

In vitro fertilizációs kezelések útján fogant
terhességek kimenetelének előrejelzése
egyres endokrin markerek segítségével

DR. HAUZMAN ERIK

TÉMAVEZETŐ: DR. URBANCSEK JÁNOS EGYETEMI DOCENS

Szigorlati bizottság

DR. SZENDE BÉLA EGYETEMI TANÁR
DR. TÓTH ZOLTÁN EGYETEMI TANÁR
DR. CSAPÓ ZSOLT EGYETEMI DOCENS

Hivatalos bírálók

DR. TÓTH PÉTER EGYETEMI ADJUNKTUS
DR. UGOCSAI GYULA FŐORVOS

Magzati és újszülöttkori orvostudomány akkreditált (Ph.D.) program

PROGRAMVEZETŐ: DR. PAPP ZOLTÁN EGYETEMI TANÁR

Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar
I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika • Budapest, 2005

Tartalomjegyzék

1	Rövidítések
3	I Bevezetés
5	2 Irodalmi áttekintés
5	2.1 A hCG szerepe a terhességek kimenetelének előrejelzésében
8	2.2 Az inhibinek szerepe a reproduktív működésekben
8	2.2.1 Az inhibinek szerkezeti felépítése
10	2.2.2 Az inhibinek élettani szerepe
11	2.2.2.1 Az inhibinek élettani szerepe férfiakban
12	2.2.2.2 Az inhibinek szerepe a menstruációs ciklus szabályozásában
16	2.2.2.3 Inhibinek a petefészek asszisztált reprodukciós kezelés céljából végzett gonadotropin-stimulációja alatt
17	2.2.2.4 Inhibinek a terhességben
19	2.2.3 Az inhibinszint-meghatározás klinikai alkalmazásának lehetőségei
19	2.2.3.1 Inhibin B a petefészek stimulációra adott válaszában és az asszisztált reprodukciós kezelések kimenetelének előrejelzésében
20	2.2.3.2 Inhibin A a terhesség kimenetelének előrejelzésében
21	2.2.3.3 A sárgatestműködés ellenőrzése
21	2.2.3.4 A Down-szindróma szűrése
21	2.2.3.5 A praeclampsia előrejelzése
22	2.2.3.6 Inhibinek a petefészek daganatainak szűrésében
22	2.3 CA-125 és asszisztált reprodukció
27	2.4 PAPP-A a terhességek kimenetelének előrejelzésében
30	3 Célkitűzések
31	4 Betegek és módszerek
31	4.1 Klinikai jellemzők
31	4.1.1 A betegek kivizsgálása
32	4.1.2 Az IVF kezelés menete

33	4.2	A vizsgálatok keretében végzett hormonmeghatározások
33	4.2.1	A szérum FSH- és ösztradiolszintjének meghatározása
34	4.2.2	A szérum teljes β -hCG szintjének meghatározása
34	4.2.3	A szérum inhibin A szintjének meghatározása
35	4.2.4	A szérum CA-125-szintjének meghatározása
36	4.2.5	A szérum PAPP-A-szintjének meghatározása
37	4.2.6	A szérum szabad β -hCG szintjének meghatározása
37	4.3	A ciklusok felosztása a terhesség kimenetele alapján
38	4.4	Statisztikai elemzések
41	4.5	Az egyes elemzésekbe beválogatott betegek
41	4.5.1	A koraterhességi hCG-mérések jelentősége az IVF útján fogant terhességek kimenetelének előrejelzésében
41	4.5.2	A koraterhességi inhibin A meghatározások szerepe az IVF terhességek kimenetelének előrejelzésében
42	4.5.3	A szérum koraterhességi CA-125-szintjének jelentősége az IVF terhességek kimenetelének előrejelzésében
42	4.5.4	PAPP-A meghatározása koraterhességi szérummintákból
42	4.5.5	A szérum szabad β -hCG szintjének meghatározása koraterhességi mintákból
43	5	Eredmények
43	5.1	Koraterhességi teljes β -hCG szint mérések
46	5.2	Az inhibin A és a teljes β -hCG szint meghatározásának jelentősége koraterhességi szérummintákból
51	5.3	Összefüggések a koraterhességi szérumminták CA-125-szintje és az IVF kezelés kimenetele között
56	5.4	A szérum PAPP-A-szintje és az IVF kezelés kimenetele közötti összefüggés vizsgálata
60	5.5	A szérum szabad β -hCG szintje és az IVF kezelés kimenetele közötti összefüggés vizsgálata

