

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Dr. Orosz László

Praeclampsia kockázatbecslése a terhesség első trimeszterében

DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2020

Egyetemi Doktori (PhD) értekezés

Praeclampsia kockázatbecslése a terhesség első trimeszterében

Dr. Orosz László

Témavezető: Dr. Török Olga



DEBRECENI EGYETEM
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2020

1.	Rövidítések jegyzéke	5
2.	Bevezetés	7
3.	Irodalmi áttekintés.....	10
3.1.	A praeclampsia definíciója	10
3.2.	A praeclampsia etiológiája	10
3.3.	A praeclampsia beosztása.....	13
3.4.	A praeclampsia első trimeszteri szűrésének lehetőségei	14
3.5.	A praeclampsia prevalenciájának csökkentése - farmakológiai prevenció.....	16
3.6.	Fetal Medicine Foundation irányelvek – standardizált mérések	17
3.7.	A praeclampsia szűrésében felhasználható új biomarkerek.....	18
4.	Célkitűzés	21
4.1.	Fetal Medicine Foundation irányelvek szerinti első trimeszteri praeclampsia-szűrés hatékonyságának vizsgálata nem szelektált terhespopulációban Kelet-Magyarországon.....	21
4.2.	Proteomikai vizsgálat praeclampsiaival szövődött terhességek első trimeszteri szérum mintáin – új biomarker kutatások	21
5.	Anyag és módszer	22
5.1.	Az első trimeszteri prospektív mintagyűjtést irányzó tanulmány felépítése.....	22
5.2.	A prospektív tanulmányba bevont esetek utánkövetése – terhességek kimenetele.....	23
5.3.	Betegbeválogatás a tanulmány 4.1 részéhez.....	24
5.3.1.	A praeclampsia első trimeszteri rizikóját kalkuláló szoftverek	26
5.3.2.	Statisztikai módszerek a tanulmány 4.1 részéhez.....	27
5.4.	Betegbeválogatás a tanulmány 4.2 részéhez.....	28
5.4.1.	A proteomikai vizsgálat protokollja	28
5.4.2.	Minta preparálás.....	28
5.4.3.	LC – MRM	29
5.4.4.	Statisztikai módszerek a tanulmány 4.2 részéhez.....	29
6.	Eredmények	30
6.1.	A 4.1 vizsgálat eredményei – prospektív adat- és mintagyűjtés.....	30

6.1.1. A praeclampsia-szűrés hatékonyságát elemző tanulmányba bevont terhespopuláció jellemzői.....	30
6.1.2. A praeclampsia és a kontrollcsoport biometriai és biokémiai eredményeinek összehasonlítása	33
6.1.3. A praeclampsia alcsoportok és a kontrollcsoport összehasonlítása	35
6.1.4. Az A1 és A2 programmal kalkulált detekciós ráta a kockázatbecsléshez felhasznált paraméterek függvényében.....	38
6.2. Proteomikai vizsgálat eredményei	40
6.2.1. A vizsgált populáció jellemzői	40
6.2.2. Immunfehérjék magyarországi validációs vizsgálatának eredményei	40
7. Megbeszélés.....	42
7.1. A praeclampsia első trimeszteri szűrésének eredményei.....	42
7.1.1. A populációspecifikus anyai jellemzők és biofizikális értékek jelentősége.....	42
7.1.2. A nem angolszász populációkban végzett tanulmányok eredményeinek összehasonlítása	42
7.1.3. A biokémiai mérések jeletőssége.....	43
7.1.3.1. BhCG és PAPP-A.....	43
7.1.3.2. PIGF.....	44
7.1.3.3. A kelet-európai régió praeclampsia szűrésének költség-hatékony lehetőségei	45
7.2. Új biomarker vizsgálatok – proteomika	46
8. A kutatás folytatásának új lehetőségei	48
8.1. Biobank bővítés, terhesgondozás átszervezése.....	48
8.2. Mikro RNS vizsgálatok	49
9. Az értekezés új tudományos eredményei	50
10. Összefoglalás	51
11. Summary	52
12. Tárgyszavak	53
13. Köszönetnyilvánítás.....	53
14. A jelölt által végzett tevékenységek a tanulmányok során.....	54

15. Függelék	55
16. Irodalomjegyzék.....	66
16.1. Az értekezés alapjául szolgáló és a további közlemények hitelesített listája	66
16.2. Hivatkozott közlemények jegyzéke	68
16.3. Az értekezést megalapozó közlemények	75

1. Rövidítések jegyzéke

2D-DIGE	kétdimenzionális differenciális gélelektroforézis
a priori risk	anyai előzményi adatokon és biometriai méréseken alapuló alapkockázat
A1	Astraia szoftver 2.3.2 programverzió
A2	Astraia szoftver 2.8.1 programverzió
ANOVA	ANalysis Of VAriance
ALT	alanin amino-transzferáz
APS	antifoszfolipid-szindróma
AST	aszpartát-aminotranszferáz
AUC	Area Under The Curve
B-hCG	beta human choriogonadotropin
BP	vérnyomás érték (Hgmm)
BPD	biparietális átmérő
CRL	fejtető far távolság
DEOEC	Debreceni Egyetem Orvos-, és Egészségtudományi Centrum
DM	I. típusú diabetes mellitus
DR	detekciós ráta
DV-PI	ductus venosus pulzatilitási index
EBM	bizonyítékon alapuló orvoslás
FHR	magzati szívfrekvencia
FLT1	Fms-Like Tyrosine Kinase 1
FMF	Fetal Medicine Foundation
FPE	álpozitív eset
FPR	álpozitív ráta
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
HBRC	Harris Birthright Research Centre
hPL	human Placentaris Lactogen
HPLC	nagy teljesítményű folyadékkromatográfia
IGFBP	inzulinszerű növekedési faktorkötő fehérje
ISSHP	International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy
IVF	in vitro fertilizáció

Ktrl/Ctrl	kontrollcsoport
LEP	leptin gén
MAP	artériás középvérnyomás
MoM	multiple of expected median – elvárható középérték többszöröse
MRM	folyadék kromatográfia tömegspektroszkópia multiple reaction monitoring
NICE	National Institute for Health and Care Excellence
NT	tarkóredő
PAPP-A	placenta associated plasma protein A
PE	praeclampsia
PET	családban előforduló praeclampsia
PIGF	placental growth factor
PP13	placental protein 13
RCOG	Royal College of Obstetricians and Gynaecologists
RCR	Royal College of Radiologists
RKEB/IKEB	Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottság
ROC	Receiver Operating Characteristics
SGA	kis súlyú magzat/újszülött
sFLT-1	solubilis FMS-like tyrosine kinase
SLE	szisztémás lupus erythematosus
TUKEB	Tudományos és Kutatásetikai Bizottság
UtA-PI	arteria uterina pulzatilitási index
VEGF	vascular endothelial growth faktor
vs	versus

2. Bevezetés

A 20. század elején jellemző magas anyai és magzati mortalitás és morbiditás miatt, 1929-ben a brit egészségügyi minisztérium állásfoglalása alapján a terhesség 16., 24. és 28. hetében, ezt követően pedig kéthetente javasolták a terhességi rutin vizsgálatokat a 36. hétig. A súlyos késői terhességi szövődmények miatt, melyek többségét csak a terhesség előrehaladtával, annak vége felé lehetett diagnosztizálni, a 37. héttől a magzat megszületéséig már hetente tartották indokoltnak a kontrollvizsgálatokat¹. Ez a protokoll ugyan nem a bizonyítékon alapuló orvoslás (EBM) elveire támaszkodott, mégis világszerte, így Magyarországon is, kisebb módosításokkal ez a terhesgondozási rendszer honosodott meg.

A terhesség harmadik trimeszterében az első és második trimeszterhez képest nagyságrendekkel gyakoribb viziteket egyrészt az indokolta, hogy a terhességi komplikációk jelentős hányada csak ezen késői szakban manifesztálódik, másrészt, hogy ezeknek, a terhesség kimenetelét kedvezőtlenül befolyásoló kórállapotoknak, a többsége korábban nem volt előre jelezhető.

Az elmúlt 20 évben több tanulmány eredménye utalt arra, hogy számos, a terhességet kedvezőtlenül befolyásoló kórállapot előre jelezhető akár már a terhesség 11-13. hetében. A későbbi terhességi korban manifesztálódó, az anyai-magzati morbiditást és mortalitást növelő szövődmények, mint például a közepidős vetélés, a magzati elhalás, a praeclampsia, a koraszülés, a gesztációs diabétesz, a magzati retardáció és a macrosomia emelkedett kockázatának korai ismerete a várandósgondozás személyre szabott tervezését teszi lehetővé.

Az új gondolkodásmód elterjesztésében Kypros Nicolaidis professzor meghatározó szerepet játszott, és ezt 2011-ben úttörő publikációjában „Turning the Pyramid of Prenatal Care” címmel közölte². Ennek alappillére az anamnézisen, individualizált anyai biofizikális jellemzőkön, kiterjesztett és részletgazdag magzati és anyai ultrahangvizsgálaton, valamint az anyai szérum biomarkerek vizsgálatán alapuló kockázatbecslés. A Nicolaides által javasolt egységes, nemzetközi, standardizált protokoll alapján végzett integrált tesztsorozat segítségével változó szenzitivitással, de előre jelezhető a terhességi szövődmények nagy többsége.

Az első trimeszteri kockázatbecslés alapjait a perinatális mortalitás és a csecsemő- és gyermekkori morbiditás egyik fő okaként számon tartott kromoszóma-rendellenességek szűrése indította el. Az 1970-es években a kockázatbecslés alapja az anyai életkor volt. Az 1980-as években ezt felváltotta a második trimeszteri anyai szérummarkerek mérésén és

ultrahangvizsgálaton alapuló rizikóbecslés. Az 1990-es években a figyelem a terhesség első trimeszterére irányult. Kiderült, hogy az anyai életkor, a magzati tarkóredő (nuchal translucency - NT) és az első trimeszterben az anyai szérumban található szabad béta - human chorionic gonadotropin (B-hCG) és pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) értékek kombinálásával (kombinált teszt) a 21 triszómiás (Down-szindróma) magzatok 90%-a kiszűrhető 5%-os fals pozitív ráta mellett.^{3,4,5 6,7,8,9,10,11,12,13}. Az elmúlt 10 év kiterjedt kutatásai alapján a kromoszóma-rendellenességek első trimeszteri szűrésének szenzitivitása tovább emelhető, ha a vérvételt a 9-12. héten, míg a kiterjesztett ultrahangvizsgálatot a 12. héten végezzük^{14,12,13,15}. Ezen algoritmussal 93-96%-os szenzitivitás érhető el, 2,5%-os fals pozitív ráta mellett. Számos tanulmány igazolta azt is, hogy a minőségbiztosítási elvek betartásával végzett magzati tarkóredő-mérés a leggyakoribb kromoszómális aneuploidiákon túlmenően jelentős mértékben képes javítani a perinatális morbiditásban és mortalitásban ugyancsak jelentős szerepet játszó magzati szívfejlődési rendellenességek felismerési hatékonyságát¹⁶.

Saját eredményeink is megerősítették a standardizált irányelvek alapján megvalósuló első trimeszteri tarkóredő-szűrés kiemelt jelentőségét, hiszen kutatási eredményeink alapján kiszélesedett tarkóredő esetén, amennyiben a magzati karyotípus normális, a tarkóredő vastagságának növekedésével arányosan, gyakrabban fordulnak elő magzati szívfejlődési rendellenességek¹⁷.

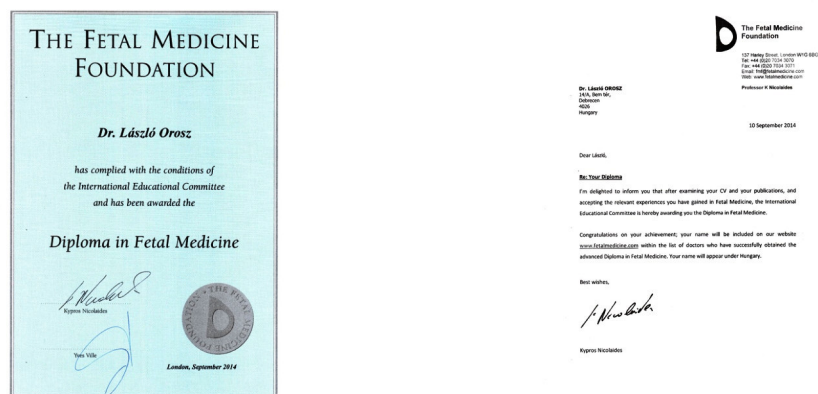
Az magzati aneuploidiák szűrésére alkalmazott első trimeszteri anyai biometriai mutatók és szérummarkerek segítségével lehetőség adódik arra is, hogy a kromoszóma-rendellenességek és a magzati fejlődési rendellenességek szűrésén túlmenően, későbbi terhességi korban manifesztálódó magas anyai és magzati morbiditással és mortalitással járó állapotokat is előre jelezhessünk. A nemzetközi érdeklődés középpontjában jelenleg a praeclampsia első trimeszteri szűrése áll.

A praeclampsia első trimeszteri szűrésére irányuló kutatások közel egy évtizede zajlanak a Kypros Nicolaidis professzor irányítása alatt álló, londoni King's College Hospitalban található Harris Birthright Research Centre-ben (HBRC), valamint a szintén általa alapított Fetal Medicine Foundation-ban (FMF). A londoni King's College Hospitalban működő magzati medicina központ (HBRC) és FMF publikációi képzik a magzati kromoszóma-rendellenességek FMF kritériumok szerinti szűrésének, illetve a késő terhességi patológiás állapotok (praeclampsia, gesztációs diabétesz, magzati retardáció, macrosomia és a koraszülés) első trimeszteri előrejelzésének alapját.

A University of London Fetal Medicine tanszékének keretein belül működő, 1984-ben alapított HBRC egy nemzetközileg elismert magzati diagnosztikai és kutató központ. Évente több mint 10.000 várandós ultrahangvizsgálatát és kezelését végzik a centrumban. Az osztályt teljes értékű szülészeti szakképző helyként és diagnosztikai centrumként ismeri el a Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG) és a Royal College of Radiologists (RCR). Az FMF első trimeszteri szűrőmódszerét a kromoszóma-rendellenességek felismerésére napjainkban a világ több mint száz és Európa valamennyi fejlett országában alkalmazzák.

Jelenleg Magyarországon nem létezik egy, a mindennapi gyakorlatban elfogadott és költséghatékony módszer a praecclampsia koraterhességi szűrésére annak ellenére, hogy a betegség, gyakoriságát tekintve előkelő helyet foglal el mind a magzati, mind az anyai megbetegedési és halálzási mutatók etiológiai faktorai között.

Professzor Kypros Nicolaidesnél 2010-2012 között négy alkalommal történt pár hetes ösztöndíjas tanulmányutam során, valamint 2012-2014 között megvalósult kétéves ösztöndíj program keretében sikerült bekapcsolódnom az ott folyó kutatói munkába és a mindennapi gyakorlatban is elsajátítani az FMF irányelveket. A kétéves tanulmányút végén, Magyarországon elsőként megszereztem a Diploma in Fetal Medicine képesítést, melyet a Debreceni Egyetem Klinikai Központ várandós ellátásában csakúgy, mint a hazai szakorvosképzés és továbbképzésben hasznosíthattam hazatérésemet követően, és ennek folytatását tervezem a jövőben is. (1. ábra)



1. ábra

Diploma in Fetal Medicine igazolás

(forrás: jelölt saját anyaga)

3. Irodalmi áttekintés

3.1. A praeclampsia definíciója

A praeclampsia az anya olyan szisztémás kórképe, mely kizárólag a terhességgel összefüggésben, annak második felében alakul ki (20. hét után).

Diagnózisához több kritériumnak kell együttesen fennállnia:

1. Újonnan fellépő magas vérnyomás (RR)
 $X > 140/90$ Hgmm
2. Újonnan jelentkező fehérje ürítés a vizeletben
 $X > 0,3$ g/24 óra
3. Vérlemezke szám
 $X < 150000$ /uL
vagy
Szérum kreatinin szint
 $X \geq 90$ umol/L
vagy
Szérum alanin amino-transzferáz (ALT) / aszpartát-aminotranszferáz (AST)
 $X > 40$ IU/L^{18,19}

3.2. A praeclampsia etiológiája

A praeclampsia 2-3%-os előfordulási gyakoriságával jelentős terhet ró az egészségügyi betegellátó rendszerre²⁰. A fejlett egészségüggyel rendelkező országokban a praeclampsia felelős a terhességgel kapcsolatos anyai halálozás 14%-áért²¹. A betegség magzati oldalát tekintve elmondható, hogy az elhalások 10%-ának²², míg a koraszülések 12-16%-ának etiológiai faktora²³.

Kóroktanát vizsgálva multifaktoriális²⁴, legfőbb etiológiai tényezője az elégtelen lepényi beágyazódás. A kóros implantáció eredményeként bekövetkező ischaemiás folyamatok és károsodások indukálta gyulladásozó faktorok a vérlemezek, illetve az ereket bélelő hám biokémiai kaszkádfolyamatait indítják el. Ezen folyamatok magas vérnyomás, vizeletfehérje ürítés, ezáltal következményes ödéma kialakulásához vezetnek a későbbiekben^{25,26,27,28}. A betegség rövid és hosszú távú anyai és magzati következményei

fordított arányban állnak a betegség tüneteinek a terhességi korhoz viszonyított első manifesztációjával^{29,30,31,32,33,34}.

A kifejlődött kórkép irreverzibilis, terápiás szempontból egyedül vérnyomáscsökkentőket tudunk alkalmazni, melyek a kialakult betegségre már nem hatnak, csupán a tünetek súlyosságát csökkentik. Súlyos esetekben, amennyiben a további várakozást anyai vagy magzati szempontból kockázatosnak ítéljük, az egyedüli megoldás a méhlepény eltávolítása, azaz a terhesség befejezése.

Számos tanulmány foglalkozott a betegség molekuláris patomechanizmusával, lehetséges genetikai hátterével, az előrejelzésében felhasználható ultrahang-, biokémiai-, valamint ribonukleinsav-markerekkel, de ezidáig nem igazoltak egyértelmű ok-okozati összefüggést^{35,36,37,38,39,40,41,42}. Különböző speciosekben sikerült bizonyítani, hogy az uteroplacentáris véráramlás mechanikus csökkentése praeclampsia-szerű tüneteket okoz⁴³. A nem megfelelő lepenyi beágyazódás és az ezzel összefüggésben meginduló biokémiai kaszkádfolyamatok vizsgálata során²⁴ számos esetben kimutatták egyes lepenyi eredetű biokémiai markerek élettani terhességtől eltérő koncentrációját a betegség tüneteinek kifejlődését követően vagy azt közvetlenül megelőzően, és igazolták egyes biofizikai markerekkel való szoros korrelációját.

A későbbiekben megfigyelték, hogy az egészséges terhesek mintáihoz viszonyítva már az első trimeszter során eltérő koncentrációban vannak jelen bizonyos, lepeny által termelt biomarkerek a későbbiekben praeclampsia-ban megbetegedettek vérmintáiban^{44,45,46}. A PAPP-A^{47,48}, PIGF⁴⁹, adiponectin⁵⁰, endoglin, pentraxin-3⁵¹, P-selectin⁵², aktivin-A⁵³, inhibin-A^{54,55} és a vizeletből mért orosomuroid⁵⁶ a leggyakrabban vizsgált első trimeszteri praeclampsia biomarkerek⁵⁷. Az angiogenetikus faktorok (vascular endothelial growth factor (VEGF és PIGF) megkötéséért és neutralizációjáért felelős⁵⁸ solubilis FMS-like tyrosine kinase (sFLT-1)^{59,60,61,62} és a transforming growth faktor Béta1 és Béta3 koreceptoraként funkcionáló⁶³ solubilis endoglin, mint a praeclampsia angiogenetikus etiológiájában kulcsszerepet játszó két peptid, valamint a lepenyi implantációban és az ér remodellingben fő szerepet játszó placental protein 13 (PP13)^{64,65,66} vizsgálata rávilágít a lepenyi ér újdonszerveződésnek a betegség kialakulásában játszott egyik lehetséges kiemelt szerepére⁶⁷.

Ezen túlmenően számos tanulmány próbált összefüggést találni a táplálkozással, de ezek eredményei ellentmondásosak^{68,69}. A lepenyi eredet mellett felmerült a kóros anyai lipidmetabolizmus, és az ahhoz társuló oxidatív stressz⁷⁰ lehetséges etiológiai szerepe is.

Hazai kutató laboratóriumok is foglalkoztak a placentáció⁷¹, valamint a betegség-specifikus biomarkerek⁷² vizsgálatával, már manifestálódott betegség esetén. Kiváló hazai, kisebb beteganyagon végzett első trimeszteri prospektív tanulmányok is fellelhetőek az irodalomban⁷³.

Nemzetközi tapasztalatok alapján igazolt, hogy emelkedett kockázatot jelent a magas anyai testtömeg index (BMI), a korábbi ovulációindukció, a krónikus magas vérnyomás, a cukorbetegség, a hyperinsulinaemia^{74,75}. Bizonyos rasszokban gyakoribb a kórkép, de ismertek a betegségre nézve pozitív családi előzményi adatok, valamint jellemző az első trimeszteri magas arteria uterina pulzatilitási index⁵⁷.

Utóbbinak az oka a fokozott rezisztencia, melynek háttérében állatkísérletek által is igazoltan⁴³ a decíduális spirális artériák falába történő tökéletlen trophoblast invázió áll. A simaizom réteg tökéletlen degenerálódása következtében a spirális artériák keresztmetszete szűk marad, ennek eredménye mutatkozik meg az anyai vasoregulációs rendszer változásaiban^{76,77,78}.

További kutatási lehetőségeket kínál a praeclampsia első trimeszteri kockázatbecslésére az anyai fehérvérsejtekből izolált különböző gének allél polimorfizmus vizsgálata, mint az, az apolipoprotein E^{79,80} esetében korábban bizonyítást nyert⁸¹.

Az előbbiekből is látszik, hogy a különböző anyagcsereutak kóros érintettségének számtalan lehetősége miatt az első trimeszteri mintákból vizsgálható biomarkerek száma szinte határtalan.

A biomarkerek közül napjainkban a mindennapi rutin klinikai gyakorlatban széles körben vizsgált első trimeszteri markerek a PIGF, PAPP-A és a jelenleg a második és harmadik trimeszterben intenzív kutatások tárgyát képező sFlt-1.

A Pappalysin-1, másik nevén pregnancy-associated plasma protein A, egy, az emberi PAPP-A gén által kódolt fehérje molekula. Funkcióját tekintve egy proteáz enzim, melynek fő szubsztrátja az inzulinszerű növekedési faktor kötő fehérje (IGFBP). Szerkezetét tekintve metalloproteáz, mely az IGFBP-t hasítja. Proteolitikus aktivitását a kollagén kötés idézi elő. Szervezetben betöltött szerepét tekintve a sebgyógyulásban, illetve a csontátépülésben vesz részt⁸². Alacsony szérumszintje az első trimeszterben összefüggésben állhat kromoszóma-rendellenességekkel, méhen belüli növekedési visszamaradással, praeclampsiaival, lepényleválással, koraszüléssel és magzati elhalással⁸³.

A placentál growth faktort (PIGF) az emberben a PGF gén kódolja⁸⁴. A PIGF a vascular endothelial growth faktor (VEGF) alcsalád tagja. Az embriogenezis során kulcsmolekula az

angiogenezisben, illetve szükséges a trophoblastok megfelelő differenciációjához és növekedéséhez. A trophoblast sejtek, ezek közül is az extravillosus trophoblast sejtek felelnek élettani terhességben az anyai spirális arteriolák simaizom rétegének inváziójáért. Terhesség során a PlGF szintéziséért a trophoblastok felelnek⁸⁵, ugyanakkor egyéb szervek is termelik, mint a szív, tüdő, pajzsmirigy és harántcsíkolt izomszövet. Praeclampszában szérumszintje csökkent.

A sFlt-1 (soluble fms-like tyrosine kinase-1 – más nevén soluble VEGF receptor-1) szérumszintjei is megváltoznak praeclampszával szövődött terhességek esetén mind a három trimeszterben. Praeclampszában az sFlt-1 szérumszintje emelkedett. Ezen marker használata az első trimeszteri szűrésben jelenleg még nem kiforrott, de számos publikáció támasztja alá, hogy jelentős szerepe lehet a második trimeszter végén és a harmadik trimeszterben a praeclampsziára valóban magas kockázatú esetek differenciáldiagnosztikájában⁸⁶.

3.3. A praeclampsia beosztása

Két súlyossági fokozatot különböztetünk meg:

1. Enyhe praeclampsia: 140/90 Hgmm feletti vérnyomás értékek és $X > 300$ mg/24 óra vizeletfehérje ürítés.
2. Súlyos praeclampsia: 160/110 Hgmm feletti vérnyomás értékek vagy 5 gramm/24 óra vizeletfehérje ürítés, illetve bármi a következők közül: májenzim emelkedés, vesefunkció eltérés, haemolitikus anaemia, magzati növekedési retardáció, neurológiai tünetek stb.^{87,88}

A betegség manifesztációjának ideje alapján a praeclampsziás esetek két csoportba sorolhatók:

1. Korai praeclampsia, amikor a terhesség befejezésére a 34. hét előtt kényszerülünk.
2. Késői praeclampsia, amikor a terhesség befejezésének szükségessége a 34. hét után vetődik fel^{89,90}.

