

A FETOPLACENTÁLIS KERINGÉS ULTRAHANGOS, FARMAKOLÓGIAI ÉS PATOLÓGIAI VIZSGÁLATA

Ph.D. Thesis összefoglaló

Dr. Jakó Mária

Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

Témavezetők:

Dr. Bártfai György, D.Sc.

Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

Dr. Surányi Andrea, Ph.D.

Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola vezetője:

Prof. Dr. Kemény Lajos, D.Sc.

Reprodukciós Egészségtan Program vezetője:

Prof. Dr. Bártfai György, D.Sc.

Szegedi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ

Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

Szeged, 2018.

1. Publikációk listája

- I. Jakó M, Surányi A, Kaizer L, Gáspár R, Domokos D, Bártfai G.
A köldökzsinór rendellenességei az intrauterin fejlődési visszamaradásban
Orv Hetil 2014, 155(50) 1989-95.
- II. Jakó M, Surányi A, Janáky M, Klivényi P, Kaizer L, Vécsei L, Bártfai G, Németh G.
Postnatal outcome and placental blood flow after plasmapheresis during pregnancy.
J Matern Fetal Neonatal Med. 2017, 30(22) 2755-2758. **IF₂₀₁₇:1.826**
- III. Molnár A, Surányi A, Jakó M, Németh G.
Intraoperative Surgical Treatment of Undiagnosed Placenta Percreta
J Clin Case Rep 2016 6:12 doi: 10.4172/2165-7920.1000910.
- IV. Jakó M, Surányi A, Kaizer L, Domokos D, Bártfai G.
The Correlation of Ultrasonographic and Pathophysiologic Measurements of Umbilical Vessels in Gestational Diabetes
Southeastern European Medical Journal 2017, 1(1) 40-49.
- V. Molnár A, Surányi A, Jakó M, Nyári T, Németh G.
A 3-dimenziós power Doppler indexek és a perinatális kimenetel vizsgálata méhen belüli növekedési restrikcióval szövődött terhességekben
Orv Hetil 2017, 158(26):1008–1013. **IF₂₀₁₇:0.322**

Egyéb közlemények

1. Vanya M, Jakó M, Szabó K, Nagy N, Farkas K, Janovák L, Bártfai Gy.
Új nanotechnológiai terápiás lehetőségek és genetikai predispozíció vizsgálata recurrens vulvovaginális candidiasisban és bakteriális vaginózisban szenvedő reprodukív korú nők körében
Magy Nőorv L 2014, 77(5) 20-25.
2. Deák J, Jakó M, Bártfai Gy.
Herpes simplex vírus 1 és 2 által okozott fertőzések és diagnosztikájuk
Focus Med 2015, 17(3), 3-9
3. Vanya M, Fejes I, Jakó M, Tula A, Terhes G, Janáky M, Bártfai Gy.
Lyme Disease Associated Neuroretinitis- Case Report
Acta Microbiol Immun Hung 2015, 62(4) 403-408. **IF₂₀₁₅:0.921**
4. Vanya M, Jakó M, Terhes G, Szakács L, Kaiser L, Deák J, Bártfai Gy.
Oropharyngealis humán papillomavírus ritka előfordulása cervicalis laesióval rendelkező nőkben
Orv Hetil 2016, 157(2), 70–73. **IF₂₀₁₆:0.349**
5. Jakó M
Beszámoló a III. Polgári és Büntetőjogi Felelősség az Egészségügyi Gyakorlatban című konferenciáról
Magy Nőorv L 2017, 80 133-134

2.Rövidítések:

3DPD	3 dimensional power Doppler ultrasound
5-HT	5-hydroxy-tryptamine, serotonin
AC	abdominal circumference
AED	absent end diastolic flow
BPD	biparietal diameter
FI	flow index
FOD	frontooccipital diameter
FL	femur length
GABA	gamma-amino-butyric-acid
GDM	gestational diabetes mellitus
HC	head circumference
HE	hematoxylin/ eosine
IOD	intraorbital distance
IUGR	intrauterine growth restriction
NADPH	nicotinamide-dinucleotide-phosphate
ns	not significant
OT	oxytocin
OTR	oxytocin receptor
PED	positive end diastolic velocity
RED	reverse end diastolic flow
S/D	peak systolic velocity/end diastolic velocity
SGA	small for gestational age
SUA	single umbilical artery
ThAPD	thoracic anteroposterior diameter
ThTD	thoracic transversal diameter
UCI	umbilical coiling index
UtBF	uterine artery blood flow
relUtBF	relative uterine artery blood flow
UtPI	uterine artery pulsatility index (peak systolic velocity-end diastolic velocity)/ mean velocity
VFI	vascularization flow index
VI	vascularization index
VOCAL	virtual organ computer aided analysis
VP	vasopressin
V1aR	type 1a vasopressin receptor
WHO	World Health Organisation

3. Bevezetés

3.1. Intrauterin Növekedés Visszamaradása (IUGR)

A születési súly az újszülöttek jólétének egyik legérzékenyebb indikátora. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) ajánlása szerint a méhen belüli növekedés visszamaradását (IUGR) a becsült születési súly -gestációs kor és nem szerinti- referenciagörbéinek 10-es percentilise alatt állapítják meg. Bár a korai IUGR rendelkezik a legmagasabb mortalitási és morbiditási arányokkal, a terhesség késői szakaszában kialakuló IUGR továbbra is az egyik vezető ok a perinatális mortalitás és morbiditás esetében a 34. terhességi hetet követő szülések esetében. A becsült magzati súly (EFW) megállapítására a magzati biometria mérési adatait használják fel és a számos rendelkezésre álló képlet egyikének felhasználásával becsülik meg a magzat várható születési súlyát. Az intrauterin növekedési visszamaradás megállapítására a legszélesebb körben használt határérték a súlypercentilis görbe 10-es percentilise, amit a WHO és az Amerikai Szülészeti és Nőgyógyászati Kollégium is javasol.