64	6 Megbeszélés
64	6.1 Koraterhességi teljes β -hCG szint mérések
66	6.2 Az inhibin A és a teljes β -hCG szint meghatározásának jelentősége koraterhességi szérummintákból
69	6.3 Összefüggések a koraterhességi szérumminták CA-125-szintje és az IVF kezelés kimenetele között
71	6.4 A szérum koraterhességi PAPP-A-szintje és a terhesség kimenetele közötti összefüggés vizsgálata
73	6.5 A szabad β -hCG szint koraterhességi mintákban mért szintje és a terhesség kimenetele közötti összefüggés vizsgálata
76	7 Új megállapítások
78	8 Összefoglalás
79	9 Summary
80	10 Irodalomjegyzék
99	11 A doktori értekezés alapjául szolgáló saját közlemények jegyzéke
99	11.1 A doktori értekezés témájával kapcsolatos közlemények
100	11.2 A doktori értekezés témájával kapcsolatos, nemzetközi folyóiratban megjelent idézhető absztraktok
101	11.3 A doktori értekezés témájával kapcsolatos egyéb idézhető absztraktok
103	11.4 A tudományos munkásságot megalapozó egyéb közlemények
104	Köszönetnyilvánítás

Rövidítések

ARO	Asszisztált Reprodukciós Osztály
AUC	area under the curve (görbe alatti terület)
CRP	C-reaktív protein
CSF-1	colony stimulating factor-I (1-es típusú kolóniastimuláló faktor)
CV	coefficient of variation (variációs koefficiens)
DHEAS	dehidroepiandroszteron-szulfát
DT	doubling time (kettőződési idő)
E ₂	ösztadiol
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FSH	folliculus-stimuláló hormon
GnRH	gonadotropin-releasing hormone (gonadotropin-felszabadulást serkentő hormon)
hCG	humán choriogonadotropin
hMG	humán menopausalis gonadotropin
ICSI	intracitoplazmatikus spermiuminjekció
IGF	insulin-like growth factor (inzulinszerű növekedési faktor)
IGFBP-4	insulin-like growth factor-binding protein 4 (az inzulinszerű növekedési faktor 4-es típusú kötőfehérjéje)
i.m.	intra musculum
IFMA	immunfluorometriás assay
IRMA	immunradiometriás assay
IVF	in vitro fertilizáció
LH	luteinizáló hormon
mEIA	mikrorészecskés enzim-immunoassay
MoM	multiple of median (a terhességi korra jellemző medián érték töbszöröseként kifejezett mennyiség)
PAPP-A	pregnancy-associated plasma protein A (terhességi plazmaprotein A)

RÖVIDÍTÉSEK

RIA	radioimmunoassay
ROC	receiver-operating characteristic (döntési karakterisztika)
SE	standard error (átlag szórása, becslés szórása, standard hiba)
SHBG	sex hormone-binding globulin (szexuálhormon-kötő globulin)
TGF	transforming growth factor (transzformáló növekedési faktor)
TRACE	time-resolved amplified cryptate emission (időfelosztásos, erősített kriptátemisszió)
TRH	thyrotropin-releasing hormone (tirotropin-felszabadulást serkentő hormon)
TSH	thyroid-stimulating hormone (pajzsmirigyserkentő hormon, tirotropin)