Irodalmi adatok alapján a korai praeclampsia prevalenciája 0.5% míg a késői praeclampsia előfordulása 2%⁹¹.

A perinatális morbiditási mutatókon túlmenően a praeclampsziában a gesztációskorfüggő csoportosítás azért is lényeges, mert a 34. hét előtt születetteknél inkább a lepény funkcionális kapacitásának elégtelensége játssza a főszerepet, így új biomarkerek kutatása szempontjából biztató terület, míg a 34. hét után születettek esetén ez jelenleg nem egyértelmű⁹².

A késői praeclampsia pathogenezisében az utóbbi évek kutatási eredményei szerint ugyanis a fő etiológiai faktor az anyai kardiovaszkuláris status kiegyensúlyozatlansága, ezáltal a fetomaternalis egység egyensúlyzavara⁹³. A késői praeclampsia anyai kardiovaszkuláris rizikófaktorainak kiemelt szerepére hívja fel a figyelmet az a tény is, hogy a genetikai predispozíció szempontjából a késői praeclampsziára hajlamos terhesek a koronális megbetegedésekre hajlamos betegekkel hasonló allélokat hordoznak⁹⁴.

3.4. A praeclampsia első trimeszteri szűrésének lehetőségei

Az elmúlt évtizedben jelentős tudományos erőfeszítések történtek egy, az első trimeszterben használható hatékony szűrő módszer kidolgozására azzal a céllal, hogy a magas rizikójú terhespopulációban megvalósuló farmakológiai intervencióval (acetilszalicilsav) csökkenthető legyen a betegség előfordulási gyakorisága, így mérsékelve mind az anyai, mind a magzati mortalitást és morbiditást^{95,96,97}.

A tradicionális szűrő módszerek, melyek csupán az anyai előzményi adatokat használták fel a rizikóbecslésre, a praeclampsziával szövődött eseteknek mindössze 35%-át jelezték 10%-os fals pozitív ráta mellett (NICE irányelvek)⁹⁸. Ezzel a megközelítéssel a népegészségügyi szempontból fontosabb korai praeclampsziás eseteknek csak 40%-a volt előre jelezhető a korábban említett fals pozitív ráta mellett⁹⁹.

Az elmúlt években számos tanulmány felvetette, hogy az anyai előzményi adatokat, specifikus biofizikai és biokémiai paramétereket kombinálva jóval hatékonyabb szűrő módszer érhető el a csupán anyai előzményi adatokon alapuló kockázatbecslésnél¹⁰⁰. Az így történő első trimeszteri kockázatbecslés irodalmi adatok alapján a 34. hét előtt manifesztálódó praeclampsziát 90%-ban, a 34-37.-héten manifesztálódó praeclampsziát 80%-ban, a 37. hét után manifesztáló praeclampsziát pedig 60%-ban tudja előre jelezni 5-10%-os fals pozitív ráta mellett⁵⁷.

A korai és a késői praeclampsia közti szenzitivitási különbség egyben igazolja a praeclampsia betegségén belüli alcsoportok elkülönítésének létjogosultságát és indokoltságát².

Amennyiben a szűrési hatékonyságot összehasonlítjuk a korai és a késői praeclampsia csoportban, elmondható, hogy az előbbi csoportban a detekciós arány szignifikánsan magasabb. A korai praeclampsia szűrési hatékonysága az alkalmazott algoritmusoktól függően 41%¹⁰¹ - 96%¹⁰² közötti. Az anyai előzményi adatok és a terhesség 11-13. hetében mért artéria uterina pulzatilitási index (UtA-PI), artériás középvérnyomás (MAP), anyai szérumból meghatározott PAPP-A és PIGF alapján a magas rizikójú terhesek jelentős hányada kiszűrhető¹⁰³. Egy 60.000 beteget bevonó tanulmány 2012-ben szinguláris terhességekben vizsgálta az első trimeszteri szűrés hatékonyságát és 10%-os fals pozitív ráta mellett 76%-os detekciós arányt ért el¹⁰⁴.

A késői praeclampsia csoportban a szűrési hatékonyság 31-45% közé tehető, tekintettel arra, hogy ezen kórképben nem a lepényi faktorok játsszák a főszerepet, jóval inkább az anyai kardiovaszkuláris jellemzők^{91,105}.

A nemzetközi irodalomban publikált tanulmányok többségét angolszász populáción végezték, így a klinikai kutatásokban közölt szűrési eredmények közel megegyező hatékonyságot mutatnak^{106,107,108}. Ezen tanulmányok közös jellemzője volt a viszonylag nagy esetszám, ugyanakkor dél- vagy közép-európai populációkon végzett kisebb esetszámú tanulmányok már nem tudták reprodukálni az Egyesült Királyságban publikált eredményeket¹⁰⁹.

Tekintettel arra, hogy az első trimeszteri praeclampsia rizikóbecslésében egyik alapvető elem az anyai háttér kockázat (a priori risk), amely gyakorlatilag az anyai előzményi adatok és a jelen terhességben mérhető dinamikus változók (artériás középvérnyomás, testsúly, testmagasság) alapján számolt matematikai arányszám, a nemzetközi irodalomban megjelent az igény olyan tanulmányok készítésére, ahol a vizsgált terhespopuláció összetétele eltér a publikációk zömét alkotó angolszász és észak-amerikai populációktól^{110,111}. További érv, hogy a kelet-európai országokban ugyan az elhízás prevalenciája alacsonyabb, mint az Egyesült Királyságban, azonban a kardiovaszkuláris megbetegedések előfordulásának gyakorisága nemhogy közel azonos, hanem magasabb, mint Angliában^{112,113}.

Előbb említett tanulmányok közös konklúziójaként elmondható, hogy jóllehet, számos, mind az első, mind a második trimeszteri szűrés során alkalmazott biokémiai teszt és első trimeszteri ultrahang paraméter kapcsolatba hozható a későbbiekben praeclampsia

kialakulásával, de ez idáig nem sikerült egy, a mindennapi gyakorlatban alkalmazható, és minden populáció szűrésére alkalmas költséghatékony szűrőmodszert bevezetni. Nagy beteganyagon, kombinált biokémiai markereket alkalmazó tanulmányokat javasolnak a szakemberek, számos, ezidáig alkalmazott, az adott populációra adaptált biofizikai méréssel kombinálva¹¹⁴. A populációspecifikus jellemzők bevezetésével a cél a tesztek fals pozitív rátájának csökkentése, valamint szenzitivitásuk emelése^{115,116,117}.

A szűrés további népegészségügyi előnyeihez sorolható, hogy irodalmi adatok alapján azon terhesek körében, akiknél korai vagy késői praeclampsia fejlődött ki, magasabb az időskori kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás¹¹⁸. A praeclampsia késői szövődményei eszerint közel 20-30 évvel később is jelentkezhetnek.

3.5. A praeclampsia prevalenciájának csökkentése - farmakológiai prevenció

Az alacsony dózisú acetilszalicilsav használata a praeclampsia megelőzésére közel 30 éve áll az érdeklődés középpontjában. Crandon és Isherwood 1979-ben megfigyelte, hogy az acetilszalicilsavat (Aspirin®) szedő terhesek körében szignifikánsan kisebb volt a praeclampsia előfordulási gyakorisága. A több mint ötven, Aspirin prevencióval foglalkozó tanulmány metaanalízise alapján kiderült, hogy a magas rizikójú terhesek körében alkalmazott alacsony dózisú Aspirin közel 10%-kal csökkentette a praeclampsia prevalenciáját¹¹⁹.

Az Aspirin profilaxis bevezetésének időpontja nagymértékben befolyásolja annak hatékonyságát. Bujold igazolta, hogy a 16. hét előtt kezdett alacsony dózisú Aspirin szedés szignifikánsan csökkentette a praeclampsia és a magzati retardáció előfordulását¹²⁰, míg a 16. hét után bevezetett Aspirinnel ilyen hatást nem tudtak kimutatni¹²¹. További kutatások azt is demonstrálták, hogy a 16. héten vagy azt megelőzően kezdett Aspirin-terápia hatásosabb volt a korai kezdetű, mint a késői praeclampsia prevalenciájának csökkentésében¹²².

Az alacsony dózisú Aspirin adagja 150 mg/nap. A nők egy részében acetilszalicilsav rezisztencia áll fenn, melyet a PFA-100 teszttel mutathatunk ki, ezen betegekben a korábban használt napi 100 mg Aspirin nem elegendő. Az adag megemlése azonban az acetilszalicilsav rezisztens esetekben is szignifikánsan csökkentette a praeclampsia előfordulását¹²³. Az Aspirin prevenció vonatkozásában meghatározó jelentőségűnek tekinthető az ugyancsak Nicolaides professzor irányításával végzett multicentrikus, placebo kontrollált prospektív vizsgálat, amelynek eredményeit 2017-ban publikálták, és amely meggyőző módon igazolta, hogy az FMF irányelvek szerinti szűrés során kiemelt,

praeclampsziára magas kockázatú populációban csaknem egyharmadára csökkenthető a korai praeclampsia prevalenciája a 11-14. héten indított napi 150 mg Aspirin adásával⁹⁶.

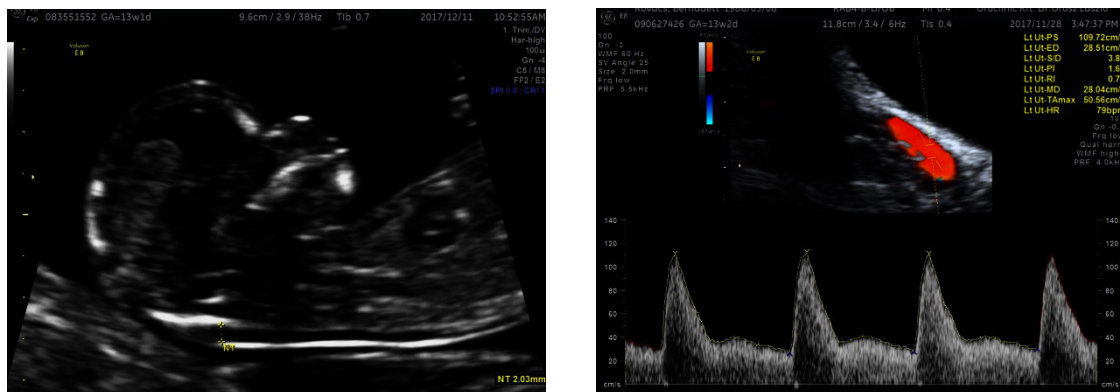
Az acetilszalícilsavnak nincs sem teratogén, sem embriopatogén, sem pedig fetopatogén tulajdonsága¹²⁴. Anyai szempontból sem mutattak ki szignifikáns különbséget a haemorrhagiás kórképek, a lepényleválás¹²⁵ vagy az epidurális anesztésia kapcsán fellépő komplikációk tekintetében^{126,127}. A harmadik trimeszteri vizsgálatok sem utaltak arra, hogy a profilaktikus alacsony dózisú acetilszalícilsav szignifikánsan növelné a ductus arteriosus idő előtti záródását vagy az újszülöttkori agyvérzések előfordulási gyakoriságát^{128,129}.

3.6. Fetal Medicine Foundation irányelvek – standardizált mérések

A korábban bemutatott első trimeszteri kombinált praeclampsia szűrőműszerek reprodukálhatóságának és gyakorlati megvalósíthatóságának alapfeltétele a mérési protokollok egységes alkalmazása, standardizált és évente auditált módszerekkel. Ezen cél érdekében, saját tanulmányunk elindítását megelőzően a londoni King's College Hospitalban működő Harris Birthright Research Center és a University of London, Fetal Medicine Department-ben elsajátítottuk a standardizált mérési algoritmusokat, továbbá a kutatás érdekében történő mintagyűjtési protokollt.

Az egész világon elterjedt és javasolt FMF szűrési algoritmus három fő alappillérből épül fel:

1. Az anyai előzményi-, és biofizikális adatok standardizált felvétele és rögzítése
2. A vizsgálok évenkénti auditja az egységes mérési protokollok alkalmazásának minőségbiztosítása érdekében (2. ábra)
3. Standardizált biokémiai mérési módszerek és az eredmények évenkénti auditja (www.fetalmedicine.org)



2. ábra

FMF kritériumok szerint végzett magzati tarkóerdő-mérés és artéria uterina pulzatilitási indexének vizsgálata
(forrás: jelölt saját anyaga)

3.7. A praeclampsia szűrésében felhasználható új biomarkerek

A praeclampsia olyan betegség, melyben a főszerepet az anya, a magzat, valamint a közöttük lévő interakciót lebonyolító placenta együttműködésének zavara okoz. A kórkép jellemzői közé tartozik a kiterjedt anyai szisztémás gyulladás, endotheliális károsodás, magas vérnyomás és proteinuria, azonban a betegség manifesztációját megelőzően az első trimeszterben számos molekuláris változás már előre mutathatja a betegség kialakulásának kezdetét.

Ezen változások kutatásának egyik ígéretes útvonala a proteomika. Kutatások szerint számos fehérje expressziója változik meg azon terhesek első trimeszteri vérmintáiban, akiknél a későbbiekben korai vagy késői praeclampsia fejlődik ki. A megváltozott fehérjemintázat megfigyelhető a renin-angiotenzin rendszerben, az immunrendszerben, a komplement-, illetve a véralvadási kaszkádban is. Genetikai tényezőket keresve megfigyelték, hogy bizonyos lepényi gének, mint a ZNF554, BCL6 és az ARNT2 metilációs statusának megváltozása is jellemző a később ebben a betegségben érintett nők körében¹³⁰.

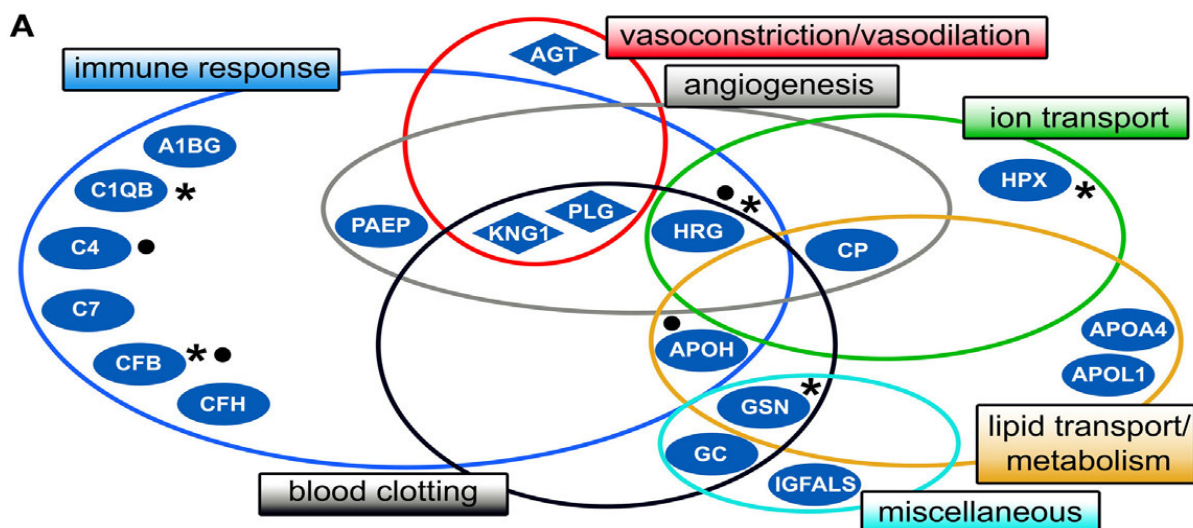
Korai praeclampsziában a lepény trophoblast sejtszejtjei a tökéletlen beágyazódás miatt anti-angiogenetikus faktorokat, gyulladásos cytokineket és syncytiotrophoblast törmeléket juttatnak az anyai szervezetbe, mely termékek szintje a praeclampsia jelentkezésével és súlyosbodásával növekszik, de ezek már az első trimeszterben is kimutathatóak¹³¹.

Késői praeclampsziában ezen markerek szintje jelentősen alacsonyabb, mint korai praeclampsia esetén, tekintettel arra, hogy ebben a praeclampsia alcsoportban az anyai

kardiovaszkuláris jellemzőknek a kóroktani hozzájárulása magasabb, így itt nem a tökéletlen beágyazódás okozta gyulladási kaszkád játssza a főszerepet²¹. A késői praeclampsia anyai kardiovaszkuláris rizikófaktorainak kiemelt szerepére hívja fel a figyelmet az a tény is, hogy a genetikai predispozíció szempontjából a késői praeclampsziára hajlamos terhesek a szív-érrendszeri megbetegedésekre fogékony betegekkel hasonló allélokot hordoznak⁹⁴.

A praeclampsia kialakulásában a magzati-anyai immunológiai folyamatok interakciója játssza az egyik legfontosabb szerepet. Számos tanulmány írt le összefüggést a komplement rendszer aktivációja következtében¹³² bekövetkező immunológiai aktiváció és lepényi károsodás között¹³³. A gyulladás korai praeclampsziában játszott kiemelt szerepére több in vivo végzett állatkísérletes tanulmány is rávilágított. Vemhes patkányoknak adott bakteriális endotoxinnal például olyan lepényi károsodást lehetett előidézni, melynek következményes tünetei hasonlítanak a praeclampsziához^{134,135}.

A saját mintáinkon végzett proteomikai vizsgálatot megelőzően, Than Nándor Gábor és munkacsoportja izraeli első trimeszteri szérummintákat kétdimenzionális differenciális gélelektroforézis (2D-DIGE) segítségével vizsgálták azzal a céllal, hogy meghatározzák a proteomikai különbségeket a praeclampsziás és az egészséges terhespopuláció mintái között. Az első csoportban olyan korai praeclampsziával szövődött terhességekből származó szérummintákat vetettek össze egészséges kontroll mintákkal (n=5), akiknél terhességük során a korai praeclampszián túlmenően SGA magzat is igazolódott (n=5). A tömegspektroszkópiával 19 fehérje mennyiségi eltérést találtak a két csoport között. (3. ábra)

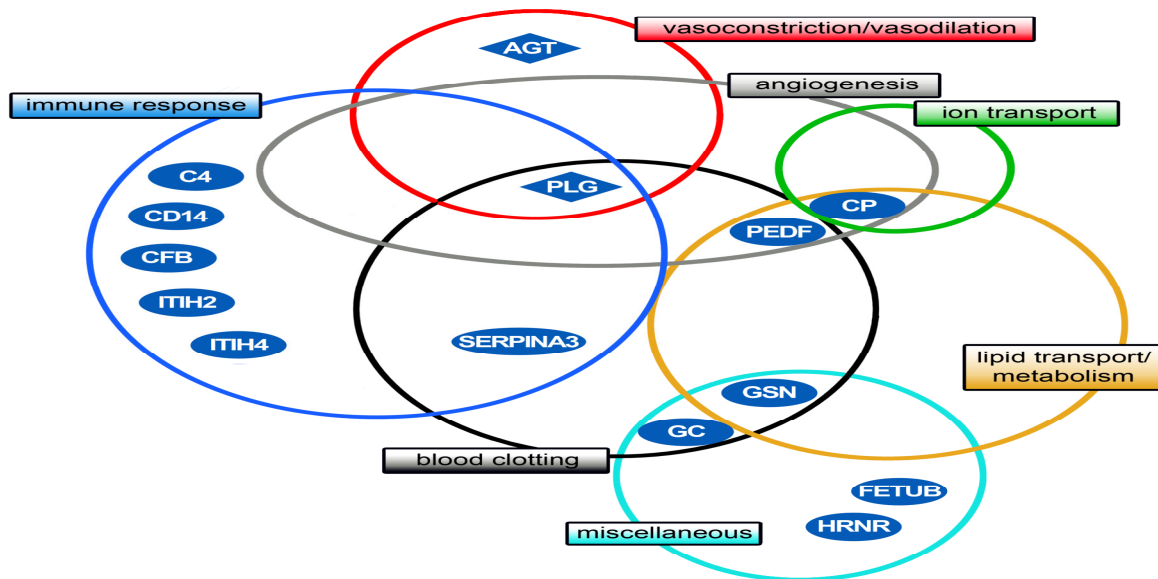


3. ábra

Izraeli, korai praeclampsziával és SGA-val szövődött terhességekből származó mintákon végzett összehasonlító elemzés során 19 fehérje esetén találtak mennyiségi eltérést a kontroll populáció szérummintájához képest (forrás: Than és munkatársai¹³⁰)

A 19 fehérje az immunválaszban, a komplement-, és a koagulációs kaszkád működésében, a lipidtranszportban, az angiogenezisben, a vérnyomás szabályozásában és az iontranszportban játszik szerepet.

Than Nándor Gábor és munkacsoportja olyan izraeli első trimeszteri mintákat is vizsgáltak, akiknél a 37. hét után alakult ki a praeclampsia, de a magzat születési súlya normális volt (n=5), és 14 fehérje eltérő mennyiségét mérték a kontrollcsoporttal szemben (n=5) (4. ábra)



4. ábra

Izraeli, késői (37. hét után) praeclampsíával szövődött terhességekből származó mintákon végzett összehasonlító elemzés során 14 fehérje esetén találtak eltérést a kontroll populáció szérummintáihoz képest

(forrás: Than és munkatársai¹³⁰)

A 14 fehérje vagy megegyezett a korábban észlelt 19 fehérje valamelyikével vagy pedig hasonló biológiai útvonal regulációjáért volt felelős.

A két mérés során észlelt összesen 26, eltérő mennyiségben jelen lévő fehérje a korai és a késői praeclampsias mintákban arra utal, hogy mind a korai, mind a késői praeclampsia etiológiai faktorai már az első trimeszterben jelen lehetnek.

4. Célkitűzés

4.1. Fetal Medicine Foundation irányelvek szerint végzett első trimeszteri praeclampsia-szűrés hatékonyságának vizsgálata nem szelektált terhespopulációban Kelet-Magyarországon

Az érvényben lévő várandósgondozási rendelet (26/2014. EMMI)¹³⁶ alapján Magyarországon, az első trimeszteri ultrahang szűrővizsgálat elsősorban a magzatok fejlődési-, másodsorban a leggyakoribb kromoszóma-rendellenességeinek korai felismerését célozza meg. Elsődleges célkitűzésünként szerepelt, hogy ezen rutin első trimeszteri szűrővizsgálat során, nem szelektált terhespopuláción vizsgáljuk a praeclampsia első trimeszteri, FMF által javasolt előrejelzésének hatékonyságát¹³⁷. Ehhez kapcsolódóan felmérni kívántuk a magyarországi várandósok demográfiai jellemzőit, valamint vizsgálni az első trimeszteri praeclampsia szűrésben meghatározó biometriai és biokémiai markerek magyarországi terhespopulációra vonatkozó jellegzetességeit.

4.2. Proteomikai vizsgálat praeclampsiával szövődött terhességek első trimeszteri szérummintáin – új biomarker kutatások

Hosszútávú célunk a mintagyűjteménnyel a különböző patológiás terhességi állapotokra magas kockázatú esetek szűrésére alkalmas további első trimeszteri biokémiai markerek kutatása. A kutatás első lépcsőjeként a praeclampsiával végződött terhességekből származó első trimeszteri szérummintákon proteomikai vizsgálatokat végeztünk. Azoknak a fehérjéknek a megváltozott expresszióját kerestük, amelyeknek szérumkoncentrációja eltér a praeclampsiával szövődött terhességekben az egészséges kontrollcsoporttól.

A proteomikai vizsgálat eredményeit a korábban említett két részből álló tanulmány (3. ábra, 4. ábra) második állomásaként elemeztük. A tanulmány első részében az előbb már bemutatott (ld.3.7.) izraeli, praeclampsiával végződött terhességekből származó első trimeszteri szérummintákon eltérő mennyiségben megjelenő fehérjecsoporthól (3. ábra) kiválogattuk az immunfehérjéket. Ezen fehérjék validációs vizsgálatát kívántuk elvégezni a magyarországi terhespopulációban hasonló kimenetelű terhességekből származó mintákon, az eredményeket egészséges kontroll mintákkal összevetve. A validációs vizsgálat eredményeképpen hosszabb távon olyan fehérjemintázat kimutatására törekszünk, mely a későbbiekben a kromoszóma-rendellenességek szűrésére használt szűrőmódszerek hatékonyságát megközelítő, akár kizárólag proteomikai alapokon nyugvó első trimeszteri szűrőmódszer kifejlesztését tenné elérhetővé.

5. Anyag és módszer

5.1. Az első trimeszteri prospektív mintagyűjtésre irányuló tanulmány felépítése

A Debreceni Egyetem Klinikai Központ (abban az időszakban Orvos és Egészségtudományi Centrum) Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, valamint a nyíregyházi Jósa András Oktató Kórház Szülészeti és Nőgyógyászati Osztály közreműködésével 2010-2013. között a terhesség első trimeszterében (11-13⁺⁶ nap hét) rutin magzati ultrahangszűrővizsgálaton megjelent, nem szelektált terhések körében, érvényes Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (TUKEB) engedéllyel (DEOEC RKEB/IKEB 3092-2010) indítottunk prospektív minta- és adatgyűjtést.

