

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Aktivált protein C rezisztencia okozta morbiditás vizsgálata szülészeti és nőgyógyászati beteganyagban különös tekintettel a megelőzés lehetőségeire

Dr. Vad Szilvia



Témavezető: Dr. Póka Róbert

Debreceni Egyetem

Orvos- és Egészségtudományi Centrum

Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

Debrecen 2007.

1. Bevezetés

A morbiditási és mortalitási statisztikákban kiemelkedő helyet foglalnak el a thromboemboliás megbetegedések. Fejlett országokban, a kórházakban bekövetkezett halálesetek többsége ma már thromboemboliás eredetű, bár az elmúlt 30 év során a thromboemboliás megbetegedések okozta halálozás a világ fejlett országaiban jelentősen csökkent. Hazánkban napjainkban is meglehetősen magas a thrombosis okozta halálozási arány, 2,5-szer magasabb a thromboemboliás mortalitás, mint az európai átlag. A thromboemboliás megbetegedések előfordulása nőkben lényegesen magasabb, mint férfiakban.

A thrombosisra hajlamosító tényezők nagy szerepet játszanak a szülészeti és nőgyógyászati gyakorlatban: befolyásolják a fogamzásgátlás módját, a terhesség kimenetelét, a szülést és a postmenopausalis hormonpótló kezelést is. A hormonális fogamzásgátlással, a terhességgel/ gyermekággal és a menopausalis hormonótlással kapcsolatos thrombosis kockázat lényegesen emelkedett azoknál a nőknél, akiknél öröklött vagy szerzett thrombophilia áll fenn.

Thrombosis kialakulásának kockázatát öröklött vagy szerzett thrombophilia növeli. Szokatlan lokalizációjú (cerebrális, mezenterialis, felsővégtagi, stb), fiatal korban kialakuló (40 éves kor alatt), a visszatérő thromboemboliás megbetegedések öröklött thrombophiliára hívhatják fel a figyelmet. Sokáig az öröklött thrombosis hajlam leggyakoribb okaként a természetes antikoagulánsok valamelyikének (antithrombin-III, protein-S, protein-C) hiányát tartották számon, de ezek hiányával az esetek csupán 1-3%-a magyarázható. A kutatások előrehaladtával számos öröklött, bizonyítottan thrombophiliát okozó (plazminogén deficiencia, prothrombin

polimorfizmus, stb.) illetve azzal összefüggésbe hozható (XII faktor hiány, heparin kofaktor-II hiány, stb.) tényezőt sikerült azonosítani, melyek továbbra is csak az öröklött esetek néhány százalékára adnak magyarázatot. Lényeges áttörést hozott Dahlbäck és kutatócsoportja által 1994-ben ismertetett új, thrombophiliát okozó abnormitás: az aktivált protein C rezisztencia, mely a családi halmozódású mélyvénás thrombosis (MVT) klinikailag igazolt eseteinek 40%-ban mutatható ki.

Az APC-rezisztenciát az V. faktor génjén bekövetkezett pontmutáció hozza létre (1691 G→A), mely a fehérjén 506Arg→Gln cserét eredményezve akadályozza az aktivált V. faktor aktivált protein C általi hatékony proteolízisét, így az V faktor aktív formában marad, ezáltal elősegíti a thrombosis kialakulását.

A XX. századi nőgyógyászat egyik legnagyobb vívmánya a biztonságos hormonális fogamzásgátlás létrehozása. Joggal mondhatjuk, hogy a szájon át szedhető fogamzásgátló tabletták gyökeresen megváltoztatták a mai nők életét. A kezdetben alkalmazott tabletták (1960-as évek) igen nagy hormontartalommal, kifejezett mellékhatással rendelkeztek, esetenként fatális szövődmény is előfordult használatuk során. A kutatások során egyre közelebb jutottunk az optimális hatékonysággal, megbízhatósággal, könnyű alkalmazhatósággal, reverzibilis hatással és a minimális mellékhatással rendelkező orális fogamzásgátló tabletták kifejlesztéséhez.

Nem sokkal az orális hormonális fogamzásgátlók (OAC) alkalmazásának elkezdése után már felismerésre került, hogy OAC szedése mellett a nők emelkedett rizikóval rendelkeznek a tromboemboliás megbetegedésekre nézve. A kombinált orális fogamzásgátlók szedése mellett az átlag populációhoz képest gyakrabban alakul ki thrombosis, ischaemiás stroke és myocardialis infarctus. A tabletták ösztrogéntartalmának csökkenésével a tromboemboliás események száma drasztikusan csökkent, de nem szűnt meg.

Az V faktor Leiden (FVL) mutációja nem súlyos, de gyakori véralvadási defektus, melynek fenotípusos megjelenése az aktivált protein C rezisztencia. Egyes nyugat-európai tanulmányok szerint a kaukázusi populáció 4-7%-ban, illetve a thromboemboliás megbetegedést elszenvedettek 20-33%-ban mutatható ki aktivált protein C (APC) rezisztencia. A Leiden heterozigóták relatív thrombosis kockázata hétszeres, mely orális fogamzásgátló szedésekor 25-35-szörösre emelkedik, a fogamzásgátlót nem szedő és a mutációt nem hordozó nőkhöz viszonyítva. Ugyanezen kockázat a Leiden homozigóták esetében nyolcvanszoros fogamzásgátló szedése nélkül a mutációt nem hordozókhöz képest. Fogamzásgátló tablettát szedő Leiden mutációt homozigóta formában hordozó nők relatív thrombosis kockázatáról adat jelenleg nem áll rendelkezésre, de a kockázat több százszorosra becsülhető. Ugyan a rendellenesség genetikai magyarázata ismert, de annak szűrőtesztként való alkalmazását többnyire nem javasolják.

Foszfolipid-ellenes antitestek jelenléte gyakran figyelhető meg artériás és vénás thromboemboliás megbetegedések, habituális abortus, méhen belüli magzatelhalás és meddőség esetén. Irodalmi adatok szerint antifoszfolipid ellenanyagokat egészséges nők 3%-ban lehet kimutatni.