A terhességi kort az anya utolsó menstruációs vérzésének első napja és a korai ultrahangvizsgálat alapján határozzák meg. Az IUGR újszülötteket az SGA újszülöttektől (kis születési súlyú, de egészséges) az különbözteti meg, hogy soványak, csökkent a szubkután zsírszövetük. Halálozási arányuk 3-4-szer magasabb, morbiditási arányuk pedig 4-5% -kal magasabb az egészséges újszülöttekénél. Az IUGR súlyosságával nő a koraszülés, a magzati distress, az újszülött hipoglikémiájának, hipokalcaemiájának és polycythaemiájának a kockázata. Nincs bizonyíték arra, hogy a fent említett szövödmények előfordulása a különböző etiológiai tényezők függvényében változna. Az IUGR a terhességek mintegy 8% -át érinti, és anyai, magzati vagy placentáris faktorok játszanak szerepet a patogenezisében.

3.2. Gestatis Diabetes Mellitus

A terhesség alatt az étkezés utáni vércukorszint emelkedik, miközben csökken az inzulinérzékenység. A méhlepényen keresztül történő glükóztanszport egyenesen arányos az anyai vércukorszinttel és annak emelkedésével, akár ötszörösére is fokozódhat. A magas vércukorszintnek kitett magzatoknál gyakoribb az újszülöttkori respiratorikus distressz szindróma (IRDS), a cardiomyopathia, a hypoglykaemia, a hypocalcaemia, a hypomagnesaemia és a polycythaemia. A GDM magyarországi előfordulási gyakoriságáról számos, egyásnak ellentmondó adat ismert. Egy lakossági szűrési programban a terhes nők 8,7% -át diagnosztizálták GDM-mel, és a kockázat lineárisan emelkedett az anyai életkorral. A terhességi cukorbetegségben szenvedő nők első vonalbeli menedzselése az orvos által előírt diéta és minimális testmozgás. Azok a betegek, akiknek a megfelelő étrend betartása nem tudja biztosítani a normál vércukorszintet, inzulinterápiára szorulnak. A GDM-ben szenvedő

nő esélye a 2-es típusú cukorbetegségre 2,6-ról 70,0% -ra nő a szülést követő 28 éven belül. A placentális keringés alkalmas modell a hyperglycaemia által okozott vaszkuláris elváltozások tanulmányozásához. Jelen tanulmány célja az ultrahanggal mért áramlási adatok összehasonlítása patológiai mikrovaskuláris elváltozásokkal, valamint az erek vazoreaktivitásának vizsgálata egészsége, IUGR-ral és GDM-mel szövődött terhességek esetén.

3.3. A placenta keringése

A placenta mikrocirkulációjának szerkezeti és funkcionális integritása elengedhetetlen a tápanyagok, gázok és metabolitok méhen belüli szállításának és kicserélődésének kielégítő megvalósuladához. A placenta morfológiája és mérete és a kedvezőtlen perinatális kimenetel közötti kapcsolat ismeretes. A kisebb méret, a csökkent felület és a csökkentett térfogat korrelál az IUGR prevalenciájával. A placenta fokozatosan növekszik a terhesség alatt, de tömege és térfogata az IUGR terhességekben a normál magzatokéihoz képest elmarad. Ultrahangos módszerrel mérhető a placenta térfogata, és a placenta növekedési restrikciója hetekkel megelőzheti a magzati növekedés visszamaradását. A placenta mikro- és/vagy makrovaskularizációját érintő léziók, patológiás elváltozások (meszesedés, csökkent capillarizáció, csökkent cytotrophoblast proliferáció, krónikus vasculáris sztenózis, infarktus, fibrin lerakódás) tovább csökkentik a magzat irányába történő tápanyagtranszportot, gátolva a magzat fejlődését.

3.4. A placenta ultrahangos vizsgálata

3.4.1. 2-dimenziós ultrahang

A méhlepény funkcionális integritását az arteria uterinák, az arteria umbilicalisok és az arteria cerebri media Doppler áramlásmérésével lehet jellemezni, míg a magzati biometria a magzati növekedés megfigyelésére szolgál. A köldökzsinór áramlása alacsony ellenállást mutat az egészséges terhesség harmadik trimeszterében. A köldökartériák ellenállásának növekedése a keringési elégtelenség jele.

Az IUGR magzatok esetében a méh artérián egységnyi idő alatt átáramló vér mennyisége és a magzati testsúlyra vonatkoztatott értéke lényegesen alacsonyabb. Az alacsony arteria uterina perfúzió azonban nem feltétlenül jelent abnormális méhen belüli keringést, és néhány magzat normális testsúllyal és egészségesen születik meg. Az, hogy az artéria uterina és az artéria umbilicális áramlási paraméterei nem feltétlenül korrelálnak, azt jelenti, hogy a placentán belüli kompenzációs mechanizmusok képesek a keringési elégtelenség magzati hatását csökkenteni. Az IUGR továbbra is diagnosztikai kihívás, hiszen az ultrahangos biometria csak 50% -os detekciós rátával bír.