A várandósok előzetes szóbeli tájékoztatást követően elolvasták az írásos tájékoztatót a tanulmány céljáról és a mintagyűjtés módszeréről, majd kérdéseik megfogalmazása után, a kapott információk alapján azok, akik a részvétel mellett döntöttek, a tanulmányban részt vevő orvosok jelenlétében írták alá a beleegyező nyilatkozatokat (1. függelék).

A terhességek pontos gesztációs korát a magzati fejtető-far távolságból (crown-rump length – CRL) határoztuk meg, és a későbbiekben ezt az első trimeszteri magzati hosszából származtatott korrigált gesztációs kort használtuk. (5. ábra)



5. ábra

FMF kritériumok szerint mért fejtető far távolság mérése a korrekt gesztációs kor meghatározásához
(forrás: jelölt saját anyaga)

A CRL alapján 11. hét 0. nap és 13. hét 6. nap közötti terhések (CRL 45-84 mm) kerültek beválogatásra. Az első trimeszteri ultrahangvizsgálatot megelőzően minden várandós kitöltött egy kérdőívet, melyben a Fetal Medicine Foundation által javasolt algoritmusban

szereplő kérdések kerültek megfogalmazásra a páciens előzményi kórtörténetével kapcsolatban (nőgyógyászati, szülészeti, belgyógyászati, családi, táplálkozási) (2. függelék).

A kitöltött kérdőíveket ezt követően a várandóssal együtt egy, a vizsgálatban résztvevő orvos átnézte, szükség esetén korrigálta.

Az előzményi adatok felvételét követően megtörtént a vérnyomás, testmagasság és testsúly mérése, ugyancsak a Fetal Medicine Foundation irányelveinek megfelelően¹³⁸. (3. függelék - vérnyomás mérési protokoll). A mérésre validált és kalibrált (M2 Intellisense; Omron Corp, Kyoto, Japan) készülékeket használtunk.

Az ultrahangvizsgálat az FMF által deklarált nemzetközi standard mérési protokolloknak megfelelően, akkreditált és évente sikeresen auditált vizsgálók által történt. Minden magzatnál áttekintettük a részletes magzati anatómiát, valamint FMF szabályok szerint megmértük a következő paramétereket: CRL, tarkóredő (nuchal translucency - NT), biparietális átmérő (BPD), magzati szívfrekvencia (fetal heart rate - FHR), ductus venosus pulzatilitási index (DV - PI), mindkét oldali anyai arteria uterina pulzatitási index (UtA-PI)¹³⁹. Vizsgáltuk a tricuspidalis regurgitáció jelenlétét, illetve a magzati orrcsont csontosodását (4. függelék – FMF ultrahangvizsgálat mérési protokollok)

Az ultrahangvizsgálatot követően minden várandóstól vér- és vizeletmintákat gyűjtöttünk (terhesenként 22 minta: 8 szérum, 8 plazma, 2 fehérvérsejt, 3 vizelet és 1 vizelet üledék). Ezeket a mintákat későbbi kutatási célból -80C^o-on tároltuk (részletes mintafeldolgozási protokoll 5. függelék).

A tanulmányban résztvevők első trimeszteri kockázatbecslésére az FMF által kifejlesztett számítógépes programot, a vér- és vizeletminták pontos dokumentálására Microsoft Excel táblázatokat használtunk, csak erre a célra alkalmazott számítógépen, heti biztonsági mentésekkel. Illetéktelen személy az adatokhoz nem férhetett hozzá.

5.2. A prospektív tanulmányba bevont esetek utánkövetése – terhességek kimenetele

A terhességek kimeneteléről a debreceni Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika MedSol adatbázisában, a nyíregyházi MedWorks adatbázisában, valamint egyes esetekben a teljes kórlapi dokumentáció áttanulmányozásával, szükség esetén telefonos interjú révén vagy postai úton nyertünk információt. Ezt követően az adatokat a beválogatáskor nyert információkat már tartalmazó Excel táblázatban összegeztük. (6. függelék – utánkövetés

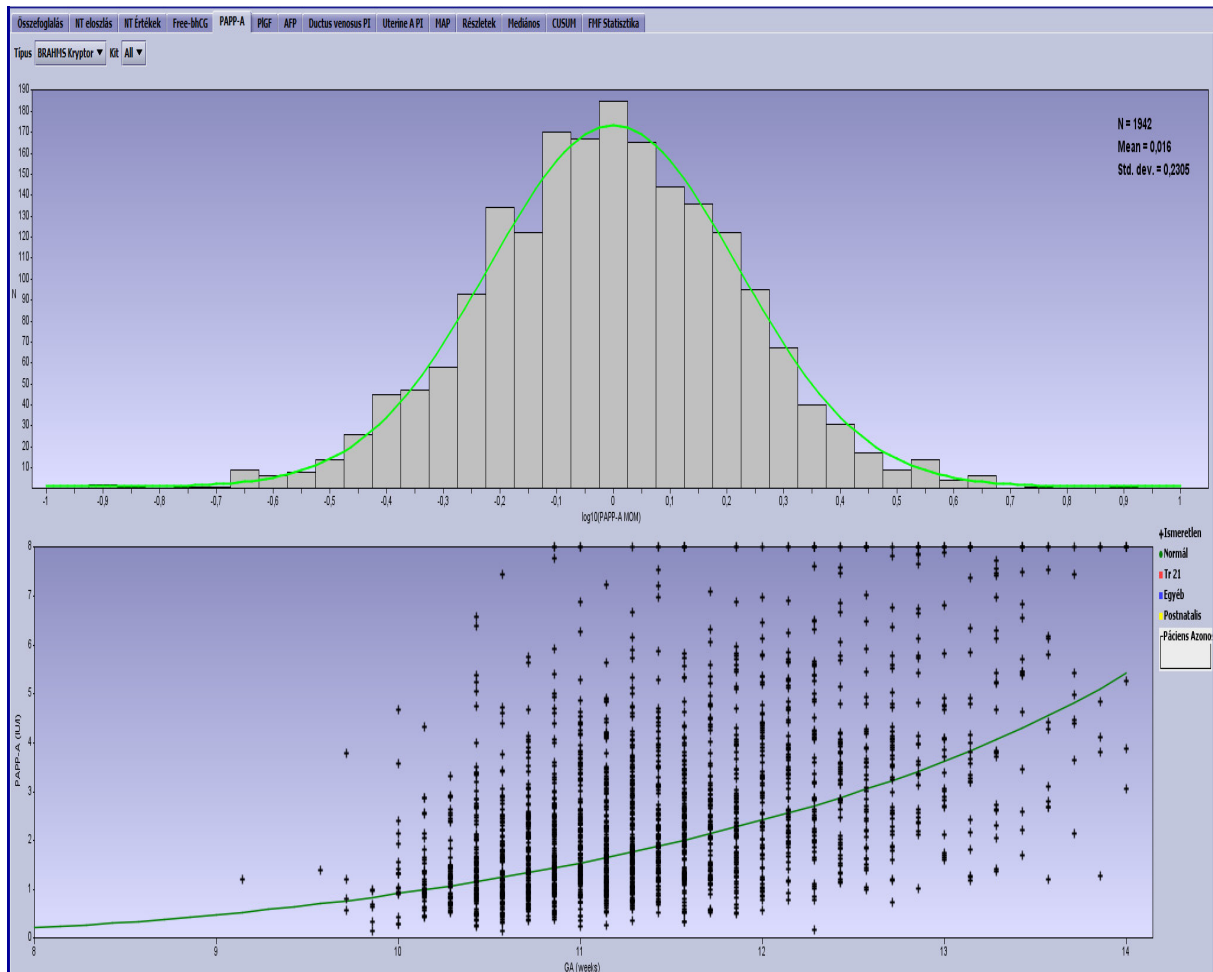
protokollja). A praeclampsziát a 2014-es International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP) irányelveinek megfelelően definiáltuk¹⁴⁰. Valamennyi praeclampsziával szövődött eset teljes kórlapi dokumentációját két orvos egymástól függetlenül áttanulmányozta.

5.3. Betegbeválogatás a tanulmány 4.1 részéhez

A célkitűzés 4.1 részében megfogalmazottak vizsgálatára a praeclampsziával végződött terhességekhez azonos számú, komplikációmentes terhességgel végződött kontroll esetet illesztettünk. A kontrollok válogatása a következők alapján történt: terhességi kor a vérminta gyűjtésénél, életkor, paritás.

Kontrollcsoport jellemzői: szülés a 38 - 40. héten, újszülött súlya 40-80 percentil között (kelet-magyarországi régióra illesztett WHO növekedési görbe alapján – jelölt saját munkája¹⁴¹), alapbetegség hiánya, terhességgel asszociált betegségek hiánya, spontán fogantatás, korábbi komplikációmentes terhesség, anyai életkornak megfelelő normál BMI tartomány. A teljes vizsgálati anyag első trimeszteri adatait és lefagyasztott szérummintáit használtuk.

A praeclampszia rizikóbecslését Astraia programmal végeztük (ld.5.3.1.). A program a praeclampszia rizikóbecsléséhez az első trimeszteri biokémiai markerek közül a szérum beta human choriogonadotropint (B-hCG) a placenta associated plasma protein-A-t (PAPP-A) és a placental growth factort (PlGF) használja, ezért azok szintjeit fagyasztott mintákból határoztuk meg BRAHMS Kryptor műszer (ThermoFisher) segítségével. A biokémiai mérések reprodukálhatóságának és megbízhatóságának az FMF kritériumok szerint a vizsgálatot végző laboratórium megfelelt. (6. ábra)



6. ábra

A biokémiai laboratórium méréseinek megbízhatóságát igazoló diagram. Biokémiai markerek mérésének normális eloszlási görbéje – FMF kritériumok

(forrás: jelölt saját anyagából)

Mindkét szoftver a mért szérumkoncentrációkat az áttekinthetőség és összehasonlíthatóság kedvéért átkonvertálja az elvárható középérték többszörösére (MoM – multiples of the expected normal median). A konverzió során a biokémiai eredmények korrekciója az anyai BMI, etnikai hovatartozás és a terhességi kor figyelembevételével történik. Ennek megfelelően 1 MoM az a szérumkoncentráció, ami az adott terhességi korban az adott BMI és etnikum mellett elvárt mediánérték.

A praeclampsziával szövődött terhességek praeclampsia rizikójának első trimeszteri eredményeit hasonlítottuk össze a kontrollcsoport praeclampsia szűrési eredményeivel.

5.3.1. A praeclampsia első trimeszteri rizikóját kalkuláló szoftverek

A praeclampsia első trimeszteri rizikóbecslésére két, kereskedelemben is elérhető szoftvert használtunk: Astraia 2.3.2 (A1, 2010-ben kiadva) és Astraia 2.8.1 (A2, 2016-ban kiadva, Astraia Software GmbH, 80802, Occamstr. 20, Munich, Germany).

Az anyai „a priori risk” (alap kockázat) számításánál az A1 szoftver a következőket veszi figyelembe.

1. Az anyai demográfiai adatok és biometriai paraméterek: rassz, BMI, paritás, dohányzás, fogamzás módja, családi praeclampsia előfordulása
2. Anyai alapbetegségek: krónikus hipertónia
3. Az előző terhességek során fellépő, rizikóbecslést befolyásoló faktorok: előzményi praeclampsia

Az A1 program kétféle praeclampsia kockázatot számolt minden páciensnél:

1. A páciens rizikóját korai praeclampiára ($X < 34$. hét)
2. A páciens rizikóját késői praeclampiára ($X \geq 34$. hét)

Az A2 szoftver az anyai alap kockázat meghatározásához az A1 szoftver által használt demográfiai adatokon túlmenően négy további információt is felhasznált: anyai diabetes mellitus (DM), szisztémás lupus erythematosus (SLE) vagy antifoszfolipid-szindróma (APS) megléte és az előzményben kis súlyú újszülött születése (SGA).

Az A1 szoftver által számításba vett adatokon túlmenően változtatott a program a MAP, MAP MoM és az UtA-PI MoM számításának algoritmusán.

Az A2 szoftver háromféle praeclampsia kockázatot számolt minden páciensnél:

1. Korai praeclampsia rizikó ($X < 34$. hét)
2. Praeclampsia rizikója a terhesség 34-37. hete között
3. Praeclampsia rizikója a 37. terhességi hét után

A 2. és a 3. csoport összevonva alkotja a késői praeclampsia csoportot.

Mind az A1, mind az A2 program segítségével meghatároztuk a praeclampsia rizikóját az összes praeclampsia-ával szövődött terhességben, valamint az egészséges kontrollokban, és az eredményeket összehasonlítottuk.

Mindkét programmal a praeclampsia kockázatot háromféle módon is meghatároztuk:

1. Csak az anyai jellemzők és az ultrahangvizsgálat során mért biometriai értékek alapján
2. Az anyai jellemzőket, az ultrahanggal mért paramétereket és a PAPP-A hormon értékeit felhasználva
3. Anyai karakterisztika, ultrahanggal mért paraméterek, a PAPP-A, illetve a PIGF biomarkerek értékeinek együttes felhasználásával (a PIGF értékeit a rizikóbecsléshez csak az A2 program használta).

5.3.2. Statisztikai módszerek a tanulmány 4.1 részéhez

A statisztikai analízishez R-project v.3.5. szoftvert használtunk (R Core Team, 2018). A változók jellemzésére leíró statisztikákat (medián, kvartilisek, átlag, szórás és esetszám) adtuk meg. A nem-standard eloszlású változók esetén logaritmikus transzformációt alkalmaztunk. A csoportok közötti összehasonlításhoz párosítatlan t-próbát és egy szempontos variancia elemzést (ANalysis Of VAriance - ANOVA) végeztünk. A variancia elemzést (ANOVA-t) a csoportok páronként történő összevetésére alkalmas Tukey-HSD posthoc teszttel egészítettük ki. Student-féle párosított t-teszttel elemeztük a paraméterekben (MAP, MAP MoM, UtA-PI) bekövetkező változásokat. A magyarázó változókat ROC görbe analízissel (pROC package) (Xavier R, 2011) vizsgáltuk, és meghatároztuk az optimális küszöbértéket, illetve a görbe alatti területet (AUC). A számolások során a $p \leq 0.05$ valószínűségi értékeket fogadtuk el szignifikánsnak.

5.4. Betegbeválogatás a tanulmány 4.2 részéhez

5.4.1. A proteomikai vizsgálat protokollja

Az izraeli vizsgálat során leírt immunfehérjék magyarországi validációs vizsgálatához a mintákat ugyancsak a 2010-2013. között megvalósult debreceni első trimeszteri prospektív mintagyűjteményből válogattuk ki.

Szinguláris terhességek mintái kerültek beválogatásra, a kromoszómahibával vagy fejlődési rendellenességgel rendelkező magzatokat kizártuk. A 2200 páciens adatait felhasználva a következő két csoport került kialakításra:

1. Korai súlyos praeclampsia, mely SGA magzattal szövődött (n=5)
2. Kontrollcsoport (n=10)

A súlyos praeclampsziát Sibai és mtsai. publikációja alapján definiáltuk¹⁴². Az SGA definíciója: 10% súlypercentil alatti újszülöttkori súly.

A kontrollcsoport pácienseinek nem volt alapbetegségük, és terhességük zavartalanul zajlott, gesztációs kornak megfelelő nagyságú újszülöttet hozva a világra.

A saját 15 mintánkon (5 praeclampsia + 10 kontroll) proteomikai vizsgálatot végeztünk az izraeli mintákon változó mennyiségben észlelt 26 fehérje közül 10 immunfolyamatokban szerepet játszó fehérje párhuzamos, egyidejű meghatározásával. Ez nem a korábban alkalmazott 2D-DIGE módszerrel, hanem folyadék kromatográfia tömegspektroszkópia multiple reaction monitoring (MRM) segítségével történt.

5.4.2. Minta preparálás

High performance liquid chromatography (HPLC) grádusú oldószert alkalmaztunk (Sigma-Aldrich cég, St. Louis, MO, USA). A fagyasztott szérum mintákat denaturáló puffer segítségével (Biognosys AG; Schlieren, Switzerland) készítettük elő. A minták alkilálása Biognosys alkiláló oldattal történt, az emésztést tripszinnel végeztük (Promega; Madison, WI, USA), 50:1 protein proteáz aránnyal. A minták C18-as tisztítása a tömeg spektrométerhez a gyártó instrukciónak megfelelően történt C18 Micro Spin oszlopokat felhasználva (Nest Group Inc.; Southborough, MA, USA). A peptidek szárítására SpeedVac rendszert alkalmaztunk. A szárított peptideket LC-A oldószerral oldottuk fel ismét (1% acetonitril

vízben, 0.1%-os hangyasav oldatban). A végső peptid koncentrációkat 280nm-en határoztuk meg (SpectrostarNANO, BMG Labtech, Offenburg, Germany). A fehérje minták azonosítása PlasmaDive™ (Biognosys) referencia peptid mixszel történt.

5.4.3. LC – MRM

A peptideket (1 µg/minta, mely megegyezik az eredeti plazma minta 0.0259 µl-vel) C18 oszlopba injektáltuk (75µm belső átmérő, 10 cm oszlop hossz, Woburn, MA, USA. az oszlop anyaga Magic AQ-volt, 3 µm részecske-, és 200 Å pórus mérettel) ThermoScientific EASY-n LC1000 nano-liquid kromatográfia rendszert alkalmazva. LC-MRM esszéket ThermoScientific TSQ Vantage triple quadrupole tömeg spektrométeren mérték meg. Az LC grádiens az LC–MRM-hez 6–40% B oldószer volt (85% acetonitril vízben 0.1%-os hangyasavval) 30 percig, melyet 40–94% B oldószer követett 2 percig és 94%-os B oldószer 8 percig (teljes időintervallum 40 perc). Biognosys PlasmaDive™ MRM panelt használtunk a 10 immunfehérje mérésére. A mintákban található peptidek mennyiségi meghatározására TSQ Vantage-ot alkalmaztunk ütemezett MRM módban 5 perces ablakkal. Az LC eluens-t 1.9 kV-on elektroprayeztük és a Q1/Q3-at 0.7 Da-os egységnyi felbontáson működtettük. A jelfeldolgozást és az adatok elemzését SpectroDive™ 8.0—Biognosys szoftver segítségével végeztük, 1%-os q-érték filtert alkalmaztunk.

5.4.4. Statisztikai módszerek a tanulmány 4.2 részéhez

Tekintettel a validációs pilot tanulmány kis beteganyagára, hogy a statisztikai szimulációk és a tanulmány ereje és szignifikancia szintje értékelhető legyen, többszörös permutációs tesztet végeztünk. A szignifikancia vizsgálatokat a két csoport között páros-t, és Mann-Whitney tesztekkel végeztük. Mindkét esetben $p < 0,05$ szintet használtunk a sikeres szimulációhoz. A sikeres szimulációkat többféle mintaszámmal is elvégeztük ($n = 10$ vagy 100) és ($n = 10.100$, vagy 1.000). A szimulált szignifikancia szintet $p < 0,05$ értéknél fogadtuk el, ha a sikeres szimulációk nagysága meghaladta a 25%-ot.

6. Eredmények

6.1. A 4.1 vizsgálat eredményei – prospektív adat- és mintagyűjtés

A prospektív mintagyűjtés során 2010.06.20. – 2013.10.17. közötti időintervallumban a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján és a Jósa András Oktató Kórházban összesen 2545 páciens beválogatása történt meg. A vizsgálat alatt sem Debrecenben, sem Nyíregyházán nem fordult elő nem kívánatos esemény. A terhesek utánkövetése 2015.01.01-re fejeződött be, mivel többen nem a szűrővizsgálatot végző intézményben szültek, így azoknak a terhességeknek a kimenetelét az illetékes kórháztól kellett beszereznünk, ami néhány esetben hosszabb nyomozást igényelt. A 2545 beválogatott páciens közül 294 esetben nem sikerült információt szerezni a terhesség kimeneteléről. A fennmaradó 2251 terhességből 2223 végződött élveszüléssel. Kilenc esetben történt terhességmegszakítás magzati aneuploidia vagy multiplex fejlődési rendellenesség miatt. Tizenegy esetben vetélés következett be és 8 esetben történt méhen belüli elhalás.

Jelen tanulmányba csak a szinguláris terhességeket vontunk be, ebből következően a 2223 terhességből 23 ikerterhességet kizártunk.

A 2200 terhességből 82 esetben igazolódott praeclampsia (3.7%, 82/2200). A korai praeclampsia előfordulási aránya 0.5%-nak (11/2200), míg a késői praeclampsia gyakorisága 3.2%-nak (71/2200) adódott.

6.1.1. A praeclampsia-szűrés hatékonyságát elemző tanulmányba bevont terhespopuláció jellemzői

A 1. táblázat mutatja be a praeclampsia első trimeszteri szűrésének klinikai gyakorlatban való megvalósíthatóságára kiválasztott 82 kontroll, illetve a 82 praeclampsias páciens jellegzetességeit.

1. táblázat. Az első trimeszteri praeclampsia-szűrés hatékonyságát felmérő tanulmányba beválogatott 11⁺⁰ hét és 13⁺⁶ hét közötti terhespopuláció jellemzői, kiemelve a szignifikáns különbségeket (p<=0.05)

Anyai jellemzők	Kontroll (n=82)	PE X<34 hét (n=11)	PE 34<X<37 hét (n=11)	PE X>37 hét (n=60)
Anyai életkor (évek)	28.9 (17.7-39.5)	28.1 (15.8-37.9)	29.7 (23.4-38.5)	28.5 (18.4-38.6)
Anyai súly (kg)	62.6 (45-98)	74.8 (46-109)	77.6 (54-93)	74.4 (43-124)
Anyai magasság (cm)	165.0 (154-180)	162.3 (156-176)	169.1 (156-182)	165.9 (150-184)
Test tömeg index (kg/m ²)	22.9 (17-32)	28.2 (18-44.2)	27.9 (18-35.2)	26.9 (17-46.7)
Terhességi kor (hetek)	12.7 (11.3-13.9)	12.6 (11.7-13.4)	12.4 (11.6-13.3)	12.8 (11.3-13.9)
Rassz				
Kaukázusi	82 (100%)	11 (100%)	11 (100%)	60 (100%)
Kórelőzmény				
Krónikus magas vérnyomás	0 (0%)	1 (9%)	5 (45%)	15 (25%)
Cukorbetegség (I.típus)	0 (0%)	1 (9%)	2 (18%)	0 (0%)
Fogamzás módja				
Spontán	82 (100%)	10 (91%)	11 (100%)	58 (97%)
In - vitro fertilizáció	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (3%)
Ovulációindukció	0 (0%)	1 (9%)	0 (0%)	0 (0%)
Korábbi szülések - paritás				
Nullipara	37 (45%)	8 (73%)	8 (73%)	44 (73%)
Multipara	45 (55%)	3 (27%)	3 (27%)	16 (27%)
Korábbi PE nem volt	45 (55%)	3 (27%)	1 (9%)	13 (22%)
Korábbi PE előzmény	0 (0%)	0 (0%)	2 (18%)	3 (5%)

Praeclampsia (PE)

(forrás: jelölt saját anyagából)

A praeclampsiaival szövődött esetek és a kontrollcsoport között nem találtunk szignifikáns különbséget az anyai életkor, illetve a beválogatáskor mért terhességi kor tekintetében, ugyanakkor a praeclampsiaival szövődött esetekben az anyai BMI szignifikánsan magasabb a kontrollcsoportéhoz képest. A praeclampsia szempontjából

meghatározó belgyógyászati betegségeket tekintve a krónikus magas vérnyomással és inzulin dependens cukorbetegséggel szövődött terhességek jelentős hányada a PE 34-37. hét közötti kialakulásával végződő csoportban fordult elő. A korábbi szülések tekintetében nem volt szignifikáns különbség a praeclampsia alcsoportokban, ugyanakkor a praeclampsia első trimeszteri rizikóbecslésében is szerepet játszó előzményi adatok közül a korábbi terhességekben előforduló praeclampsia szignifikánsan magasabb arányban szerepelt a 34-37 hét közötti praeclampsia csoportban.

A 2. táblázat a 164 páciens (82+82) azon jellemzőit mutatja, amelyek alapján az FMF szoftverek az első trimeszteri praeclampsia rizikóbecslést végzik. A táblázat bemutatja az A1 és A2 program vonatkozásában a számítási különbség miatt mutatkozó eltéréseket a MAP, a MAP MoM, és az UtA-PI MoM kalkulációjában.

2. táblázat. A praeclampsia első trimeszteri rizikóbecslésben használatos markerek eloszlási értékeit, valamint az A1 és A2 program számítási algoritmusai közötti különbségeket bemutató táblázat a teljes tanulmányozott populációban. A szoftverek közötti szignifikáns különbségeket kiemeltük.