Az, hogy pontosan mi az oka a thromboemboliás betegségek fokozott kockázatának ezen betegek között, még nem tisztázott teljes egészében. Ezek az antitestek különféle foszfolipid-protein komplexekkel reagálnak, amivel képesek beavatkozni a véralvadási folyamatokba. Gátolhatják a protein C útvonalat, károsíthatják az endothel sejteket, csökkentik a prosztaciklin szintézist, gátolják az antithrombin III hatását, prekallikrein inhibítorként viselkedhetnek és gátolhatják a fibrinolízist.

A foszfolipid- ellenes ellenanyagok és az orális fogamzásgátlók hasonló morbiditása ellenére eddig még senki nem vizsgálta e két tényező kapcsolatát. Az irodalomból jól ismert tény, hogy egyes gyógyszerek tartós szedése indukálhatja a foszfolipid-ellenes antitestek megjelenését a szérumban. Ez a hatás leggyakrabban phenotiazinok, quinidin, hidralazin, procainamid és phenitoin szedése esetén figyelhető meg. Mindedig nem került közlésre olyan klinikai adat, mely a fogamzásgátló tablettákban előforduló szteroid hormonok és a foszfolipid-ellenes antitestek kapcsolatát vizsgálná tünetmentes nőkben.

A mélyvénás thrombosis (MVT) és tüdőembólia évtizedek óta az anyai halálozás egyik vezető oka. Öröklött thrombophiliás nőknél gyakran a terhesség váltja ki az első thromboemboliás eseményt. A közepes és magas kockázatú betegeknél a thrombosis profilaxis alkalmazását indokolhatja az életkor, a testsúly, a paritás, az egyéni és a családi anamnézisben szereplő MVT, antifoszfolipid antitest jelenléte, varicositas, infekciós kockázat, preeclampsia, mozgáskorlátozottság, társuló betegség illetve császármetszés.

Az egyik legfontosabb kérdés FVL hordozó, tünetmentes terhesekkel kapcsolatban az, hogy alkalmazzunk e thrombosis profilaxist rutinszerűen vagy sem. Hordozók terhessége során valószínűleg thrombosis profilaxis nélkül sem alakulna ki szülészeti szövődmény az esetek többségében. A profilaxis alkalmazása során fontos szempont a biztonság és a hatékonyság. Mindkét szemponttal kapcsolatban eltérő következtetésekre adnak lehetőséget a különböző tanulmányok. Kategorikus igen vagy nem helyett járható út lehet a profilaxis szelektív alkalmazása.

A Magyar Szülészeti és Nőgyógyászati Szakmai Kollégium jelenlegi ajánlása alapján fogamzásgátló tablettá felírása esetén rutin fizikális és nőgyógyászati vizsgálat végzése és, ha aktuális a rákszűrés kötelező. Vérvizsgálat végzése nem

kötelező. A thrombosisokkal kapcsolatban mindössze annyi az ajánlás, hogy ha a családban halmozottan fordul elő thromboemboliás megbetegedés illetve thrombosisra hajlamosító tényező áll fenn, akkor nem ajánlatos a fogamzásgátló tabletta felírása. A 35 év feletti, különösen dohányzó nők esetében nem javasolt a hormonális fogamzásgátlás az emelkedett thrombosis kockázat miatt.

A terhesgondozás során a thrombophilia irányú kivizsgálásra nincs ajánlás, még abban az esetben sem ha az előzményben bármilyen ismeretlen okú, nem kívánatos szülészeti esemény (habituális vetélés, méhen belüli magzati elhalás, intrauterin retardáció, stb.) lépett fel. Amennyiben az előzményben thromboemboliás megbetegedés történt, akkor javasolt a thrombophilia irányú kivizsgálás.

A thrombosis-hajlammal számos genetikai oka lehet, ezek közül Magyarországon a leggyakoribb az V. véralvadási faktor Leiden mutációja. A magyarországi magas hordozófrekvencia és a családi anamnézis pontatlansága méginkább szükségessé teszi a Szakmai Kollégium jelenlegi ajánlásának átgondolását.

2.Célkitűzések

1. Reprodukív egészségi mutatók értékelése Leiden heterozigóták között.
2. A fogamzásgátlók APC-érzékenységre kifejtett hatásának elemzése.
3. Foszfolipid ellenes antitestek előfordulása kombinált orális fogamzásgátló tabletta szedés mellett Leiden mutációt hordozó és nem hordozó nők esetében.
4. Gyógyszeres profilaxis hatékonyságát befolyásoló tényezők azonosítása Leiden hordozókban.

5.LMWH- profilaxis hatékonysága a terhességi gyermekágyi thromboembólia megelőzésében Leiden hordozókban.

3.Vizsgálati anyag és módszerek

3.1.Vizsgált populáció

Az APC-rezisztencia fenotípus vizsgálatát 3140 nőnél végeztük el kereskedelmi forgalomban hozzáférhető funkcionális teszttel. Az orális fogamzásgátlók szedésével kapcsolatos relatív thrombosiskockázat becsléséhez összehasonlítottuk a mélyvénás thrombosis előfordulását a pozitív és negatív eredményű csoportban. Nagy esetszámú mintából meghatároztuk az APC-ráta átlagértékét és standard deviációját. Az átlagtól $1 \times SD$ kisebb alatti értéket tekintettük pozitívnak (APC- rezisztens), a többi negatívnak (APC- szenzitív). Elemeztük az APC- rezisztens és szenzitív esetek relatív thrombosis kockázatát a teljes anyagban valamint a fogamzásgátlót korábban, illetve jelenleg szedők között. Meghatároztuk a MVT vonatkozásában pozitív családi anamnézisű esetek relatív thrombosiskockázatát a negatív családi előzményűekhez viszonyítva. A reprodukív egészség legmarkánsabb mutatója a termékenység. A reprodukív diszfunkciót meddőségi panaszok előfordulásával, valamint a spontán vetélések gyakoriságával értékeltük. Összehasonlítottuk az APC-rezisztenciavizsgálattal pozitív és negatív eredményű esetekben a reprodukív diszfunkció két paraméterének relatív kockázatát. A szűrési anyag 1049 esetében állt rendelkezésünkre adat az előzményben szereplő terhességekről, 1045 esetben pedig arról, hogy volt-e meddőségi panasz. Sterilitás alatt azt értettük, hogy egy éves védekezés nélküli házasság mellett nem jött létre terhesség függetlenül attól, hogy a