3.4.2. 3-dimenziós ultrahang

A VOCAL program egy gömb alakú szövetminta sűrű és színesen jelzett térfogategységeiből automatikusan kiszámítja az áramlási indexeket. A vascularizációs index (VI, az adott szövetszegmensben lévő érkeresztmetszetek által elfoglalt térfogat), az áramlási (flow) index (FI, a vizsgált térfogaton keresztül folyó vérmennyiség egy adott időpontban) és a vascularizációs flow index (VFI, az előző két indexből származtatott érték) a placenta funkcionális kapacitásának vizsgálatához alkalmazható mérőszámok. Ezeknek az értéke nem változik normál terhesség alatt, az érhálózat arányosan követi a placenta térfogatának növekedését.

3.5. Farmakológia

3.5.1. Oxitocin és Vazopresszin

Mivel a placenta és a köldökzsinór nem rendelkezik autonóm innervációval, az értónust humorális tényezők szabályozzák. Az erek mentén elhelyezkedő hízósejtek potenciális forrásai olyan hatékony vasoaktív anyagnak, mint például az oxitocin (OT) -amely fiziológiásan jelen van a terhesség alatt és átjuthat a placentán- és az arginin-vazopresszin (AVP). Mindkettő peptid hormon, melyek a transzmembrán receptoraikon keresztül érésszehúzódást provokálhatnak. Az OT gén és a receptor expressziója (OTR) kimutatható a chorion, decidua és amnion epithelialis sejtjeiben születés után. A két peptid közötti egyezőség (körülbelül 80%) és az OT és AVP receptorok szerkezeti homológiája keresztreakciót eredményezhet. A vazopresszin receptor 1a (V1aR) mRNS expressziója juh-placentában ismert, de nem bizonyított humán lepényszövetben, de a vazopresszin mRNS hiánya is ismert emberi lepényben. A farmakológiai vizsgálatok ellentmondásos adatokat szolgáltatnak a fent említett receptorok és ligandumok vazodilatátor funkcióját illetően. Legjobb tudásunk és irodalmi adataink szerint a köldökzsinórban lévő receptorok jelenlétét eddig nem vizsgálták, és a ligandok magzati eredetének leírása jelenleg csak hipotetikus formában létezik.

3.5.2. Szerotonin és Ketánszerin

Ismert, hogy a szerotonin kiválthatja mind érésszehúzódást, mind a relaxációt. A vazoregulációban szerepet játszó szerotonin receptorok azonosítására tett erőfeszítéseknek köszönhetően molekuláris klónozással tizenhárom különböző emlős G-fehérje kapcsolt 5-HT-receptor típust azonosítottak, amelyeket hét családba csoportosítottak. Az 5-HT₁ típusú receptorokról azt állapították meg, hogy az intakt endothel jelenlététől függetlenül az erek relaxációját váltják ki. Az 5-HT_{2a} receptorok aktiválásával az endotheliumtól függetlenül simaizom összehúzódás figyelhető meg. Nyilvánvaló, hogy a szerotonin komplex módon

szabályozza az érösszehúzódást és relaxációt, amely számos szerotonin receptor altípus kölcsönhatását és egymással ellentétes funkcionális hatásait foglalja magában. A szerotonin receptorok aktivitása lehetséges szabályozó tényező a foetoplacentális keringésben, és a ligand fiziológiásan mérhető mennyiségben megtalálható a köldökzsinórvérben. Kontraktilis hatását mind normál, mind preeklampsziás terhességben igazolták. Dózis-hatás görbéje enyhe vasodilatációval társul, amely 10^{-7} M dózisban eltűnik, és ezt egy domináns kontrakció követi. A ketanserin egy szelektív 5-HT_{2a} antagonist, de mérhető affinitást mutat az 5-HT_{2c} receptor, α 1 és α 2-adrenerg receptorok és az 5-HT_{1d}, 5-HT_{2b}, 5-HT₆ és 5-HT₇ receptorok iránt is. Az anyai magas vérnyomás kezelésére a preeklampsziában alkalmazzák, mivel csak perifériás érrendszeri hatása van, nincs krono-, dromo- vagy bathmotrop hatása. Az optimális terápiás dózist még nem határozták meg. A méhlepényen keresztül átjut elégséges mennyiségben ahhoz, hogy kifejthessen hatást a magzati keringésre.

4. Célkitűzések és hipotézisek:

Célkitűzéseink a köldökzsinór és a placenta keringési sajátosságainak és vazoregulációjának vizsgálata az egészséges és az IUGR-ral vagy GDM-mel szövődött terhességekben. Feltételezésünk szerint a placentán belüli keringési elégtelenség és a magzati növekedés visszamaradásának hátterében a vaszkuláris rezisztencia szabályozásának rendellenességei állnak, melyek a kedvezőtlen újszülöttkori kimenetekért felelősek. Hipotézisünk alátámasztásának érdekében a következő adatokat és a köztük lévő összefüggéseket vizsgáltuk:

- 1) Az előbb említett terhességekben ultrahangos magzati biometriát végeztünk, áramlási és 3-dimenziós ultrahangos indexeket rögzítettük, majd összehasonlítottuk őket a vazóaktív szerekkel szembeni értónus változásban mért értékekkel.
- 2) Megfigyeltük, hogy a vizsgált hatóanyagok alapján a vazoreaktivitásban milyen eltérés észlelhető az IUGR-ral vagy GDM-mel szövődött terhességek esetében.
- 3) Megvizsgáltuk a placenta és a köldökzsinór szövettani elváltozásait, és hogy ezek az elváltozások befolyásolhatják-e a vazoregulációt, illetve a magzati növekedés visszamaradását.

