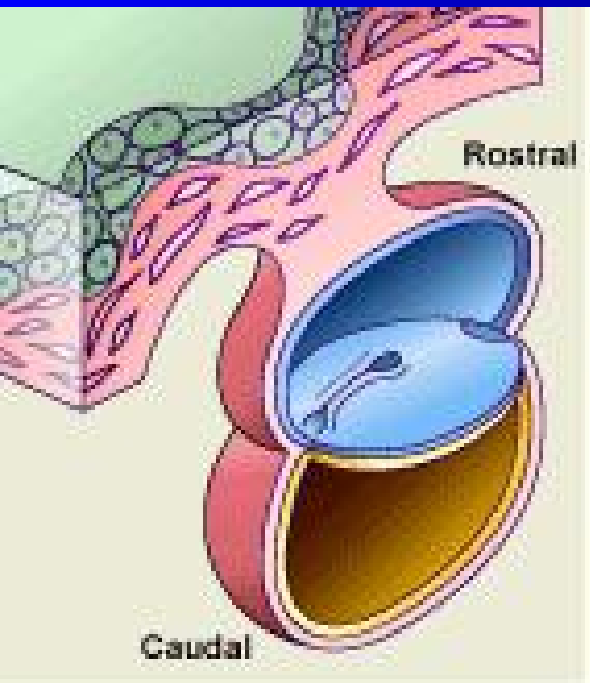
# ZÁRODEČNÝ TERČÍK
## 16. den vývoje

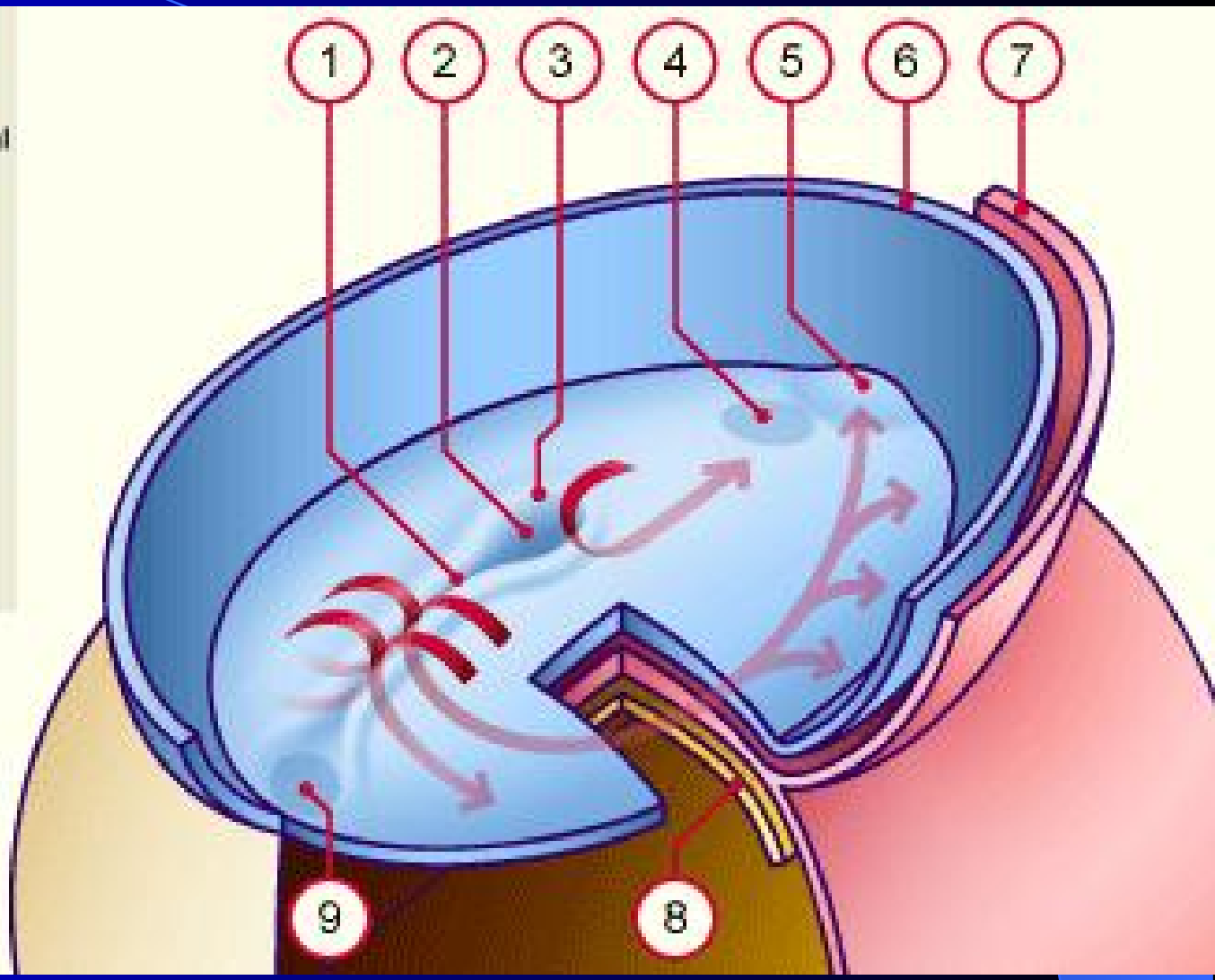


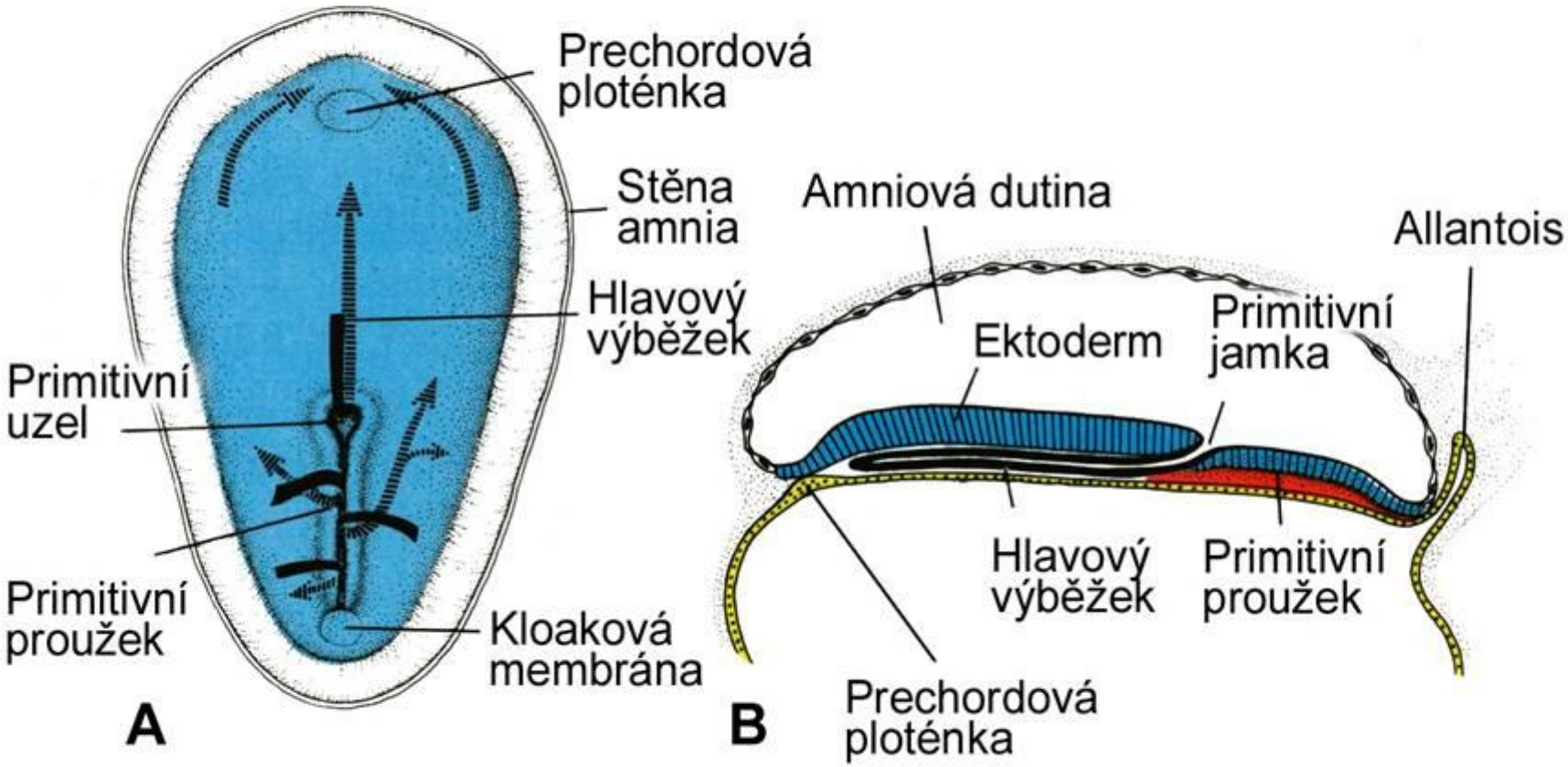

A - pohled na dorzální stranu
B - příčný řez terčíkem




Rostral
Caudal

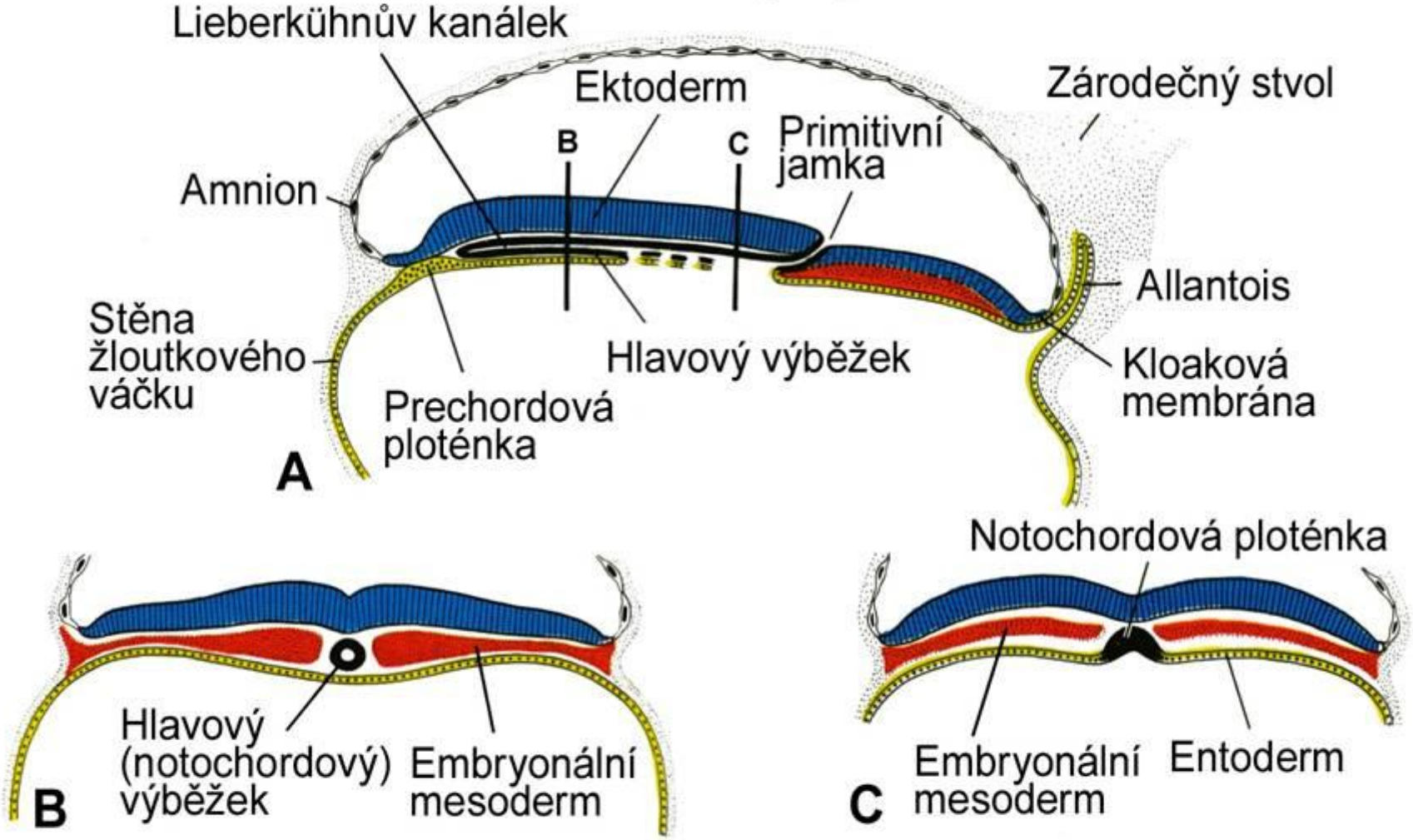

1
2
3
4
5
6
7
9
8

# ZÁRODEČNÝ TERČÍK
## 16. den vývoje




A : pohled na dorzální stranu
B : podélný mediánní řez

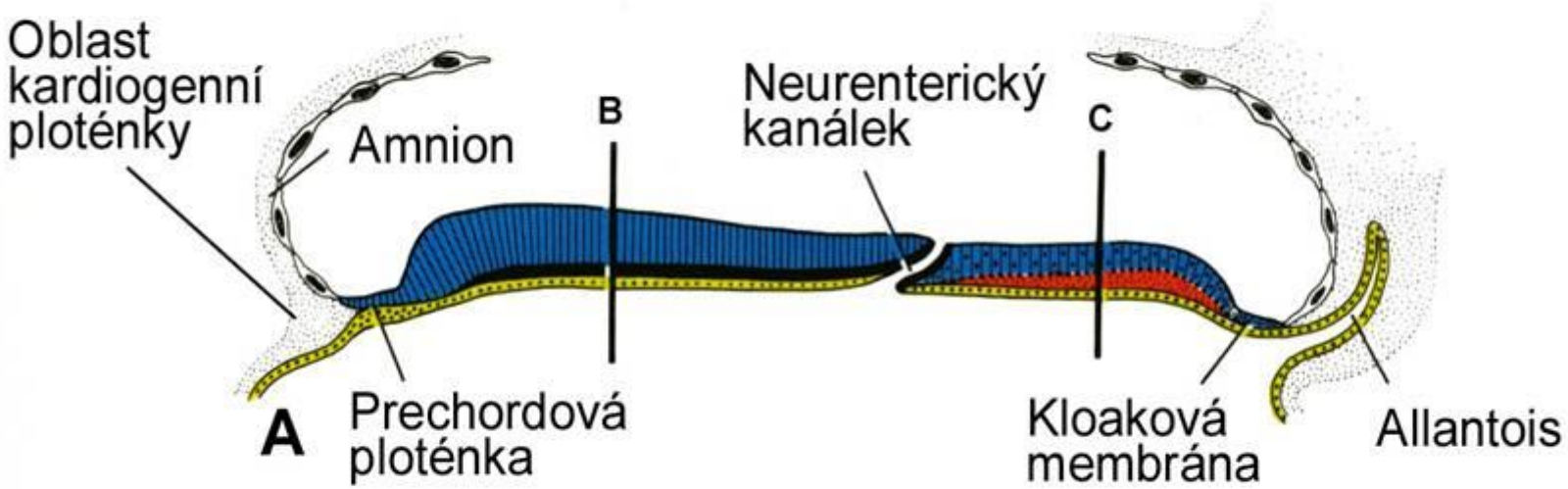
# ZÁRODEČNÝ TERČÍK
## 17. den vývoje



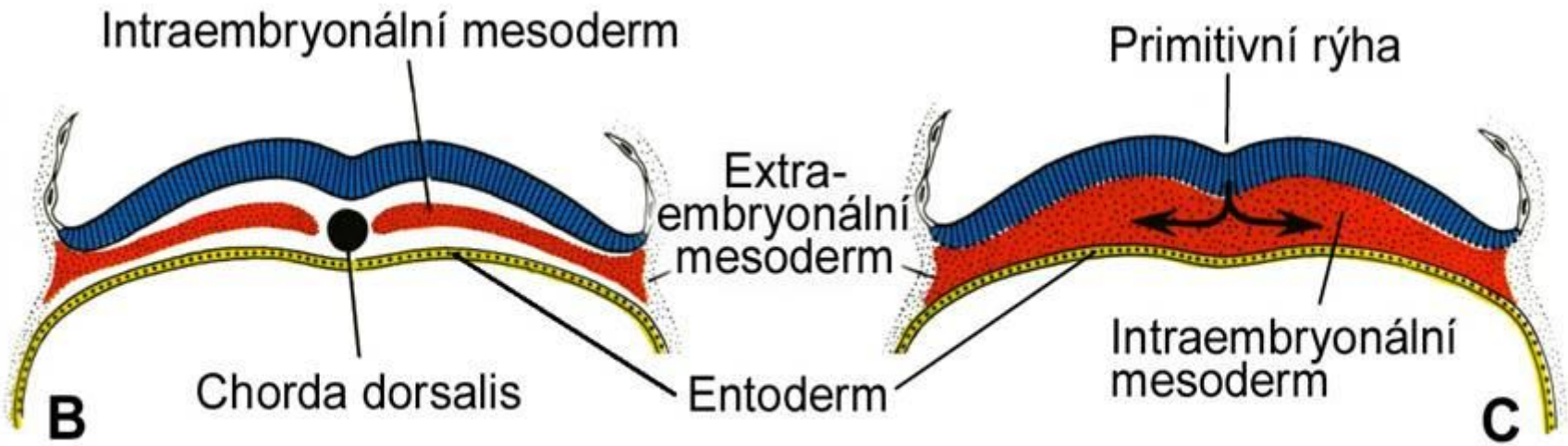

A : podélný mediánní řez

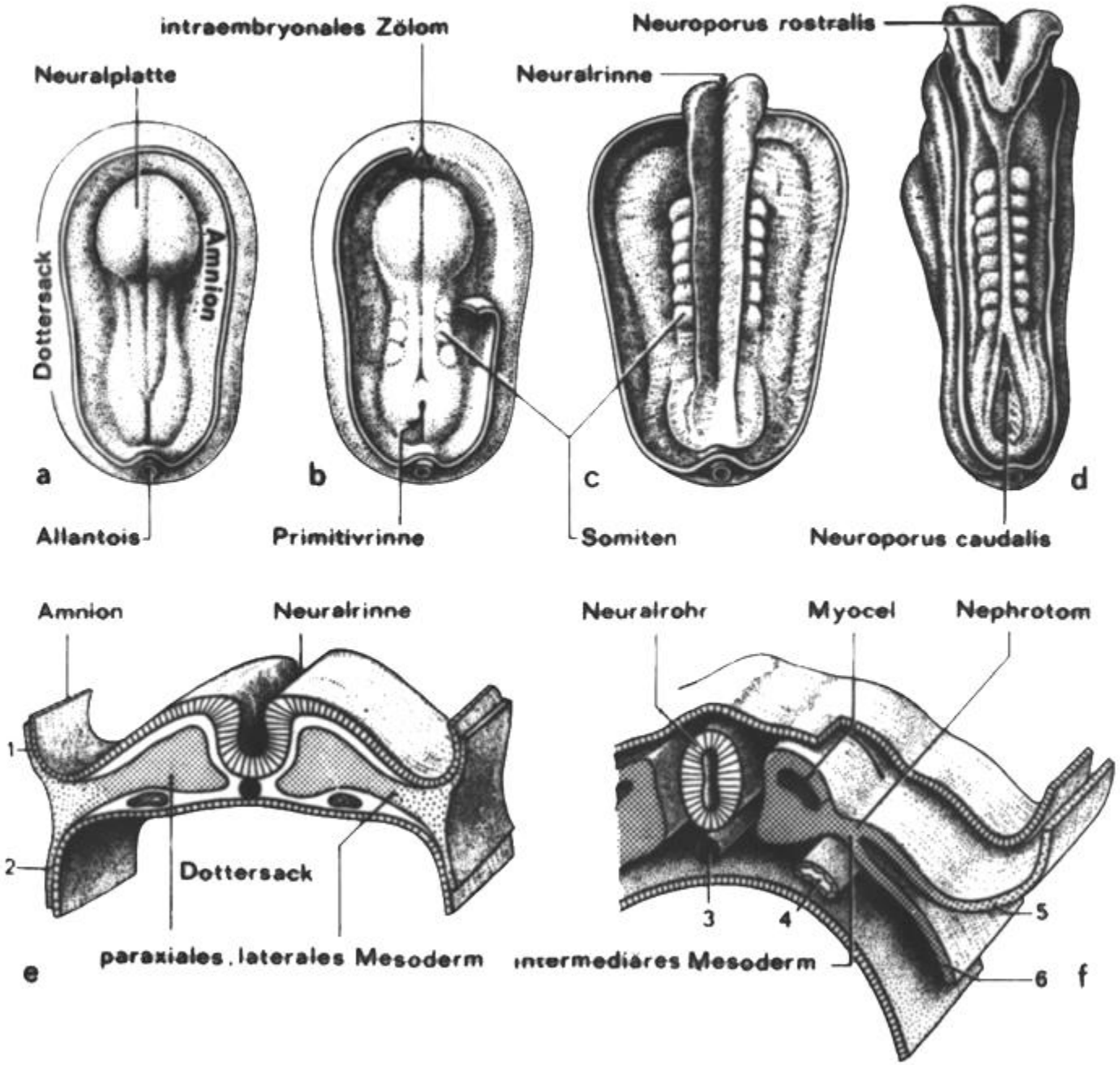
B, C : příčné řezy

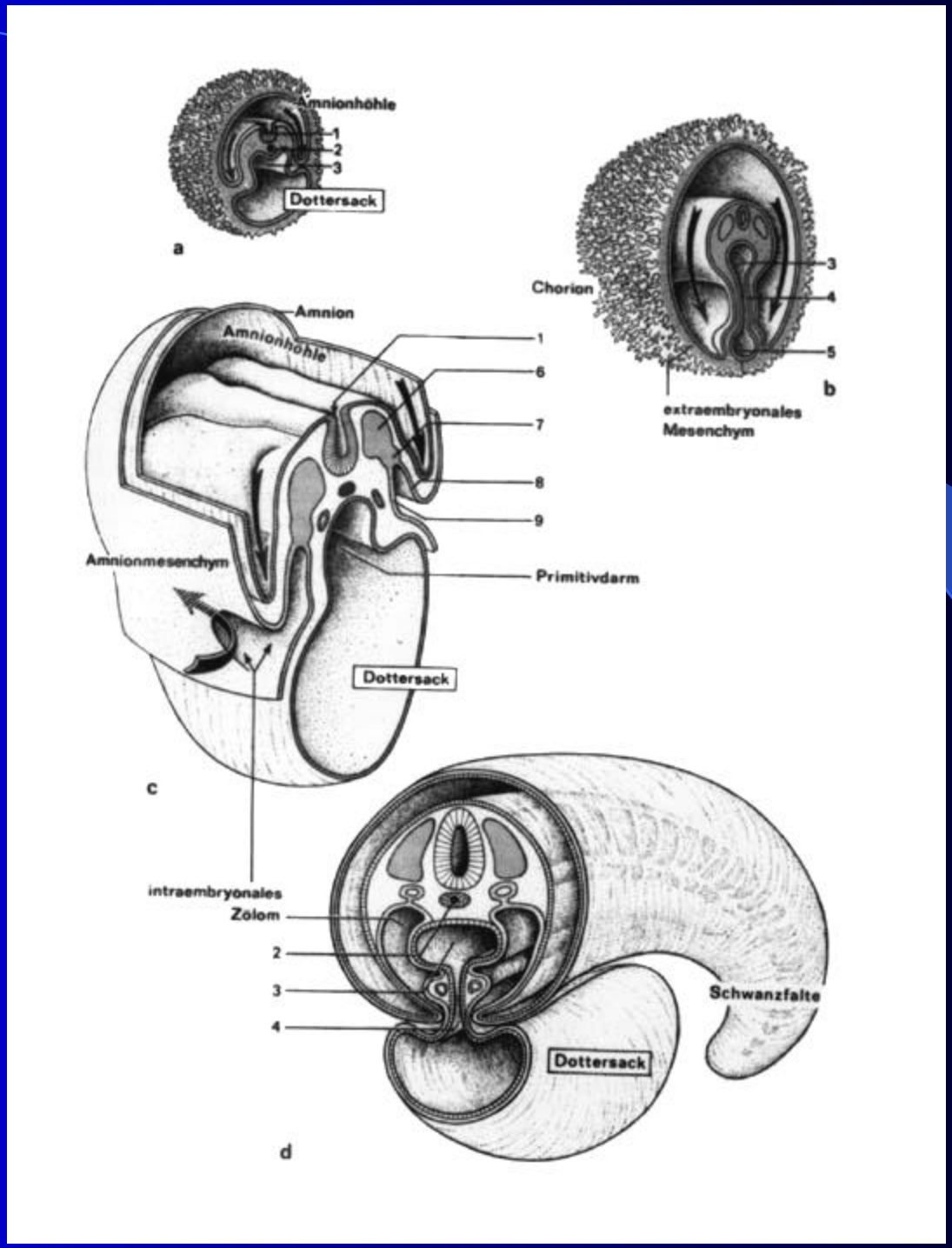