probléma a későbbiekben megoldódott vagy sem. Kilencszázhetvenkét esetben állt rendelkezésre adat arról, hogy az illetőnek volt-e mélyvénás thrombosisa, illetve 971 esetben a családra vonatkozó thromboemboliás anamnézist is felvettünk. Ötszázhetven esetünk az APC-ráta meghatározása idején kombinált fogamzásgátlót szedett, 338 esetünk korábban szedett valamilyen fogamzásgátlót és 133-an soha nem használtak ilyen készítményt. Mindhárom csoportban meghatároztuk az APC-rezisztensek szenzitívekhez viszonyított relatív thrombosis kockázatát.

Retrospektív tanulmányban vizsgáltuk a foszfolipid ellenes antitestek előfordulását fiatal nőkben kombinált orális fogamzásgátló szedése mellett. A vizsgálatban résztvevő nők mindegyike fogamzásgátlási tanácsadás céljából került nőgyógyászati szűrővizsgálatra. Kétszázhuszonhárom egészséges, nem terhes nőnél végeztük el egyidejűleg a foszfolipid ellenes antitestek kimutatására szolgáló vérvizsgálatot. A résztvevők átlagéletkora 22,5 év (11-51 év) volt. Közülük 96 szedett kombinált fogamzásgátlót a vérvétel idején. Átlagosan 23,4 hónapja alkalmazták a tablettát. A szedők és nem szedők között sem fordult elő olyan gyógyszer alkalmazása a vizsgálatot megelőző néhány hónapban, mely jelenlegi ismereteink szerint antifoszfolipid ellenanyag termelést indukálhatna (pl. major trunkvilláns, antiepileptikum). A gyógyszert nem szedők átlagosan hat hónapja nem alkalmaztak orális fogamzásgátlót és korábban átlagosan 10 hónapig használtak kombinált fogamzásgátlót. A tablettát szedő és nem szedő csoportok statisztikai összehasonlíthatóságának ellenőrzéséhez mindkét csoportban meghatároztuk a koreloszlást, az előzményben szereplő terhességek összetartamának eloszlását, a vetélések, meddőség és a mélyvénás thrombosis családi előfordulását a vérvétel napján a menstruációs ciklushoz viszonyítva. Minden résztvevőtől könyökvéna

punkció útján 10 ml perifériás vért vettünk 12 órás éhezést követően reggel 8 és 9 óra között.

Eset- kontroll kohort tanulmányban hasonlítottuk össze a fogamzásgátlót szedők és nem szedők anti-béta2- glikoprotein I IgG titerét és az emelkedett titer gyakoriságát factor V Leiden hordozó és vad genotípusú nőkben. Háromszáztizenhárom nem terhes, rokoni kapcsolatban nem álló nőnél határoztuk meg a faktor V genotípust és az IgG anti-béta2- glikoprotein I ellenanyag titerét. Hatvanhat nő hordozta a Leiden mutációt, 247 pedig vad típusú volt. Közülük 137 szedett kombinált fogamzásgátlót a szűrés idején.

Retrospektív kontrollált tanulmányban vizsgáltuk a DE OEC Női Klinikáján kezelt 145 FVL hordozó nő 301 terhességét. A vizsgált eseteket az APC rezisztencia szűrési projekt adatbázisából választottuk ki. A thrombosis előfordulási gyakoriságát hasonlítottuk össze a profilaxisban részesült és a profilaxisban nem részesült terhességekben. A vizsgált csoportban minden nő hordozta a faktor V gén Leiden mutációját legalább egy allélen. Azokat az eseteket, amelyekben más thrombophiliát okozó defektus is előfordult a kombinált thrombophiliát hordozók csoportjába soroltuk. Ilyen a FVL homozigóta formája és a FVL heterozigóta genotípushoz társuló protein S hiány, G20210A prothrombin variáns, antifoszfolipid antitest, lupus anticoaguláns, emelkedett VIII faktor szint, vagy az emelkedett lipoprotein szint. A véralvadási zavarok és a génmutációk vizsgálatára az általánosan elfogadott és használt módszereket alkalmaztuk. A testtömeg- indexet (BMI) a terhesség előtti testsúly és méterekben mért testmagasság négyzetének hányadosaként határoztuk meg. A perioperatív nem gyógyszeres thrombosis profilaxis szerepét nem

vizsgáltuk a tanulmányban. A terhességi kor pontosítására az első trimeszter-beli UH leletet használtuk. A betöltött 13. terhességi hét előtti spontán abortuszt korai veszteségnek, a 13. és 24. hét között lezajlott spontán vetélést késői veszteségnek definiáltuk és ugyanebbe a csoportba soroltuk a 24. terhességi hét után bekövetkezett intrauterin elhalást. Koraszülés alatt a 37. terhességi hét előtt bekövetkezett szülést értettük. Méhtevékenység renyheség kategóriába soroltunk minden olyan esetet, ahol a szülés során oxytocin támogatásra volt szükség. Lepényelégtelenségként definiáltuk az esetet, ha a szülés előtti funkcionális tesztek eredménye pozitív volt, illetve ahol a szülés alatt magzati distress jelei mutatkoznak. A preeclampsia diagnosztikus kritériuma a tartósan 140/90 Hgmm-t elérő vérnyomás és 0,5 g/L/nap–ot meghaladó proteinuria jelenléte volt. Intrauterin növekedési retardatióként definiáltuk 10 percentil alatti születési súlyt. Szülés utáni vérzésnek a magzat megszületése utáni vérzést neveztük, amennyiben annak becsült mennyisége meghaladta az 500 ml-t. Lázás szövődményről akkor beszéltünk, ha a testhőmérséklet szülés után több mint 24 órával, két egymást követő napon meghaladta a 38°C-t. A MVT diagnózisát a Doppler UH segítségével végzett vizsgálatokra alapoztuk. Összehasonlítottuk a profilaxisban részesült és a profilaxisban nem részesült FVL hordozó nők terhességeit. A profilaxis a terhesség első trimeszterében elkezdett és a szülést követően négy hétig folytatott heparin-kezelést jelentett. Thrombosis profilaxisként nem frakcionált heparint vagy kis molekulásúlyú heparint (enoxaparin, dalteparin, nadroparin) használtunk. A dózis meghatározása a gyártó ajánlása szerint történt, figyelembe véve a terhességi kort és a testsúlyt.