	Összes betegszám (n=164)					Teszt A1 vs A2 p-érték
	25 th centilis	medián	75 th centilis	középérték	sd	
Életkor (évek)	25.7	28.6	32.4	28.8	4.7	
Súly (kg)	55.8	66.0	78.3	68.7	16.3	
Magasság (cm)	160.0	165.0	170.0	165.4	6.5	
BMI (kg/m ²)	21.0	23.5	28.2	25.1	5.5	
Vérnyomás MoM	1.030	1.070	1.150	1.088	0.102	
A1 szoftver MAP	87.10	91.80	102.13	94.55	10.50	A1 vs A2 MAP <0.0001
A2 szoftver MAP	85.98	91.05	100.25	92.89	10.22	
A1 szoftver MAP MoM	1.045	1.096	1.189	1.119	0.110	A1 vs A2 MAP MoM <0.0001
A2 szoftver MAP MoM	1.030	1.070	1.150	1.088	0.102	
A1 szoftver UtA-PI MoM	0.882	1.023	1.180	1.060	0.247	A1 vs A2 UtA-PI MoM <0.0001
A2 szoftver UtA-PI MoM	0.870	0.970	1.160	1.019	0.223	
BhCG MoM	0.668	0.995	1.459	1.195	0.774	
PAPP-A MoM	0.816	1.141	1.548	1.317	0.816	
PIGF MoM	0.979	1.239	1.678	1.387	0.651	

Multiple of expected median (MoM), artériás középvérnyomás (MAP), arteria uterina pulzatilitási index (UtA-PI), beta human choriogonadotropin (B-hCG), placenta associated plasma protein A (PAPP-A), placental growth factor (PIGF), Astraia software 2.3.2 (A1), Astraia software 2.8.1 (A2)

(forrás: jelölt saját anyagából)

Az általunk vizsgált teljes populációban (PE-s és kontroll) az egyes változók vonatkozásában jelöltük azokat, amelyek mediánja szignifikáns különbséget mutatott az A1 és A2 programmal történő kalkuláció során. A legnagyobb eltérés a várt medián értéktől a PIGF értékekben mutatkozott, 1.239 MoM.

6.1.2. A praeclampsia és a kontrollcsoport biometriai és biokémiai eredményeinek összehasonlítása

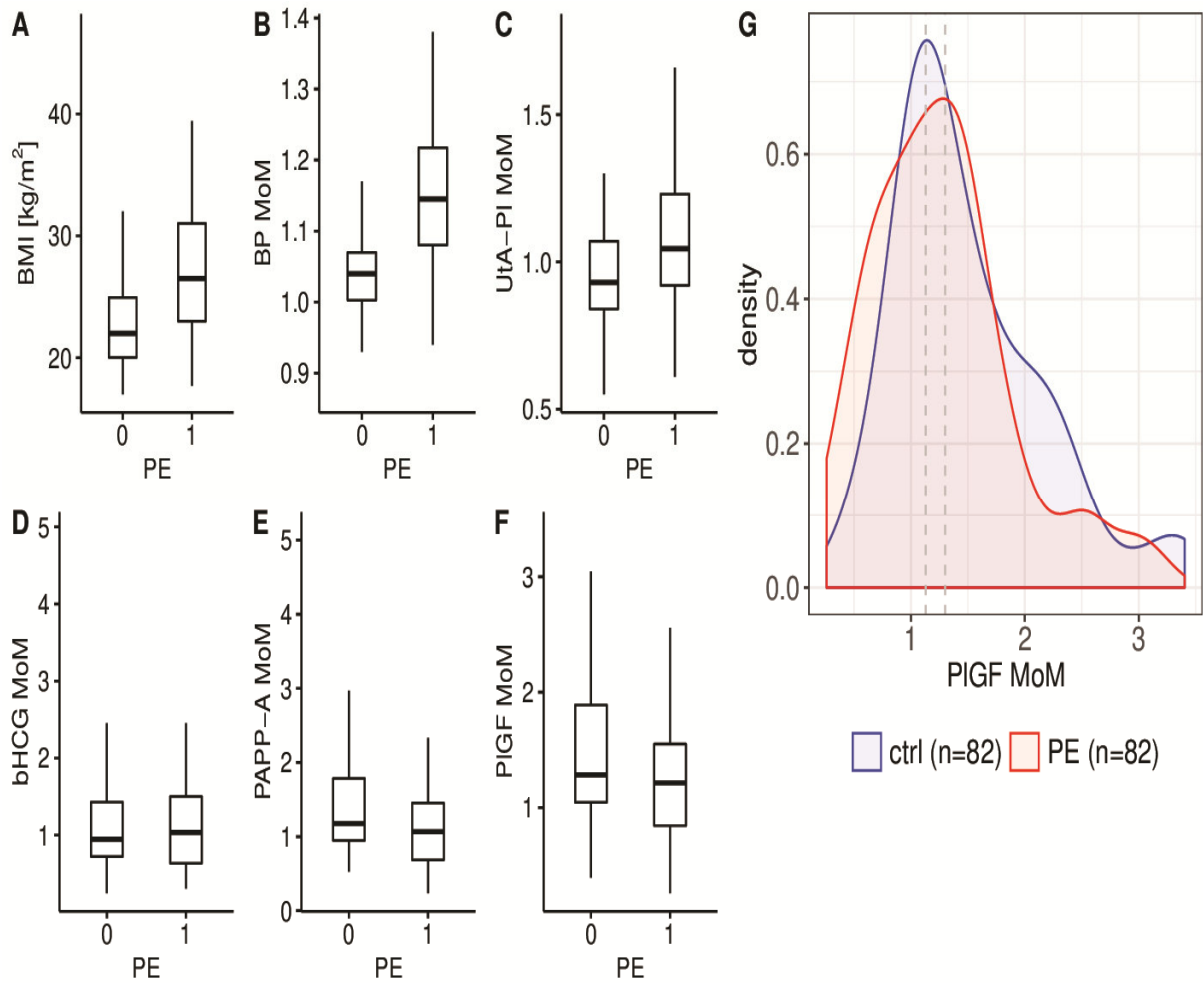
A 3. táblázat a praeclampsia és a kontroll (ktrl) csoport közötti különbségeket mutatja be. Szignifikáns különbség mutatkozott az anyai testsúly, BMI, BP MoM, UtA-PI MoM, PIGF MoM, PAPP-A MoM között. Habár a PIGF értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a PE csoportban a kontrollcsoporttal összehasonlítva, de a PIGF medián értékei az FMF algoritmus kalkulációja alapján jobbra tolódtak el, és a vizsgálati és kontrollcsoport közötti különbség is kisebb volt, mint a PAPP-A értékek esetében. (7. ábra)

3. táblázat. A PE kockázatbecslésében mért értékek eloszlása a PE és a kontrollcsoport összehasonlításában (A2 szoftver adatait felhasználva). Vastagon kiemelve láthatóak a szignifikáns különbségek.

	PE (n=82)					Kontroll (ktrl n=82)					teszt (PE vs ktrl)
	25 th centilis	medián	75 th centilis	mean	sd	25 th centilis	medián	75 th centilis	mean	sd	p-érték
Életkor (évek)	25.5	28.6	32.3	28.6	4.9	25.8	28.6	32.5	29.0	4.6	0.5231
Súly (kg)	62.0	72.5	88.0	74.9	16.9	54.0	60.0	69.0	62.6	13.0	<0.0001
Magasság (cm)	160.0	167.0	170.0	165.9	7.1	160.0	165.0	168.8	165.0	5.9	0.4304
BMI (kg/m ²)	23.0	26.5	31.0	27.2	5.6	20.0	22.0	25.0	22.9	4.4	<0.0001
Vérnyomás MoM	1.080	1.145	1.218	1.142	0.104	1.003	1.040	1.070	1.035	0.067	<0.0001
UtA-PI MoM	0.920	1.045	1.230	1.085	0.242	0.840	0.930	1.070	0.951	0.181	<0.0001
bHCG MoM	0.635	1.035	1.501	1.246	0.895	0.722	0.947	1.430	1.145	0.633	0.8339
PAPP-A MoM	0.685	1.065	1.453	1.207	0.828	0.947	1.176	1.784	1.426	0.794	0.0068
PIGF MoM	0.844	1.215	1.551	1.280	0.632	1.046	1.284	1.889	1.494	0.655	0.0118

Multiple of expected median (MoM), arteria uterina pulzatilitási index (UtA-PI), beta human choriogonadotropin (bHCG), placenta associated plasma protein A (PAPP-A), placental growth factor (PIGF), kontrollcsoport (ktrl), középérték (mean)

(forrás: jelölt saját anyagából)

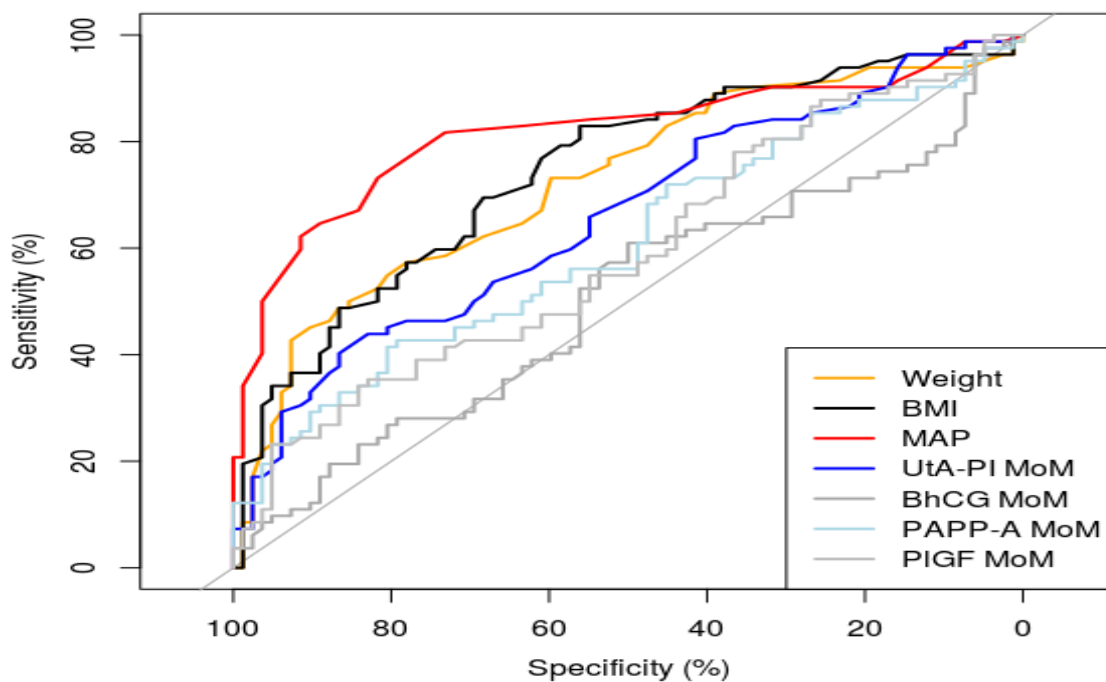


7. ábra

Doboz ábrákkal szemléltetett különbségek a PE és a kontrollcsoport sajátágaiban. 0 – kontrollcsoport (n=82), 1 – PE csoport (n=82). Az ábra jobb oldala szemlélteti a PIGF MoM-ok eloszlását a kontroll és a PE csoportban. Multiple of expected median (MoM), arteria uterina pulzatilitási index (UtA-PI), beta human choriogonadotropin (B-hCG), placenta associated plasma protein-A (PAPP-A), placental growth factor (PIGF), ctrl – kontrollcsoport

(forrás: jelölt saját anyagából)

A ROC görbe alapján (8. ábra) a vérnyomás MoM, az UtA-PI MoM, a testsúly, valamint a BMI mutatott szignifikáns befolyást a PE első trimeszteri előrejelzésében.



8. ábra

ROC görbe a PE előrejelzésére. Testtömeg index (BMI), artériás középvérnyomás (MAP), arteria uterina pulzatilitási index (UtA-PI), multiple of expected median (MoM), beta human choriogonadotropin (B-hCG), placenta associated plasma protein A (PAPP-A), placental growth factor (PIGF)

(forrás: jelölt saját anyagából)

6.1.3. A praeclampsia alcsoportok és a kontrollcsoport összehasonlítása

Az A2 szoftver, amint azt a metodikai részben (ld.5.3.1.) is leírtuk, a praeclampsia rizikóját egy páciensnél a praeclampsia három alcsoportjára vonatkoztatva határozta meg:

- 1) Korai-PE (PE < 34)
- 2) PE 34-37. hét között (PE 34-37)
- 3) PE 37. hét után (PE > 37)

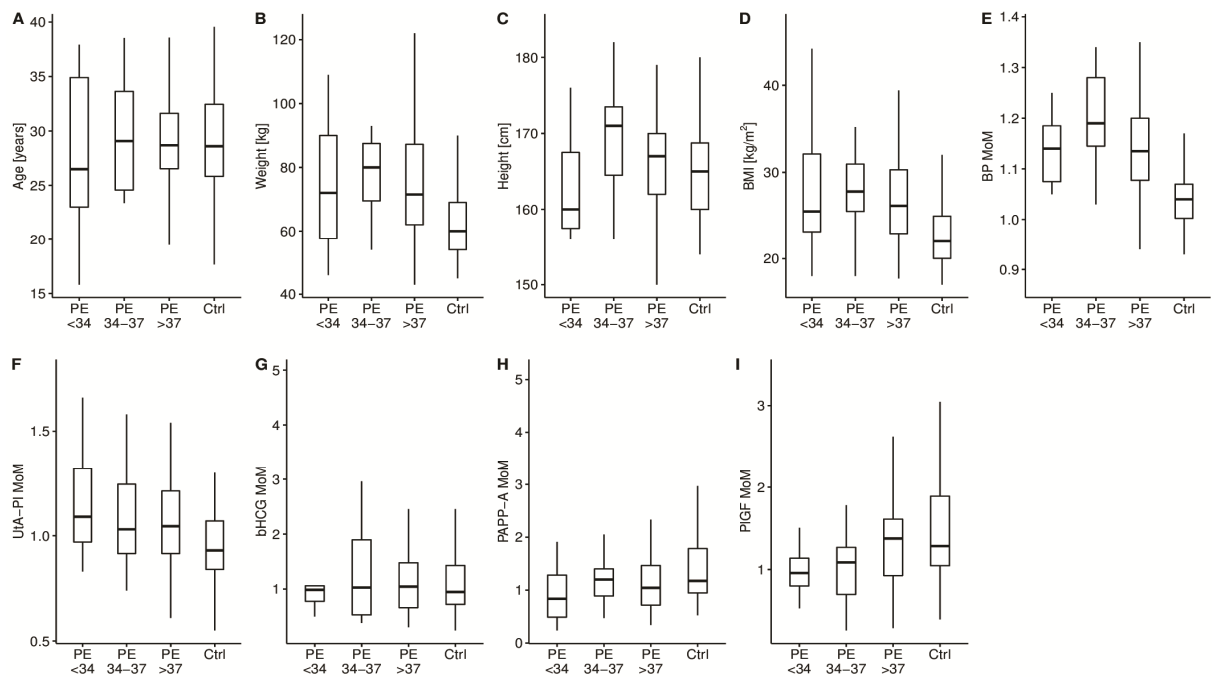
Az 4. táblázat szemlélteti a BP MoM, UtA-PI MoM, B-hCG MoM, PAPP-A MoM, PIGF MoM, és az anyai jellemzők összehasonlítását a három PE alcsoportban, illetve a kontrollcsoportban. Szignifikáns különbség mutatkozott az anyai testsúlyban a ktrl vs. PE 34-37 között, valamint a ktrl vs. PE>37 csoportok között. A BMI tekintetében mind a három PE

csoport és a kontrollcsoport között szignifikáns különbség volt kimutatható. A vérnyomás MoM-ok hasonló különbségeket mutattak, mint a BMI, továbbá szignifikáns különbség igazolódott a PE>37 vs. PE34-37 csoportok között. Az UtA-PI a ktrl vs. PE<34 és a ktrl vs. PE>37 csoportok összehasonlításában mutatott szignifikáns különbségeket. Szignifikáns különbség mutatkozott a PAPP-A MoM értékek között a ktrl vs. PE<34 csoportban. A PIGF MoM értékek csak a ktrl vs. PE34-37 csoportok között mutattak szignifikáns eltérést. (4. táblázat, 9. ábra)

4. táblázat. Anyai biofizikális és biokémiai eredmények összehasonlítása a PE három alcsoportja és a kontrollcsoport között. A szignifikáns különbségek kiemelve

	PE	n	25 th centilis	medián	75 th centilis	mean	sd	teszt	ANOVA
Életkor (évek)	PE<34	11	23.01	26.50	34.90	28.06	7.37	PE34-37 vs PE<34	0.8620
	PE 34-37	11	24.58	29.08	33.63	29.66	5.41	PE>37 vs PE<34	0.9944
	PE>37	60	26.54	28.69	31.62	28.45	4.29	Ktrl vs PE<34	0.9309
	Ktrl	82	25.83	28.60	32.45	28.99	4.62	PE>37 vs PE34-37	0.8690
								Ktrl vs PE34-37	0.9721
								Ktrl vs PE>37	0.9132
Súly (kg)	PE<34	11	57.50	72.00	90.00	74.82	21.85	PE34-37 vs PE<34	0.8982
	PE 34-37	11	69.50	80.00	87.50	77.64	12.71	PE>37 vs PE<34	0.9995
	PE>37	60	62.00	71.50	87.25	74.38	16.85	Ktrl vs PE<34	0.0933
	Ktrl	82	54.00	60.00	69.00	62.62	12.98	PE>37 vs PE34-37	0.8558
								Ktrl vs PE34-37	0.0072
								Ktrl vs PE>37	0.0000
Magasság (cm)	PE<34	11	157.50	160.00	167.50	162.27	6.50	PE34-37 vs PE<34	0.0673
	PE 34-37	11	164.50	171.00	173.50	169.09	7.42	PE>37 vs PE<34	0.3119
	PE>37	60	162.00	167.00	170.00	165.93	6.98	Ktrl vs PE<34	0.5503
	Ktrl	82	160.00	165.00	168.75	165.01	5.90	PE>37 vs PE34-37	0.4449
								Ktrl vs PE34-37	0.2044
								Ktrl vs PE>37	0.8352
BMI (kg/m ²)	PE<34	11	23.15	25.50	32.10	28.23	7.50	PE34-37 vs PE<34	1.0000
	PE 34-37	11	25.50	27.80	30.95	27.87	4.98	PE>37 vs PE<34	0.9371
	PE>37	60	22.95	26.15	30.30	26.92	5.41	Ktrl vs PE<34	0.0094
	Ktrl	82	20.03	22.00	24.95	22.95	4.38	PE>37 vs PE34-37	0.9268
								Ktrl vs PE34-37	0.0084
								Ktrl vs PE>37	0.0000
Vérnyomás MoM	PE<34	11	1.0750	1.1400	1.1850	1.1527	0.0980	PE34-37 vs PE<34	0.4761
	PE 34-37	11	1.1450	1.1900	1.2800	1.2055	0.0919	PE>37 vs PE<34	0.8131
	PE>37	60	1.0775	1.1350	1.2000	1.1278	0.1036	Ktrl vs PE<34	0.0002
	Ktrl	82	1.0025	1.0400	1.0700	1.0348	0.0672	PE>37 vs PE34-37	0.0327
								Ktrl vs PE34-37	0.0000
								Ktrl vs PE>37	0.0000
UtA-PI MoM	PE<34	11	0.9700	1.0900	1.3200	1.1555	0.2587	PE34-37 vs PE<34	0.8605
	PE 34-37	11	0.9150	1.0300	1.2450	1.0836	0.2579	PE>37 vs PE<34	0.6412
	PE>37	60	0.9150	1.0450	1.2125	1.0727	0.2381	Ktrl vs PE<34	0.0181
	Ktrl	82	0.8400	0.9300	1.0700	0.9515	0.1811	PE>37 vs PE34-37	0.9986
								Ktrl vs PE34-37	0.2229
								Ktrl vs PE>37	0.0059

B-hCG MoM	PE<34	11	0.7785	0.9870	1.0595	1.0567	0.5621	PE34-37 vs PE<34	0.9261
	PE 34-37	11	0.5300	1.0280	1.8960	1.2619	0.8744	PE>37 vs PE<34	0.8229
	PE>37	60	0.6630	1.0440	1.4783	1.2775	0.9533	Ktrl vs PE<34	0.9848
	Ktrl	82	0.7218	0.9470	1.4295	1.1451	0.6330	PE>37 vs PE34-37	0.9999
								Ktrl vs PE34-37	0.9660
								Ktrl vs PE>37	0.7487
PAPP-A MoM	PE<34	11	0.4900	0.8360	1.2840	0.8940	0.5445	PE34-37 vs PE<34	0.3260
	PE 34-37	11	0.8895	1.2000	1.4005	1.1690	0.4536	PE>37 vs PE<34	0.1520
	PE>37	60	0.7170	1.0440	1.4658	1.2717	0.9127	Ktrl vs PE<34	0.0081
	Ktrl	82	0.9473	1.1755	1.7840	1.4263	0.7938	PE>37 vs PE34-37	0.9997
								Ktrl vs PE34-37	0.7665
								Ktrl vs PE>37	0.1856
PIGF MoM	PE<34	11	0.8000	0.9570	1.1365	1.0577	0.5938	PE34-37 vs PE<34	0.9997
	PE 34-37	11	0.6980	1.0860	1.2685	1.0188	0.4585	PE>37 vs PE<34	0.3054
	PE>37	60	0.9265	1.3760	1.6105	1.3681	0.6508	Ktrl vs PE<34	0.0578
	Ktrl	82	1.0455	1.2840	1.8893	1.4942	0.6548	PE>37 vs PE34-37	0.2493
								Ktrl vs PE34-37	0.0424
								Ktrl vs PE>37	0.4794



9. ábra

Anyai biofizikális és biokémiai eredmények összehasonlítása a PE három alcsoportja és a kontrollcsoport között, doboz ábrákkal szemléltetve

Testtömeg index (BMI), multiple of expected median (MoM), arteria uterina pulzatilitási index (UtA-PI), beta human chorionadotropin (B-hCG), placenta associated plasma protein A (PAPP-A), placental growth factor (PIGF), praeclampsia (PE), kontroll (ctrl), középérték (mean)

(forrás: jelölt saját anyagából)

6.1.4. Az A1 és A2 programmal kalkulált detekciós ráta a kockázatbecsléshez használt paraméterek függvényében

Megvizsgáltuk, hogy a két különböző Astraia program alkalmazásával milyen hatékonysággal lehetséges az első trimeszterben jelezni a praeclampsia kialakulását attól függően, hogy rutin klinikai szűrés során milyen paramétereket veszünk figyelembe a kockázatbecslés alkalmával.

A kockázatokat a korábban (ld.5.3.1) már említett háromféle paraméterbeállítással végeztük:

1. Anyai demográfiai adatok, biometriai mérések és UtA-PI használatával
2. Anyai demográfiai adatok, biometriai mérések és UtA-PI használatával + PAPP-A
3. Anyai demográfiai adatok, biometriai mérések és UtA-PI használatával + PAPP-A + PIGF (PIGF csak az A2 szoftver esetén volt alkalmazható)

Az 5. táblázat szemlélteti a két programmal a szűrési hatékonyságot a javasolt biokémiai markerek nélkül vagy azok eredményének figyelembe vételével.

5. táblázat. Az A1 és A2 program detekciós aránya különböző bemeneti kritériumokat használva

	Astraia 2.3.2 (A1) biokémiai nélkül	Astraia 2.3.2 (A1) PAPP-A-val	Astraia 2.8.1 (A2) biokémia nélkül	Astraia 2.8.1 (A2) PAPP-A-val	Astraia 2.8.1 (A2) PAPP-A + PIGF-el
Korai-PE X<34 hét (n=11)	63.6% (7/11)	54.5% (6/11)	63.6% (7/11)	72.7% (8/11)	45.5% (5/11)
PE 34>X>37 hét (n=11)	-	-	90.1% (10/11)	90.1% (10/11)	72.7% (8/11)
PE X>37 hét (n=60)	-	-	50% (30/60)	48.3% (29/60)	51.7% (31/60)
Késői-PE x>34 hét(n=71)	67.6% (48/71)	64.8% (46/71)	56.3% (40/71)	54.9% (39/71)	54.9% (39/71)
FPE	5	5	4	0	8

Praeclampsia (PE), placenta associated plasma protein A (PAPP-A), placental growth factor (PIGF), FPE – ál pozitív esetek

(forrás: jelölt saját anyagából)

A1 szoftver

Az A1 szoftver a 11 korai PE esetből 7 (63.6%, 7/11) esetben jelezte a magasabb rizikót. Utóbbi esetben a program az anyai alap kockázatot (a priori risk), UtA-PI-t és a vérnyomás értékeket vette alapul, biokémiai eredmények nélkül. Amennyiben az előbbi rizikóbecsléshez a PAPP-A hormon eredményeit is felhasználtuk, az rontotta a detekciós rátát, mert csak 6 esetben jelezte a kedvezőtlen kimenetelt (54.5%, 6/11).

A 71 késői praeclampsias esetet vizsgálva, 48 esetben jelezte a program a PE bekövetkezésének magasabb rizikóját (67.6%, 48/71) a PAPP-A hormon alkalmazása nélkül és 46 esetben (64.8%, 46/71) a PAPP-A hormon eredmény egyidejű figyelembe vételével. A fals pozitív ráta a 82 kontroll esetében 6% (5/82) volt mindkét számítási mód esetén.