5. Anyag és Módszer

5.1. Rekrutáció és ultrahangos vizsgálat

A kutatásban résztvevő várandósokat a Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján vontuk be 2014. január és 2017. május között. A várandósok részletes szóbeli és írásbeli tájékoztatást követően elolvasták és

aláírták a Beleegyező Nyilatkozatot (Etikai Engedély Száma: 49870-3773 / 2014 / ECU 586), amely után a magzati súlyt Hadlock 'B' formula alapján becsültük meg:

$$\text{Log}_{10} \text{ EFW} = 1,335 - 0,0034 \text{ ACxFL} + 0,0316 \text{ BPD} + 0,0457 \text{ AC} + 0,1623 \text{ FL}$$

Az EFW alapján IUGR és kontroll csoportot állítottunk fel. Az IUGR csoportban a terhesség 2. és 3. trimeszterében a becsült magzati súly a 10. percentilis alatt volt, valamint az esetcsoportból kizárásra kerültek a koraszülöttek, a genetikai rendellenességgel rendelkezők, a kromoszóma vagy a fejlődési rendellenességben szenvedő újszülöttek, a magas vérnyomással, a cukorbetegséggel szövődött terhességek.

A GDM csoportba olyan terheseket válogattunk be, akiknél a 24. és 28. hét között végzett 75 g orális glükóz tolerancia teszt a WHO diagnosztikai kritériumai alapján pozitívnak bizonyult, és akik a vércukorszintjüket a kívánt értékhatárok között tudták tartani megfelelő étrend betartásával. Az inzulin terápiát igénylők kizárásra kerültek. A betegek közül senkinél nem diagnosztizáltak immunológiai, kardiovaszkuláris, gasztrointesztinális vagy tüdőbetegséget. Az ikerterhességeket, a habituális vetélőket, az asszisztált reprodukciót követően létrejött és a magzati fejlődési rendellenességgel szövődött terhességek kizárására kerültek.

Minden várandóst félig ülő helyzetben vizsgáltunk "Obstetrics / 2-3 trimeszter" 2D módban. A köldökzsinór áramlási értékeinek meghatározásához hagyományos color Doppler vizsgálatot végeztünk. A 3D-s power Doppler Ultrahanggal térfogati képet készítettünk a köldökzsinór placenta felőli tapadásánál. A Mercé- féle sonobiopsziával nyert szövetrészetlen kiszámítottuk a 3-DPD indexeket a VOCAL program segítségével.

5.2. Farmakológiai vizsgálatok:

A köldökzsinórt és a placentát azonnal Krebs-Henseleit pufferoldatba helyeztük, 7,4-es pH értéken és 4 °C-on tároltuk. A zsinórt eltávolítottuk a placentából és az oldattal perfundáltuk. A szervfürdőben végzett vizsgálatokhoz friss puffert készítettünk és 37 ° C-ra melegítettük, a vizsgálatot a szülés után 24 órán belül elvégeztük. Az ereket 3-5 mm hosszú szegmensekre vágtuk és rozsdamentes acél horgokra fűztük. Az inkubálás alatt az ereket 2 g kezdeti húzóerőnek tettük ki, karbogén gázzal buborékoltattuk. Az inkubálás ideje alatt a szöveteket friss oldattal mostuk át tizenöt percenként, majd 60 perc elteltével az értónus elérte az egyensúlyi állapotot. Oxitocint (Sigma-Aldrich O3251) vagy dezmozpresszint (vasopressin analóg, Sigma-Aldrich D0650000) adtunk a rendszerhez egyszeri dózisban, logaritmikus nem-kumulatív dózissorban (10^{-10}M - 10^{-7}M).

A második vizsgálatban ugyanolyan körülmények között a szerotonin (Sigma-Aldrich H9523) hatását vizsgáltuk az ereken hasonló mintázatban alkalmazva, mint az oxitocint. A szerotonint logaritmikus dóziskoncentrációban (10^{-9}M - 10^{-5}M) 6 percenként adtuk a rendszerhez. A

receptor altípusok izolálására új vizsgálatot végeztünk úgy, hogy az ereket 10^{-8} M ketanszerin (Sigma-Aldrich S006) oldatban 6 percen keresztül inkubáltuk, és a szerotonin dózis-hatás görbáját a fentiek szerint vizsgáltuk. A ketanserin előzetes, 10^{-9} M- 10^{-5} M tartományú vizsgálata során azt találtuk, hogy a 10^{-8} M koncentráció önmagában nem befolyásolta az ér alaptónusát, tehát minden kontrakcióváltozás a szelektív receptorgátlás eredménye.

5.3. Patológiai vizsgálat:

A placenta térfogatát vízkiszorítási módszerrel határoztuk meg. A szövetek numerikus kódot kaptak a szülést követően, és a további vizsgálatok során ez alapján lettek azonosítva.

A patológiai vizsgálatot 3-7 napos formalinfixálás után végeztük, a Royal College of Pathologists Guideline szerint. Lemértük a placenta súlyát és térfogatát. Az átmérők leérése után a placentát 1 cm vastag csíkokra vágtuk a leghosszabb átmérő mentén, és vastagságát a köldökzsinór tapadásának helyén határoztuk meg. A köldökzsinór placenta felőli végéből szövettani metszeteket készítettünk. Digitálisan rögzítettük a metszeteken a zsinór leghosszabb keresztmetszeti átmérőjét, az erek keresztmetszetét és az érfal vastagságát. A köldökzsinór tekeredése miatt az erek keresztmetszeti képe szinte soha nem volt tökéletes matematikai keresztmetszet, ezért az érfalat a következő helyeken mértük: a leginkább és a legkevésbé torzított helyen és 3, 6 vagy 9 óránál az előző két mérés helyétől függően. A placenta szövettani mintáit a köldökzsinór tapadásának helyéről, a perifériás területből, az anyai és a magzati oldalból, valamint a patológiás elváltozás(ok)ból vettük, ha volt ilyen. A patomorfológiai és szövettani vizsgálatokat vakon végeztük, a mintákat csak a hozzájuk rendelt kóddal azonosítottuk.