3.2. Aktivált protein C rezisztencia (APC- rezisztencia)

Az APC rezisztencia fenotípus vizsgálatát kereskedelmi forgalomban hozzáférhető funkcionális teszttel végeztük. A funkcionális tesztben a PTT Automate (Diagnostica Stago) reagenssel mértük a betegek aktivált parciális thromboplastin idejét (APTI) aktivált protein-C (APC, Diagnostica Stago) jelenlétében és nélkül, majd az eredményeket ráta formájában adtuk meg.

$$APC - r\acute{a}ta = \frac{APC - jelenl\acute{e}t\acute{e}ben - m\acute{e}rt - APTI}{APTI}$$

Nagy esetszámú mintából meghatároztuk az APC- ráta átlagértékét és standard deviációját. Az átlagtól 1xSD kisebb alatti értékeket tekintettük pozitívnak (APC-rezisztens), a többi negatívnak (APC- szenzitív).

3.3.FV Leiden és FII 20210A kimutatása PCR- rel

Genomiális DNS-t izoláltunk a perifériás vér leukocitáiból QIAamp Blood Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) felhasználásával. A faktor V Leiden és prothrombin 20210A polymorphismus kimutatását az izolált DNS target szakaszainak PCR amplifikációját követően a HindIII illetve MnlI restriktív enzimmel történő emésztés termékeinek gélelektroforézisével végeztük.

Vizsgálatainkat a KBMPI Haemostaseológiai Részlegével folytatott kutatási együttműködés keretében végeztük el.

3.4.Foszfolipid ellenes antitestek

IgG, IgA, IgM típusú béta2- glikoprotein I- elleni antitestek mennyiségét ELISA módszerrel határoztuk meg. Antigénként tisztított human béta2- glikoprotein I-et

(Chrystal Chem. Inc., USA) használtunk 10mg/ml koncentrációban 96 lyukú polystyrene lemezeket (Cellstar No 655 180, Greiner Labortechnik, Germany). Az antigénhez kötött ellenanyagok mennyiségét torma-peroxidázzal jelzett anti-human IgG, IgA, IgM ellenanyagokkal (DAKO AS, Glostrup, Denmark) mutattuk ki O-phenylendiamin-H₂O₂ szubsztrát felhasználásával. Az IgG típusú ellenanyagok mennyiségét SGU/ml egységekben, az IgM és IgA típusú ellenanyagok mennyiségét U/ml egységekben határoztuk meg kalibrációs görbék segítségével. Az ellenanyagok normál szerimszintjének felső határa: IgG: 14,6 SGU/ml, IgA: 43,0 U/ml, IgM: 34,0 U/ml.

IgG, IgA, IgM típusú kardiolipin ellenes antitestek mennyiségét ELISA módszerrel határoztuk meg. Antigénként marha kardiolipint (Sigma Immunchemicals Inc., Mo, USA) alkalmaztunk. Blokkoló oldatként 10% marhasavót tartalmazó foszfátpuffert alkalmaztunk. Mintáinkat 1:100 hígításban mértük le. Az antigénhez kötött ellenanyagok mennyiségét torma- peroxidázzal jelzett anti-human IgG, IgA, IgM ellenanyagokkal (DAKO AS, Glostrup, Denmark) mutattuk ki O-phenylendiamin-H₂O₂ szubsztrát felhasználásával. Az IgG típusú ellenanyagok mennyiségét SGU/ml egységekben, az IgM és IgA típusú ellenanyagok mennyiségét U/ml egységekben határoztuk meg kalibrációs görbék segítségével. Az ellenanyagok normál szerimszintjének felső határa: IgG: 22,0 SGU/ml, IgA: 8,0 U/ml, IgM: 16,0 U/ml.

Vizsgálatainkat a III. Belgyógyászati Klinika Immunológiai Laboratóriumának közreműködésével végeztük el, közös kutatási projekt keretében.

3.5. Statisztikai módszerek

A folytonos változók átlagértékeinek összehasonlítását t-próbával végeztük, $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak. A kategorikus változók két csoportban mért értékeinek gyakoriságát χ^2 - próbával hasonlítottuk össze. A relatív kockázatok meghatározásában az odds ratio (OR) értékeket alkalmaztuk. A kockázatot akkor tekintettük szignifikánsnak, ha mindkét 95%-os konfidencia határ az egység azonos oldalán helyezkedett el, azaz mindkét határérték 1 alatti vagy 1 fölötti volt.

Logisztikai regressziós analízist alkalmazva azonosítottuk azokat a tényezőket, amelyek szignifikánsan befolyásolják a thromboembolia és a MVT kialakulását a terhesség alatt és a szülést követő hat hét során. Hasonló modellt alkalmaztunk akkor, amikor a profilaxis hatását vizsgáltuk különböző szülészeti mutatókra vonatkozóan, mint például az idő előtti burokpedés és a császármetszés előfordulási gyakorisága.

A statisztikai analízishez Statview 5.0 (SAS Corp., Cary, NC, USA) statisztikai programot használtunk. A vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Etikai Bizottsága engedélyezte és a résztvevők írásban járultak hozzá a tanulmányokban való részvételhez.