A2 szoftver

Az A2 szoftver a 11 korai-PE esetből ugyancsak 7 (63.6%, 7/11) alkalommal jelezte a PE kialakulásának emelkedett kockázatát a biokémiai markerek használata nélkül. Nyolc esetben (72.7%, 8/11) mutatott pozitív szűrési eredményt, amennyiben PAPP-A hormon eredményt is alkalmaztunk a rizikó számításához. A PIGF, mint kiegészítő biokémiai marker használata azonban csökkentette a detekciós arányt, ugyanis a PIGF és PAPP-A együttes figyelembe vételével csak 5 esetben lett pozitív a szűrési eredmény (45.5%, 5/11) a korai PE csoportban.

A 11 terhes közül, akiknek a 34-37 hét között alakult ki a praeclampsiajuk, tíznek lett pozitív a szűrési eredménye (90.1%, (10/11)) akár figyelembe vettük a PAPP-A hormon eredményt, akár nem. Amennyiben a rizikóbecslést PIGF mérésével is kiegészítettük, úgy a detekciós arány 72.7%-ra (8/11) csökkent.

A 37. hét után jelentkező PE csoportban a korábbiakban leírt bemeneti kritériumoknak megfelelően a detekciós ráta 50% (30/60), 48.3% (29/60) és 51.7%, (31/60) attól függően, hogy a kockázatbecslést a biokémiai markerek nélkül, csak a PAPP-A, illetve a PAPP-A és PIGF együttes figyelembe vételével végeztük.

6.2. Proteomikai vizsgálat eredményei

6.2.1. A vizsgált populáció jellemzői

A 10 immunfehérje első trimeszteri szérum mintákban történő vizsgálatára kiválasztott páciensek jellemzőit a 6. táblázat szemlélteti.

6. táblázat A proteomikai vizsgálatra kiválasztott 5 praeclampsias és 10 kontrollpáciens jellemzői.

Anyai jellemzők	Kontroll	Korai praeclampsia kis súlyú újszülöttelel
	(n=10)	(n=5)
Anyai életkor (évek)	29.7 (28.9-31.5)	34.7 (28.6-35.1)
Primiparitás (%)	20%	80%
Terhességi kor	12.6 (12.6-12.8)	12.4 (24.4-13.0)
Terhességi kor születéskor	40.3 (39.9-40.8)	32.4 (26.4-34.0)
Rassz		
Kaukázusi (%)	100	100
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	124 (118-126)	170 (170-170)
Diasztolés vérnyomás (Hgmm)	75 (68-79)	100 (100-110)
Fehérjeürítés (gramm)	0	3 (1-6)
Születéskori súly (gramm)	3,460 (3,308-3,623)	1,380 (790-1,450)
Császármetszés gyakorisága (%)	30	100

(forrás: jelölt saját anyagából)

6.2.2. Immunfehérjék magyarországi validációs vizsgálatának eredményei

A 7. táblázat szemlélteti a korábbi izraeli tanulmány eredménye alapján kiválasztott 10 első trimeszteri immunfehérje validációs vizsgálatának eredményeit a magyarországi terhesek szérumának analízise alapján.

7. táblázat. A korábbi izraeli tanulmányban kiválasztott 10 immunfehérje magyarországi terhespopuláción végzett validációs vizsgálatának eredményei

Fehérje növekedés	Fehérje fajta	2D-DIGE	LC-MS	
		Változás PE esetén	Medián ktrl % PE-ban	p<0.05 (s)
P04217	Alpha-1B-glycoprotein	Le	105.99	
P02749	Beta-2-glycoprotein 1	Fel	117.29	Igen
P02746	Complement C1q subcomponens subunit B	Le	105.85	
P00751	Complement factor B	Le	88.51	Igen
P08603	Complement factor H	Le	100.03	
P0C0L4	Complement C4-A	Fel	114.27	Igen
P10643	Complement component C7	Le	125.73	
P04196	Histidine-rich glycoprotein	Le	93.14	Igen
P01042	Kininogen-1	Le	124.65	
P00747	Plasminogen	Le	96.94	

(forrás: jelölt saját anyagából)

A Beta-2-glycoprotein 1, a Complement C1q subcomponens subunit B, a Complement factor B, a Complement C4-A, a Histidine-rich glycoprotein, a Kininogen-1 és a Plasminogen szintje mutatott szignifikáns különbséget a praeclampsiaival szövődött terhességek esetén a kontroll minták szérumkoncentrációjához képest, azonban a fehérje koncentrációk változásának irányát tekintve praeclampsia esetén a fent említett fehérjék közül a Beta-2-glycoprotein 1, a Complement factor B, a Complement C4-A és a Histidine-rich glycoprotein esetén tudunk egyezést kimutatni az izraeli tanulmánnyal.

7. Megbeszélés

A korábbi tanulmányokhoz hasonlóan, saját vizsgálatunk is alátámasztja azt a tényt, hogy az első trimeszteri terhességi praeclampsia-szűrés kivitelezhető a rutin klinikai gyakorlatban. A szűrés metodikája és időpontja lehetővé teszi, hogy beillesztjük a rutin első trimeszteri szűrésbe, ahol a magzati fejlődési-, és kromoszóma-rendellenességek szűrésén túlmenően minimális további ráfordítás mellett lehetőségünk nyílik elvégezni a praeclampsia első trimeszteri szűrését is.

7.1. A praeclampsia első trimeszteri szűrésének eredményei

7.1.1. A populációspecifikus anyai jellemzők és biofizikális értékek jelentősége

Tudomásunk szerint Magyarországon ez az első nagy esetszámú prospektív tanulmány a praeclampsia szűrésének témakörében. A tanulmányban a praeclampsia kockázatbecslését olyan szoftverekkel végeztük, amelyekben a kalkulációk alapját az Egyesült Királyságban, főleg az ottani betegpopuláción végzett vizsgálatok képezték¹⁴³. A korábbi, nem az Egyesült Királyságban végzett tanulmányok felvetették, hogy az anyai alap rizikó számos populációban eltérő lehet¹⁴⁴, mely tény szükségessé teheti, hogy mind az anyai alaprizikó kalkulációját, mind a biokémiai eredményeket populáció specifikusan módosítsuk a pontosabb rizikóbecslés érdekében.

7.1.2. A nem angolszász populációkban végzett tanulmányok eredményeinek összehasonlítása

Saját tanulmányunk eredménye alapján első trimeszteri rutin szűrés során 72.7%-os szűrési hatékonyság érhető el korai praeclampsia esetén, amennyiben kombináljuk az anyai alaprizikót, az ultrahang vizsgálat során mért UtA-PI-t, valamint a PAPP-A-t. Ha eredményeinket összehasonlítjuk az FMF publikációival (89.2%)¹⁰⁶, akkor detekciós arányunk alacsonyabbnak adódik. Amennyiben más, nem kutatói körülmények között végzett tanulmányokkal is összevetjük eredményeinket, akkor kijelenthető, hogy azok hasonlóak az

egyéb, nem Egyesült Királyságban végzett tanulmányok eredményeihez és konklúzióihoz^{145,146,147,148}.

A korai praeclampsia szűrési hatékonysága magasabb volt az A2, mint az A1 szoftverrel, amennyiben az anyai demográfiai adatokat, biometriai paramétereket, valamint PAPP-A hormont használtuk a rizikóbecsléshez, köszönhető ez a szűrési algoritmusokban bevezetett fejlesztéseknek. Eredményünk is megerősíti tehát azt, hogy az A2 szoftvert javasolt alkalmazni rutin klinikai gyakorlatban.

A késői praeclampsia detekciós aránya saját anyagunkban az irodalmi adatokkal megegyezik. Az ok, mely miatt a késői praeclampsia szűrési hatékonysága elmarad a korai praeclampsia eredményeitől, a betegség etiológiájában keresendő^{149,150,151,105,152}.

A késői praeclampsia főleg az anyai kardiovaszkuláris faktorokkal áll összefüggésben, és a programok algoritmusából kiderül, hogy ezen faktorok közül számos szerepel, mint alaprizikót meghatározó tényező. Tekintettel arra, hogy ezen rizikó faktorok egy adott ország vagy régió sajátosságai, így elengedhetetlen, hogy ezek az anyai alaprizikót jelentősen befolyásoló adatok populáció specifikusan módosításra kerüljenek¹⁵³.

7.1.3. A biokémiai mérések jelentősége

7.1.3.1. B-hCG és PAPP-A

A vérnyomás MoM, a BMI, a testsúly és az UtA-PI bizonyultak vizsgálatunkban a legerősebb markereknek a praeclampsia korai előrejelzésében, és ezek az eredmények konzisztensek más tanulmányok eredményeivel⁹¹.

A B-hCG értékek, hasonlóan egyéb tanulmányokhoz, nem mutattak szignifikáns különbséget a praeclampsziás, valamint az egészséges kontrollcsoportok között¹⁵⁴.

A PAPP-A hormont tekintve, a korábbi vizsgálatok szoros kapcsolatot mutattak ki az alacsony PAPP-A hormon szint és a praeclampsia között, de későbbi FMF tanulmányok rávilágítottak arra, hogy más markerekkel való kombinációban jelentősége lényegesen lecsökken¹⁵⁵. A PAPP-A hormon kimagaslóan hasznos marker a kromoszóma-rendellenességek első trimeszteri szűrésében, és saját eredményeink azt mutatták, hogy a szérum PAPP-A koncentrációk figyelembe vétele a praeclampsia-szűrés hatékonyságát is képes volt növelni, jóllehet nem mind a három praeclampsziás csoportban. A detekciós ráta javításán túlmenően a fals pozitív ráta csökkentésében is hatékonynak bizonyult, hiszen a PAPP-A értékek figyelembe vételével a kontrollcsoportban a téves pozitív esetek aránya

4.9%-ról (4/82) 0%-ra (0/82) csökkent. A vizsgálatunkban kiválasztott kontroll esetek viszonylag kis száma és a válogatás főbb szempontjai alapján valószínűsíthető, hogy ez csupán statisztikai véletlen, de felhívja a figyelmet arra, hogy ezt a kérdést, miszerint milyen mértékben képes a praeclampsia első trimeszteri szűrővizsgálatának a specificitását javítani a PAPP-A meghatározás, a későbbiekben nagyobb esetszámú tanulmány keretében érdemes megvizsgálni.

Mindenesetre addig is elmondható, hogy amennyiben a rutin klinikai gyakorlatban más biomarker meghatározás nem történik, de a PAPP-A szérumszintje a magzati triszómiák szűrésére használt kombinált tesztnek köszönhetően ismert, a PAPP-A eredményének felhasználása a praeclampsia rizikóbecslésére mindenképpen javasolható.

7.1.3.2. PIGF

A PIGF használata a rizikóbecslésben saját anyagunkban nemcsak, hogy nem javította a detekciós arányt, hanem a legtöbb tanulmánnyal ellentétben növelte a fals pozitív rátát. Ennek magyarázataként elsődlegesen az merül fel, hogy a mi teljes vizsgálati populációnkban a mért PIGF koncentrációk az FMF szoftver által alkalmazott eloszlási görbén a magasabb tartomány irányába, jobbra tolódtak (1.215 MoM vs. 1.284 MoM). Az FMF algoritmus ugyanis minden biokémiai eredményt MoM-okba konvertál, de ezen konverziók alapját az angolszász populáció vizsgálatán alapuló adatok képezik. Valószínűsíthetően a PIGF normál eloszlási görbéje mind a kontroll, mind pedig a PE csoportban számos oknak köszönhetően eltérő a kelet-európai terhespopulációban. Hasonló típusú PIGF eltérések tapasztalhatóak voltak a közel-keleti, illetve nem angolszász terhespopulációkon végzett első trimeszteri korai praeclampsia rizikóbecslés során¹⁵⁶.

Tekintettel arra, hogy a tanulmányunk során a biokémiai mérések értékei validált és évente auditált laboratóriumból kerültek ki (6. ábra), eredményünk legvalószínűbb magyarázata, a kelet-európai terhesek szérumában a PIGF koncentráció értékek eltérő eloszlási görbéje.

Tanulmányunkban, mint azt az 5. táblázat demonstrálja, a PIGF szintek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a 34-37. héten praeclampsziával szövődött terhességek csoportjában (1.07 MoM) a kontrollcsoport értékeihez képest (1.284 MoM), és ez a különbség majdnem megközelítette a szignifikanciaszintet a korai PE csoport (0.96 MoM) és a kontrollcsoport között. Ez ugyan egybevágna az irodalmi adatokkal¹¹⁷, de mivel az FMF algoritmus alapján

kalkulálva az egyes csoportok mediánja 1 MoM fölötti, de még a súlyos, 34. hét előtt jelentkező praeclampsias csoportban is 1 MoM közeli, a kockázatbecslés hatékonyságát nem javíthatta a PIGF figyelembe vétele.

Úgy véljük, a praeclampsia első trimeszteri rizikóbecslése, különösen a korai praeclampsia, hazánkban és a többi kelet-európai országban is az által lenne jelentősen javítható, ha a PIGF MoM értékeket a magyarországi, illetve a szűrés bevezetését megelőzően az adott populáció eloszlási görbéjének megfelelően korrigálnák. Ennek megvalósítása érdekében szükség van egy nagyobb terhespopuláción végzett tanulmány keretében a magyarországi populációra karakterisztikus eloszlási görbék kidolgozására.

Saját tanulmányunk ugyanakkor egyértelmű bizonyítéka annak is, hogy szükség van további új, hatékony biomarkerek kutatására, melyekkel a jelenlegi szűrési hatékonyságot emelhetjük, illetve a fals pozitív rátát csökkenthetjük^{157,158,71,159,130,160}. Amennyiben sikerülne olyan biomarkereket azonosítani, amelyek a praeclampsia kockázatbecslésében jelenleg meghatározó anyai biometriai és biofizikai jellemzők nélkül önmagukban magas szenzitivitással és specificitással képesek lennének előre jelezni a praeclampsia emelkedett rizikóját, maga a szűrőmódszer lényegesen egyszerűsíthető lenne.

7.1.3.3. A kelet-európai régió praeclampsia szűrésének költséghatékony lehetőségei

Gazdasági jellemzőit tekintve a kelet-európai társadalom szocio-ökonómiai statusa alacsonyabb a nyugat-európai társadalmakhoz képest. A legtöbb kelet-európai országban az ott élők jelentős hányada az állami egészségügyi rendszert veszi igénybe, amely csaknem mindenütt kizárólag az első trimeszteri ultrahangvizsgálatot finanszírozza¹³⁶. A biokémiai markerek eredményeit is számításba vevő kombinált teszt csak a privát szektorban érhető el.

Biokémiai szűrővizsgálatok nélkül az A2 szoftverrel korai praeclampsia 63.6%-os (7/11), késői praeclampsia 56.3%-os (40/71) szűrési hatékonyságot sikerült elérnünk. Ez az eredmény rávilágít arra, hogy a rutin klinikai gyakorlatban a standardizált módon felvett anyai előzményi adatok és a standardizált módon, FMF irányelveknek megfelelően elvégzett első trimeszteri ultrahang vizsgálat során nyert mérési eredmények (vérnyomás és UtA-PI) felhasználásával elfogadható szűrési hatékonyságot tudunk biztosítani a társadalom jelentős részének.

Ez főleg azok számára előnyös, akik pénzügyi megfontolásból nem tudják kifizetni a kombinált tesztet. Ráadásul a szocio-ökonómiai tanulmányok alapján éppen a kedvezőtlen

gazdasági körülmények között élők társadalmi csoportjában magasabb a praeclampsiára hajlamosító tényezők előfordulása¹⁶¹. Ezzel a megközelítéssel, azaz a biokémiai markerek felhasználása nélkül a rutin gyakorlatban végzett szűrési hatékonyság csupán kevéssel tér el a szigorú vizsgálati protokollokat használó, hasonló algoritmussal dolgozó FMF tanulmányok eredményeitől¹⁰¹. Az FMF tanulmányok konklúziója alapján az anyai előzményi adatokon alapuló szűrés 31%-os hatékonysága 73%-ra emelhető, amennyiben azt standardizált módon mért testsúly, vérnyomás és arteria uterina pulzatilitási indexszel kombináljuk⁹¹.

Az anyai előzményi adatok felvételének pontossága, az ultrahang vizsgálat standardizáltsága, reprodukálhatósága és a vizsgálok évenkénti auditálása elengedhetetlen feltétele a korrekt kockázatbecslésnek. A standardizált mérési technikák legátfogóbb protokolljait az FMF ajánlások képezik, melyek közül a praeclampsia rizikóbecslésben az UtA-PI, CRL, és vérnyomás mérése a legfontosabb.

7.2. Új biomarker vizsgálatok – proteomika

Az etnikai és metodikai különbségek ellenére az MRM a 10 vizsgált immunfehérjéből 4 esetben tudta alátámasztani a korábbi izraeli tanulmányban látott, de 2D-DIGE metodikával végzett vizsgálat eredményeit. Eddig öt tanulmány tudta megerősíteni a korai praeclampsia csoportban általunk is látott fehérjekoncentráció mintázatot, jóllehet más technológiákat alkalmazva, és csak a második és harmadik trimeszterben detektálva ezt^{162,163,164,165,166}. Ez alátámasztja azt a feltételezést, hogy a későbbiekben korai praeclampsiával szövődött terhességek első trimeszterében már jelen vannak, és ekkor vett szérummintákban kimutathatóak a korai pro-inflammatórikus változások, így a harmadik trimeszterben vizsgált, anyai vérből is kimutatható immunológiai változások jelentős hányadának etiológiája a terhesség első trimeszterében gyökerezik. Az általunk vizsgált immunológiai markereket idáig többségében a terhesség későbbi szakaszában írták le^{167,168,169,170,171,172,133,173}. Mivel általános vérfehérjékről van szó, az is lehetséges, hogy már a vizsgálataink időpontja, azaz a terhesség 11-13. hete előtt is megváltozott mennyiségben vannak jelen az anyai keringésben praeclampsiásokban.

Az általunk gyűjtött mintákban már a terhesség első trimeszterében, a definitív kór állapot kifejlődését jóval megelőzően sikerült ezen immunfehérjék megváltozott expresszióját igazolni, amikor még jelentősen kisebb az anyai keringés és magzati lepény közötti kapcsolat¹⁷⁴.

Az immunrendszer kiemelt szerepére hívja fel a figyelmet az is, hogy az irodalmi adatok alapján a praeclampsiaival szövődött terhességek esetében emelkedett a gyulladásoos citokinek koncentrációja¹⁷⁵, megváltozott a decíduális NK sejtek és a trophoblast sejtek interakciója^{176,177}, változások jelennek meg a Th1/Th2 sejtek egyensúlyában¹⁷⁸.

Irodalmi adatok alapján az első trimeszteri anyai proteomikai vizsgálatok több olyan biomarkert mutattak ki, melyek összefüggésbe hozhatóak nemcsak az immunrendszerrel, hanem a renin-angiotenzin-aldoszteron tengellyel, a komplement, illetve a koagulációs rendszerrel, mind a korai, mind a késői praeclampsia csoportban. Az általunk végzett magyarországi validációs vizsgálat során igazolt megváltozott anyai szérúm proteinek adataiból nyert információk felhasználásával a későbbiekben olyan újabb validációs vizsgálatok valósíthatóak meg jelentősen nagyobb esetszámú mintán, amelyeknek az eredménye az előbb említett útvonalakban szerepet játszó fehérjékben bekövetkező változások kimutatásával a terhesség első trimeszterében végzett praeclampsia-szűrés hatékonyságát jelentősen tudnák növelni.

A költségghatékony szűrőmódszer kidolgozását követően ismételten vissza lehetne nyúlni a már több mint 30 éve publikált megfigyeléshez, melyet eddig több tízezer beteg vizsgálataival igazoltak, miszerint kis dózisú acetilszalicilsav szedésével csökkenthető a praeclampsia prevalenciája. Az acetilszalicilsav gyulladásgátló és thrombocytá aggregációt gátló hatása a korai gyulladásoos mediátorok szintjének csökkentése révén tudja mérsékelni a praeclampsia prevalenciáját¹⁷⁹.

A proteomikai vizsgálatok a fehérjekoncentrációk első trimeszteri megváltozott mintázatára is felhívják a figyelmet. A gyulladással összefüggő fehérjék magasabb koncentrációját mutató terhességek esetében az acetilszalicilsav terápia valószínűleg hatékonyabb lehet, mint azoknál, akiknél a magas vérnyomásért felelős fehérjék koncentráció változása markánsabb a terhesség első trimeszterében. Ezzel magyarázható lenne, hogy miért nem tudott az acetilszalicilsav terápia jelentős eredményeket elérni a már korábban is krónikus magas vérnyomásban szenvedő betegek körében¹⁸⁰ akkor sem, ha az acetilszalicilsav terápiát már az első trimeszterben elindították, ellentétben azokkal, akiknek nem volt krónikus magas vérnyomásuk, de az első trimeszteri praeclampsia szűrésén észlelt magas rizikó miatt profilaxisban részesültek. Az utóbbi csoportban ugyanis a terápia jelentősen tudta csökkenteni a korai praeclampsia prevalenciáját⁹⁷.

8. A kutatás folytatásának új lehetőségei

8.1. Biobank bővítés, terhesgondozás átszervezése

2019.04.01-től a Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutató Intézetében Than Nándor Gábor vezetésével működő kutatócsoporttal, valamint a győri Petz Aladár Oktató Kórház Szülészeti és Nőgyógyászati Osztályával és a Maternity Magánklinikával elindított kollaboráció keretében megkezdtünk a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján egy prospektív tanulmányt, ami folytatása a 2010-2012. között zajlott mintagyűjtésnek. Az együttműködés célja a MTA-TTK Perinatális Biobank megteremtésével az új biomarkerek irányában megkezdett kutatások folytatása a jelenleginél jóval nagyobb mintaszámon. Nemcsak a praeclampsia, hanem az ún. „nagy szülészeti kórképek”, azaz, korai és késői magzati veszteség, intrauterin növekedési retardáció, terhességi cukorbetegség, macrosomia korai, hatékony előrejelzését lehetővé tevő módszer kidolgozása a hosszútávú terv.

A magas kockázatú terhességek első trimeszteri felismerésére alkalmas biomarkerekkel történő korai, páciensspecifikus rizikómeghatározás ezen kórállapotokra nagymértékben javíthatná a terhességek kimenetelét, és egyben megváltoztatná a várandósgondozás mai rutinszerű menetét egy sokkal egyénre szabottabb, betegségspecifikus megközelítésre. Az átszervezés érintené a vizitek gyakoriságát, valamint az azokon elvégzett diagnosztikus tesztek tartalmát.

Minden egyes megjelenésnek előre definiált célja lenne és a megjelenések során nyert adatok alapján az első trimeszteri betegség és páciensspecifikus kockázatbecslést alapul véve Nicolaidés professzor javaslatának megfelelően egy új kockázati érték lenne kialakítható.

A 11-13. heti kockázatbecslés alapján a terhesek többsége alacsony rizikójú csoportokba, míg egy kis részük magas kockázatú csoportba lenne sorolható. Az alacsony rizikójú csoportban a vizitek számát jelentősen lehetne csökkenteni.

Egy további vizit várhatóan a 20-22. héten lenne szükséges, mely a magzati testfelépítést és növekedést ellenőrizné, valamint újraértékelné egyes betegségek, mint például a praeclampsia vagy koraszülés kockázatát.

További viziten a 37-38. héten meggyőződhetnénk mind az anyai, mind a magzati általános állapotról, majd azok számára, akik a 41. hétig sem szülnének, még egy ellenőrző megjelenést javasolnánk.

A magas rizikójú terhességek szakmai felügyeletét, valamint a vizitek időzítését, továbbá a megjelenések alkalmával elvégzett diagnosztikus eljárások megtervezését az adott kórállapotban nagy tapasztalattal rendelkező egészségügyi intézmények végezhetnék. A megjelenések alkalmával újraértékelnék a páciensek kockázatbecslését, akik vagy maradnának a magas rizikójú csoportban, vagy átkerülnének az alacsonyabb utánkövetési frekvenciát igénylő alacsony rizikójú csoportba.

Eredményes biomarker vizsgálatok esetén a magas rizikójú terhespopuláció kiemelésével teret nyerhetnek olyan további tanulmányok is, amelyek a fokozott kockázatú terhesek első trimesztertől kezdődő farmakológiai prevenciójával (pl. acetilszalicilsav) a betegségek kifejlődését megelőzhetnék vagy súlyosságát csökkenthetnék.

Prospektív mintagyűjtésünk nem szelektált terhespopulációban történt. Mindaddig, míg a MTA Perinatális Biobankban folyik a mintagyűjtés és majdan a terhességek kimenetelének nyomonkövetése, eddigi mintáink és adataink felhasználásával folytatjuk a vizsgálatokat a terhességi cukorbetegség, macrosomia, retardáció, halvaszülés, koraszülés első trimeszteri előrejelzése irányában.

8.2. Mikro RNS vizsgálatok

Új irányvonalat jelenthet az első trimeszteri szűrővizsgálatokban a vizeletben található mikro RNS-ek vizsgálatának lehetősége. Prospektív módon gyűjtött adatbázisunk és anyai vér-, és vizeletmintáink felhasználásával sikerült igazolni, hogy a mikro RNS-ek vizeletből történő kimutatása lehetséges.