# ZÁRODEČNÝ TERČÍK
## 18. den vývoje



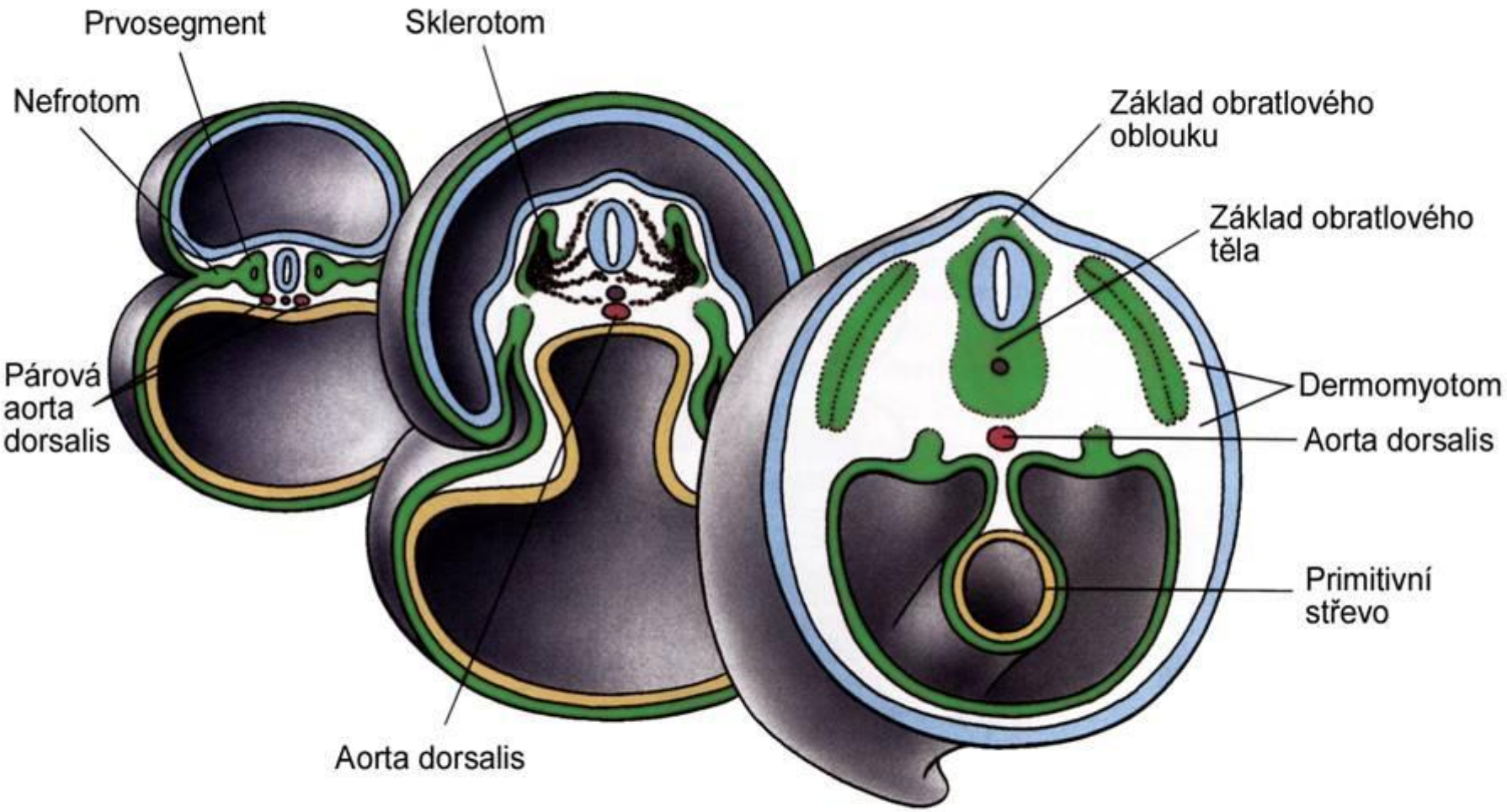

A : podélný mediánní řez B, C : příčné řezy




intraembryonales Zölom
Neuroporus rostralis
Neuralplatte
Neuralrinne
Dottersack
Amnion
a
b
c
d
Allantois
Primitivrinne
Somiten
Neuroporus caudalis
Amnion
Neuralrinne
Neuralrohr
Myocel
Nephrotom
1
2
Dottersack
3
4
5
6
e
paraxiales, laterales Mesoderm
intermediäres Mesoderm
f


Amnionhöhle
1
2
3
Dottersack
a
Chorion
3
4
5
b
extraembryonales
Mesenchym
Amnion
Amnionhöhle
1
6
7
8
9
Amnionmesenchym
Primitivdarm
Dottersack
c
intraembryonales
Zolom
2
3
4
Schwanzfalte
Dottersack
d