4. Eredmények, megállapítások

4.1. Reproaktív egészségi mutatók értékelése Leiden heterozigóták között. A fogamzásgátlók APC-érzékenységre kifejtett hatásának elemzése

Háromezer-egyszáznegyven nőnél végeztük el az APC- rezisztencia fenotípusának meghatározását funkcionális vizsgálattal. Az APC-ráta átlagértéke 2,368 volt (min.=1,07, max.=3,98, SD=0,438) A jelenleg fogamzásgátlót szedők APC-rátájának átlagértéke 2,173 volt (min:=1,15, max.=3,7, SD= 0,380). *A fogamzásgátlót jelenleg*

szedők APC-rátája szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a gyógyszert nem szedőké (átlag=2,33, min.=1,4, max.= 3,98, SD= 0,523)

Az APC- rezisztensek között a spontán vetélés előfordulásának kockázata 2,72-szer magasabb volt (95% CI 1,61-4,60), mint az APC-szenzitívek között.

Az APC-rezisztens eseteink között 4,04-szer nagyobb eséllyel (95% CI 1,79-9,14) fordult elő sterilitás.

Az APC rezisztensek családjában 2,54-szer gyakrabban fordult elő thrombosis (95% CI 1,85-3,48), mint APC –szenzitívek között.

A thrombosis kockázata 3,72-szer magasabb volt az APC rezisztensek között.

Azok között akik még soha nem szedtek orális fogamzásgátlót, az APC-rezisztensek és szenzitívek thrombosis kockázata nem különbözött lényegesen (OR= 0,94 95% CI 0,08-10,70).

A korábban fogamzásgátlót szedők között az APC-rezisztensek relativ thrombosis kockázata 2,51 volt (95% CI 1,06-5,95).

A jelenleg is fogamzásgátlót szedők között az APC-rezisztencia esetén már 25,8-szoros (95% CI 3,14-221,6) thrombosiskockázat emelkedést mutattunk ki.

4.2.Foszfolipid ellenes antitestek előfordulása kombinált orális fogamzásgátló tabletta szedés mellett Leiden mutációt hordozó és nem hordozó nők esetében

A kombinált orális fogamzásgátlót szedő és nem szedő nők között nem volt jelentős különbség az átlagéletkorban, az előzményben szereplő összes terhesség tartamában, a vetélések előfordulásában, a meddőség gyakoriságában, a MVT családi előfordulásában valamint abban sem, hogy a vérvétel a menstruációs ciklus melyik napján történt.

A normál tartomány felső határát meghaladó szintű IgG típusú béta2-glikoprotein I-ellenes antitest előfordulásának esélye fogamzásgátlót szedők között lényegesen magasabb volt, mint nem szedők esetében.

A gyógyszerszedők 19,8%-ban, a nem szedők 9,4%-ban fordult elő emelkedett foszfolipid-ellenes antitest titer.

Az átlagéletkor a fogamzásgátlót szedők (22,3 év SD=6,6 év) és nem szedők (23,4 év SD=8,7 év) között lényegesen nem különbözött ($p=0,1861$). A fogamzásgátló tabletta átlagos használati ideje az emelkedett (7,8 hónap SD=16 hónap) és a normál (8 hónap SD=21,1 hónap) anti-béta2-glikoprotein I szérumszintű nők között lényegesen nem különbözött ($p=0,9662$). A Leiden heterozigóták életkora a gyógyszerszedők (23,8 év SD=8,5 év) és nem szedők (28,4 év SD=12,2 év) között lényegesen nem különbözött ($p=0,0778$). A Leiden mutációt nem hordozók életkora a gyógyszerszedők (21,8 év SD=5,8 év) és nem szedők (22,3 év SD=7,3 év) között lényegesen nem különbözött ($p=0,5844$).

4.3.Fogamzásgátló tabletta használat és a béta2-glikoprotein I –ellenes antitest titer factor V. Leiden heterozigóta nők között

Hat factor V. Leiden heterozigóta fogamzásgátlót szedő nő esetében találtunk emelkedett béta2-glikoprotein I –ellenes antitest titeret. *A FVL hordozó, fogamzásgátlót szedő nők esetében az átlag anti-béta2-glikoprotein I titer magasabb volt, mint OAC-t nem szedők esetében. (9,2 SGU/ml vs. 4,7 SGU/ml $p=0,0485$).*

A kórosan emelkedett anti-béta2-glikoprotein I titer 2,41-szer nagyobb eséllyel fordult elő FV Leiden heterozigóta nők körében fogamzásgátló tabletta szedése esetén, mint fogamzásgátló tabletta használata nélkül (OR= 2,41 95% CI: 0,79-7,39).

4.4.Gyógyszeres profilaxis hatékonyságát befolyásoló tényezők azonosítása Leiden hordozókban LMWH- profilaxis hatékonysága a terhességi gyermekágyi thromboembolia megelőzésében Leiden hordozókban

A 301 terhességből 200 végződött szüléssel, 40 esetben fejeződött be a terhesség spontán vetéléssel. Koraszülés, preeclampsia, méhen belüli növekedési retardáció, lepényleválás, idő előtti burokrepedés, elégtelen méhtevékenység, császármetszés, lázas szövődmény, jelentős vérzés sorrendben 29, 13, 27, 9, 4, 14, 12, 33, 10 és 7 esetben fordult elő. Huszonöt terhesség szövődött MVT-vel vagy thromboemboliával. Harminchat terhességnél szerepelt MVT az előzményben és 43 terhesség zajlott kombinált thrombophilia mellett. A thrombosis profilaxis önmagában nem befolyásolta jelentős mértékben az MVT előfordulását terhesség alatt FVL hordozókban

Logisztikai regressziós modellünkben a következő tényezők befolyásolták szignifikánsan az MVT kialakulását: a beteg életkora (OR=1,066, p=0,033), a terhességi kor (OR=1,058, p=0,0089), a thrombosis profilaxis alkalmazása (OR=0,118, p=0,0227) és a kombinált thrombophilia jelenléte (OR=5,835, p=0,0005). Az idő előtti burokrepedés és a császármetszés gyakorisága szignifikánsan nagyobb volt azokban az esetekben, ahol thrombosis profilaxist alkalmaztak a terhesség alatt (OR=7,102, p=0,027; OR=4,129, p=0,0378). *A modell szerint a thrombosis profilaxis a következő szövődmények gyakoriságát nem befolyásolja jelentős mértékben: koraszülés, preeclampsia, lepényelégtelenség, növekedési retardáció, méhtevékenység renyhesség, lepényleválás, posztpartum vérzés, láz. A facor V. Leiden heterozigóták időben megkezdett thrombosis profilaxisa csökkenteti a spontán vetélések gyakoriságát.*

5.Megbeszélés

Az orális fogamzásgátlók szedésének biztonsága a nők, orvosok és gyártók számára egyaránt létfontosságú.