5.4. Statisztikai analízis:

Az anyai és a magzati paraméterek normál eloszlású adatainak összehasonlításakor Student's t-tesztet használtunk. A köldökzsinór teljes vastagságát, az erek falvastagságát és a különböző lumenformákat, valamint a hatóanyagok dózis-hatás görbáját ANOVA segítségével hasonlítottuk össze. A görbe alatti területet (AUC) az ISOSYS program szoftver (SOFT-02-ISO S.P.E.L. ADVANCE ISOSYS, MDE Kft. 1062 Budapest) határozta meg minden egyes dózissra és minden egyes érszakaszra vonatkozóan.

A nem normális eloszlást mutató adatokat elemezve Kruskal-Wallis próbát végeztünk Bonferroni korrekcióval. A különbségeket akkor tekintettük szignifikánsnak, amikor $p < 0,05$ volt. Lineáris regressziót és Pearson-féle korrelációt a placenta morfometria adatai és az újszülöttek paraméterei között tanulmányoztuk. Statisztikai analízishez a Prism 6 (2016, Graph Pad Software Inc., La Jolla, Kalifornia, USA) szoftvert használtuk.

6. Eredmények

6.1. IUGR/GDM/kontroll csoport eredményei, oxitocin és dezmpresszin vizsgálata

A csoportok között nem volt szignifikáns különbség a születési súly kivételével, amely $3221 \text{ g} \pm 266,1$ volt a kontroll, $2350 \text{ g} \pm 194,0$ volt az IUGR ($p = 0,0023$) és $3627 \text{ g} \pm 363,5$ volt a GDM csoportban ($p = 0,0411$). Az IUGR terhességek esetén az újszülöttek rövidebbek is voltak, a fejescörfogatuk és a haskörfogatuk kisebb volt, mint a másik két csoportban, a születési súly/ placenta súly aránya is kisebb volt ($p = 0,0112$). A kontroll és a GDM csoport újszülöttjei biometriájukban nem tértek el lényegesen egymástól. Az 1 perces Apgar $9,46 \pm 0,52$ volt a kontroll, $8,35 \pm 1,63$ ($p = 0,0360$) az IUGR és $8,20 \pm 1,10$ ($p = 0,0213$) volt a GDM csoportban. Nem volt szignifikáns különbség a terhesség alatt szedett gyógyszerek mennyisége között, valamint azok arányában, akik nem szedtek semmilyen gyógyszert. A császármetszés gyakorisága a kontroll csoportban 17% volt, az IUGR csoportban 75% és a GDM-eseknél 40% volt, a szülészeti anamnesis adatai között nem volt statisztikai különbség a csoportok között. Minden szövettani mintában 3 eret találtunk a köldökzsinórban. A köldökzsinórok jellemzően az óramutató járásával ellentétes irányba csavarodtak. Az 5 cm-es szakaszon megtett 360° -os fordulatok száma (UCI) kisebb volt az IUGR csoportban ($p = 0,0418$). A csavarodási mintát az L. M. Ernst által 2013-ban publikált tanulmány alapján határoztuk meg, az IUGR terhességek köldökzsinórsaiban, a hullámszerű mintázat volt jellemző, míg a többi csoportban a kötélzerű csavarodás volt legtöbbször látható. A zsinór keresztmetszetének területe a GDM terhességek esetében ($p = 0,0027$) volt a legkisebb, de az erek keresztmetszete kisebb volt az IUGR csoportban ($p = 0,0058$). Az IUGR magzatok köldökzsinórjában perivascularis hematómát és egyszer haemangioma cavernosumot, több monocitát, enyhe funisitist láttunk és egy ödémás zsinórt találtunk egy GDM-mel szövődött terhességben.

A 3-DPD indexek (mean $\pm$ SD) a kontroll csoportban FI: $49,16 \pm 1,76$, VI: $10,08 \pm 0,49$ és VFI: $4,9 \pm 0,16$ voltak, míg az IUGR magzatoknál $38,48 \pm 1,74$ ($p = 0,015$), $4,53 \pm 0,61$ ($p = 0,0004$), $2,70 \pm 0,74$ ($p = 0,0194$) és $35,50 \pm 5,89$ ($p = 0,0318$), $4,90 \pm 1,85$ ($p = 0,0136$), $1,83 \pm 1,01$ ($p = 0,0069$) a GDM-mel szövődött terhességekben.

A logaritmikus, nem kumulatív oxitocin dózis által kiváltott értónusváltozás nem volt szignifikáns a csoportok között sem az artériákban sem a vénákban, és a mérési eredmények felfoghatók a kiindulási egyensúly dinamikus változékonyságaként. Mivel az oxitocin a vaszkuláris hatását az 1-es típusú vazopresszin receptoron keresztül fejt ki, egy erősebb agonistát, dezmpresszint adtunk a rendszerhez, de ismételten elmaradt az értónusváltozás. Az erek épségét 10^{-5}M szerotonin által kiváltott vazokonstriktióval igazoltuk.