Ebben a tanulmányban 6 praeclampsziás és 6 kontroll vizeletmintából végeztük el a miRNS meghatározásokat. Célunk annak vizsgálata volt, hogy izolálhatóak-e a mikro RNS-ek a vizeletből, valamint ezek mintázata mutat-e különbségeket a praeclampsziás csoportban, összehasonlítva az egészséges terhes kontrollokkal¹⁸¹. Egyelőre azon túlmenően, hogy a terhes nők vizeletéből kivitelezhető a miRNS-ek kimutatása, továbblépni a nagyon magas költségek miatt jelen kutatási periódusban nem volt lehetséges.

A hosszabb távú célkitűzés praeclampszia-specifikus miRNS-ek kutatása is lenne. Amennyiben sikerülne ezen a vonalon érdemi eredményt elérni, ezen miRNS-eknek a kockázatbecslő algoritmusba való integrálásával a proteomikai vizsgálatokhoz hasonlóan, tovább növelhető lenne a szűrési hatékonyság.

9. Az értekezés új tudományos eredményei

1. Magyarországi terhespopuláción elsőként igazoltuk, hogy a praeclampsia első trimeszteri szűrése kivitelezhető a rutin klinikai gyakorlatban.
2. A rutin klinikai gyakorlatban az FMF irányelveknek megfelelően felvett anyai előzményi adatok és a standardizált módon elvégzett első trimeszteri vizsgálatok során nyert mérési eredmények (vérnyomás és UtA-PI) felhasználásával 63%-os első trimeszteri korai praeclampsia szűrés hatékonyság biztosítható a várandósgondozásban jelenleg is kötelezően előírt első trimeszteri ultrahangszűrés során.
3. A magyarországi várandósok biokémiai, valamint biometriai jellemzői eltérnek a nyugat-európai terhespopuláción végzett tanulmányok eredményei alapján várttól.
4. A kelet-magyarországi populációban a PIGF első trimeszteri szérumkoncentrációi jóllehet alacsonyabbnak bizonyultak a praeclampsziával szövődött terhességek szérum mintáiban összehasonlítva a kontrollcsoport eredményeivel, azonban a nyugat-európai standardok alapján számított MoM értékek mediánja mind a praeclampsziás, mind a kontrollcsoportban a magasabb tartomány irányába tolódott.
5. Első trimeszteri mintáinkon történt proteomikai vizsgálat során igazolást nyert, hogy a várandósok szérummintáiban már az első trimeszterben kimutatható olyan immunfehérjék megváltozott szintje, amelyeket más tanulmányok a második és a harmadik trimeszterben közöltek, így újabb bizonyítékot nyertünk arra vonatkozóan, hogy a lepényi patológiás folyamatok következményei már a terhesség első trimeszterében felfedezhetőek.

10. Összefoglalás

A praeclampsia (PE) jelentős népegészségügyi problémát jelent, és szűrése nem megoldott. Célkitűzésünk volt, hogy a Fetal Medicine Foundation (FMF) által kidolgozott és javasolt algoritmusokkal magyarországi, nem szelektált terhesspopulációban vizsgáljuk a PE szűrés hatékonyságát, elemezve az anyai adatok, biofizikai és biokémiai markerek szerepét a kockázatbecslésben. Hosszabb távú célkitűzésünk proteomikai módszerekkel a szűrővizsgálatokban hatékonyan alkalmazható további biomarkerek kutatása. Ennek első lépcsőjeként saját mintáinkon validáltunk egy korábbi első trimeszteri izraeli vizsgálatban leírt 10 immunproteint.

Prospektív tanulmányunkba tájékozott beleegyezést követően 2.545 gravidát vontunk be a terhesség első trimeszterében történő rutin ultrahangszűrés során, és retrospektív vizsgálatunkhoz az így nyert adatbázisból és mintagyűjteményből válogattunk 82 PE-val szövődött esetet, illetve 82 illesztett kontrollt. A PE első trimeszteri rizikóbecslését két, kereskedelmi forgalomban elérhető szoftver segítségével végeztük. A proteomikai vizsgálatban öt praeclampsziával szövődött terhességből származó mintát hasonlítottunk össze tíz egészséges kontroll mintával.

Az Astraia 2.3.1 szoftverrel az anyai előzményi adatok, BMI, artériás középnyomás és artéria uterina pulzatilitási index (UtA-PI) számításba vételével 63.6% volt a korai-, míg 67.6% a késői PE detekciós aránya (DR). A biokémiai markerek közül a placenta associated plasma protein A (PAPP-A) bevonása a kockázatbecslésbe a DR csökkenését eredményezte. Astraia 2.8.2 szoftverrel, biokémiai markerek nélkül a DR a korai PE-ra 63.6%-nak, míg késői PE-ra 56.3%-nak adódott. PAPP-A méréssel kiegészítve a rizikóbecslést, a DR 72.7%-ra emelkedett korai-, és 54.9%-ra csökkent késői PE esetén. A placental growth factor (PIGF) biomarker hozzáadása a kockázatbecsléshez egyik PE csoportban sem emelte a szenzitivitást. Az immunproteomikai vizsgálat során az izraeli terhesspopulációban korábban eltérő metodikával talált, praeclampsziában megváltozott expresszivitást mutató 10 immunfehérje közül 4-nek a szerepét sikerült megerősíteni.

Kijelenthető, hogy az első trimeszteri rutin ultrahang vizsgálat során a PE szűrés kivitelezhető, a kockázatbecslésre az Astraia 2.8.2 szoftver ajánlható. A PIGF vélhetően azért nem tudta javítani a szűrés hatékonyságát, mert az algoritmus az angolszász populációban nyert adatok alapján kalkulál, ezért kelet-európai terhesspopulációra karakterisztikus új PIGF eloszlási görbék készítése szükséges. Proteomikai vizsgálatunkkal igazoltuk, hogy PE-ban

már a terhesség első trimeszterében is megváltoznak a többségében eddig csak a későbbi gesztációs korokban vizsgált immunfehérjék. Ezen fehérjék szűrési algoritmusba integrálásával feltételezhetően tovább emelhető a PE szűrés hatékonysága, ennek igazolása új, nagyobb betegszámon végzett validációs tanulmányt igényel.

11. Summary

Preeclampsia (PE) has a major role in perinatal and maternal mortality/morbidity.

Our aim was to evaluate the effectiveness of the first trimester Fetal Medicine Foundation (FMF) screening algorithms for PE and the role of different maternal biophysical and biochemical factors in the risk calculation. We also aimed to validate on Hungarian first trimester blood samples the distribution of 10 immunoproteins described to express differently in PE by a previous Israeli study.

The retrospective study was performed on a prospectively collected database and stored samples from 2,545 unselected pregnant women recruited to participate after informed consent between 2010-2013 during routine first-trimester ultrasound screening in Hungary. For this study 82 patients with PE and 82 matched controls were selected. Patient specific individual risks for preeclampsia in the first trimester were assessed using two commercially available risk-assessing FMF algorithms. For the proteomic study 5 PE and 10 control samples were selected and compared.

Using Astraia 2.3.1, combining maternal characteristics plus biophysical parameters, the detection rates (DR) proved to be 63.6% for early-PE and 67.6% for late-PE. When placenta associated plasma protein A (PAPP-A) was added to the risk assessment, the DRs decreased to 54.5% and 64.8% respectively. Using Astraia 2.8.2, the DR for early-PE was 63.6% and 56.3% for late-PE based on maternal characteristics plus biophysical parameters. Adding PAPP-A biomarker to the risk assessment, the DRs changed to 72.7% and 54.9% respectively. Placental growth factor (PIGF) decreased the DRs in both groups of PE. Despite the different populations and methods, out of the 10 immune proteins 4 showed the same patterns in PE as in the Israeli study.

In conclusion, first trimester screening for PE is feasible during routine clinical practice using maternal characteristics, biophysical parameters, and PAPP-A. Most likely the distribution curve of PLGF concentrations is different in Hungarian compared to that of published in Anglo-Saxon populations. This could explain our finding that adding PIGF to the risk calculation could not improve the screening efficacy. In agreement with previous reports we

advise to set up new standard curves for PIGF characteristic for the Eastern European pregnant population. Our study also proved that most of the immune-proteomics changes described in the second and third trimesters of pregnancy originate from the first trimester. By using this proteomics pattern the detection rate for early-, and late-preeclampsia in the first trimester might be increased. Further larger validation studies are required to investigate this theory.

12. Tárgyszavak

Anyai alaprizikó	a priori risk
Artéria uterina pulzatilitási index	Uterine artery pulsatility index
Első trimeszter	First trimester
Placentális növekedési faktor	Placental growth factor
Praeclampsia	Preeclampsia
Proteomika	Proteomics
Szűrés	Screening
Ultrahang vizsgálat	Ultrasound examination
Vérnyomás	Blood pressure

13. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Török Olga tanárnőnek a több éves kitartó támogatást, melyet 4. éves orvostanhallgató korom óta töretlenül megkapok. A Professor Kypros Nicolaidessal való megismerkedésem és a kétéves külföldi ösztöndíj programom megvalósulásában is meghatározó szerepet játszott. Tanárnő építő jellegű javaslataival, kimagasló szakmai tapasztalatával jelentősen hozzájárult ahhoz, hogy elmélyítsem ismereteimet a szülészet-nőgyógyászat és elsősorban a perinatológia területén. A jövő kutatási irányát meghatározó együttműködés létrehozását Than Nándor Gáborral és kutatócsoportjával ugyancsak Tanárnőnek köszönhetem, és a továbbiakban őszinte lelkesedéssel szeretném folytatni a megkezdett munkát.

Hálával tartozom Kypros Nicolaides professzornak, aki világszerte elismerten az anyai-magzati medicina egyik vezéregyénisége napjainkban. Az általa irányított alapítvány

támogatásával egy olyan intézményben tanulhattam az ultrahangdiagnosztikát és a magas kockázatú terhességek ellátását, ahova a világ számos országából, nemcsak Európából irányítanak különleges eseteket további ellátásra. Köszönöm a tapasztalatok átadását Nicolaidess professzor valamennyi, az ösztöndíjas éveim alatt ott dolgozó munkatársának is.

Köszönöm Tóth Zoltán Professzor Úrnak és Póka Róbert Professzor Úrnak, hogy segítettek, egyengették szakmai fejlődésemet, hozzájárultak külföldi tanulmányutamhoz, támogatták a praeclampsia kutatás elindítását, és Angliából történő hazaérkezésemet követően biztosították a feltételét annak, hogy a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján elindulhasson a magzati szívultrahang-szűrés, melynek szakmai felügyeletét testvéremmel Dr. Orosz Gergő Balázssal látom el.

Köszönöm Dr. Than Nándor Gábornak, hogy a létrejött kutatási együttműködés keretében az MTA Lendület pályázatából már eddig is jelentős anyagi támogatást nyújtott a vizsgálatok elvégzéséhez és szakmai tanácsaival is segítette az eredmények publikálását.

Köszönöm a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Szülészeti és Nőgyógyászati Intézet jelenlegi igazgatójának, Dr. Lampé Rudolfnak, hogy támogatásáról biztosított a jelenlegi PhD munkám további folytatásához szükséges szakmai és tárgyi feltételek megteremtésében.

Köszönöm a klinika valamennyi munkatársának, elsősorban az ultrahang laboratórium dolgozóinak a rengeteg segítséget és támogató hozzáállást, melyet az elmúlt évek során kaptam.

Tudományos munkámat családomnak ajánlom, akiktől minden lehetséges segítséget, támogatást és irányítást megkaptam a kezdetektől, és akik nélkül most nem tarthatnék itt.

14. A jelölt által végzett tevékenységek a tanulmányok során

A jelölt által önállóan végzett tevékenységek:

- Londoni Fetal Medicine Foundation előkészítő látogatások
- 2010-2013 között zajló prospektív adatgyűjtés protokolljának kidolgozása, mintagyűjtése, terhességi kimenetel utánkövetése, anyagi források megszervezése, beszerzése

- Jelen értekezésben: az adatbázisból és a lefagyasztott mintagyűjteményből a megfelelő esetek kiválasztása, protokoll elkészítése, eredmények kiértékelése, publikációk megírása, értekezés és tézis elkészítése

Anyagi források:

- 2010-2013 között megvalósult 2,545 páciens bevonása a prospektív mintagyűjtésbe: a doktorandusz saját tőkéjének bevonásával.
- Jelen tanulmány támogatása: Doktorandusz saját tőkéje, Modern Szülészeti Alapítvány, Magyar Tudományos Akadémia Lendület Pályázat LP2014-7/2014 és a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs alap FIEK_16-1-2016-0005.

A kutatás vezetőjeként (Dr. Török Olga – Dr. Orosz László) ezúton nyilatkozunk, hogy a kutatási terv kidolgozása a tanulmány megvalósulásának idején érvényes jogszabályok, illetve az Orvosok Világszövetsége Helsinkai Deklarációjában foglaltak szerint történt.

15. Függelék

1. függelék: Beleegyző nyilatkozat és betegtájékoztató az első trimeszteri terhesek beválogatásához

Beleegyző nyilatkozat

<p>Kutatás címe: Praeclampsia és gesztációs diabétesz szűrési lehetőségei a terhesség első trimeszterében</p>
--

Beleegyzését kérjük, alábbi tudományos kutatáshoz, mely a következőket foglalja magában:

1. Anyai kórelőzmény felvétele
2. Anyai magasság, testsúly, vérnyomásmérése

3. Anyai vér és vizeletminta későbbi analízise
4. Az anyai méhet ellátó artéria kétoldali keringésvizsgálata
5. Terhesség utánkövetése: Kórlapi dokumentáció áttanulmányozásával, kórházi számítógépes rendszer igénybevételével, telefonos interjú, valamint postai levél formájában

Reméljük, hogy érdekesnek találja, hogy részt vegyen ebben a tanulmányban. Ha úgy dönt, hogy részt vesz benne, legyen szíves *a terhes saját kezű aláírása* alatt aláírni a nyomtatványt. Megkérjük, hogy 3 példányban legyen szíves aláírni a nyomtatványt. A 3 példányból egy a magáé, egy a kutatást végző orvosoké, egy pedig bekerül az orvosi dokumentációi közé.

Köszönettel:

Debreceni Egyetem Klinikai Központ Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika Munkatársai

Beleegyező nyilatkozat

1. Kijelentem, hogy elolvastam, és megértettem a fenti tanulmánnyal kapcsolatos írásos tájékoztatót, és feltettem kérdéseimet, melyre érthető egyértelmű válaszokat kaptam
2. Kijelentem, hogy megértettem, hogy részvételem a fenti tanulmányban önkéntes jellegű, és bármikor kiléphetek belőle

A megfelelő válasz aláhúzendó:

- Beleegyezem / Nem egyezem bele, hogy vérmintákat vegyenek tőlem és tároljanak későbbi hormonmeghatározásokra.
- Beleegyezem / Nem egyezem bele, hogy vizeletmintát vegyenek tőlem és tároljanak későbbi vizsgálatok céljából.
- Beleegyezem / Nem egyezem bele, hogy vér és vizeletmintáimat külföldi vagy belföldi laboratóriumban vizsgálják
- Beleegyezem / Nem egyezem bele, hogy kórelőzményemet felvegyék és későbbi kutatásokra felhasználják

- Beleegyezem / Nem egyezem bele, hogy ultrahanggal a méhet ellátó két artériáról felvételeket készítsenek, és azok adatait a későbbiekben tudományos célokra felhasználják.
- Beleegyezem / Nem egyezem bele, hogy megmérjék a magasságom, a vérnyomásom, valamint a súlyomat és ezen adatokat a későbbiekben tudományos célokra felhasználják.
- Beleegyezem / Nem egyezem bele, hogy terhességem utánkövetését a fent említett módokon megtegyék, és az ott szerzett adatokat a későbbiekben tudományos célokra felhasználják.
- Beleegyezem / Nem egyezem bele, hogy bármilyen mintámat (vér, vizelet, magzatvíz placenta stb.) a későbbiekben külföldi vagy belföldi laboratóriumban tudományos kutatás céljából genetikai vizsgálatokra felhasználják.

Terhes neve:.....

Azonosító száma:.....

Dátum:.....

Terhes sajátkezű aláírása:.....

Kiskorú esetén szülő/felhatalmazott képviselő:.....

Felvilágosítást végző orvos neve:.....

Felvilágosítást végző orvos aláírása:.....

Betegtájékoztató

Tisztelt Asszonyom!

Ön most terhességének az első trimeszteri szűrővizsgálatán jelent meg. Ezen szűrés alkalmával Magyarországon rutin-szerűen ultrahang vizsgálat történik, amelynek során a

tarkóredő vastagság méréséből, valamint az *anyai életkor*, illetve *előzményi adatok* alapján egy súlyos értelmi fogyatékos, a *Down-szindróma* (21-es kromoszóma triszómiája) előfordulásának valószínűségére lehet következtetni. A tarkóredő nem más, mint a magzat nyaki régiójában megjelenő bőr alatti folyadékgyülem. Ismételt kockázatbecslésre legközelebb csak a 2. trimeszterben, a 16. héten nyílik lehetőség, ennek során Öntől *biokémiai markerekre történik vérvétel*, és 4 marker meghatározásával (B-HCG, PAPP-A, SP-1, AFP), újraértékelhető a Down-szindróma, illetve egyéb fejlődési rendellenességek előfordulásának valószínűsége.

Önnek most lehetősége nyílik arra, hogy igénybe vegye azt a *lehetőséget*, hogy már az *első trimeszteri ultrahangszűrés során történjen vérvétel*, ezáltal *hamarabb*, kisebb terhességi korban lehetséges pontosabb kockázatbecslést adni a Down-szindróma előfordulásának esélyéről.

Tudni kell, hogy a szűrés nem diagnózis! A szűrés célja, hogy kiemelje a gyanús eseteket. Ezen esetekben egy további diagnosztikus vizsgálat állapítja meg, hogy betegség (esetünkben a Down-szindróma) fennáll-e, vagy nem. Diagnosztikus vizsgálat a CVS-magzatboholy mintavétel, és az amniocentesis-magzatvízvétel.

A terhességek közel 2-3%-ában jelentkező *praeclampsia*, más néven *terhességi mérgezés* vagy *terhességi toxæmia* elnevezések alatt, az anya olyan megbetegedését értjük, amely kizárólag terhesség kapcsán jelentkezik, és a várandósság második felében alakul ki. A betegség akár az anya és a magzat életét is veszélyeztetheti. A terhességi toxæmiának három alaptünete van: *1. vizenyő, 2. fehérjevizelés és 3. magas vérnyomás*. A tünetekhez súlyos esetekben görcsroham és kóma is társulhat. A terhességi toxæmia a leggyakoribb anyai halálokok közé tartozik, éppen ezért a terhesgondozás fontos feladata a betegségre magas kockázatú esetek minél korábbi felismerése, speciális gondozásba vétele, a tünetek jelentkezése esetén pedig a kezelés mielőbbi elkezdése. Napjainkban olyan hatékony módszer, amely a magas kockázatú esetek felismerését már a terhesség első trimeszterében lehetővé teszi, jelenleg áll kifejtés alatt.

A *terhességi cukorbetegség* egy másik gyakori megbetegedés a terhesség alatt. Terhességi cukorbetegségnek azt nevezzük, amikor az inzulin hiányt a terhesség alatt fedezik fel.

Ilyenkor az anya által termelt inzulin (vércukorszint csökkentő hormon), mennyisége kevésnek bizonyul. Ennek oka, hogy a lepényi hormonok rontják az inzulin hatékonyságát, ezért egyre több inzulint kell az anyának termelni. Ha erre nem képes, a cukorszint kezdetben étkezés után lesz magas, majd ha a hiány növekszik, már az éhgyomri vércukor is elkezd emelkedni. A cukor túlkínálat miatt a baba túl nagyra hízik, ez a súlygyarapodás elsősorban a hasi szerveket érinti (nagy máj, lép) és zavarja a szervek működését is. A *nagy magzat* sérülékenyebb, szülés alatt könnyebben éri károsodás. *Károsodik a lepény*, lepényelégtelenség léphet fel, romlik a magzat oxigén és tápanyag ellátása. Szülés után is számos veszély fenyegeti ezeket az újszülötteket.

Egy új tanulmány keretében Önnek most *lehetőse nyílik csatlakozni* az előbb említett két, a terhességet veszélyeztető állapot *első trimeszterben történő* szűrésének kidolgozását célzó vizsgálatához, egy új tanulmány keretében. Az *anyai előzmények, első trimeszteri vérnyomásmérés*, valamint *a két, a méhet ellátó artéria ultrahangvizsgálatával*, Önnél személyre szabottan egy kockázatbecslést végzünk *a terhességi mérgezés előfordulásának valószínűségéről*. A terhesgondozás módját a tanulmány keretében végzett vizsgálat eredménye alapvetően *nem befolyásolja*, de ha az Ön kockázata magasnak bizonyul, a fokozott figyelemmel történő követés szükségességére a gondozását végző kollega figyelmét természetesen fel fogjuk hívni.

Az új tanulmány célja az előbb ismertetett szűrővizsgálat hatékonyságának a javítása, az anyai vér és vizelet vizsgálatával. Ennek érdekében azt kérjük Öntől, járuljon hozzá ahhoz, hogy a Down-szindróma első trimeszteri kockázatbecsléséhez szükséges *vérminta* vételén túlmenően, még 15ml vér vétele történjen meg. Ez a mennyiség nem jelent megterhelést és semmilyen következménnyel járó vérvesztéséget az Ön számára. Egyidejűleg egy vizelet minta adását is kérjük Öntől. Ezek a vér és vizelet minták, megfelelő előkészítés után, egyelőre tárolásra kerülnek és a későbbiekben csak azok a minták kerülnek további vizsgálatra, amelyek azoktól a várandósoktól származnak, akiknél a terhesség folyamán annak a két betegségcsoportnak a tünetei fognak jelentkezni, amelyeket az előbbiekben részleteztünk. Arról, hogy kiknél alakul ki ez a két terhességi szövődmény, az esetek nyomkövetése révén tudunk tájékozódni. Az Ön beleegyezését ezúton ehhez a nyomkövetéshez is kérjük. Az előbbi mintákon túlmenően még a szövődménymentesen végződött terhességekből származó minták 3-5%-át fogjuk felhasználni. A vér és vizeletminták vizsgálatát a tanulmányt koordináló intézetben,

Angliában, a londoni King's College Hospitalban működő Harris Birthright Research Center-ben fogják elvégezni.

A tanulmány protokollját a DEOEC Tudományos Bizottság Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyta.

Tisztelettel:

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika Munkatársai

2. függelék: Anamnesztikus adatok rögzítésére használt kérdőív

1. Személyes adatok: Vezetéknév, Keresztnév, Lakcím, Telefonszám
2. Terhesség jellemzői: Paritas, Etnikai csoport, Kromoszóma-rendellenességgel sújtott korábbi magzat vagy gyermek, dohányzás, alkohol-, drogfogyasztás, szedett gyógyszerek, alapbetegség (különös tekintettel a magas vérnyomásra), műtétek. Előző terhességében volt-e praeclampsia
3. Fogamzás módja, ovulációindukció történt-e, utolsó rendes menses időpontja, korábbi nőgyógyászati és szülészeti anamnesis
4. Gyógyszerérzékenység
5. Praeclampsia-ra vonatkozó kérdések: családban fordult-e elő krónikus hypertonia, praeclampsia
6. Cukorbetegségekre vonatkozó kérdések: Cukorbetegség, Inzulinrezisztencia, Gestációs diabétesz, elhízott egyén előfordult-e elő a családban.
7. Táplálkozási szokások

A beválogatott terhesek által kitöltött kérdőív az előzményi adatokról.

Kérdések (anyai)	Lehetséges válaszok				
Életkor (évek), súly (kg), magasság (cm)	meghatározott szám				
Rassz	Kaukázusi	Afro-Carib	Dél Ázsiai	Kelet Ázsiai	Kevert
Fogantatás módja	spontán	ovulációindukció	IVF		
Dohányzás	igen	nem			
Krónikus magas vérnyomás	igen	nem			
Anyai I. vagy II. típusú cukorbetegség	igen	nem			

Anyai SLE	igen	nem		
Anyai APS	igen	nem		
Családi praeclampsia előfordulása	igen	nem		
Előző szülések	nullipara	Multipara		
		Korábbi terhesség praeclampsiával	igen	nem
		Korábbi terhesség kis súlyú újszülöttel	igen	nem

Diabetes mellitus (DM), szisztémás lupus erythematozisz (SLE), antifoszfolipid-szindróma (APS), in vitro fertilizáció (IVF), kis súlyú magzat/újszülött (SGA).

3. függelék – Vérnyomás mérési protokoll

Artériás középnyomás mérése:

A terhesnek ülő pozícióban kell lennie, megtámasztott háttal, szabad felkarokkal, melyek a szív magasságban helyezkednek el, alulról kényelmesen megtámasztva. A lábaknak a talajon kel lenniük, nem lehetnek keresztezve.