# DIFERENCIACE PRVOSEGMENTŮ (somitů)



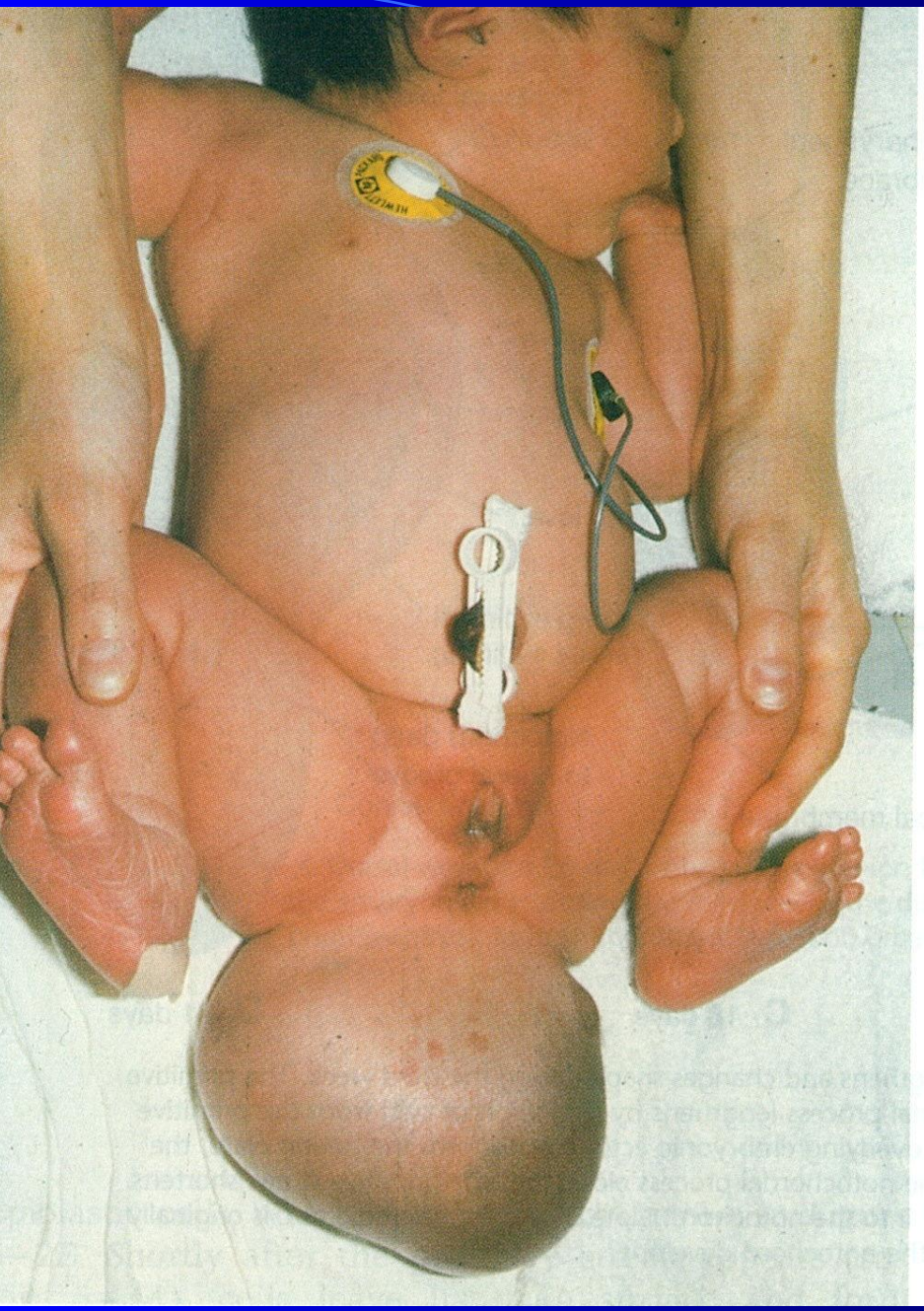
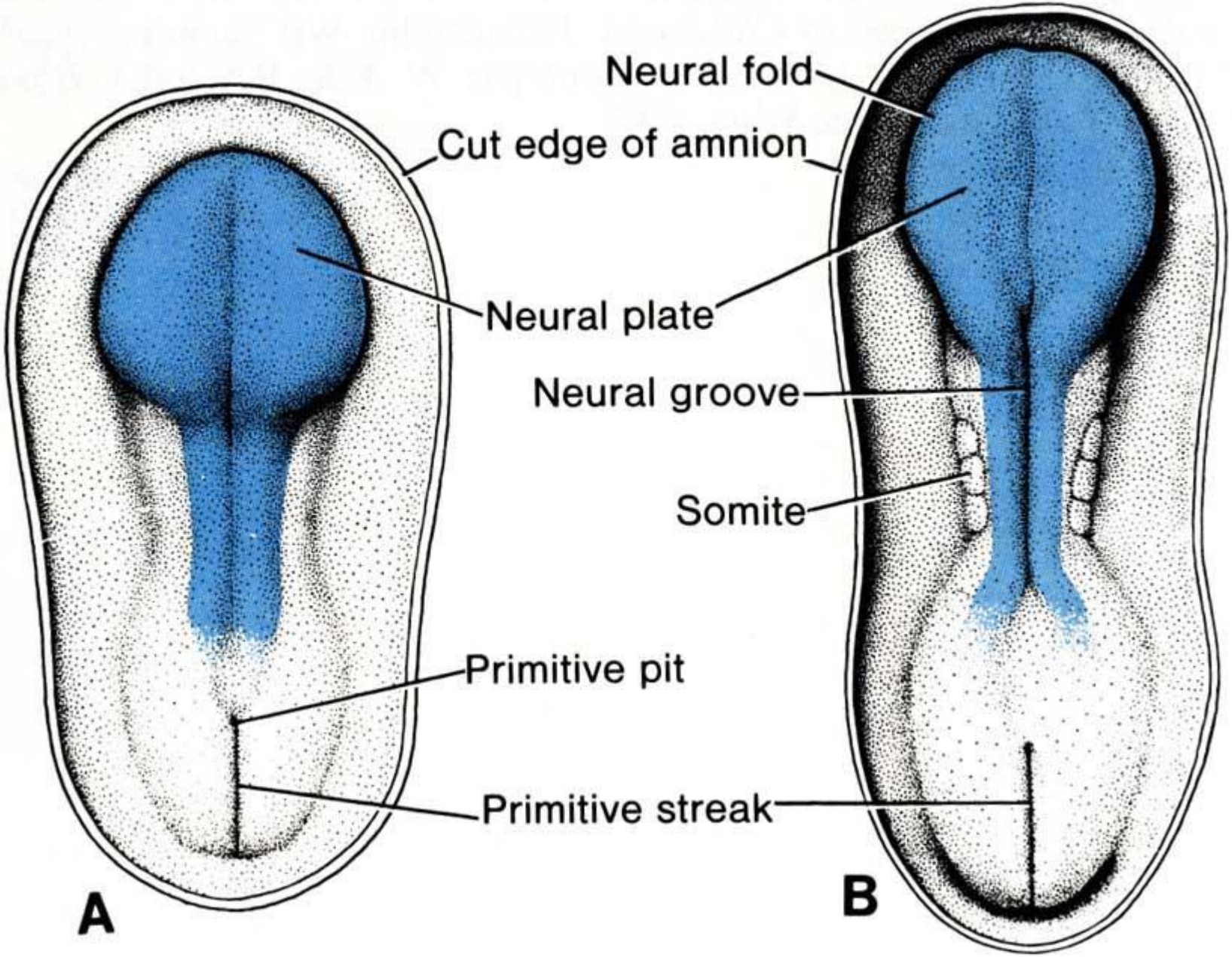


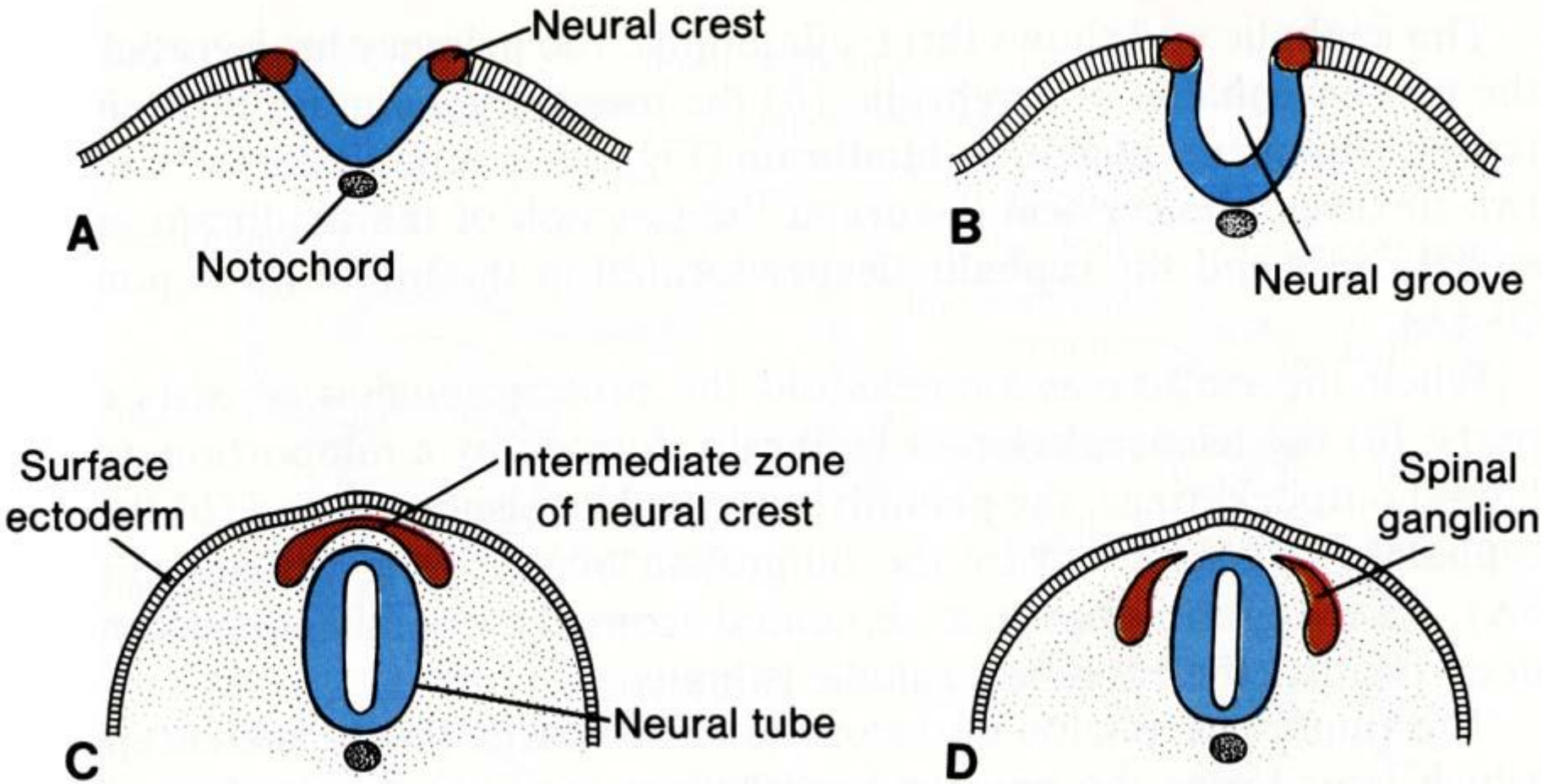
***Figure 5 – 5.*** Female infant with a large sacrococcygeal teratoma that developed from remnants of the primitive streak. The tumor was surgically removed. (Courtesy of Dr. A. E. Chudley, Section of Genetics and Metabolism, Department of Pediatrics and Child Health, Children's Hospital, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada.)

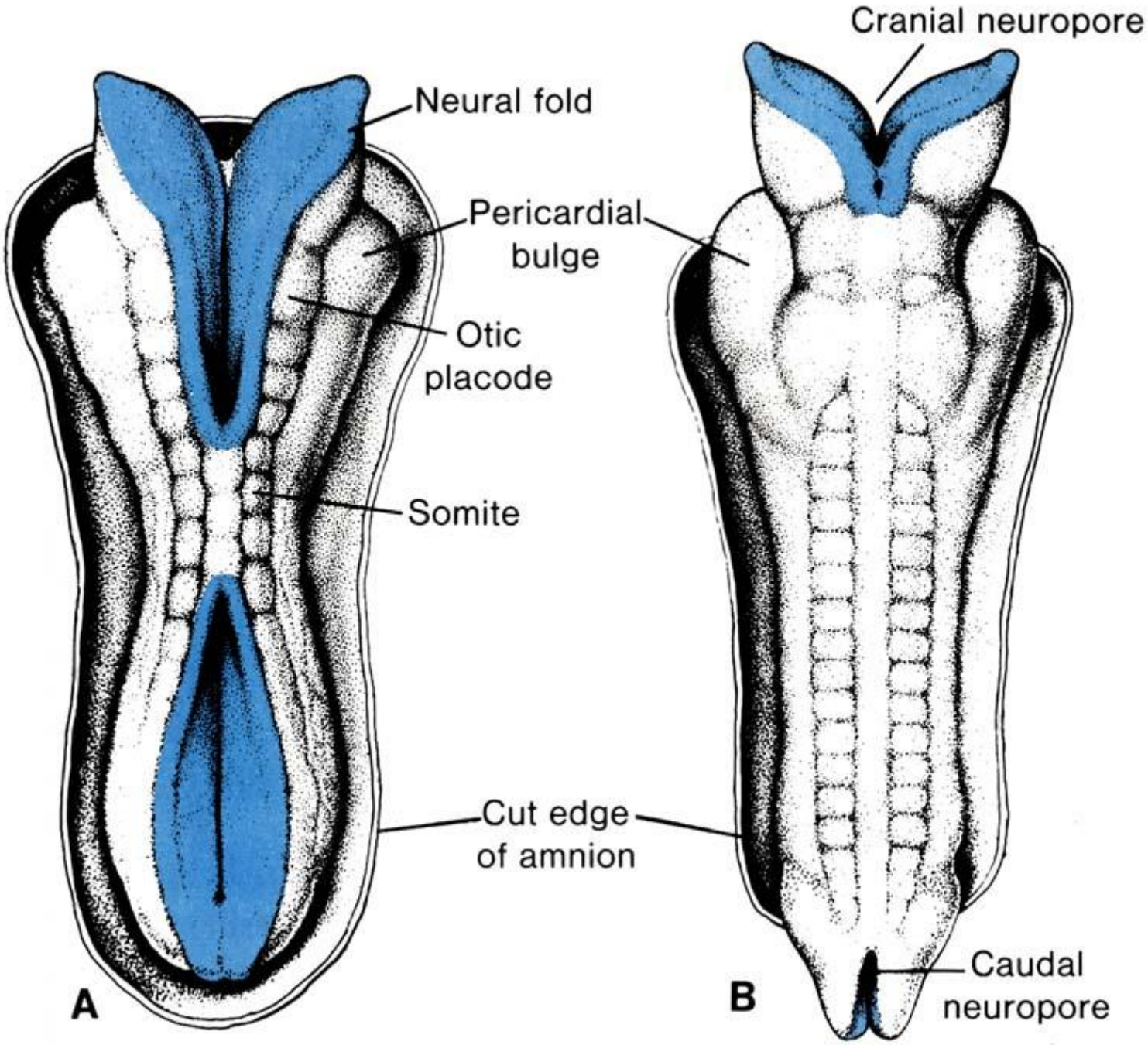
# Organogeneze (morfogeneze a histogeneze)

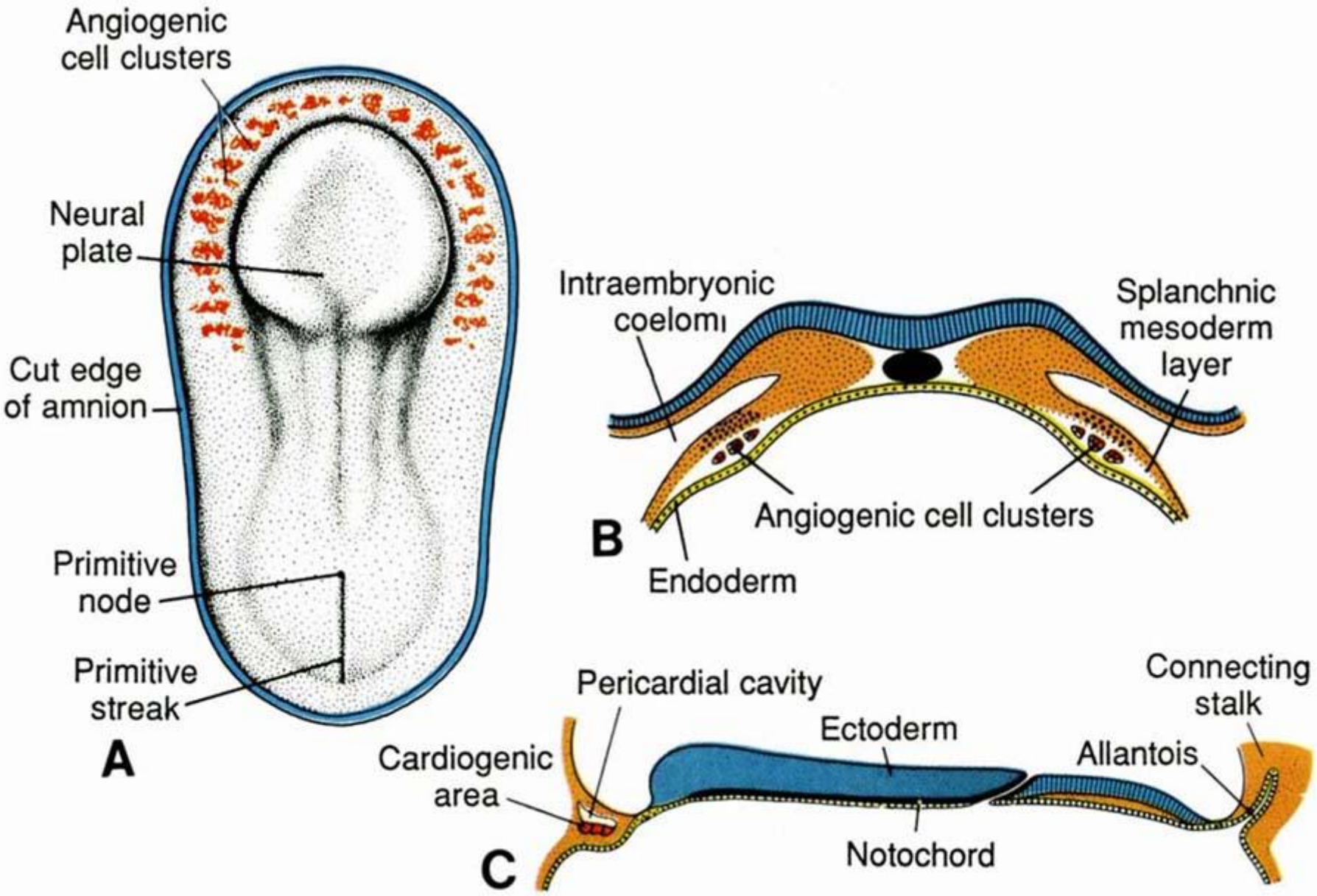
Základy jednotlivých systémů:

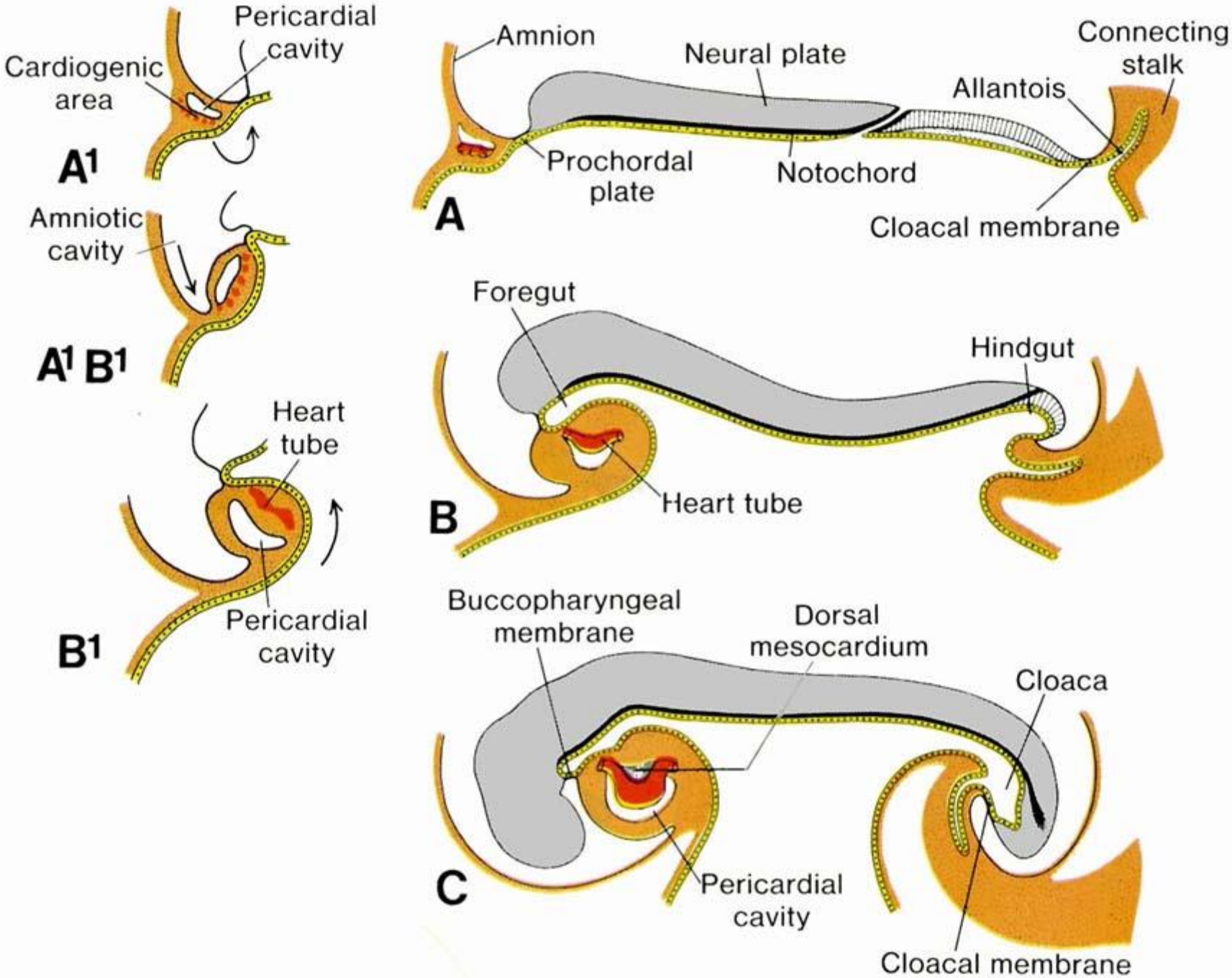
- nervový
- kardiovaskulární
- trávicí
- základy smyslových orgánů
- močový
- pohlavní

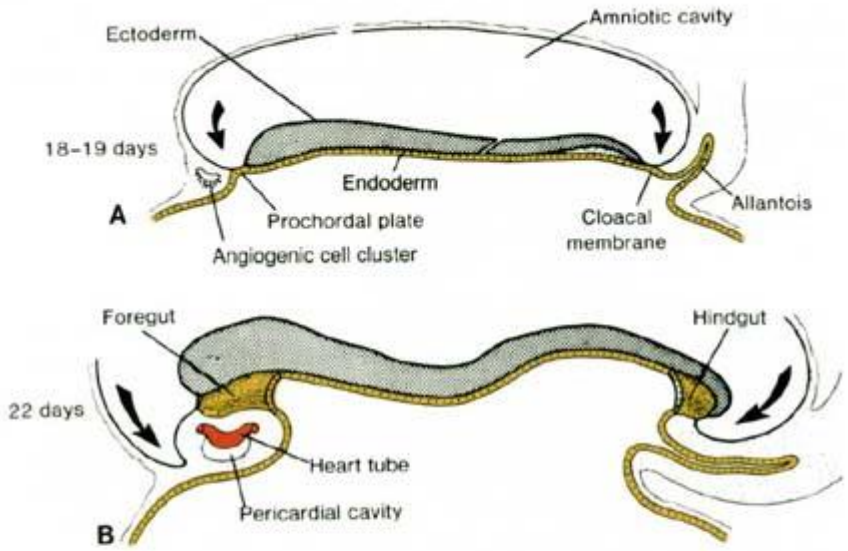

Neural fold
Cut edge of amnion
Neural plate
Neural groove
Somite
Primitive pit
Primitive streak
A
B

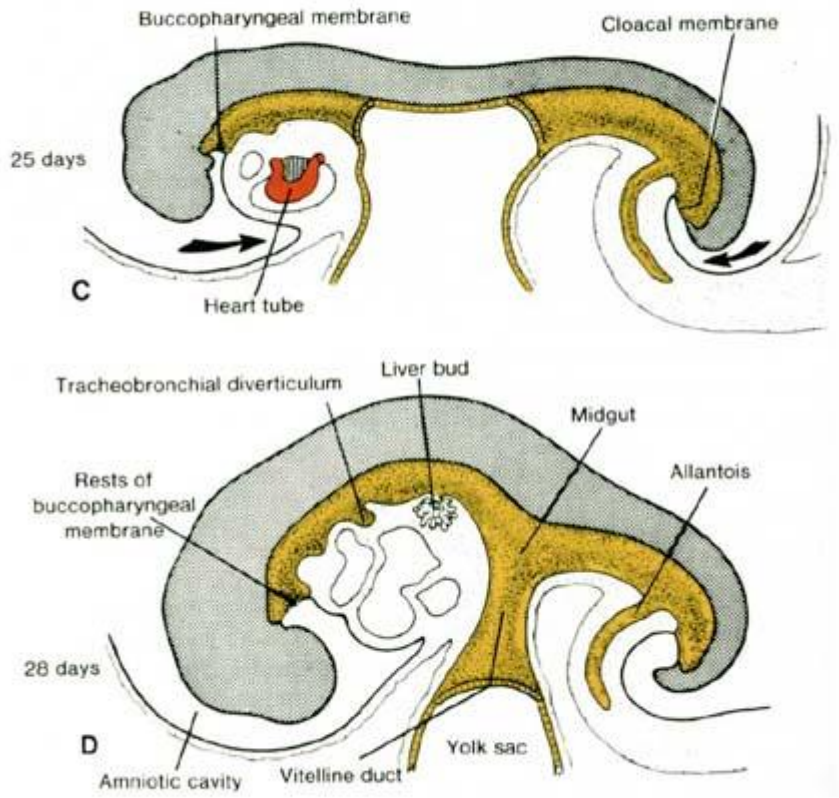

Neural crest
A
Notochord
B
Neural groove
Surface
ectoderm
Intermediate zone
of neural crest
Neural tube
C
Spinal
ganglion
D


Neural fold
Pericardial bulge
Otic placode
Somite
Cut edge of amnion
A
Cranial neuropore
B
Caudal neuropore


Angiogenic cell clusters
Neural plate
Cut edge of amnion
Primitive node
Primitive streak
A
Intraembryonic coelom
Splanchnic mesoderm layer
Angiogenic cell clusters
B
Endoderm
Pericardial cavity
Connecting stalk
Ectoderm
Allantois
Cardiogenic area
Notochord
C


Pericardial cavity
Cardiogenic area
A1
Amniotic cavity
A1 B1
Heart tube
Pericardial cavity
B1
Amnion
Neural plate
Connecting stalk
Allantois
Prochordal plate
Notochord
A
Cloacal membrane
Foregut
Hindgut
Heart tube
B
Buccopharyngeal membrane
Dorsal mesocardium
Cloaca
C
Pericardial cavity
Cloacal membrane


Ectoderm
Amniotic cavity
18–19 days
Endoderm
A
Prochordal plate
Cloacal membrane
Allantois
Angiogenic cell cluster
Foregut
Hindgut
22 days
Heart tube
Pericardial cavity
B


Buccopharyngeal membrane
Cloacal membrane
25 days
C
Heart tube
Tracheobronchial diverticulum
Liver bud
Midgut
Allantois
Rests of buccopharyngeal membrane
28 days
D
Yolk sac
Amniotic cavity
Vitelline duct

# 4. týden vývoje

- ohraničování a flexe zárodku – vznik trubicovitého těla, vývoj pupečníku
- funguje srdce
- uzavření neuroporus anterior (25. den) a posterior (27. den), základ mozku (3 váčky)
- tvoří se základy oka a ucha (24. – 25. den)
- žaberní oblouky (1. a 2.: 22. – 23. den)
- horní končetinový pupen (26. – 27. den)

# Deriváty ektodermu

- neuroektoderm (nervový systém, sítnice, čichové buňky, …)
- epidermis a adnexa kožní (žlázy potní, mazové, mléčná, vlas, nehet)
- vnitřní ucho (výstelka blanitého labyrintu)
- čočka oční, epitel rohovky
- výstelka dutiny ústní a slinné žlázy
- sklovina zubu
- adenohypofýza

# Deriváty mezodermu

- svalová tkáň příčně pruhovaná kosterní i srdeční
- močové a pohlavní ústrojí
- kůra nadledviny
- výstelka tělních dutin (hrudní, břišní, perikardové)

# Deriváty entodermu

- trávicí trubice (výstelka a žlázy)
- dýchací systém (výstelka a žlázy dých. cest, výstelka alveolů plicních)
- část vývodních cest močových
- výstelka středoušní dutiny a Eustachovy trubice
- štítná žláza a příštítná tělíska
- epitelové retikulum brzlíku

# Deriváty mezenchymu

- pojivové tkáně (vazivo, chrupavka, kost)
- hladká svalová tkáň
- krevní a lymfatické cévy
- slezina a lymfatické uzliny (lymfatická tkáň)

# Pohlaví zárodku – přehled vývoje

- pohlaví je určeno heterochromosomy X a Y, přítomnost Y vede k vývoji mužského pohlaví nezávisle na počtu X chromosomů
- stadium indiferentní:

  gonáda, vývody, zevní pohlavní orgány
- diferenciace v pohlaví mužské nebo ženské (přibližně 7. týden vývoje, napřed se diferencuje gonáda a ta ovlivňuje diferenciaci ostatních částí pohlavních systému)

# gonáda

stadium indiferentní:

pohlavní lišta (plica genitalis)

4. týden: Th6 – S2
6. týden: L3 – L5

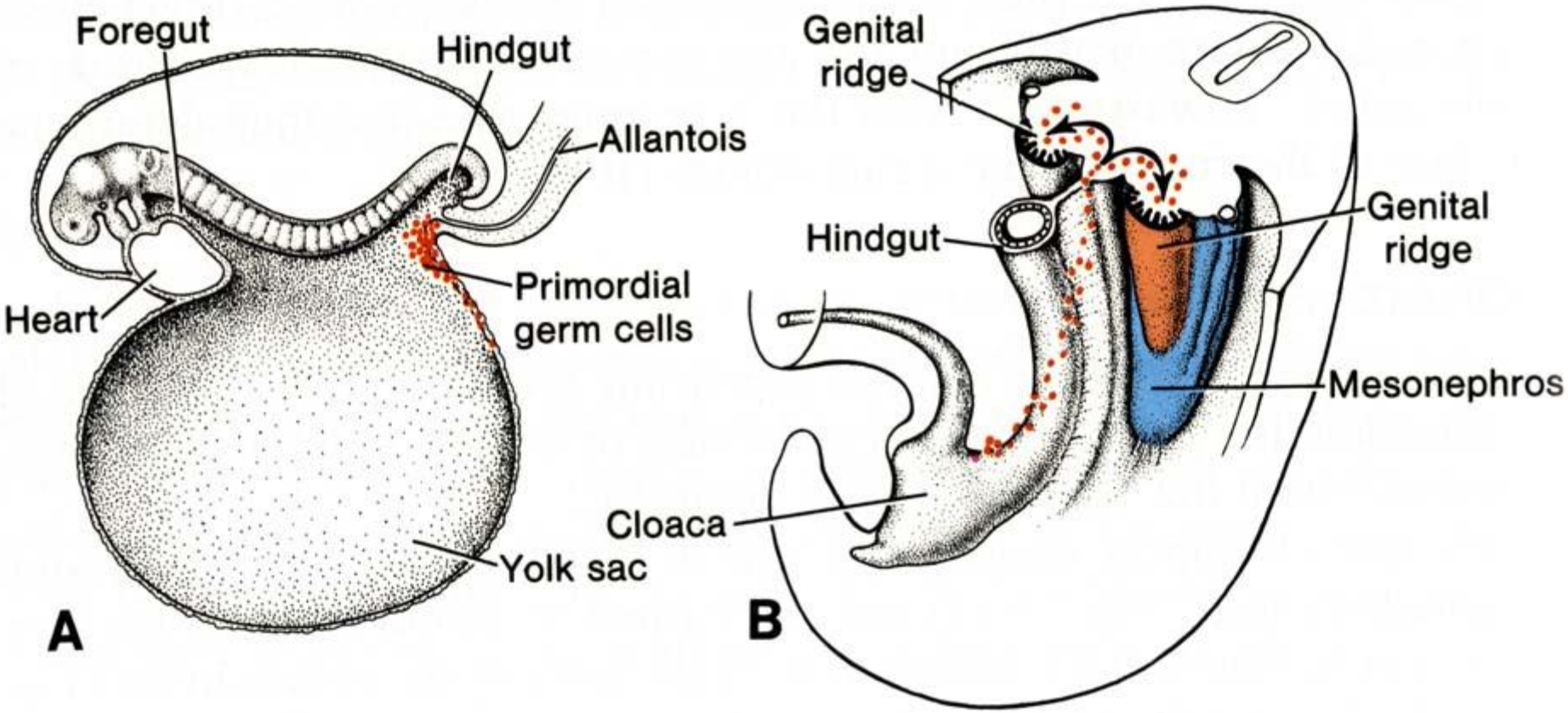
- součásti indiferentní gonády: proliferující coelomový epitel (medulární provazce)

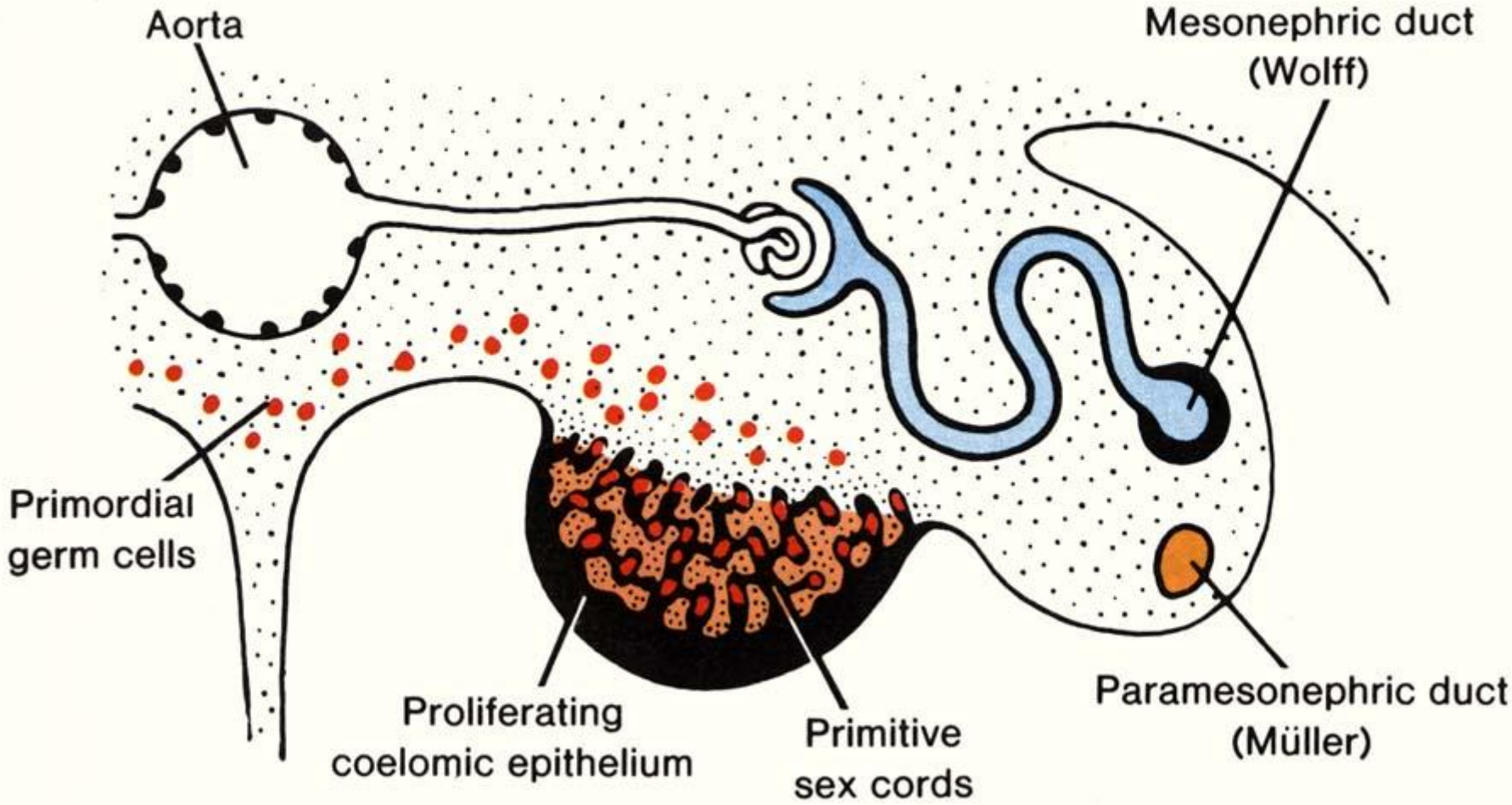
  prvopohlavní buňky (gonocyty) (6. týden)

  mezenchym

- diferenciace: v 7. týdnu testis

- Diferenciaci pohlavní žlázy určuje přítomnost chromosomu Y
- Krátké raménko Y chromosomu: gen SRY (sex-determining region of Y chomosome) pro testis-determinující faktor (TDF). Je-li gen SRY transkribován, diferencuje se gonáda ve varle, testosteron produkovaný Leydigovými buňkami stimuluje diferenciaci vývodních cest a zevního genitálu (diferenciace dokončena do 12.-14. týdne vývoje)
- Y chromosom nepřítomen: diferenciace gonády v ovarium a následně ženské vývodní cesty a zevní genitál