Több évtizedre nyúlik vissza az az orvosi törekvés, hogy a fogamzásgátlók alkalmazásának biztonságosságát az alkalmazó oldaláról közelítsük meg. Az 1990-es években felismert APC- rezisztencia gyakorisága felveti a szűrés szükségességét. A Leiden mutációt hordozó fogamzásgátlót szedők emelkedett thrombosis kockázata évek óta ismert tény. A genetikai vizsgálat a teljes populációban lehet, hogy nem gazdaságos. Sőt olyan országban, ahol a Leiden mutáció gyakorisága 7% alatt van, még az APC- rezisztencia vizsgálat általános elvégzése is gazdaságtalan lehet. Klinikánkon korábban végzett tanulmány alapján a Leiden mutáció heterozigóta formájának frekvenciája hazánkban az európai átlagnál lényegesen magasabb 9.3% .

Bár az amerikai és a brit álláspontok nem javasolják a Leiden mutáció populáció szintű szűrését, hangsúlyozzák a profilaxis jelentőségét hordozókban. A hordozók felismeréséhez járhatóbb útnak ítéljük az APC rezisztensek kiszűrését, mint a thrombosisos esetek kezelését és kivizsgálását.

Háromezer- egyszáznegyven nőnél végeztük el az APC- rezisztencia fenotípusának meghatározását funkcionális vizsgálattal. Az eredmények eloszlása félreérthetetlenül sugallja az háttérben álló Leiden mutáció és az APC- rezisztencia kapcsolatát. A fogamzásgátlót jelenleg szedők APC- rátája szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a gyógyszerrel nem szedőké. Tradicionális APTI alapú teszt alkalmazásával eddig még senkinek nem sikerült igazolni a fogamzásgátlók szedése során kialakuló emelkedett rizikó és az alacsony APC-ráta kapcsolatát. A klinikailag

még nem validált thrombingenerációs teszttel azonban már több vizsgálat elemezte a második és harmadik generációs gesztogének eltérő hatásait.

A teljes vizsgálati anyagban 10,91% (317 eset) volt az APC- rezisztensek gyakorisága. Tanulmányunk adatai bizonyítják, hogy a családi anamnézis messze alacsonyabb hatékonysággal rendelkezik a nagyobb rizikójú esetek kiválasztásában. Egy másik szintén Klinikánkon végzett tanulmány alapján a pozitív családi anamnézis 0.24- os prediktív értékkel jelezte előre a genetikai vizsgálat pozitív eredményét, a genotípus viszont 0.65-os pozitív prediktív értékkel mutatta a thrombosis családi előfordulását. Megállapították, hogy a genetikai vizsgálattal kiegészített anamnézis magasabb szelektivitással szűri ki azokat, akiknél a thrombosis kockázata emelkedett. A családi anamnézis viszonylag magas szenzitivitású szűrő módszer, azonban a thrombosis egyéni előfordulására vonatkoztatott prediktív értéke igen alacsony.

Az APC- rezisztenciaszűrés előnyeit a reprodukív egészség más mutatói is igazolják. Az APC rezisztensek között a spontán vetélés előfordulásának gyakorisága 2,72-szer magasabb volt, mint APC-szenzitívek között. Az APC- rezisztens esetek között 4,04-szer nagyobb eséllyel fordult elő sterilitás. Az eddig gyűjtött tapasztalatunk arra utal, hogy perikoncepcionális antithrombotikus profilaxissal az esetek egy részében sikeres terhesség érhető el. A thrombosis kockázata 3,72-szer magasabb volt az APC-rezisztensek között, mint az APC-szenzitívek esetében. A korábban fogamzásgátlót szedők között az APC- rezisztensek relatív thrombosis kockázata 2,51- szer, a jelenleg is fogamzásgátlót szedők között pedig 25,8-szor magasabb volt, mint a szenzitívek között.

A fogamzásgátlók jótékony hatásai függetlenek az APC- rezisztenciától. Figyelembe véve, hogy az APC- rezisztencia nemzetközi viszonylatban is jelentős mértékben veszélyezteti a magyar nők reprodukív egészségét, indokoltnak tartjuk

fogamzásgátlók szedése során az APC- rezisztencia vizsgálat elvégzését. Pozitív eredmény miatt eltítani senkit sem kell az orális fogamzásgátlóktól. A döntés a tanácsot kérő nő kezében van, döntéshez a legfontosabb a korrekt tájékoztatás.

A kombinált orális fogamzásgátlókról és a foszfolipid-ellenes antitestekről egyaránt igazolódott, hogy fokozzák a thrombosis, az ischaemias stroke és a myocardialis infarktus kockázatát. A foszfolipid-ellenes antitestek és a kombinált orális fogamzásgátlók morbiditásának átfedései arra utalnak, hogy hatásuk illetve mellékhatásaik mechanizmusában közös tényezők játszhatnak szerepet.

In vitro tanulmányok igazolták, hogy az anti-béta2-glikoprotein I antitestek jelenléte hátráltatja az aktivált V faktor aktivált protein C általi lebontását. Az aktivált protein C-vel szembeni rezisztencia nem csak öröklött formában létezik. A szerzett APC- rezisztencia is jelentősen emeli a thrombosis kockázatát. A lehetséges résztvevő mechanizmusok taglalása nélkül igazolták, hogy terhesség és fogamzásgátló szedése során is kialakul bizonyos mértékű APC- rezisztencia.