6.2. IUGR/kontroll csoport eredményei, szerotonin és ketánszerin vizsgálata

Nem volt szignifikáns különbség a vér viszkozitását befolyásoló haematológiai paraméterekben, ami azt jelenti, hogy az oxigén- és tápanyagellátásban tapasztalt eltérés az érrendszer rezisztenciaszabályozásának köszönhető. Az IUGR magzatok köldökzsinór artériáiban a szisztolés / diasztolés áramlási sebesség $3,39 \pm 0,38$ ($p = 0,0006$) volt, míg a kontrollokéban $2,22 \pm 0,11$, a születési súly ($p = 0,0023$) és az Apgar értékek ($p = 0,036$) kisebbek voltak az IUGR újszülöttek esetében a kontroll csoporthoz viszonyítva. A szülészeti anamnézisben nem volt szignifikáns eltérés a két csoport között.

A 3-DPD adatokból azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az egységnyi térfogatra jutó erek számában nagyobb az eltérés, mint az egységnyi térfogaton egységnyi idő alatt átáramló vér mennyisége között. Az érrendszer ellenállásának csökkentése növeli a véráramlást a placenta adott térfogatán keresztül. Az ellenállás csökkentésével a placenta kompenzálhatja a hypovaszkularizációt egy bizonyos szintig, a véráramlás jelentős csökkenése azonban még megfigyelhető, de nem olyan mértékű, mint az erek számának csökkenése. A köldökzsinór artériákban mért S/D arány jól korrelált a szerotonin által kiváltott maximális válaszreakcióval ($r = 0,5328$).

A szerotonin a köldökzsinór perivascularis mastocitáiban tárolódik. Az érlumenbe történő felszabaduláskor vazokonstriktív hatást fejt ki az 5-HT₁₋₂ és a 7 receptorokon keresztül, amelyeket összesen 240 érszakaszon vizsgáltunk. Jelentős összehúzódot váltott ki a kontroll és az IUGR köldökzsinór artériákban 10^{-6} M koncentrációban. A köldökvénák esetében 10^{-7} M koncentrációban szignifikáns összehúzódot következett be a kontroll csoportban, míg IUGR esetekben csak 10^{-6} M koncentrációnál. A placenta artériák 10^{-6} M-os koncentráció esetén kontraháltak a kontroll csoportban, és csak 10^{-5} M-nál az IUGR-ban. A placenta vénáiban a hatás szignifikánsan 10^{-7} M koncentrációnál jelentkezett a kontrollokban, de az IUGR-ban nem észleltünk szignifikáns kontrakciót. A ketánszerin antagonistá adása azonban jelentősen csökkentette a kontrakciót, és ez a hatás az IUGR magzatokban ($n = 30$) jobban érvényesült, mint az egészséges terhességekben ($n = 48$). Míg a köldökzsinór-artériákban a ketánszerin-inkubáció nélkül a szerotoninra gyakorolt hatás nem mutat szignifikáns különbséget a két csoport között, a ketánszerin inkubáció után az IUGR artériákban a reaktivitás csökkentése fokozottabb, míg a kontrollok esetén csak 10^{-7} M koncentrációban éri el a szignifikancia szintet. A köldökvénák esetében a kontrolles csoport nagyobb kontraktilitást mutat 10^{-7} M koncentrációnál. Ketánszerin inkubációt követően az IUGR-vénák reaktivitása majdnem megszűnik, míg a kontrollok antagonistá mellett hasonló reaktivitást mutatnak, mint az IUGR ketánszerin nélkül. Mind a placenta artériák, mind a vénák jobban kontraháltak a szerotonin

jelenlétében a kontrollcsoportban, de ez az eltérés az IUGR terhességekből származó erek reaktivitásától csak 10^{-7} M és 10^{-6} M koncentráció felett válik szignifikánssá. A méhlepény artériáinak esetében a ketanserin-inkubáció után az agonista hatása csökken mindkét csoportban, 10^{-6} M-nál a kontrollcsoportban, 10^{-7} M-nál az IUGR csoportban. Az IUGR placenta vénák esetében sem a szerotonin összehúzódnása, sem a ketanserin hatása nem éri el szignifikancia szintet. Ez a különbség az eset és a kontroll csoport között az 5-HT₂ receptor magasabb relatív sűrűségének tulajdonítható az IUGR magzatok köldökzsinóráiban, ami kevesebb összehúzódnást eredményez a relatívan kevesebb 5-HT₁ receptoron és a ketanserin fokozott hatékonyságát az összehúzódnás csökkentésében.

A placenta morfológiai vizsgálata azt mutatta, hogy a születés után mért térfogat szorosabb korrelációban van az újszülött súlyával, mint a placenta tömege vagy térfogata a formalinfixálást követően. A köldökzsinór artéria keresztmetszeti területe jelentős különbséget mutat a két csoport között, és enyhén korrelál a születési súllyal ($r = 0,336$). A placentán belül két vagy több hisztolopathológiai változás jellemző az IUGR terhességekre, míg egy-egy enyhe lézió normál súlyú magzatok méhlepényiben is megtalálható.

7. Diszkusszió

A perinatális szövődmények, mint a necrotizáló enterocolitis, az alacsony Apgar érték, a hipoxiás agykárosodás, a légzéztámogatás szükségessége, a krónikus tüdőbetegség, a retinopátia és az elhúzódo perinatális intenzív terápia szükségessége gyakorabban fordulnak elő IUGR újszülötteknél. A köldökzsinór 2D ultrahangvizsgálat alapján az áramlási sebesség görbéje a mérés pillanatában normális is lehet a növekedésben visszamaradt magzatokban, de a görbe abnormalitása az IUGR diagnosztikájában fontos jelnek tekinthető. A normál terhességekhez képest az arteria umbilicalis S/D sebesség aránya állandóan magas az IUGR magzatokban, és értéke korrelál a későbbi szövődmények súlyosságával. Az áramlási sebesség mérésénél az általunk ismert adatok ezzel egybehangzóak voltak.