Foregut
Hindgut
Allantois
Heart
Primordial
germ cells
Yolk sac
A
Genital
ridge
Hindgut
Genital
ridge
Mesonephros
Cloaca
B

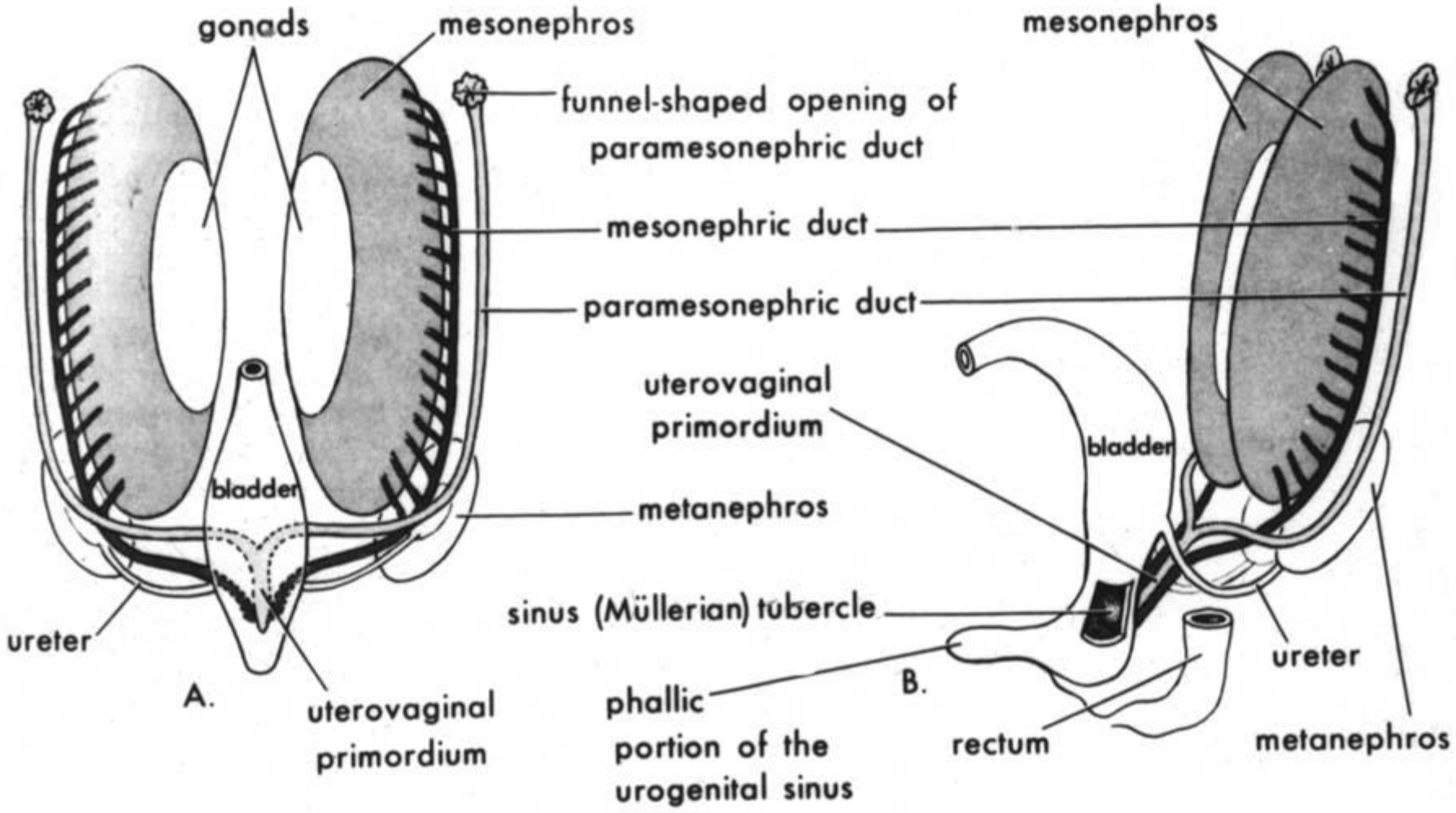

Aorta
Mesonephric duct
(Wolff)
Primordial
germ cells
Proliferating
coelomic epithelium
Primitive
sex cords
Paramesonephric duct
(Müller)

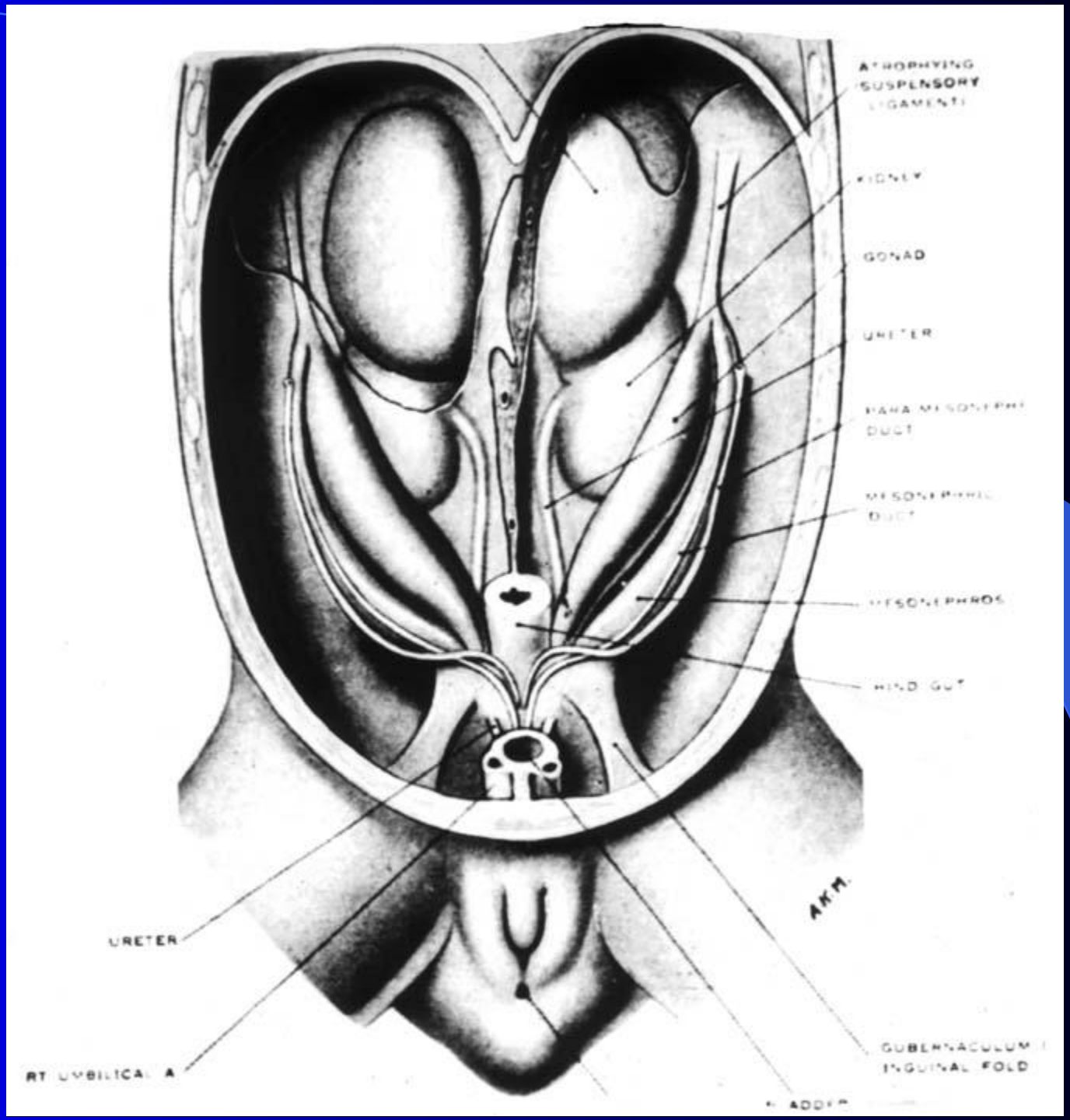
# ženské pohlaví – chromosom X

- jeden ze dvou chromosomů X je přibližně 12. den vývoje inaktivován
- výběr je náhodný (nezáleží na tom, od kterého z rodičů), ale původně náhodná inaktivace je zachována i později
- u jednovaječných dvojčat – každé z nich může mít inaktivovaný X chromosom od opačného rodiče
- X chromatin, tělísko Barrové

# vývodní cesty
## stadium indiferentní

- Wolffův vývod (ductus mesonephricus) + kanálky mezonefros
- Müllerův vývod (ductus paramesonephricus)


gonads
mesonephros
funnel-shaped opening of paramesonephric duct
mesonephric duct
paramesonephric duct
uterovaginal primordium
bladder
metanephros
ureter
A.
uterovaginal primordium
mesonephros
bladder
sinus (Müllerian) tubercle
phallic portion of the urogenital sinus
B.
rectum
ureter
metanephros


SUSPENSORY
GONAD
URETER
DUCT
DUCT
HIND GUT
URETER
AKM.
INGUINAL FOLD

# zevní genitál
## stadium indiferentní

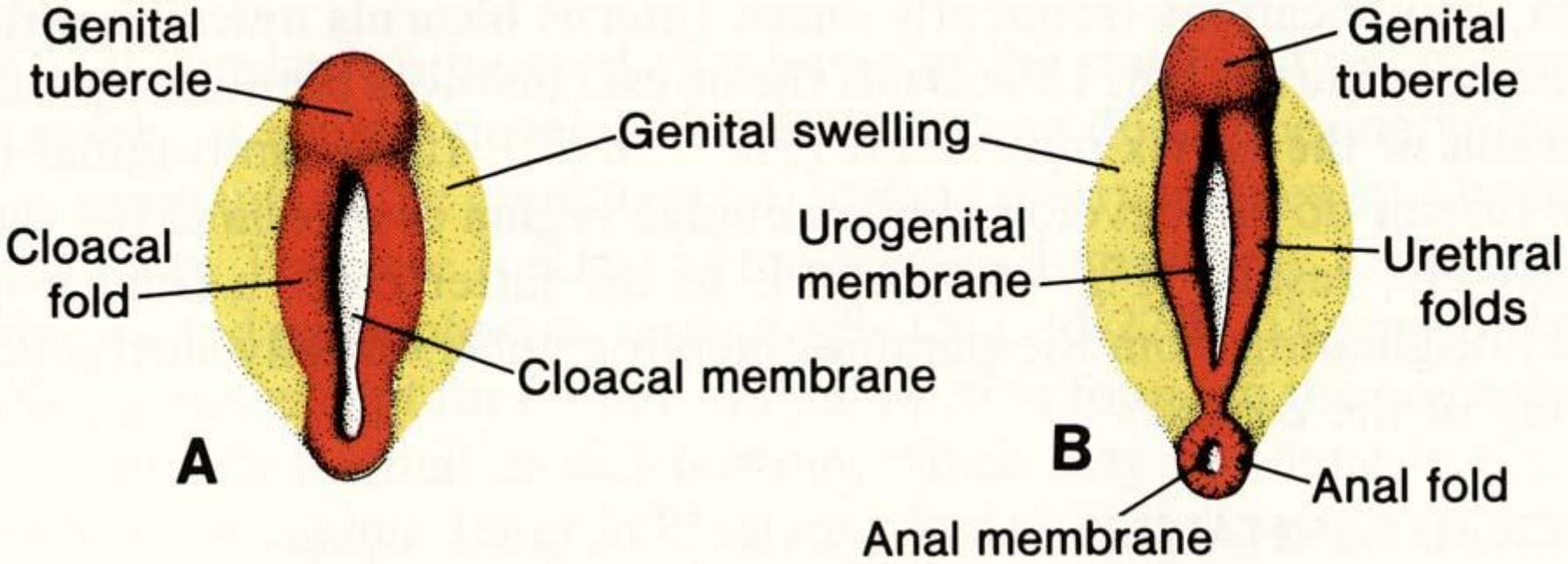
6. týden (po rozdělení kloakové membrány a řas) vznikne z její ventrální části

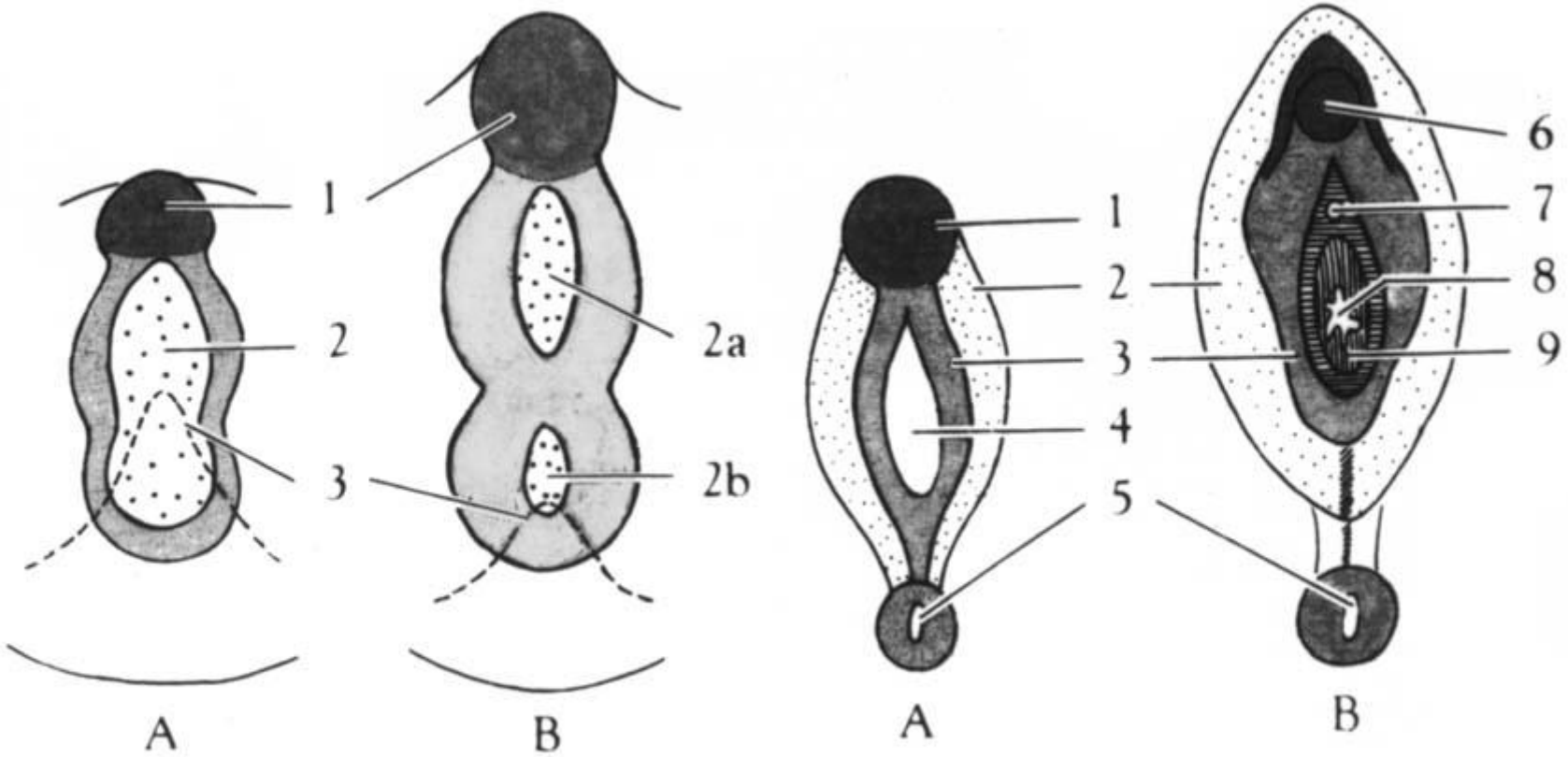
membrana urogenitalis (orificium urogenitale primitivum) a ohraničující útvary:

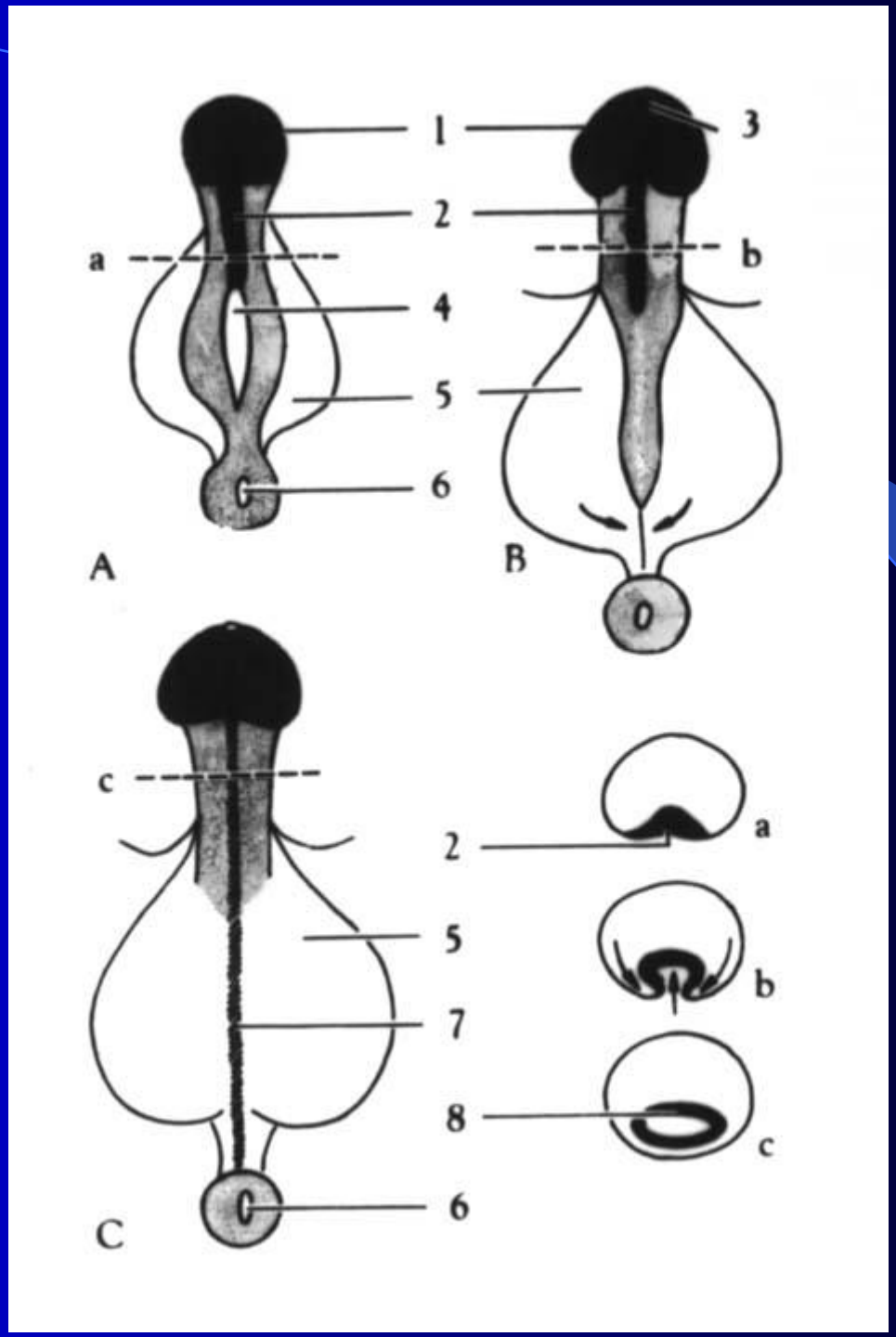
phallus

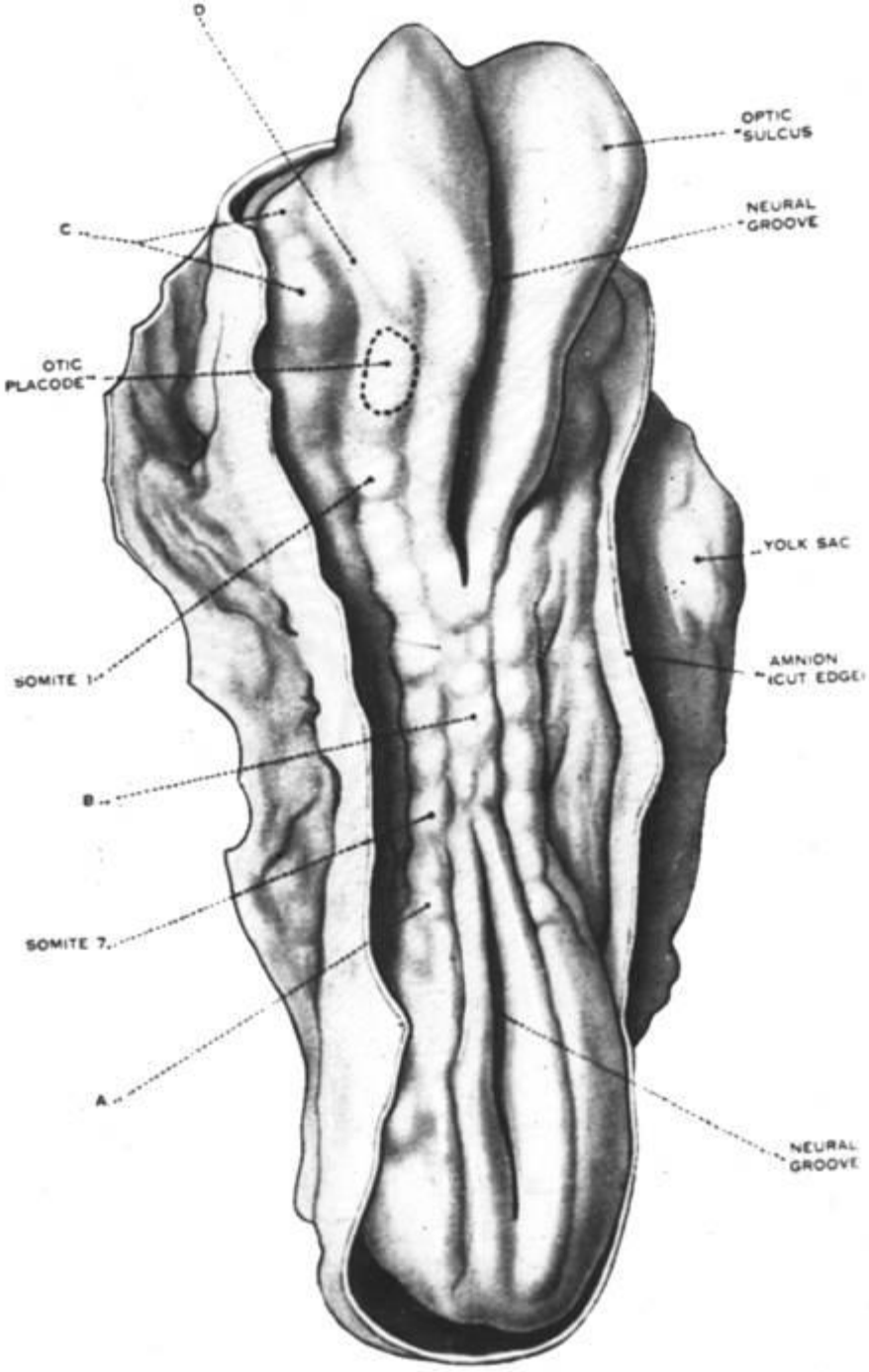
uretrální (pohlavní) řasy (plicae urethrales, urogenitales)

pohlavní valy (tori genitales)

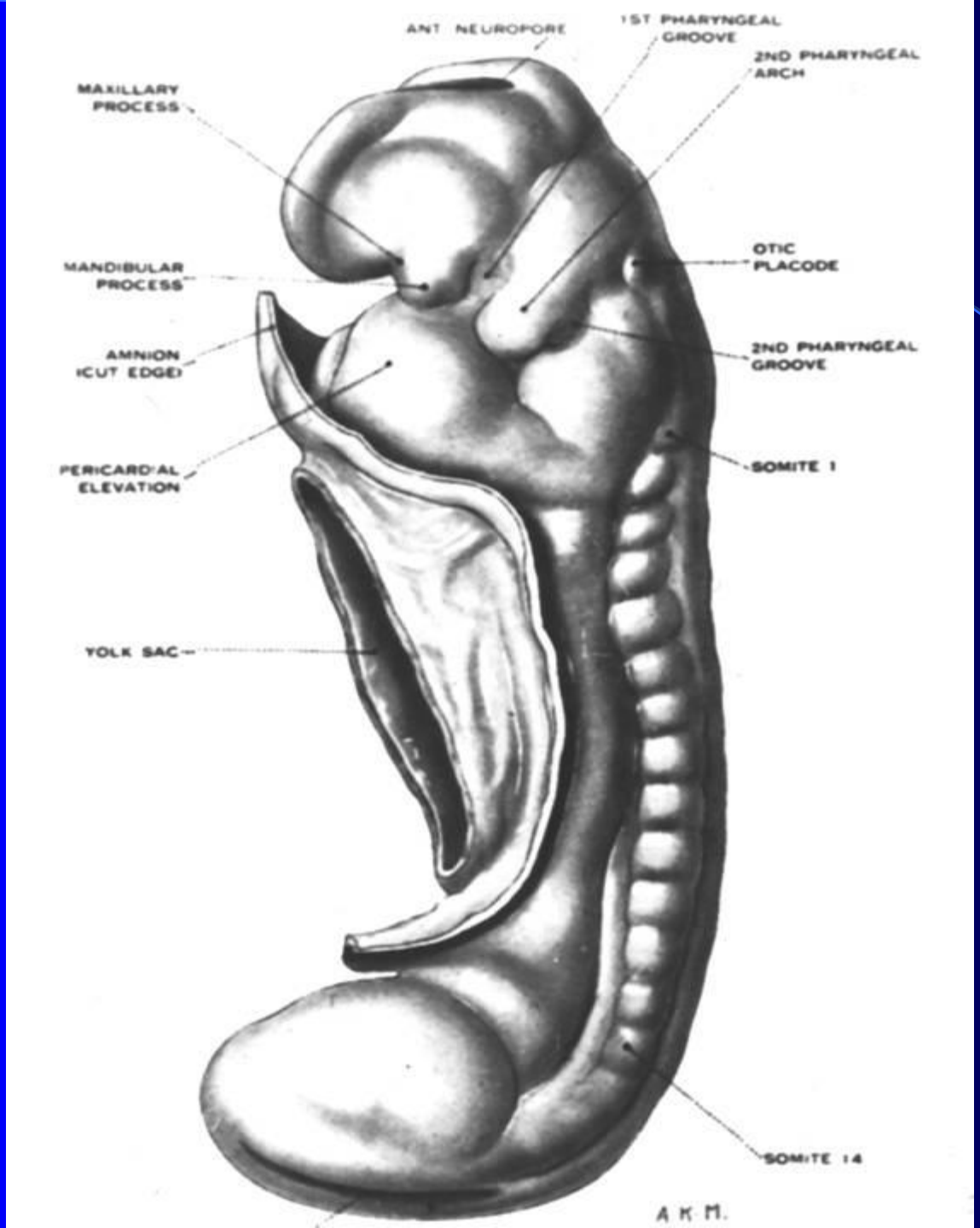

Genital tubercle
Genital swelling
Cloacal fold
Cloacal membrane
A
Genital tubercle
Urogenital membrane
Urethral folds
B
Anal fold
Anal membrane