I Bevezetés

Az asszisztált reprodukciós kezelések terén az elmúlt évtizedekben folyamatos fejlődésnek lehetünk tanúi mind a gyógyszeres kezelés és annak ellenőrzése, mind pedig az ivarsejtekkel és preembriókkal (előébrényekkel) végzett laboratóriumi eljárások tekintetében. Ennek ellenére a megkezdett kezelésekre vonatkoztatott terhességi arány – európai átlagban – ma sem haladja meg a 25%-ot,¹ vagyis hasonló a spontán menstruációs ciklusonkénti 30% körüli teherbeesési arányhoz.^{2,3} A természetes fogamzások mintegy 30%-a még a beágyazódás előtt elpusztul, további 30%-uk már az implantációt követően, de a terhesség klinikai jeleinek felismerése előtt vész el, míg vetélés átlagosan 10%-ban fordul elő,⁴ így az élveszülések aránya 30% körül mozog. Az asszisztált reprodukciós eljárások útján létrejött terhességek közül lényegesen több végződik vetéléssel vagy egyéb nem kívánt módon,^{5,6} így a kiviselt terhességek aránya megkezdett kezelésekre vonatkoztatva 20% körüli.¹ (Az angol nyelvű szakirodalomban elterjedt *adverse pregnancy outcome* gyűjtőfogalom a kedvezőtlen kimenetelű terhességek csoportjába sorolja a vetéléseken kívül a biokémiai és a méhen kívüli terhességeket, valamint – definíciótól függően – a koraszülést is.) Ugyancsak gyakoribb – mintegy 25%-os – a többes terhességek előfordulása.^{1,7} Mindezek ismeretében érthető az igény mind a kezelésre jelentkező meddő párok, mind az őket ellátó orvosok részéről arra, hogy az asszisztált reprodukciós kezelés során fogant terhességek várható kimenetelét minél előbb és minél megbízhatóbban lehessen előrejelezni, és amennyiben szükséges, a kezelést ezen információ birtokában módosítani.

A terhesség minél korábban történő felismerése, kimenetelének ismerete a pusztán kíváncsiságon túl több okból is jelentős. Egyrészt a méhen kívüli terhességek idejében történő felismerése a kismedencei szervek károsodásának megelőzése szempontjából rendkívül fontos, sőt életmentő lehet. Másrészt azoknál a betegeknél, akiknél valamilyen vizsgálattal kedvezőtlen kimenetel prognosztizálható, fokozott odafigyeléssel, szorosabb monitorozással, bizonyos terápiás lehetőségek alkalmazásával növelhetjük a terhesség fennmaradásának esélyét. Nem elhanyagolandó szempont az sem, hogy a meddő párok többségénél az évek óta fennálló gyermektelenség jelentős szorongással társul, és a betegek izgulnak a bonyolult,

hosszú ideig tartó – esetleg sokadik – kezelés sikeréért.⁸ Ha az általunk alkalmazott és megbízhatónak ítélt szűrőteszt eredménye kedvező kimenetelt jósol, a betegek szorongása csökkenthető, ami bizonyítottan hozzájárul a terhesség zavartalan kiviseléséhez.⁹

A koraterhességi ultrahangvizsgálat részét képezi az in vitro fertilizációs (IVF) kezelések protokolljának, azonban a petezsák csak az ovulációindukció utáni 33–37. naptól mutatható ki,¹⁰ ezért az elmúlt évtizedekben számos próbálkozás történt a terhesség endokrin markerek segítségével történő korábbi kimutatására, illetve kimenetelének előrejelzésére. A rutineljárásnak számító β -hCG-szint-meghatározáson kívül számos kutatócsoport vizsgálta többek közt a progeszteron, az ösztradiol, a relaxin és a terhesség-specifikus β_1 -glikoprotein szérumkoncentrációjának jelentőségét,^{11–14} valamint a vizelet pregnandiol-glukuronid tartalma szemikvantitatív meghatározásának szerepét¹⁵ az IVF kezelés kimenetelének előrejelzésében, azonban a felsorolt paraméterek klinikai jelentősége ma sem tisztázott.