Tanulmányunk eredményei azt igazolják, hogy a foszfolipid-ellenes antitestek emelkedett titerű szignifikánsan gyakrabban fordul elő kombinált orális fogamzásgátlót szedő nők között, mint nem szedők esetén. Mind a hat antitest típust egybe véve, az emelkedett titer több, mint kétszer gyakrabban fordult elő fogamzásgátló tabletta szedése esetén. Az emelkedett titer előfordulása az IgG típusú béta2-glikoprotein I ellenanyagok esetében volt megfigyelhető. Kombinált orális fogamzásgátlót szedők között az emelkedett titerű IgG típusú béta2-glikoprotein I ellenanyag jelenlétének gyakorisága 8.3% volt. Irodalmi adatok szerint egészséges, szült nők között 3%-os gyakorisággal várható ennek az ellenanyagnak az emelkedett titerű előfordulása. Továbbra is megválaszolatlan marad a kérdés, hogy vajon az emelkedett foszfolipid-ellenes antitest szintek hozzájárulnak-e a kombinált orális

fogamzásgátlók morbiditásához vagy sem. Lehetséges, hogy az ellenanyagok szintjének emelkedése csak kísérő jelenségként figyelhető meg gyógyszereszedés kezdeti szakaszán. Öröklött thrombophilia fennállása esetén az emelkedett szintű foszfolipid- ellenes antitestek minden bizonnyal fokozzák a tablettaszedés thrombosis kockázatát.

A foszfolipid- ellenes antitestekről kimutatták, hogy kóroki szerepet játszanak a korai vetélések és számos szülészeti megbetegedés (pl. méhen belüli magzati elhalás, lepényleválás, magzati retardáció, pre-eclampsia stb.) kialakulásában. Erre való tekintettel feltételezhető, hogy ilyen jellegű terhelő gesztációs anamnézis esetén javasoljuk a kombinált orális fogamzásgátlók elkerülését, különösen akkor, ha a páciens még nem fejezte be a családtervezést.

A foszfolipid- ellenes antitestek populációs szintű szűrése valószínűleg nem gazdaságos. További ellenérv lehet az általános szűrés elvetésére, hogy a tünetmentes, fogamzásgátlót szedő nőkben észlelt gyakoribb pozitív eredmény magának a gyógyszereszedésnek is lehet az eredménye, minden káros következmény nélkül. További vizsgálatokra van szükség annak eldöntésére, hogy az emelkedett antifoszfolipid antitest titer gyógyszereszedés idején észlelt magasabb gyakorisága hosszabb távú szedés során változik-e. Szintén nyomonkövetéses vizsgálatok deríthetnek fényt arra, hogy az emelkedett antifoszfolipid titerű fogamzásgátlót szedő nők thrombosis- illetve infarctus kockázata magasabb-e, mint a normál titerű nőké. Emelkedett béta2-glikoprotein I- ellenes antitest titer a szérumban gyakrabban fordult elő fogamzásgátlót szedő nők esetében, mint tablettaszedés nélkül. Tablettaszedés alatt A FV Leiden mutációt hordozók esetében szignifikánsan gyakrabban fordult elő ugyanezen foszfolipid-ellenes antitest emelkedett szintje, mint tablettát nem szedő FV Leiden heterozigóták között. ($p= 0,081$) A mutációt nem hordozók körében nem

találtunk ilyen irányú különbséget tabletta szedés és nem szedés esetén. ($p=0,2223$)
Ennek a ténynek a klinikai jelentősége még kérdéses.

Terhességi és gyermekágyi thrombosis kockázatát befolyásoló tényezők felismerése faktor V Leiden hordozók körében lehetőséget adhat szelektív profilaxis indikációinak meghatározásában.

A thromboembolia az anyai halálozás vezető oka a fejlett országokban .
Csökkenthető a thromboembolia előfordulása a MVT kialakulására nézve nagyobb kockázatú nők kiszűrésével és thrombosis profilaxisban való részesítésükkel.

Nemzetközi vonatkozásban is kimagaslóan magas esetszámú vizsgálatban elemeztük FVL hordozók (163 beteg) terhességeit (301 terhesség). Tanulmányunk szerint a FVL hordozó nők esetében alkalmazott thrombosis profilaxis csökkenti a MVT kialakulásának veszélyét terhességeik során. A profilaxis hatékonysága fokozódik a terhességi kor növekedésével, és leginkább akkor érvényesül, amikor más rizikótényező is jelen van, mint például a magas életkor és a kombinált thrombophilia, illetve amikor a terhesség befejezése császármetszéssel történik. FVL hordozó tünetmentes terhességek esetén a thrombosis profilaxis egyik indikációja a kombinált thrombophilia jelenléte lehet.

A thrombophilia szűrésének kérdése folyamatos vita tárgyát képezi a prediktív érték és a költség-hatékonyság miatt. Annak ellenére, hogy nő a tudományos érdeklődés a thrombophiliával kapcsolatos közlemények iránt, ellenállás mutatkozik a szűrésre vonatkozó javaslatok elfogadását illetően. A vénás thromboembolia legtöbb esetében a háttérben álló örökletes thrombophilia laboratóriumi kimutatása nem nyújt olyan információt, ami az egyedi eset klinikai kezeléséhez segítséget nyújtana. A tünetmentes hordozók családjában előforduló vénás thrombosis gyakorisága

túlságosan alacsony ahhoz, hogy ez megkövetelje a folyamatos antikoagulálást. A hordozóknál észlelt 3,6-szor magasabb thrombosis gyakoriság arra utal, hogy a tünetmentes hordozók előnyére válhat a profilaxis alkalmazása egyes „rizikó időszakokban”.