1
2
3
A
1
2a
2b
B
1
2
3
4
5
A
6
7
8
9
B

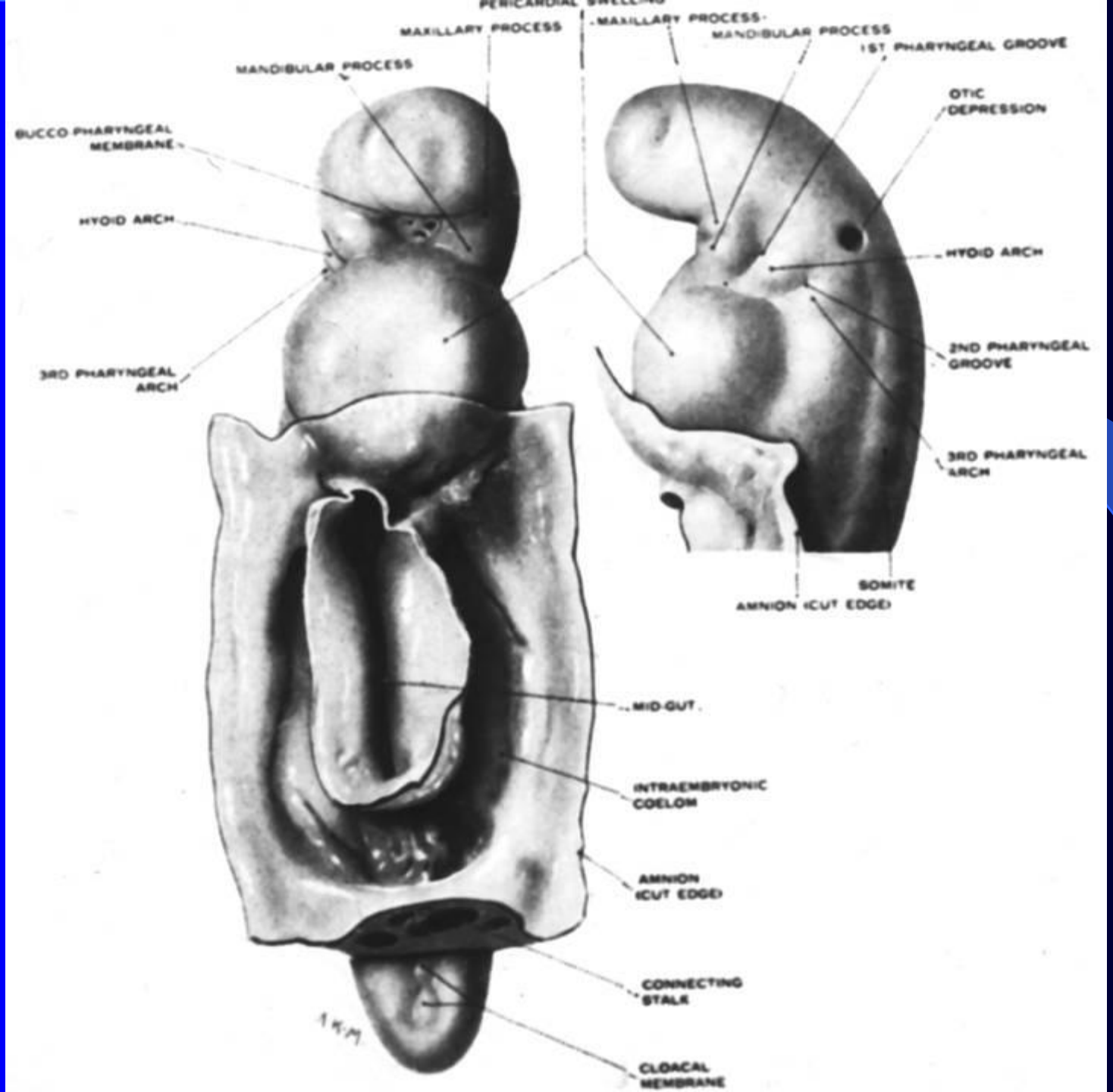

1
2
a
4
5
6
A
3
b
B
c
2
5
7
8
6
C
a
b
c


D
OPTIC SULCUS
NEURAL GROOVE
C
OTIC PLACODE
YOLK SAC
AMNION (CUT EDGE)
SOMITE 1
B
SOMITE 7
A
NEURAL GROOVE

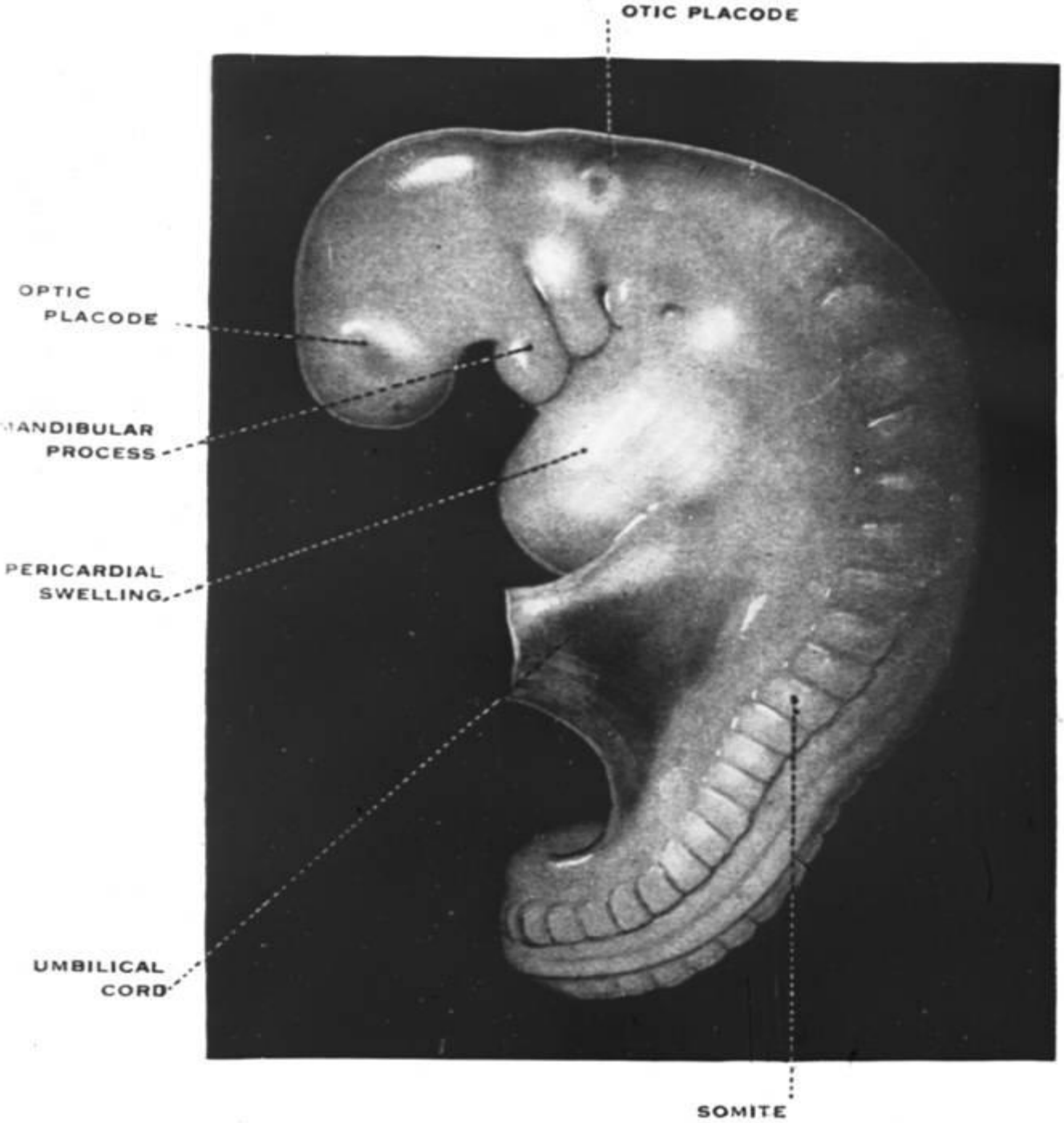
# 22. den


ANT NEUROPORE
1ST PHARYNGEAL GROOVE
2ND PHARYNGEAL ARCH
MAXILLARY PROCESS
MANDIBULAR PROCESS
OTIC PLACODE
AMNION (CUT EDGE)
2ND PHARYNGEAL GROOVE
PERICARDIAL ELEVATION
SOMITE 1
YOLK SAC
SOMITE 14
A K M.

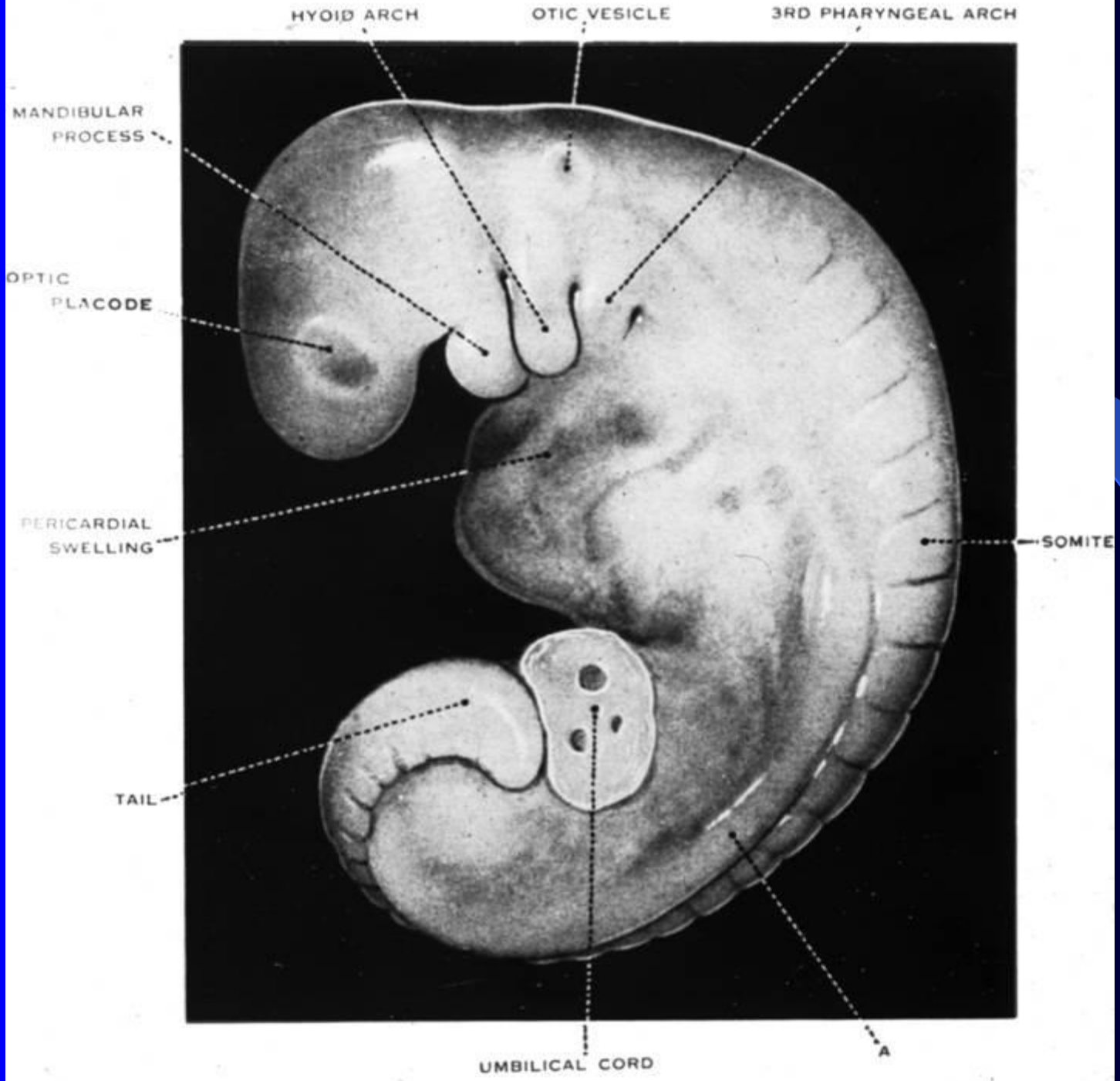
# 25. den


PERICARDIAL SWELLING
MAXILLARY PROCESS
MAXILLARY PROCESS
MANDIBULAR PROCESS
MANDIBULAR PROCESS
1ST PHARYNGEAL GROOVE
OTIC DEPRESSION
BUCCO PHARYNGEAL MEMBRANE
HYOID ARCH
HYOID ARCH
2ND PHARYNGEAL GROOVE
3RD PHARYNGEAL ARCH
3RD PHARYNGEAL ARCH
SOMITE
AMNION (CUT EDGE)
MID-GUT
INTRAEMBRYONIC COELOM
AMNION (CUT EDGE)
CONNECTING STALK
CLOACAL MEMBRANE

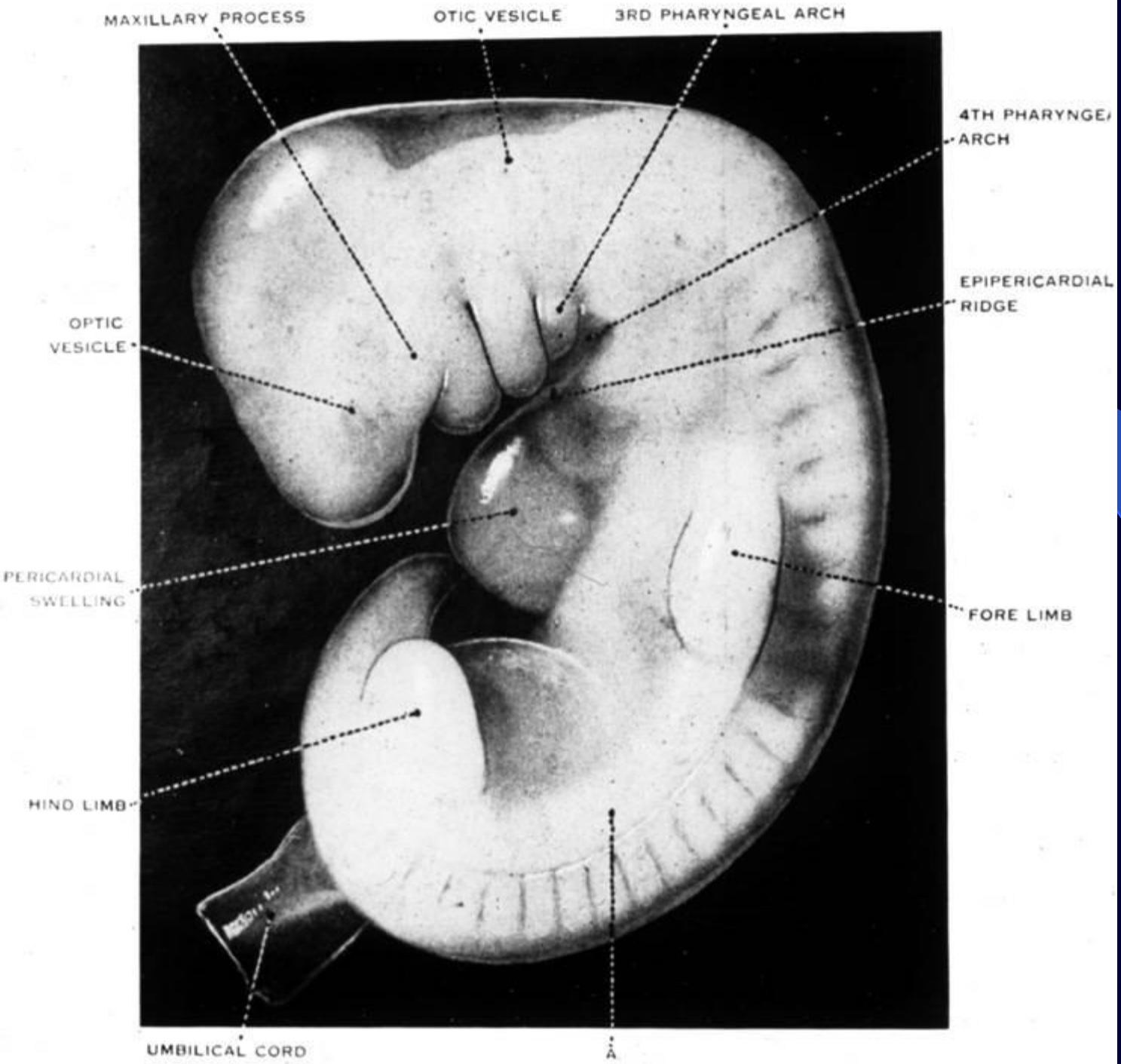
26. den


OTIC PLACODE
OPTIC PLACODE
MANDIBULAR PROCESS
PERICARDIAL SWELLING
UMBILICAL CORD
SOMITE

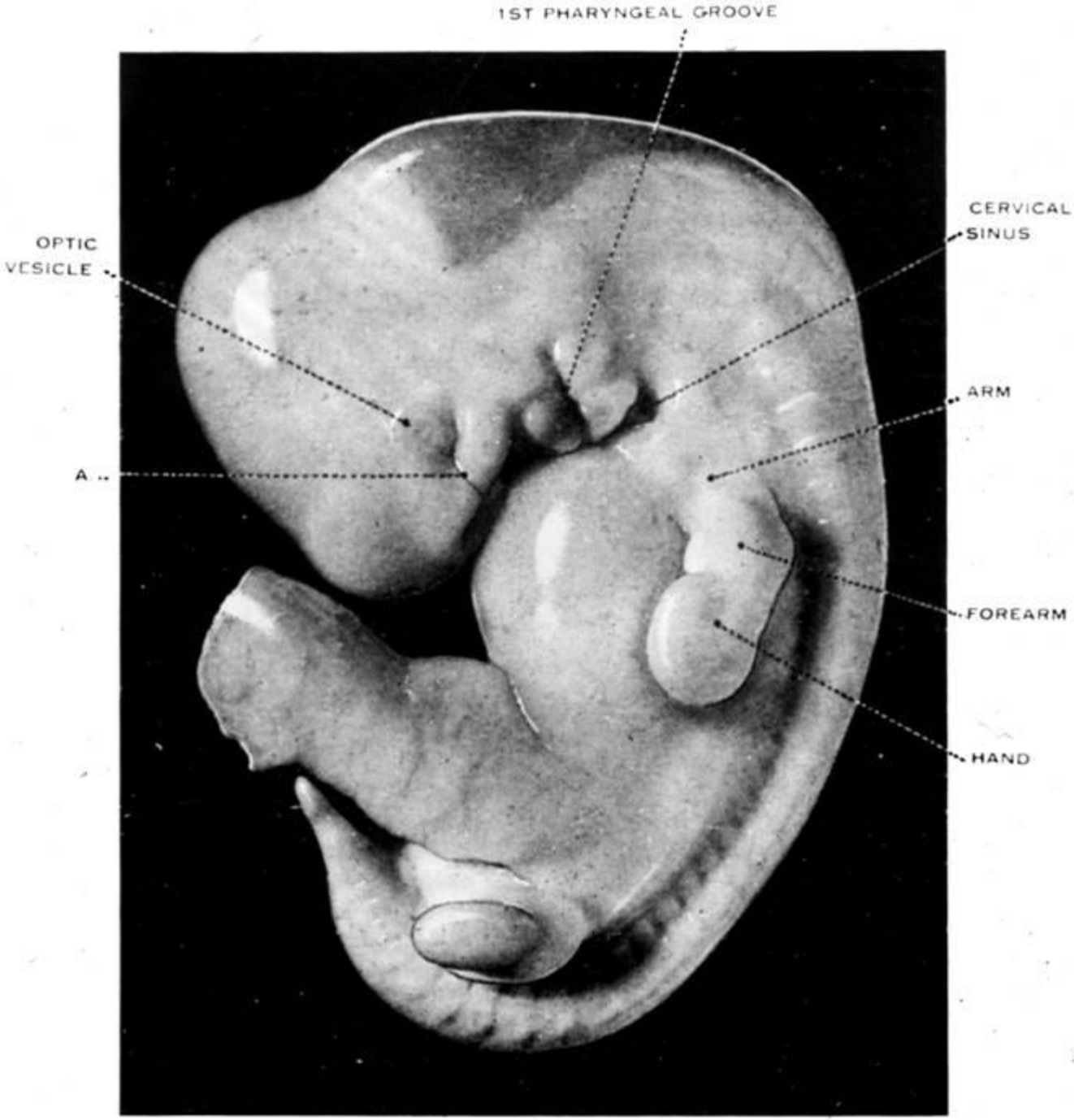
# 29. den


HYOID ARCH
OTIC VESICLE
3RD PHARYNGEAL ARCH
MANDIBULAR PROCESS
OPTIC PLACODE
PERICARDIAL SWELLING
SOMITE
TAIL
UMBILICAL CORD
A