A GDM-mel szövődött terhességek köldökzsinór artériáiban normál S/D arányt mértünk. A 3DPD indexek közül a VI alacsonyabb volt, tehát a placenta hipovaszkuarizált a kontrollhoz viszonyítva, és a rendelkezésre álló erek falait a magas vércukorszint károsíthatja. A fokozott glükóztranszport a pentóz-foszfát és NADPH-oxidáz aktiválódásához vezet, ami túlzott szabadgyökképződést eredményez. A szabadgyök proinflammatorikus hatása atheroszklerózishoz vezet. A kezdeti iszkémiás jelek közé tartozik a synciciális csomó megjelenése, hipovaszkuarizált villus, intersticiális meszesedés és extravaszkuális fibrin lerakódás. Ezek összegződő, hosszútávú következménye az arteriális rezisztencia növekedése. GDM-ban szenvedő várandós esetén a köldökzsinór-kanyarulatossági indexe meghaladta a

kontrollcsoportét, míg az IUGR-ral szövődött terhességekből származó köldökzsinórok szignifikánsan kisebb fordulatszámot mutattak azonos hosszúságú szakaszon. A vékony, tekeredést alig mutató zsinór, amely kevesebb Wharton-kocsonyával fedett, kevésbé védett a mechanikai hatásokkal szemben, ezáltal a magzat és az újszülött vulnerabilitása nagyobb.

Mivel egyértelmű összehúzódást nem figyeltünk meg sem az oxitocin, sem a dezmozesszin esetében, feltételezhető, hogy a köldökzsinórban nem található 1-típusú vazopresszin-receptor. Az érgyűrűk épségét szerotoninnal kiváltott kontrakció alapján értékeltük. Egy placenta perfúziós modellben az anyai oldalon beadott vazopresszint (30pg / ml-60 000pg / ml) a magzati oldalon mérve legfeljebb 3110 pg / ml koncentrációt mértek, ami $3,11 \times 10^{-8}$ M-nak felel meg. Az általunk vizsgált legnagyobb koncentráció 10^{-7} M volt, ami a placentán átjutó mennyiség 30-szorosa. Ha in vitro körülmények között 30-szoros dóziskoncentráció esetén nem kontrahálnak a köldökzsinór erei, akkor nagy valószínűséggel in vivo sem váltható ki vazokonstriktó a receptor és ligandkoncentráció elégtelensége miatt.

A szerotonin a szülés után a köldökzsinórvérben kimutatható mennyiségben van jelen és szerepet tulajdonítanak neki a köldökzsinór ereinek elzáródásában is. Az érsimaizomsejtekben a szerotonin összehúzó hatását saját receptorán fejt ki. A szerotonin által kiváltott vazokonstriktó hasonló, vagy meghaladhatja a kálium-kloriddal provokált mértékét, és kalciummentes környezetben csökkennést mutat. A köldökzsinór artériák esetében a kezdeti kisebb értágulatot domináns összehúzódás követi. Endotheliális receptorok és a nitrogén-oxid felszabadulása felelős a rövid dilatációért, az endothel eltávolítása után ez a tranziens reakció eltűnik. Tanulmányoztuk a szerotonin reaktivitását a köldökzsinór és a placentáris ereken normál súlyú és IUGR újszülöttek esetében. A köldökzsinór artériák esetében az IUGR terhességekből származó érgyűrűk összehúzódása erősebb volt, de a ketánszerin gátlásával szignifikánsan csökkent azok reaktivitása ($p < 0,05$), és a kontrolloknál mért kontrakciós értékek alá került. A köldökvénák esetében a kontrollcsoport erei nagyobb intenzitással reagáltak, de ebben az esetben a különbség a ketanserin gátlása mellett ugyanúgy megfigyelhető maradt. Az IUGR terhességekben a köldökzsinór artériáinak tónusát a szerotonin jelentősen növeli, ami fokozott ellenállást és abnormális véráramlást eredményez. A szerotonin fiziológiás hatását a maximálisan kiváltott vazokonstriktó és az S/D hányados korrelációja, valamint a perinatalis kimenetellel való összefüggése mentén lehet megfigyelni. A köldökzsinór keringésébe juttatott ketánszerin csökkenti az érrendszer rezisztenciáját, és így kedvezőbb keringési feltételeket biztosít a magzat számára. Ez a hatás az IUGR magzatokban szembetűnőbb. Az IUGR-ral szövődött terhességek placentáiban az erek tónusfokozódása elmaradt a kontrollokéhoz képest, és ez a különbség a ketánszerin

jelenlétében is fennmaradt. Az érrendszer tónusszabályozási kapacitásának különbsége a 3-DPD indexekben is megfigyelhető; a VI-ben mutatkozó különbség jelentősebb, mint a FI-ban. Bár az IUGR terhességek esetén megfigyelhető a placentában hipovaszkularizáltsága, az erek kevésbé érzékenyek a szerotonin tónusfokozó hatására, amely kisebb érrendszeri ellenállást és nagyobb véráramlást eredményez a magzat számára. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy a szerotonin fontos szerepet játszik a fetoplacentális keringés szabályozásában és szerepet játszhat az intrauterin növekedés vizzsamaradásának kórélettanában. A fetoplacentális keringést a ketanserin in vitro körülmények között javíthatja. Az eredmények értékelésekor figyelembe kell venni, hogy a köldökzsinór és a placenta keringését számos egyéb humorális faktor és rheológiai tényező is befolyásolja, amelyek eltorzíthatják az adatainkat, további vizsgálatokra van szükség a fetoplacentális egység receptor spektrumának feltérképezéséhez a magzati keringés javítása érdekében.