A terhes karvastagságának megfelelően két vérnyomásmérő mandzsettát használjunk: Normál: 22-32 cm, vagy nagy: 33-42 cm. 5 perces nyugalmi időszak után kezdjük a mérést. Mindkét karon egyszerre mértjük a vérnyomásokat 4 alkalommal, egy perces időintervallumokkal. Amennyiben a harmadik, illetve negyedik mérés szisztolés értéke több mint 10 Hgmm-el a diasztolés értéke több mint 6 Hgmm-el különbözik az előző méréstől akkor addig folytatassuk a méréseket amíg a két kar közötti vérnyomásbeli különbség ezen két érték közé nem esik. A vizsgálat alatt nem szabad a beteggel beszélgetni és meg kell kérni, hogy a vizsgálat idejére maradjon nyugodtan.

A két utolsó stabil mérés alapján mindkét oldali kar artériás középnyomását kiszámoljuk, és a magasabbat dokumentáljuk.

4. függelék: Kiegészítő ultrahang paraméterek jegyzéke

Magzati ultrahang vizsgálata: A következő paraméterek kerülnek regisztrálásra.

- Vizsgálat időpontja, vizsgáló neve, vizsgáló FMF száma (Fetal Medicine Foundation által kibocsátott szám, mely egyben a szakmai kompetenciát is magában foglalja), ultrahang készülék típusa, ultrahang fej típusa
- Vitalitás vizsgálata, magzatok száma, ikerterhesség esetén annak jellege (chorionicitás, zygozítás, amnionicitás), magzati szív működés frekvenciája, CRL (45-84mm-között lehet), tarkóredő, BPD
- Ultrahang vizsgálattal megállapított terhességi kor (11.-13 hét 6 nap lehet)
- Kromoszóma markerek vizsgálata: Tarkóredő
- Rutin magzati anatómia vizsgálata: Magzati koponya, szív, gyomor, végtagok, gerinc hasfal, húgyhólyag, magzati vesék
- Placenta vizsgálata: elhelyezkedés
- Magzatvíz mennyisége
- Köldökzsinór vizsgálata: Morfológia, erek szerkezete.
- Anyai arteria uterina vizsgálata: Jobb és bal oldali arteria uterina pulzatilitási indexének vizsgálata.
- Kritériumok:
 - o Terhességi kor 11. hét – 13. hét 6 nap között legyen
 - o Az uterusról median sagittalis kép, melyen a cervicalis csatorna lefutása követhető, és a belső méhszáj egyértelműen azonosítható
 - o Az ultrahangfejet a középvonalban finoman döntve, color-doppler technikát alkalmazva keressük fel a belső méhszáj magasságában kétoldali megjelenő arteria uterinákat
 - o 2 mm-es kaput kell alkalmazni
 - o A beesési szög nem lehet több mint 30 fok
 - o Miután 3 azonos hullámformát detektáltunk, mindkét oldali hullámformák pulzatilitási indexét kiszámoljuk
 - o Képarchiválás
 - A hullámformák további matematikai elemzését az első trimeszteri program végezte

5. függelék 2x10ml vér és 1x10ml vizelet feldolgozási protokollja

A véreket két 10 ml BD® csőbe gyűjtjük [piros (plain) and lila (EDTA)]. Ha piros cső nem elérhető, akkor sárga kupakos csőbe is gyűjthető a vérminta (golden tube - géllal). A középsugár vizeletet steril csőben fogjuk fel (10ml). A piros cső a szérumnak volt, a lila a plazmának. Mindkét csövet a tetejéig meg kell tölteni (8.5 ml). Mindkét csövet és a vizeletet el kell látni az osztály azonosítójával.

A két BD® csövet és a vizeletet azonnal át kell vinni a laboratóriumba (a gyűjtéstől számított 5 percen belül). 10-15 percig szobahőmérsékleten kell állni hagyni őket, majd feldolgozni. Mindkét BD® csövet és a vizeletet egy másik laborazonosítóval is el kell látni. A két csőből kinyert frakciók adatait és a vizeletet egy a laboratóriumban rendszeresített papíron kell vezetni, valamint egy számítógépes Excel fájlba is beírni. Például: Ha 1 betegnek van 2 cső vére (piros & lila) akkor ez 8 szérummintát, 4 plazma-1 mintát, 4 plazma-2 mintát, és 2 fehérvérsejt mintát fog eredményezni.

A vizeletet 4x1,5ml-es csövekbe töltöm. A két vérrel teli csövet (piros & lila) 3000/perc sebességgel 10 percen át hűtve centrifugálok, hogy a szérumot és a plazmát elszeparáljam.

Szérum (Piros / Sárga BD® cső):

10 perc centrifugálás után meg kell győződni, hogy a szérum tisztán elvált-e a vörösvértestektől. Ha nem újabb 5 percen keresztül centrifugáljuk 3000/perc sebességgel, hűtve. 0.5ml szérumot pipetázunk át 8 darab előre felcímkézett csavaros csőbe (szérum) Gilson mikropipettát használva (mark 050). Ha a kapott szérumminta nem elegendő 8 darab előre felcímkézett csőre, akkor annyit csináljunk a mintából amennyit csak lehet, és a laboratóriumi adatlapon jelöljük, hány csavaros előre felcímkézett 0,5ml-es szérummintát sikerült kapnunk.

Plazma (Lila BD® cső):

Miután 10 percen keresztül centrifugáltuk a lila cső szét fog válni egy felső plazma rétegre, egy mélyebben ülő vörösvértest rétegre és egy vékony a két réteg között elhelyezkedő fehérvérsejt rétegre (WBC) (buffy coat). 4 x 0.5ml plazmát pipetázunk át 4 darab előre felcímkézett csavaros csőbe (plazma-1) Gilson mikropipettával (mark 050). Eldobható Pasteur pipettákkal, a plazma maradék részét 2 darab 2 ml-es Eppendorf csőbe pipetázunk át, ügyelve arra, hogy a fehérvérsejt réteget (buffy coat) ne sértsük meg. A két Eppendorf csövet ez után 13,000/perc fordulaton 10 percig centrifugáljuk. 10 perces centrifugálás után a plazmát egy Falcon csőbe át kell pipetázni, ügyelve arra, hogy a vérlemezkéket elkerüljük. Ez után 4 darab előre felcímkézett csavaros csőbe pipetázunk át 4 x 0,5 ml plazmát (plazma-

2) Gilson mikropipettát használva (mark 050). Így, 4 darab plazma-1 és 4 darab plazma-2 minta van előre felcímkézett csavaros csövekben.

WBC's – Fehérvérsejtek:

A fehérvérsejteket a buffy coat-ból aspiráljuk, mely a plazma és a vörösvértestek között van a lila csőben. Miután a plazmát lepipettáztuk, egy Pasteur pipettával finoman szívjuk fel a buffy coat-ot és tegyük bele két 1,5 ml-es Eppendorf csőbe, melyek mindegyike 0,5 ml RNA-later folyadékot tartalmaz. A fehérvérsejteket és RNA-later folyadékot tartalmazó, betegenként 2 darab, 1,5 ml-es előre felcímkézett Eppendorf csöveket 24 órára +4° hűtőbe rakom, hogy a folyadék a membránba beépülhessen, és csak a 24 óra letelte után teszem -80°-ra. A fehérvérsejt mintákat lehet csak fehérvérsejt mintákat tartalmazó számmal jelölt (minták tól-ig) 10x10-es papírdobozokba is rakni.

Kinyert minták:

A fenti procedúra után, mindegyik betegtől a következő mintákat nyertük tárolásra:

Szérum	= 8
Plasma-1	= 4
Plasma-2	= 4
WBC – fehérvérsejt	= 2
Vizelet	= 4

A mintákat ez után egy számozott (papírdoboz száma, benne levő minták azonosítói tól-ig) papírdobozba helyezük. A papírdobozt ezt követően ideiglenesen -20° -n tárolható majd -80° hűtőbe helyezük el rack-okba. A legjobb, ha azonnal -80°-ra tesszük, -20°-n csak a napi munka végéig maradhat.

6. függelék - Utánkövetésre használt kérdőív

Tisztelt Asszonyom!

Ön 2010-2013 között részt vett a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, valamint a nyíregyházi Jósa András Oktatókórház Egészségügyi Szolgáltató Nonprofit Kft., Szülészet-Nőgyógyászati Osztálya által szervezett praeclamsiat (terhességi toxemia, terhességi mérgezés), valamint terhességi cukorbetegséget kutató tanulmányban, de egyelőre nincs tudomásunk terhessége kimeneteléről. Kérem ezért, hogy az alábbi kérdésekre válaszolni és a kitöltött kérdőívet a mellékelt válaszboríték segítségével címemre visszaküldeni szíveskedjék.

Természetesen az **ÖN által közölt információkra is vonatkozik az orvosi titoktartás.**

1. Szüléssel, vetéléssel kapcsolatos kérdések

Vetelés esetén:

Szülészeti intézmény neve és címe:

Időpont:.....Terhességi hét:.....

Vetelés formája: Spontán (magától vetélt el) Művi (terhességmegszakítás történt)

Szülés esetén:

Szülészeti osztály neve és címe:

Szülés időpontja:Terhességi hét:.....Súly.....

Szülés formája: Hüvelyi Császármetszés

A gyermek neve:TAJ száma.....

Terhesség alatt:

Felépt-e Önénél terhessége során (vetélést is beleértve) praeclampsia/terhességi toxoemia/magasvérnyomás betegség, volt e terhességi cukorbetegsége?

Észlelte-e vizeletében nagyobb mennyiségű fehérjét?

Vérképben, vércukorban volt-e eltérést?

Tünetek jelentkezésének kezdete:.....terhességi hét

A kérdéses információk megválaszolásában segítségére lehetnek a szülés után kapott zárójelentések, ambuláns beteglapok, vér-vizelet eredmények, diagnózisok. Szívesen fogadjuk ezen dokumentumok másolatait is. A lap túloldalára is írhat!

Család vagy édesanya vagy édesapa elérhetősége (címe).....

.....telefonszáma: 06-.....

Ezúton is kérnénk szíves hozzájárulását, hogy amennyiben kérdésünk merülne fel, Önt telefonon megkereshessük.

Köszönettel :

Dr. Török Olga egyetemi docens

Dr. Orosz László

DEOEC Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

Klinikai orvos

16. Irodalomjegyzék

16.1. Az értekezés alapjául szolgáló és a további közlemények hitelesített listája



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/26/2020.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Orosz László
Neptun kód: G7GMNY
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10032549

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Orosz, L.**, Orosz, G. B., Veress, L., Dósa, D., Orosz, L., Arany, I., Fábián, A., Medve, L., Pap, K., Karányi, Z., Tóth, Z., Póka, R., Than, N. G., Török, O.: Screening for preeclampsia in the first trimester of pregnancy in routine clinical practice in Hungary.
J. Biotechnol. 300, 11-19, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.04.017>
IF: 3.163 (2018)
2. Than, N. G., Romero, R., Tarca, A. L., Kékesi, K. A., Xu, Y., Xu, Z., Juhász, K., Bhatti, G., Leavitt, R. J., Gelencsér, Z., Pálhalmi, J., Chung, T. H., Györffy, B., **Orosz, L.**, Demeter, A., Szécsi, A., Hunyadi-Gulyás, É., Darula, Z., Simor, A., Eder, K., Szabó, S., Topping, V., El-Azzamy, H., LaJeunesse, C., Balogh, A., Szalai, G., Land, S., Török, O., Dong, Z., Kovalszky, I., Falus, A., Meiri, H., Draghici, S., Hassan, S. S., Chaiworapongsa, T., Krispin, M., Knöfler, M., Erez, O., Burton, G. J., Kim, C. J., Juhász, G., Papp, Z.: Integrated Systems Biology Approach Identifies Novel Maternal and Placental Pathways of Preeclampsia.
Front. Immunol. 9, 1-41, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.01661>
IF: 4.716
3. Gyöngyösi, A., Dócs, O., Czimmerer, Z., **Orosz, L.**, Horváth, A., Török, O., Méhes, G., Nagy, L., Bálint, B. L.: Measuring expression levels of small regulatory RNA molecules from body fluids and formalin-fixed, paraffin-embedded samples.
Methods Mol. Biol. 1182, 105-119, 2014.
DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-1062-5_10
4. **Orosz, L.**, Lukács, J., Szabó, M., Kovács, T., Zsupán, I., Orosz, G. B., Tóth, Z., Török, O.: Long-term Outcome of Pregnancies with Increased Nuchal Translucency and Normal Karyotype.
DSJUOG. 3 (3), 53-59, 2009.





További közlemények

5. Szóke, J., Lukács, J., **Orosz, L.**, Póka, R.: Az első trimeszterben felismert 15 cm-es myomás góc sikeres eltávolítása: esetismertetés.
Magy Noorv Lapja. 81 (5), 13-18, 2018.
6. Molnár, G., **Orosz, L.**, Vizer, M.: A fetoszkópia alkalmazása iker-iker transzfúziós szindrómában.
In: *Nőgyógyászati Laparoszópia és Hízteroszópia / Gergő György, Molnár-G. Béla, Orosz László, Semmelweis Kiadó, Budapest, 311-315, 2017.*
7. Török, P., **Orosz, L.**, Jakab, A.: Birth after Hysteroscopic Intrauterine Insemination at Labial Adhesion.
Austin J. Reprod. Med. Infertil. 3 (1), 1-2, 2016.
8. Peeva, G., Bower, S., **Orosz, L.**, Chaveeva, P., Akolekar, R., Nicolaidis, K. H.: Endoscopic Placental Laser Coagulation in Monochorionic Diamniotic Twins with Type II Selective Fetal Growth Restriction.
Fetal Diagn. Ther. 38 (2), 86-93, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000374109>
IF: 2.7
9. Chaveeva, P., Kosinski, P., Birdir, C., **Orosz, L.**, Nicolaidis, K. H.: Embryo Reduction in Dichorionic Triplets to Dichorionic Twins by Intrafetal Laser.
Fetal Diagn. Ther. 35 (2), 83-86, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000356950>
IF: 2.939
10. Fodor, A., Györffy, A., **Orosz, L.**, Major, T.: Haemorrhologiai változások és azok klinikai jelentősége praeclampsziában.
Orv. Hetil. 152 (6), 205-211, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2011.29031>

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 13,518

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 7,879

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudósterbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2020.02.13.



16.2. Hivatkozott közlemények jegyzéke

- 1 Ministry of Health Report: 1929 Memorandum on Antenatal Clinics: Their Conduct and Scope. London, His Majesty's Stationery Office, 1930.
- 2 Nicolaides KH, Turning the Pyramid of Prenatal Care. *Fetal Diagn Ther* 2011;29:183–96.
- 3 Santorum M, Wright D, Syngelaki A et al.: Accuracy of First-Trimester Combined Test in Screening for Trisomies 21, 18 and 13; *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2017 Jun;49(6):714-20.
- 4 Snijders RJ, Noble P, Sebire N et al.: UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10–14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group. *Lancet* 1998; 352: 343–46.
- 5 Gil MM, Revello R, Poon LC et al: Clinical implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;47:45-52.
- 6 Quezada MS, Gil MM, Francisco C et al: Screening for trisomies 21, 18 and 13 by cell-free DNA analysis of maternal blood at 10-11 weeks' gestation and the combined test at 11-13 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45:36-41.
- 7 Spencer K, Souter V, Tul N et al.: A screening program for trisomy 21 at 10–14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 13: 231–37.
- 8 Kagan KO, Wright D, Nicolaides KH. First-trimester contingent screening for trisomies 21, 18 and 13 by fetal nuchal translucency and ductus venosus flow and maternal blood cell-free DNA testing. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45:42-7.
- 9 Syngelaki E, Homfray T et al: Replacing the combined test by cell-free DNA testing in screening for trisomies 21, 18 and 13: impact on the diagnosis of other chromosomal abnormalities. *Fetal Diagn Ther* 2014;35:174-84.
- 10 Wright D, Syngelaki A, Bradbury I et al: First-trimester screening for trisomies 21, 18 and 13 by ultrasound and biochemical testing. *Fetal Diagn Ther* 2014;35:118-26.
- 11 Nicolaides KH, Wright D, Poon LC et al.: First-trimester contingent screening for trisomy 21 by biomarkers and maternal blood cell-free DNA testing. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;42:41-50.
- 12 Maiz N, Wright D, Ferreira AF et al.: A mixture model of ductus venosus pulsatility index in screening for aneuploidies at 11-13 weeks' gestation. *Fetal Diagn Ther* 2012;31:221-9.
- 13 Wright D, Syngelaki A, Birdir C et al: First-Trimester Screening for Trisomy 21 with Adjustment for Biochemical Results of Previous Pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 2011;30:194-202.
- 14 Nicolaides KH. A model for a new pyramid of prenatal care based on the 11 to 13 weeks' assessment. *Prenat Diagn* 2011;31:3-6.
- 15 Kagan K, Staboulidou I, Cruz JJ et al: Two-stage first-trimester screening for trisomy 21 by ultrasound assessment and biochemical testing. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010;36:542-7.
- 16 Lithner C, Kublickas E.: Pregnancy outcome for fetuses with increased nuchal translucency but normal karyotype. *J Med Screen*. 2016 Mar;23(1):1-6.
- 17 Orosz L., Lukács J., Szabó M. et al.: Long-term Outcome of Pregnancies with Increased Nuchal Translucency and Normal Karyotype. *DSJUOG*;2009; 3 (3), 53-59.
- 18 Brown M, Magee L, Kenny L, et al.: Hypertensive Disorders of Pregnancy ISSHP Classification, Diagnosis, and Management Recommendations for International Practice, *Hypertension*. 2018;72:24–43.
- 19 Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists'. Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2013;122(5):1122-31.
- 20 Duley L., 2009. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol.*,2009;33(3):130-7.
- 21 Chaiworapongsa T., Chaemsaihong P., Yeo L et al: Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology., *Nat Rev Nephrol.*,2014; 10(8):466-80.
- 22 Gardosi, J., Kady, S.M., McGeown, P. et al: Classification of stillbirth by relevant condition at death (ReCoDe): population-based cohort study. *BMJ.*,2005;12;331(7525):1113-7.
- 23 Dhariwal N.K., Lynde G.C.: Update in the Management of Patients with Preeclampsia. *Anesthesiol Clin.*,2017; Mar;35(1):95-106.
- 24 Young BC, Levine RJ, Karumanchi SA.: Pathogenesis of preeclampsia, *Annu Rev Pathol*. 2010;5:173-92.
- 25 Anna F ,Ewelina J: Preeclampsia - A Disease of Pregnant Women; *Postepy Biochem*, 2018 Dec 29;64(4):232-229.

-
- 26 Amel A F El-Sayed : Preeclampsia: A Review of the Pathogenesis and Possible Management Strategies Based on Its Pathophysiological Derangements Taiwan J Obstet Gynecol; 2017 Oct;56(5):593-98.
- 27 Sarosh R , Elizabeth L , Joey P et al: Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives; Circ Res, 2019 Mar 29;124(7):1094-112.
- 28 Akolekar R, Cruz JJ, Foidart JM et al: Maternal plasma soluble fms-like tyrosine kinase-1 and free vascular endothelial growth factor at 11 to 13 weeks of gestation in preeclampsia. Prenat Diagn 2010;30:191-7.
- 29 Nina D Paauw I, A Titia Lely: Cardiovascular Sequels During and After Preeclampsia;Adv Exp Med Biol2018;1065:455-470.
- 30 Céline Méhats I, Francisco Miralles I, Daniel Vaiman: New Perspectives on Preeclampsia;Med Sci (Paris),2017 Dec;33(12):1079-1088.
- 31 Marzena Laskowska: Preeclampsia - Aetiopathogenesis and Clinical Management;Curr Pharm Biotechnol, 2018;19(10):762-63.
- 32 Elizabeth A Phipps, Ravi Thadhani, Thomas Benzinger et al:Preeclampsia: Pathogenesis, Novel Diagnostics and Therapies;Nat Rev Nephrol, 2019 May;15(5):275-89.
- 33 Dahlia Raymond I, Erika Peterson: A Critical Review of Early-Onset and Late-Onset Preeclampsia;Obstet Gynecol Surv, 2011 Aug;66(8):497-506.
- 34 Jennifer A Hutcheon I, Sarka Lisonkova, K S Joseph: Epidemiology of Pre-Eclampsia and the Other Hypertensive Disorders of Pregnancy;Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2011 Aug;25(4):391-403.
- 35 Rebecca Allen I, Ewelina Rogozinska, Priya Sivarajasingam et al: Effect of Diet- And Lifestyle-Based Metabolic Risk-Modifying Interventions on Preeclampsia: A Meta-Analysis;Acta Obstet Gynecol Scand, 2014 Oct;93(10):973-85.
- 36 Nathalie Acestor, Jane Goett, Arthur Lee et al: Towards Biomarker-Based Tests That Can Facilitate Decisions About Prevention and Management of Preeclampsia in Low-Resource Settings;Clin Chem Lab Med,2016 Jan;54(1):17-27.
- 37 Silver RM, Zhao Y, Spong CY. et al.: Prothrombin gene G20210A mutation and obstetric complications. Obstet Gynecol. 2010 Jan;115(1):14-20.
- 38 Barbosa AS, Pereira AK, Reis ZS. et al.: Ophthalmic artery-resistive index and evidence of overperfusion-related encephalopathy in severe preeclampsia. Hypertension. 2010 Jan;55(1):189-93.
- 39 Illanes S, Parra M, Serra R. et al.: Increased free fetal DNA levels in early pregnancy plasma of women who subsequently develop preeclampsia and intrauterine growth restriction. Prenat Diagn. 2009 Dec;29(12):1118-22.
- 40 Akolekar R, Syngelaki A, Beta J. et al.:Maternal serum placental protein 13 at 11-13 weeks of gestation in preeclampsia. Prenat Diagn. 2009 Dec;29(12):1103-8.
- 41 Akolekar R, Etchegaray A, Zhou Y. et al.: Maternal serum activin at 11-13 weeks of gestation in hypertensive disorders of pregnancy. Fetal Diagn Ther. 2009;25(3):320-7.
- 42 Farina A, Morano D, Arcelli D. et al.: Gene expression in chorionic villous samples at 11 weeks of gestation in women who develop preeclampsia later in pregnancy: implications for screening. Prenat Diagn. 2009 Nov;29(11):1038-44.
- 43 Losonczy Gy, G. Brown, R. C. Venuto: Increased peripheral resistance during reduced uterine perfusion pressure hypertension in pregnant rabbits, Am J Med Sci 1992. 303. 233-40.
- 44 Khalil A, Cowans NJ, Spencer K et al.: First trimester markers for the prediction of pre-eclampsia in women with a priori high risk. Ultrasound Obstet Gynecol., 2010 Jun;35(6):671-9.
- 45 Leinonen E, Wathén KA, Alfthan H. et al.: Maternal serum angiopoietin-1 and -2 and tie-2 in early pregnancy ending in preeclampsia or intrauterine growth retardation., J Clin Endocrinol Metab., 2010 Jan;95(1):126-33.
- 46 Staboulidou I, Galindo A, Maiz N. et al.: First-trimester uterine artery Doppler and serum pregnancy-associated plasma protein-a in preeclampsia and chromosomal defects., Fetal Diagn Ther, 2009;25(3):336-9.
- 47 Poon LC, Akolekar R, Lachmann R, Beta J, Nicolaides KH. Hypertensive disorders in pregnancy: screening by biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. Ultrasound Obstet Gynecol 2010;35:662-70.
- 48 Yaron et al.: Decreased first trimester PAPP-A is a predictor of adverse pregnancy outcome. Prenat Diagn 2002;22:778-82.
- 49 Khalil A, Maiz N, Garcia-Mandujano R, Penco JM, Nicolaides KH. Longitudinal changes in maternal serum placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase-1 in women at increased risk of pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2016;47:324-31.
- 50 Nanda S, Akolekar R, Sarquis R. et al.:Maternal serum adiponectin at 11-13 weeks of gestation in prediction of macrosomia.; Prenat Diagn 2011;31:479-83.