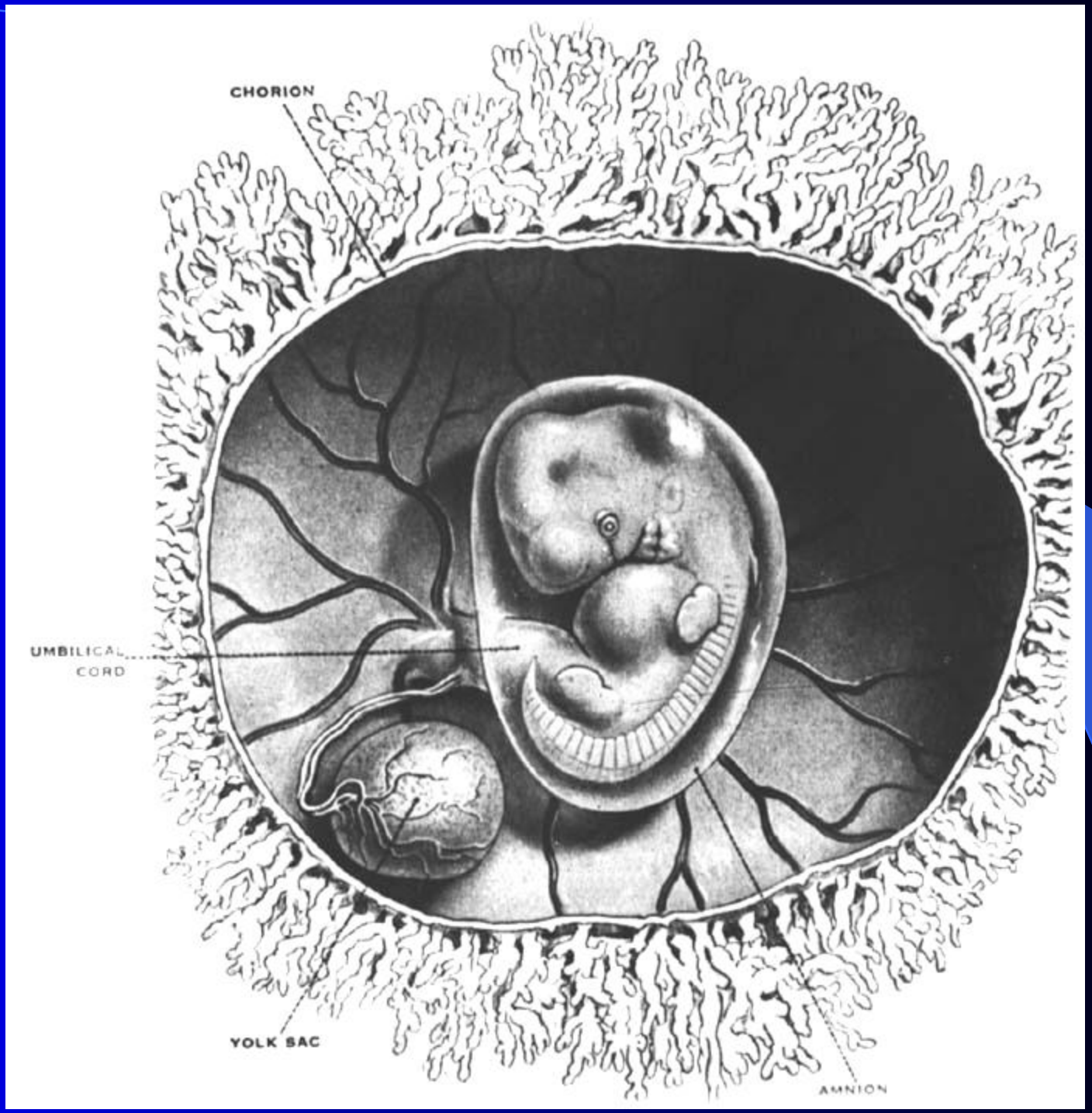
# 31. den

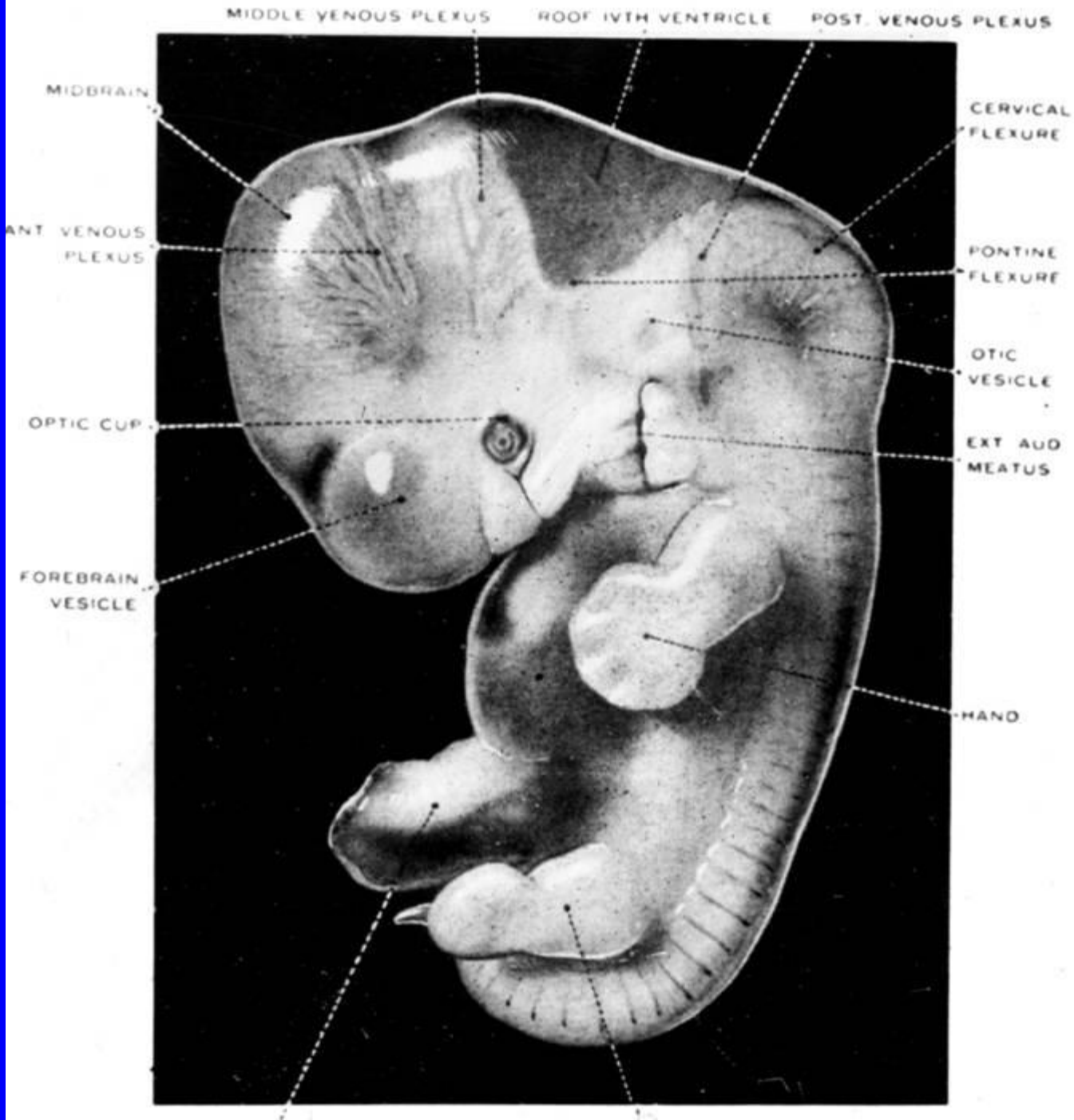

MAXILLARY PROCESS
OTIC VESICLE
3RD PHARYNGEAL ARCH
4TH PHARYNGEAL ARCH
EPIPERICARDIAL RIDGE
OPTIC VESICLE
PERICARDIAL SWELLING
FORE LIMB
HIND LIMB
UMBILICAL CORD
A

# 34. den


1ST PHARYNGEAL GROOVE
OPTIC VESICLE
A
CERVICAL SINUS
ARM
FOREARM
HAND

# 40. den


CHORION
UMBILICAL CORD
YOLK SAC
AMNION


MIDDLE VENOUS PLEXUS
ROOF IVTH VENTRICLE
POST. VENOUS PLEXUS
MIDBRAIN
CERVICAL FLEXURE
ANT VENOUS PLEXUS
PONTINE FLEXURE
OTIC VESICLE
OPTIC CUP
EXT AUD MEATUS
FOREBRAIN VESICLE
HAND

# 43. den

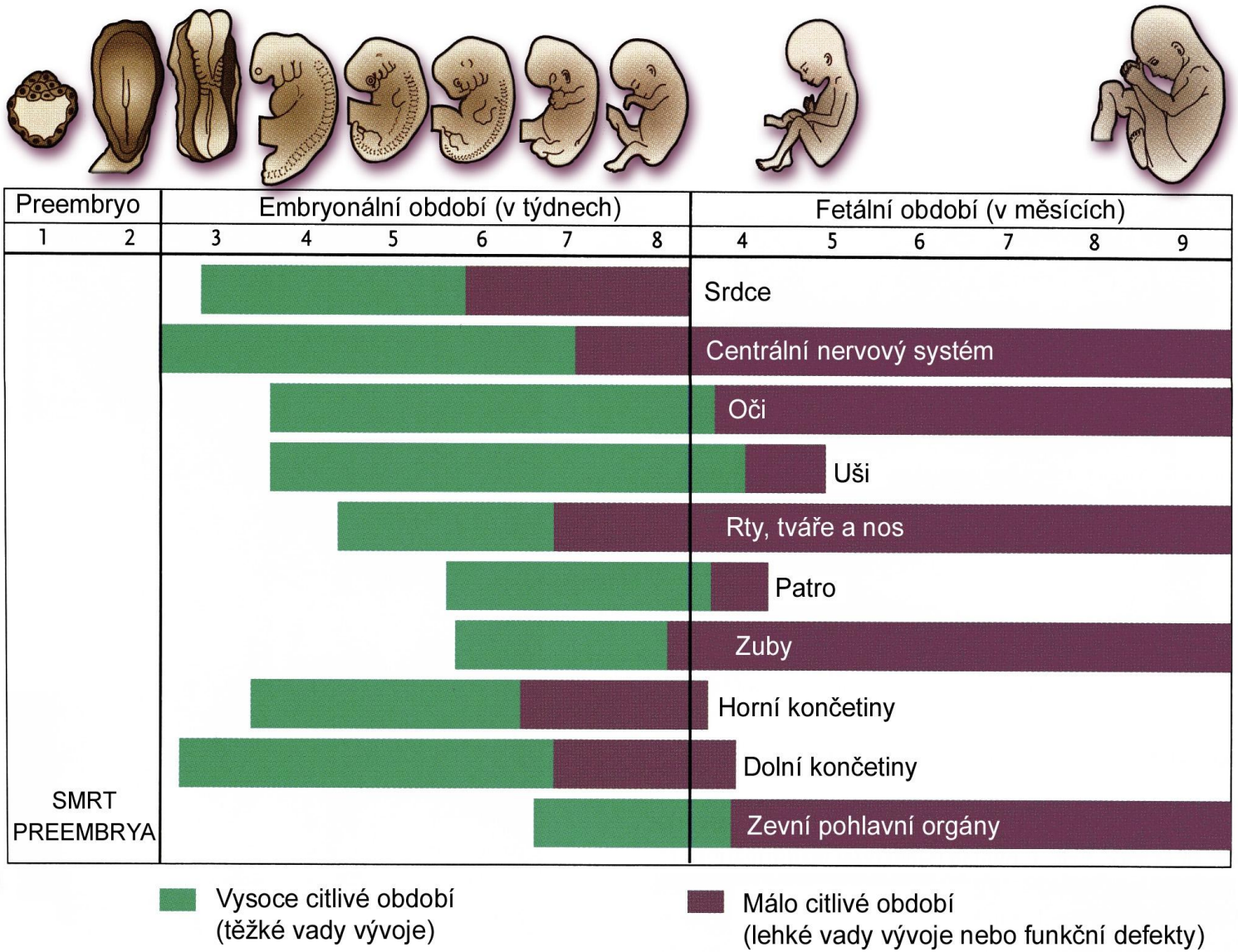
47. den

60. den

# Kritické periody ve vývoji

- do 3. týdne (***prediferenciační perioda***) - embryo celé zanikne nebo ztrátu několika buněk kompenzuje
- 3. – 8. týden (***embryonální perioda***) - většina teratogenů je velmi účinná, citlivost a tudíž postižení jednotlivých orgánů se liší podle pokročilosti jejich vývoje
- ***fetální období*** - citlivost k působení teratogenů rychle klesá (výjimky: některé struktury CNS a urogenitálního systému)

# KRITICKÉ PERIODY VÝVOJE



# 4.5 Výsledek IVF

- produkce hCG, těhotenský test
- implantation rate, ultrasonografie (váčky, srdeční akce)

- těhotenství biochemické – hCG v krvi a moči matky lze prokázat již počátkem 2. týdne
- těhotenství klinické – na podkladě UZ vyšetření  lze zjistit počet gestačních váčků (již na konci 3. týdne od početí) a stanovit, kolik se implantovalo embryí (implantation rate – IR)
- rovněž srdeční akci je možno zjistit velmi časně

# 4.6 Selhání časné gravidity

- mimoděložní těhotenství
- spontánní potraty:

embryonální faktory vs. děložní faktory

# Mimoděložní těhotenství

- nidace blastocysty mimo děložní sliznici (nejčastěji vejcovod, vzácně ovarium, peritoneum)
- v běžné populaci přibližně v 1% těhotenství, při IVF riziko 2-3x vyšší (zejména při zavádění gamet nebo embryí do vejcovodu – dnes jen sporadicky)
- abnormální místa implantace v děložní dutině – poblíž cervix uteri (vznik placenta previa)
- heterotopická gravidita (vzácná při IVF, spontánní prakticky neexistuje)

# Spontánní potraty

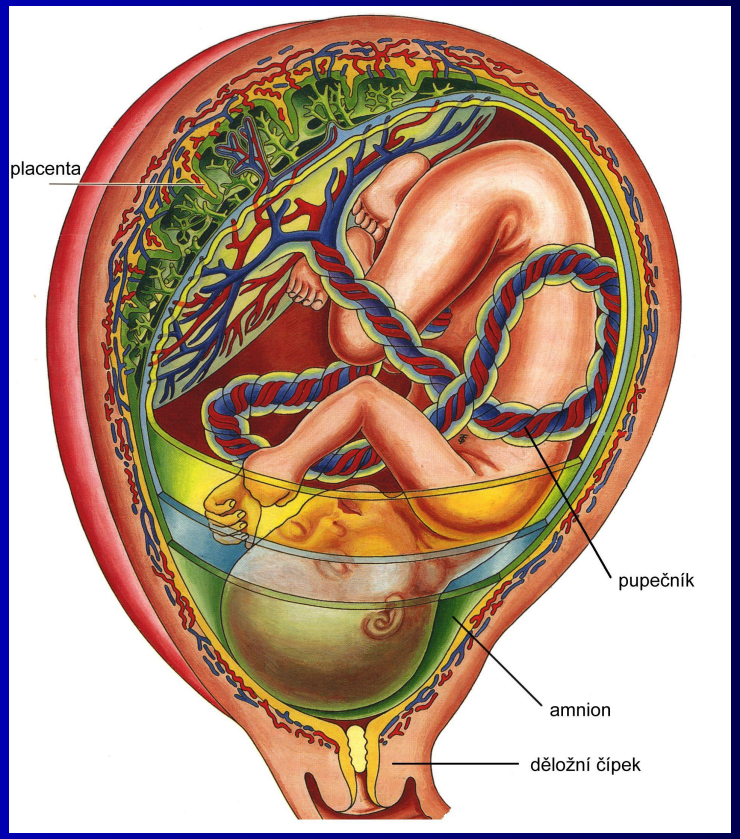
- riziko potratu po IVF 2x vyšší než u ostatní populace - dáno charakterem souboru léčených párů (věk, přidružená onemocnění), ale také časnou diagnostikou těhotenství po IVF (v běžné populaci asi 10% časných těhotenství zaniká aniž bylo diagnostikováno)

# Selhání časné gravidity

embryonální faktory:

- chromozomální aberace (nalezeny u 40% abortů do 12. týdne a 75% abortů do 6. týdne)
- cystická degenerace choria

mateřské faktory:

- imunologické příčiny
- infekce (toxoplasma, rubeola)
- hormonální vlivy (diabetes, štítná žláza, nadledvina)
- chronická onemocnění – poruchy srážlivosti, avitaminózy, choroby ledvin, kardiopatie
- akutní horečnatá onemocnění
- zevní vlivy

# Děkuji za pozornost