A FVL mutáció általános szűrése és a kiszűrt esetek folyamatos antikoagulálása terhesség alatt nem bizonyult költség-hatékonyak. Az általános szűrés (funkcionális teszt) jelenti az egyetlen lehetőséget arra, hogy a profilaxis negatív anamnézisű egyéneknél is időben elkezdődjön. Vizsgálataink szerint a faktor V. Leiden mutációt hordozók körében az időben elkezdett thrombosis profilaxis nagy mértékben csökkenti a spontán vetélések előfordulását.

Azon FVL hordozó tünetmentes terhességek esetén, ahol a MVT kockázata alacsony, nem szükséges kötelezően a gyógyszeres profilaxis. Azoknál a nőknél, akiknél kombinált defektus van jelen a MVT kockázata mérsékelten emelkedett, így a terhesség alatti profilaxis megfontolandó. Eredményeink azt mutatják, hogy FVL hordozó terheseknél a szelektív profilaxist kombinált thrombophilia jelenléte esetén indokolt alkalmazni. FVL hordozókban a vetélés megelőzésére alkalmazott szelektív thrombosis profilaxis indikációja lehet az előzményi vetélés és a kombinált thrombophilia jelenléte.

Közlemények

A tézisekhez felhasznált közlemények

1. Vad S, Lakos G, Kiss E, Sipka S, Csorba R, Póka R.: Antiphospholipid antibodies in young women with and without oral contraceptive use. *Blood Coag Fibrinolys* 2003;**14**: 57-60., **IF: 1,938**
2. Póka R, Vad S, Lakos G, Bereczki Z, Kiss E, Sipka S.: Increased titer of anti-beta2-glycoprotein I IgG antibody among factor V Leiden carriers during oral contraceptive use. *Contraception* 2004;**69**: 27-30., **IF:1,443.**
3. Vad S, Ajzner E, Balogh I, Pfliegler G, Boda Z, Muszbek L, Póka R: Retrospective analysis of factors affecting pregnancy associated thrombosis risk among factor V Leiden carriers
4. Vad Sz, Lakos G, Kiss E, Petó E, Póka R.: Foszfolipid- ellenes antitestek előfordulása fiatal nőkben kombinált orális fogamzásgátló szedése során. *Magyar Nőorv L.*2003; **66**: 3-7.
5. R Póka, S Vad, E Ajzner, I Balogh, G Pfliegler, Z Boda: Retrospective analysis of factors affecting pregnancy associated thrombosis risk among factor V Leiden carriers. *Thromb Research* 2005;**1155**, 109-149., **IF: 1,710**
6. Póka R, Vad S , Balogh I, Ajzner E. Variable effect of prothrombotic factors on fetomaternal circulation. *AmJ of Obst Gyn.* 2005;**193(6)**:2180-2181. **IF:3,083**
7. Hermann T, Vad Sz, Ajzner É, Balogh I, Boda Z, Pfliegler Gy, Póka R.: terhességi és gyermekéyi thrombosis kockázatát befolyásoló tényezők faktor V Leiden- hordozók körében: szelektív profilaxis indikációi. *Magyar Nőorv L.*2003;**67**: 299-305.

8. Póka R, Ajzner É, **Vad Sz**, Pető E.: Az aktivált protein C rezisztencia szűrés szerepe a nők reproduktív egészségének védelmében. *Magyar Nőorv L.*2002;**65**: 267-271.

A tézisekhez felhasznált absztraktok jegyzéke

3. **Vad Sz**, Lakos G, Kiss E, Sipka S, Csorba R, Póka R: Antiphospholipid antibodies in young women with and without oral contraceptive use. 17th European Congress of Obstetrics and Gynecology, Prague, 2002, május 22-25.

4. **Vad Sz**, Póka R, Ajzner É: Sensitivity to activated protein C as a measure of women's reproductive health. 17th European Congress of Obstetrics and Gynecology, Prague, 2002, május 22-25.

5. Póka R, **Vad Sz.**: Pattern of pill switch in oral contraception. 17th European Congress of Obstetrics and Gynecology, Prague, 2002, május 22-25.

A kutatási területhez kapcsolódó egyéb közlemények

1. Póka R, **Vad Sz.**: Gyógyszerváltási gyakorlat az orális fogamzásgátlásban. *Magyar Nőorv L.*2002; **65**: 99-106.

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó előadások, poszterek

1. **Vad Sz**, Póka R.: Foszfolipid- ellenes antitestek előfordulása fogamzásgátló szedése során. Magyar Nőorvos Társaság Észak- Kelet Magyarországi szakcsoport ülése, Mátészalka, 2002. szeptember 21.

2. Póka R, Juhász R, **Vad Sz**: Factors affecting pregnancy- associated thrombosis risk in factor V Leiden carriers. XVIIth World Congress of Obstetrics and Gynecology, Santiago, Chile, 2003. november 7.
3. **Vad Sz**, Bereczky Zs: Foszfolipid-ellenes antitestek előfordulása kombinált orális fogamzásgátló szedése mellett FVL vad és heterozigóta genotípusú fiatal nőkben. Ph.D. és TDK Tudományos diáktalálkozója Debrecen, 2003. február 28.
4. **Vad Sz**, Póka R, Balla Gy.: HELLP szindrómát utánzó lupus anticoagulans 370 g-os túlélő újszülöttel Magyar Immunológiai Társaság XXXV. Vándorgyűlése, Sopron, 2005. október 19-21.
5. **Vad Sz.**: Thrombophilia és fogamzásgátlás. Reprodukzív endokrinológia Akkreditált Továbbképzés Debrecen, 2007. február 27.
6. **Vad Sz**, Póka R: Mélyvénás thrombózis kialakulása orális fogamzásgátló tabletta váltásakor kombinált thrombofiliás fiatal nőnél Észak-Kelet Magyarországi Szakcsoport Gyűlés, Eger 2007.06.01.

A tézishoz kapcsolódó diplomamunkák

A thrombophilia és a hormonális fogamzásgátlás összefüggései

Takács Szilvia, DEOEC Egészségügyi Főiskolai Kar, Szülésznői Szak, Nyíregyháza

2005

Összesített impakt factor: 8.174