-
- 51 Akolekar R, Casagrandi D, Livanos P. et al.: Maternal plasma pentraxin 3 at 11 to 13 weeks of gestation in hypertensive disorders of pregnancy. *Prenat Diagn*;2009; 29: 934–38.
- 52 Akolekar R, Veduta A, Minekawa R. et al.: Maternal plasma P-selectin at 11 to 13 weeks of gestation in hypertensive disorders of pregnancy. *Hypertens Pregnancy*, 2011;30(3):311-21.
- 53 Akolekar R, Etcheharay A, Zhou Y. et al.: Maternal serum activin A at 11 to 13 weeks of gestation in hypertensive disorders of pregnancy. *Fetal Diagn Ther*;2009; 25: 322–27.
- 54 Akolekar R, Minekawa R, Veduta A. et al.: Maternal plasma inhibin A at 11 to 13 weeks of gestation in hypertensive disorders of pregnancy. *Prenat Diagn*;2009; 29: 753–60.
- 55 Spencer K, Cowans NJ, Nicolaides KH. Maternal serum inhibin-A and activin-A levels in the first trimester of pregnancies developing pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008;32:622-6.
- 56 Christiansen MS, Hesse D, Ekbom P, et al. Increased urinary orosomucoid excretion predicts preeclampsia in pregnant women with pregestational type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;89(1):16-21.
- 57 Akolekar R, Syngelaki A, Sarquis R. at al.: Prediction of preeclampsia from biophysical and biochemical markers at 11–13 weeks. *Prenat Diagn* 2011; 31: 66–74.
- 58 Leañós-Miranda A, Navarro-Romero CS, Sillas-Pardo LJ et al.: Soluble Endoglin As a Marker for Preeclampsia, Its Severity, and the Occurrence of Adverse Outcomes. *Hypertension.* 2019;74(4):991-97.
- 59 Agrawal S, Cerdeira AS, Redman C et al.: Meta-Analysis and Systematic Review to Assess the Role of Soluble FMS-Like Tyrosine Kinase-1 and Placenta Growth Factor Ratio in Prediction of Preeclampsia: The SaPPPhirE Study. *Hypertension.* 2018;71(2):306-16.
- 60 Bian X, Biswas A, Huang X, et al. Short-Term Prediction of Adverse Outcomes Using the sFlt-1 (Soluble fms-Like Tyrosine Kinase 1)/PIGF (Placental Growth Factor) Ratio in Asian Women With Suspected Preeclampsia. *Hypertension.* 2019;74(1):164-72.
- 61 Cui L, Shu C, Liu Z, et al. Serum protein marker panel for predicting preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2018;14:279-85.
- 62 Zeisler H, Llorba E, Chantraine F, et al. Predictive Value of the sFlt-1:PIGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med.* 2016;374(1):13-22.
- 63 Brownfoot FC, Hastie R, Hannan NJ, et al. Metformin as a prevention and treatment for preeclampsia: effects on soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin secretion and endothelial dysfunction. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(3):356.e1-356.e15.
- 64 Sammar M, Dragovic R, Meiri H, et al. Reduced placental protein 13 (PP13) in placental derived syncytiotrophoblast extracellular vesicles in preeclampsia - A novel tool to study the impaired cargo transmission of the placenta to the maternal organs. *Placenta.* 2018;66:17-25.
- 65 Akolekar R, Syngelaki A, Beta J. at al.: Maternal serum placental protein 13 at 11–13 weeks of gestation in preeclampsia. *Prenat Diagn*; 2009; 29: 1103–8.
- 66 Rana S., Karumanchi S.A., Levine R.J.: Sequential changes in antiangiogenic factors in early pregnancy and risk of developing preeclampsia. *Hypertension* 2007;50:137–42.
- 67 Chafetz I., Kuhnreich I., Sammar M.: First-trimester placental protein 13 screening for preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197:35.e1–35.e7.
- 68 Hofmeyr G.J., Atallah A.N., Duley L.: Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. *Cochrane Database Syst Rev* 2014 Jun 24;(6):CD001059.
- 69 Khaing W, Vallibhakara SA, Tantrakul V, et al. Calcium and Vitamin D Supplementation for Prevention of Preeclampsia: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Nutrients.* 2017;9(10):1141.
- 70 Contini C, Winkler BS, Maass N et al.: Concomitant intrauterine growth restriction alters the lipoprotein profile in preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2019;15:154-60.
- 71 Than NG, Romero R, Hillermann R. et al: Prediction of preeclampsia - a workshop report. *Placenta.* 2008 Mar;29 Suppl A:S83-5.
- 72 Toldi G, Bíró E, Szalay B. et al.: Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels in healthy pregnancy and preeclampsia. *Clin Chem Lab Med.* 2011 Nov;49(11):1873-6.
- 73 Valent S, Németh J, Sára L. et al.: High early uterine vascular resistance values increase the risk of adverse pregnancy outcome independently from placental VEGF and VEGFR1 reactivities. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011 Jun;156(2):165-70.

-
- 74 Bartsch E, Medcalf KE, Park AL et al.: High Risk of Pre-eclampsia Identification Group. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *BMJ*. 2016;353:i1753.
- 75 Abhari FR, Ghanbari Andarieh M et al.: Estimating rate of insulin resistance in patients with preeclampsia using HOMA-IR index and comparison with nonpreeclampsia pregnant women. *Biomed Res Int*. 2014;140851.
- 76 Boeldt DS, Bird IM. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia. *J Endocrinol*. 2017;232(1):R27-R44.
- 77 Tomimatsu T, Mimura K, Matsuzaki S et al.: Preeclampsia: Maternal Systemic Vascular Disorder Caused by Generalized Endothelial Dysfunction Due to Placental Antiangiogenic Factors. *Int J Mol Sci*. 2019;20(17):4246.
- 78 Brennan LJ, Morton JS, Davidge ST.:Vascular dysfunction in preeclampsia. *Microcirculation*. 2014;21(1):4-14.
- 79 amalzei B, Fallah S, Kashanian M et al.: Association of the apolipoprotein E variants with susceptibility to pregnancy with preeclampsia. *Clin Lab*. 2013;59(5-6):563-70.
- 80 Abyadeh M, Heydarinejad F, Khakpash M et al.: Association of Apolipoprotein E gene polymorphism with Preeclampsia: a meta-analysis. *Hypertens Pregnancy*. 2020;39(2):196-202.
- 81 Nagy B, Rigo J, Fintor L.: Apolipoprotein E alleles in women with severe pre-eclampsia. *J Clin Pathol* 1998;51:324–25.
- 82 Kalousová M, Muravská A, Zima T.: Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) and preeclampsia. *Adv Clin Chem*. 2014;63:169-209.
- 83 Kevin S, Christina K, Nicholas J et al.: Prediction of pregnancy complications by first-trimester maternal serum PAPP-A and free beta-hCG and with second-trimester uterine artery Dopple. *Prenat Diagn*. 2005;25(10):949-53.
- 84 Chau K, Hennessy A, Makris A.: Placental growth factor and pre-eclampsia. *J Hum Hypertens*. 2017;31(12):782-6.
- 85 Khalil A, Muttukrishna S, Harrington K. et al.:Effect of antihypertensive therapy with alpha methyl dopa on levels of angiogenic factors in pregnancies with hypertensive disorders; *PLoS One*.; 2008 Jul 23;3(7):e2766.
- 86 Bian X, Biswas A, Huang X. et al.: Short-Term Prediction of Adverse Outcomes Using the sFlt-1 (Soluble fms-Like Tyrosine Kinase 1)/PIGF (Placental Growth Factor) Ratio in Asian Women With Suspected Preeclampsia. *Hypertension*. 2019 Jul;74(1):164-72.
- 87 Serin S, Avcı F, Ercan O. et al.: Is neutrophil/lymphocyte ratio a useful marker to predict the severity of pre-eclampsia? *Pregnancy Hypertens*. 2016 Jan;6(1):22-5.
- 88 Johnston RC., Stephenson ML., Paraghamian S., et al.: Assessing progression from mild to severe preeclampsia in expectantly managed preterm parturients. *Pregnancy Hypertens*. 2016 Oct;6(4):340-3.
- 89 Bahado-Singh, R.O., Syngelaki, A., Akolekar, R., et al.: Validation of metabolomic models for prediction of early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*.;2015; 213(4):530.e1-530.e10.
- 90 Espinoza J. The need to redefine preeclampsia. *Expert Opin Med Diagn*. 2012;6(4):347-57.
- 91 Poon L.C., Kametas N.A., Maiz N., et al.: First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. ;2009;*Hypertension*. 53(5):812-8.
- 92 Karagiannis G, Akolekar R, Sarquis R. et al.: Prediction of small for gestation neonates from biophysical and biochemical markers at 11–13 weeks. *Fetal Diagn Ther*; 2011;29(2):148-54.
- 93 Thilaganathan B, and Kalafat E.: Cardiovascular System in Preeclampsia and Beyond. *Hypertension*. 2019 Mar; 73(3): 522–531.
- 94 McGinnis R, Steinhorsdottir V, Williams NO. et al.: Variants in the fetal genome near FLT1 are associated with risk of preeclampsia. *Nat Genet*. 2017 Aug;49(8):1255-1260.
- 95 Chaiworapongsa T., Chaemsaitong P., Korzeniewski S.J., et al.: Pre-eclampsia part 2: prediction, prevention and management. *Nat Rev Nephrol*.;2014;10(9):531-40.
- 96 Rolnik D.L., Wright D., Poon L.C., et al.: Aspirin versus Placebo in Pregnancies at High Risk for Preterm Preeclampsia. *N Engl J Med*.;2017; 17;377(7):613-22.
- 97 Rolnik D.L., Wright, D., Poon, L.C.Y. et al.: ASPRE trial: performance of screening for preterm pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol*.;2017; 50(4):492-95.
- 98 Poon et al. ASPRE trial: incidence of preterm preeclampsia in patients fulfilling ACOG and NICE criteria according to risk by the FMF algorithm.; *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Jun;51(6):738-42.
- 99 Wright D., Syngelaki A., Akolekar R. et al.: Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal characteristics and medical history. *Am J Obstet Gynecol*.;2015; 213(1):62.e1-62.e10.

-
- 100 O'Gorman, N., Wright, D., Poon, L.C. et al.: Multicenter screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks' gestation: comparison to NICE guidelines and ACOG recommendations. *Ultrasound Obstet Gynecol.*;2017;49(6):756-60.
- 101 Poon, L.C., Maiz, N., Valencia, C. et al.: First-trimester maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A and pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.*;2009; 33(1):23-33.
- 102 Foidart, J.M., Munaut, C., Chantraine, F. et al.: Maternal plasma soluble endoglin at 11-13 weeks' gestation in pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.*, 2010; 35(6):680-7.
- 103 Akolekar R, Syngelaki A, Sarquis R. et al.: Prediction of early, intermediate and late preeclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. *Prenat Diagn* 2011;31:66-74.
- 104 Akolekar R, Syngelaki A, Poon L. et al.: Competing risks model in early screening for preeclampsia by biophysical and biochemical markers. *Fetal Diagn Ther.* 2013;33(1):8-15.
- 105 Erez, O, Romero, R, Maymon, E. et al.: The prediction of late-onset preeclampsia: Results from a longitudinal proteomics study. *PLoS One.*;2017; 12(7):e0181468.
- 106 Poon, LC, Staboulidou, I, Maiz, N. et al.: Hypertensive disorders in pregnancy: screening by uterine artery Doppler at 11-13 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol.*;2009; 34(2):142-8.
- 107 Poon, LC, Kametas, NA, Chelemen, T. et al.: Maternal risk factors for hypertensive disorders in pregnancy: a multivariate approach. *J Hum Hypertens.*;2010; 24(2):104-10.
- 108 Poon, LC, Stratieva, V, Piras, S. et al.: Hypertensive disorders in pregnancy: combined screening by uterine artery Doppler, blood pressure and serum PAPP-A at 11-13 weeks. *Prenat Diagn.*;2010; 30(3):216-23.
- 109 Pilalis, A, Souka, AP., Antsaklis, P. et al.: Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler and PAPP-A at 11-14 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.*;2007; 29(2):135-40.
- 110 Scuzzocchio, E., Figueras, F., Crispi, F. et al.: Performance of a first-trimester screening of preeclampsia in a routine care low-risk setting. *Am J Obstet Gynecol.*;2013; 208(3):203.e1-203.e10.
- 111 Agarwal, R., Chaudhary, S., Kar, R., Radhakrishnan, G. et al.: Prediction of preeclampsia in primigravida in late first trimester using serum placental growth factor alone and by combination model. *J Obstet Gynaecol.*;2017; 37(7):877-82.
- 112 Timmis, A., Townsend, N., Gale, C. et al.: European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2017. *Eur Heart J.*;2017; 14;39(7):508-79.
- 113 Wang XR, Zhang JJ, Xu XX. et al.: Prevalence of coronary artery calcification and its association with mortality, cardiovascular events in patients with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Ren Fail.* 2019;41(1):244-56.
- 114 Allen RE, Zamora J, Arroyo-Manzano D. et al.: External validation of preexisting first trimester preeclampsia prediction models. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2017 Oct;217:119-25.
- 115 Giguère Y, Charland M, Bujold E. et al.: Combining Biochemical and Ultrasonographic Markers in Predicting Preeclampsia: A Systematic Review; *Clin Chem.* 2010 Mar;56(3):361-75.
- 116 Hedley PL, Placing S, Wojdemann K. et al.: Free leptin index and PAPP-A: a first trimester maternal serum screening test for pre-eclampsia. *Prenat Diagn.* 2010 Feb;30(2):103-9.
- 117 Kusanovic JP, Romero R, Chaiworapongsa T. et al.: A prospective cohort study of the value of maternal plasma concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in early pregnancy and midtrimester in the identification of patients destined to develop preeclampsia.; *J Matern Fetal Neonatal Med*; 2009 Nov;22(11):1021-38.
- 118 Adams T, Yeh C, Bennett-Kunzier N. et al.: Long-term maternal morbidity and mortality associated with ischemic placental disease. *Semin Perinatol*; 2014; 38(3):146-50.
- 119 Askie LM, Duley L, Henderson-Smart DJ. et al.: Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet* 2007;369:1791-8.
- 120 Bujold E, Roberge S, Lacasse Y. et al.: Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: a meta-analysis. *Obstet Gynecol*;2010; 116:402-14.
- 121 Roberge S, Bujold E, Nicolaides K.: Aspirin for the prevention of preterm and term preeclampsia: systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2018 Mar;218(3):287-293.e1

-
- 122 Roberge S, Villa P, Nicolaides K. et al.: Early administration of lowdoseaspirin for the prevention of preterm and term preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Fetal Diagn Ther* 2012;31:141-6.
- 123 Caron N, Rivard GE, Michon N. et al.: Low-dose ASA response using the PFA-100 in women with high-risk pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can* 2009;31:1022-7.
- 124 Nørgård B, Puhó E, Czeizel AE. et al.: Aspirin use during early pregnancy and the risk of congenital abnormalities: a population-based case-control study. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:922-3.
- 125 Roberge S, Bujold E, Nicolaides KH.: Meta-analysis on the effect of aspirin use for prevention of preeclampsia on placental abruption and antepartum hemorrhage; *Am J Obstet Gynecol*. 2018 May;218(5):483-9.
- 126 Rotchell YE, Cruickshank JK, Gay MP. et al.: Low Dose Aspirin Study in Pregnancy (BLASP): a randomised trial for the prevention of pre-eclampsia and its complications. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:286-92.
- 127 Sibai BM, Caritis SN, Thom E. et al.: Low-dose aspirin in nulliparous women: safety of continuous epidural block and correlation between bleeding time and maternal-neonatal bleeding complications. National Institute of Child Health and Human Developmental Maternal-Fetal Medicine Network. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:1553-7.
- 128 Schiessl B, Schneider KT, Zimmermann A. et al.: Prenatal constriction of the fetal ductus arteriosus--related to maternal pain medication? *Z Geburtshilfe Neonatol*; 2005;209:65-8.
- 129 Duley L, Henderson-Smart DJ, Meher S. et al.: Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007 Apr 18;(2):CD004659.
- 130 Than N.G., Romero R., Tarca A.L. et al.: Integrated Systems Biology Approach Identifies Novel Maternal and Placental Pathways of Preeclampsia. *Front Immunol*.;2018; 8;9:1661.
- 131 Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA.: Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease.; *Circulation*. 2011 Jun 21;123(24):2856-69.
- 132 Girardi G.: Complement activation, a threat to pregnancy. *Semin Immunopathol*; 2018, 40(1):103–11.
- 133 Lokki AI, Heikkinen-Eloranta J, Jarva H. et al.: Saisto T, Lokki ML, Laivuori H, et al. Complement activation and regulation in preeclamptic placenta. *Front Immunol*;2014; 5:312.
- 134 Marshall SA, Hannan NJ, Jelinic M. et al.: Animal models of preeclampsia: translational failings and why. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2018;314(4):R499-R508.
- 135 Cotechini T, Komisarenko M, Sperou A. et al.: Inflammation in rat pregnancy inhibits spiral artery remodel-ing leading to fetal growth restriction and features of preeclampsia. *J Exp Med*;2014; 211(1):165–79.
- 136 <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=A1400026>.EMM Letöltés: 2018.07.14
- 137 Lobo, G.A.R., Nowak, P.M., Panigassi, A.P. et al.: Validation of Fetal Medicine Foundation algorithm for prediction of pre-eclampsia in the first trimester in an unselected Brazilian population. *J Matern Fetal Neonatal Med*.;2019; 32(2):286-92.
- 138 Gallo D., Poon L.C., Fernandez M. et al.: Prediction of preeclampsia by mean arterial pressure at 11-13 and 20-24 weeks' gestation. *Fetal Diagn Ther*;2014; 36(1):28-37.
- 139 Khalil A., Garcia-Mandujano R., Maiz N. et al.: Longitudinal changes in uterine artery Doppler and blood pressure and risk of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol*.;2014; 43(5):541-7.
- 140 Tranquilli AL, Dekker G, Magee L. et al.: The classification, diagnosis and management of the hypertensive disorders of pregnancy: A revised statement from the ISSHP, *Pregnancy Hypertens*. 2014 Apr;4(2):97-104.
- 141 www.who.int/.../reproductivehealth/.../weight_percentiles_calculator.x... Letöltés: 2018.05.24
- 142 Ankumah NE, Sibai BM.:Chronic Hypertension in Pregnancy: Diagnosis, Management, and Outcomes. *Clin Obstet Gynecol*. 2017;60(1):206-14.
- 143 Wright D, Gallo DM, Gil Pugliese S. et al.: Contingent screening for preterm pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;47:554-9.
- 144 Shamsi U., Hatcher J., Shamsi A. et al.: A multicenter matched case control study of risk factors for preeclampsia in healthy women in Pakistan. *BMC Womens Health*;2010; 10:14.
- 145 Oliveira N., Magder L.S., Blitzer, M.G. et al.: First-trimester prediction of pre-eclampsia: external validity of algorithms in a prospectively enrolled cohort. ;2014; 44(3):279-85.

-
- 146 Teixeira C., Tejera E, Martins H. et al.: First trimester aneuploidy screening program for preeclampsia prediction in a portuguese obstetric population. *Obstet Gynecol Int*;2014;2014:435037.
- 147 Cheng Y., Leung T.Y., Law L.W. et al.: First trimester screening for pre-eclampsia in Chinese pregnancies: case-control study. ;2018; 125(4):442-9.
- 148 Sepúlveda-Martínez A., Rencoret G., Silva M.C. et al.: First trimester screening for preterm and term pre-eclampsia by maternal characteristics and biophysical markers in a low-risk population. *J Obstet Gynaecol Res.*;2019; 45(1):104-12.
- 149 Lampe R., Szucs S., Adany R. et al.: Granulocyte superoxide anion production and regulation by plasma factors in normal and preeclamptic pregnancy. *J Reprod Immunol.*;2011; 89(2):199-206.
- 150 Haram K., Mortensen J.H., Nagy B.: Genetic aspects of preeclampsia and the HELLP syndrome. *J Pregnancy*;2014; 2014:910751.
- 151 Hahn S., Lapaire O., Than N.G.: Biomarker development for presymptomatic molecular diagnosis of preeclampsia: feasible, useful or even unnecessary? *Expert Rev Mol Diagn.*;2015;15(5):617-29.
- 152 Lampe R., Kover A., Szucs S. et al.: The effect of healthy pregnant plasma and preeclamptic plasma on the phagocytosis index of neutrophil granulocytes and monocytes of nonpregnant women. *Hypertens Pregnancy.*;2017; 36(1):59-63.
- 153 Crispi F., Domínguez C., Llorba E. et al.: Placental angiogenic growth factors and uterine artery Doppler findings for characterization of different subsets in preeclampsia and in isolated intrauterine growth restriction. ;2006; 195(1):201-7.
- 154 Sharony R, Sharon-Weiner M, Kidron D. et al.: The association between maternal serum first trimester free β hCG, second trimester intact hCG levels and foetal growth restriction and preeclampsia;2018 Apr;38(3):363-6.
- 155 Akolekar, R., Minekawa, R., Veduta, A. et al.: Maternal plasma inhibin A at 11-13 weeks of gestation in hypertensive disorders of pregnancy. *Prenat Diagn*;2009; 29(8):753-60.
- 156 Browne J, Klipstein-Grobusch K, Koster M. et al.: Pregnancy Associated Plasma Protein-A and Placental Growth Factor in a Sub-Saharan African Population: A Nested Cross-Sectional Study. *PLoS One.* 2016; 11(8): e0159592.
- 157 Eastabrook G, Aksoy T, Bedell S. et al.: Preeclampsia biomarkers: An assessment of maternal cardiometabolic health. *Pregnancy Hypertens.* 2018;13:204-213.
- 158 Espino Y Sosa S, Flores-Pliego A et al.: New Insights into the Role of Matrix Metalloproteinases in Preeclampsia. *Int J Mol Sci.* 2017;18(7):1448.
- 159 Romero, R., Erez O., Hüttemann M.n et al.: Metformin, the aspirin of the 21st century: its role in gestational diabetes mellitus, prevention of preeclampsia and cancer, and the promotion of longevity. *Am J Obstet Gynecol.*;2017;217(3):282-302.
- 160 Rafaeli-Yehudai, T., Imterat M., Douvdevani A. et al.: Maternal total cell-free DNA in preeclampsia and fetal growth restriction: Evidence of differences in maternal response to abnormal implantation. *PLoS One.*;2018;13(7):e0200360.
- 161 Alvarez-Galvez J, Rodero-Cosano M, Motrico E. et al.: The Impact of Socio-Economic Status on Self-Rated Health: Study of 29 Countries Using European Social Surveys (2002–2008) *Int J Environ Res Public Health.* 2013 Mar; 10(3): 747–61.
- 162 Rasanen J, Girsan A, Lu X. et al.: Comprehensive maternal serum proteomic profiles of preclinical and clinical preeclampsia. *J Proteome Res*;2010; 9(8):4274–81.
- 163 Kolialexi A, Tsangaris GT, Sifakis S et al.: Plasma biomarkers for the identification of women at risk for early-on-set preeclampsia. *Expert Rev Proteomics*;2017;14(3):269–76.
- 164 Bolin M, Wikstrom AK, Wiberg-Itzel E. et al.: Prediction of preterm preeclampsia by combining histidine-rich glycoprotein and uterine artery Doppler in early pregnancy. *Pregnancy Hypertens*;2011; 1(3–4):282–3.
- 165 Tannetta DS, Redman CW, Sargent IL.: Investigation of the actin scavenging system in pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*;2014;172:32–5.
- 166 Anderson UD, Gram M, Ranstam J. et al.: Fetal hemoglobin, alpha1-microglobulin and hemopexin are potential predictive first trimester biomarkers for preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*;2016;6(2):103–9.
- 167 Redman CW, Sargent IL.: Immunology of pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*;2010;63(6):534–43.
- 168 Lokki AI, Kaartokallio T, Holmberg V. et al.: Analysis of complement C3 gene reveals susceptibility to severe pre-eclampsia. *Front Immunol*;2017;8:589.
- 169 Blumenstein M, McMaster MT, Black MA. et al.: A proteomic approach identifies early pregnancy biomarkers for preeclampsia: novel linkages between a predisposition to preeclampsia and cardiovascular disease. *Proteomics*;2009;9(11):2929–45.

-
- 170 Rampersad R, Barton A, Sadovsky Y. et al.: The C5b-9 membrane attack complex of complement activation localizes to villous trophoblast injury in vivo and modulates human trophoblast function in vitro. *Placenta*;2008;29(10):855–61.
- 171 Zhou CC, Zhang Y, Irani RA. et al.: Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce pre-eclampsia in pregnant mice. *Nat Med*;2008;14(8):855–62.
- 172 Girardi G, Prohaszka Z, Bulla R. et al.: Complement activation in animal and human pregnancies as a model for immuno-logical recognition. *Mol Immunol*;2011;48(14):1621–30.
- 173 Kouser L, Madhukaran SP, Shastri A. et al.: Emerging and novel functions of complement protein C1q. *Front Immunol*;2015;6:317.
- 174 Jauniaux E, Watson AL, Hempstock J. et al.: Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure. *Am J Pathol*;2000;157(6):2111–22.
- 175 Rambaldi MP, Weiner E, Mecacci F. et al.: Immunomodulation and preeclampsia. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2019;60:87-96.
- 176 Fukui A, Yokota M, Funamizu A, et al. Changes of NK cells in preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2012;67(4):278-86.
- 177 Chakraborty D, Rumi MA, Soares MJ.: NK cells, hypoxia and trophoblast cell differentiation. *Cell Cycle*;2012;11(13):2427–30.
- 178 Xu J, Gu Y, Sun J. et al.: Reduced CD200 expression is associated with altered Th1/Th2 cytokine production in placental trophoblasts from preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2018;79(1):10.1111/aji.12763.
- 179 Atallah A, Lecarpentier E, Goffinet F. et al.: Aspirin for prevention of preeclampsia. *Drugs*;2017;77(17):1819–31.
- 180 Poon et al.: ASPRE trial: effect of aspirin in prevention of preterm preeclampsia in subgroups of women according to their characteristics and medical and obstetrical history. *Am J Obstet Gynecol* 2017; 217: 585.e1-585.e5.
- 181 Gyöngyösi A., Dócs O., Czimmerer Z. et al.: Measuring expression levels of small regulatory RNA molecules from body fluids and formalin-fixed, paraffin-embedded samples. *Methods Mol. Biol*;2014;1182 105-19.

16.3. Az értekezést megalapozó közlemények