A patológiai adatok alapján arra a következtetésre juthatunk, hogy a placenta térfogata erősebb összefüggést mutat az újszülött súlyával, mint a placenta súlya. Bár a morфомetriai adatok az IUGR és a kontroll esetek közötti különbségeket jól tükrözik, ezek alapján nehéz megítélni a placenta funkcionális kapacitását. Egy nagyméretű méhlepény számos, konfluáló infarktussal és meszesedéssel a súlypercentilis grafikon felső tartományába helyezhető, de a magzat az elégtelen transzportkapacitásnak köszönhetően lehet kórosan kis súlyú. A placenta térfogatának és a 3-DPD-indexeinek mérésével olyan adatokat kaphatunk, amelyek a várható születési súlyról és magzat méhen belüli tápanyagellátásáról pontosabb képet adnak. Az IUGR diagnosztika és a terhesgondozás javítása érdekében a fent említett adatokból nagyobb esetszámmal percentilis görbe vagy diagnosztikus folyamatára állítható fel. A szövettani metszeteken látott különbségek alapján a normál terhességek esetében is lehetnek enyhébb eltérések, de két vagy több eltérés már jelentősen csökkenti a placenta kompenzációs kapacitását, és diagnosztikai jele lehet a méhen belüli transzportfolyamatok csökkenésének, az IUGR kialakulásának esélye fokozódik. Eredményeink alapján csak az artériák keresztmetszetében mutatható ki eltérés a kontrollokhoz képest, ami megfelel a szakirodalomban leírtaknak.

Jelen tanulmány eredményei alapján a következő megállapításokat tehetjük:

A placenta térfogata szorosabb összefüggést mutat a perinatalis kimenetellel, mint a placenta súlya. A méhlepény térfogata ultrahanggal mérhető a méhen belül, ezért az IUGR diagnosztikájának informatív része lehet. Azonban a placenta funkcionális kapacitása fontosabb, mint az abszolút térfogat, ennek meghatározásához a 3-DPD ultrahangos indexek lehetővé teszik a VI, FI és VFI értékek mérését, amelyek korrelálnak az újszülött klinikai

adataival. A percentilis vagy cut off értékek meghatározásával javítható az IUGR terhességek monitorozása.

A köldökzsinór és a placenta vérkeringésének szabályozásában az oxitocin és a dezmpresszin hatását vizsgálva sem az oxitocin, sem a dezmpresszin nem okozott szignifikáns tónusváltozást az érrendszerben sem egészséges, sem IUGR vagy GDM terhességekben. A köldökzsinór artérián-szerotonin-indukált érösszehúzódnás mértéke korrelál a klinikai adatokkal. A placenta ereinek szerotoninnal szembeni reaktivitása a 3DPD ultrahang-áramlási indexeinek értékét tükrözi.

A szerotonin élettani szerepe a vaszkuláris tónus szabályozásában feltételezhető, de további kutatásokra van szükség ennek értékelésére. Az IUGR-ral szövődött terhességekben az erek eltérő kontraktilitása és megváltozott reakciója ketánszerin jelenlétében a receptor-sűrűség és/ vagy a receptor altípusok közötti relatív sűrűségkülönbséggel magyarázható. Az 5-HT1 receptor megváltozott sűrűsége, és az 5-HT2 altípus relatív dominanciája is szerepet játszhat az IUGR patogenezisében. Mivel a ketanserin az anyai vérből a fetoplacentális keringésbe kerül, érdemes a továbbiakban vizsgálni a terápiás alkalmazását az intrauterin növekedési restrikcióban.

További vizsgálatokra van szükség a placenta és a köldökzsinór receptor spektrumának feltérképezéséhez és az érrendszer tónusszabályozásának megértéséhez. Eredményeink alapján a nem megfelelő magzati fejlődés új etiológiai szempontból tanulmányozható, és új terápiás megközelítést tesz lehetővé.

8. Konklúzió

A placenta 3-DPD indexei közül a vascularizációs index mutatja a legnagyobb csökkenést, ami azt sugallja, hogy a fetoplacentális keringés vazoregulációja kompenzálhatja a placenta hypovaszakularizációját. Az oxitocin és a dezmpresszin nem valószínű, hogy hatásos vazoregulátorok a fetoplacentális keringésben, hatásukat csak meconiummal festenyzett szöveteken mutatták ki. Eredményeink alapján valószínűleg nincs 1-es típusú vazopresszin-receptor a köldökzsinór vénáiban, vagy csak inaktív formában jelenik meg. A szerotonin mind az arteriák, mind a vénák dóziszfüggő vazokonstrikcióját eredményezi a placentában és a köldökzsinórban egyaránt. Az erek szerotoninnal szembeni reaktivitása IUGR terhességekben eltér a kontrollcsoportétól. Ezt az eltérést fokozza, ha a szöveteket ketánszerinrel, szelektív 5-HT2 receptor antagonistával inkubáljuk. A szerotonin fontos humorális tényező, amely meghatározza a fetoplacentális keringésben átfolyó vér mennyiségét. Az IUGR és a kontrollcsoport ereinek reaktivitásában mért eltérések arra engednek következtetni, hogy a szerotonin / szerotonin receptorok szerepet játszhatnak az IUGR patogenezisében.