A koraterhességi inhibin A szint és a terhesség kimenetele közötti összefüggést több vizsgálat is igazolta,^{16,17} egyelőre azonban kérdéses, mennyivel nyújt több információt ennek ismerete a β -hCG-szint-meghatározáson alapuló predikcióhoz képest.

A fogamzásnak és a sikeres IVF kezelésnek egyaránt záloga a beágyazódó előébrény és a méhnyálkahártya közötti interakció zavartalansága, amelyet az endometrium receptivitásával jellemezhetünk. Számos tanulmány foglalkozott és foglalkozik azzal a kérdéssel, milyen markerek mérésével követhető nyomon a méhnyálkahártya állapota, mennyiben jelezhető előre az, hogy egy adott ciklusban felkészült-e az endometrium a beültetendő előébrény(ek) befogadására, vagy érdemesebb azokat egy későbbi, a beágyazódás szempontjából kedvezőbb időpontig fagyaszttva tárolni. Vizsgálataink során ilyen összefüggésben a CA-125 szerepét elemeztük részletesen.

Az elmúlt évtized fejleményei közé tartozik a PAPP-A-szint első trimeszterbeli meghatározásának bevezetése a Down-szindróma és egyéb aneuploidiák szűrésében. A közelmúlt eredményei alapján úgy tűnik, hogy a PAPP-A-szint mérése felhasználható a terhesség aneuploidiával nem járó kedvezőtlen kimenetelének előrejelzésére is az első trimeszterben. Ezért vettük fel az általunk vizsgált endokrin markerek sorába ezt a proteint is, jóllehet a PAPP-A-nak az előrejelzésben betöltött szerepét a terhesség ilyen korai szakában tudomásunk szerint eddig nem elemezték.

2 Irodalmi áttekintés

2.1 *A hCG szerepe a terhességek kimenetelének előrejelzésében*

A *humán choriogonadotropin (hCG)* a trophoblast, majd később a kialakuló lepény egyik legfontosabb hormonja, amelynek elsődleges feladata a sárgatest fenntartása és szekréciójának valamennyi hormonra kiterjedő fokozása, így alapvető szerepet játszik a terhesség létrejöttében és fenntartásában az első trimeszter idején. Szerteágazó egyéb funkciói közül kiemelendő az anyai pajzsmirgyműködésre kifejtett serkentő hatás, amelynek révén hozzájárul a magzati idegrendszer zavartalan fejlődéséhez,¹⁸ valamint a magzati mellékvesekéreg szteroid- (elsősorban dehidroepiandroszteron-) termelésének serkentése.

A hCG 36,7 kDa molekulasúlyú, 30% szénhidrátot tartalmazó, két, egymáshoz nem kovalens kötésekkel kapcsolódó láncból álló, heterodimer szerkezetű glikoprotein, amelynek α -alegysége megegyezik az agyalapi mirigy glikoprotein hormonjainak (FSH, LH, TSH) α -láncával, β -alegysége pedig az első 121 aminosavat tekintve az LH β -alegységével 80%-os homológiát mutató részen kívül 24 további aminosavból épül fel. Mindkét alegységen belül diszulfidhidak is hozzájárulnak a biológiai hatás kifejtéséhez szükséges térszerkezet kialakulásához. Az α -alegység mRNS-e a cytotrophoblast-sejtekben és a syncytiotrophoblastokban egyaránt megtalálható,¹⁹ míg a szekréció ütemét meghatározó, kisebb mennyiségben termelődő β -alegység expressziója elsősorban a syncytiotrophoblastokban figyelhető meg.²⁰ A terhességen kívül hCG termelését mutatták ki az agyalapi mirigy gonadotrop sejtjeiben is, amelyek pulzatilis módon választják el a hormont a menstruációs ciklus során.²¹ Ez a molekula azonban eltérő szénhidrát-oldalláncokból épül fel, így jóval gyorsabban ürül ki a szervezetből, mint a placentaris eredetű hCG. A hypophysisből származó alak mindkét nemben alacsony, de kimutatható koncentrációban van jelen a keringésben, szintje a peri- és postmenopausában, valamint idősödő férfiakban emelkedő tendenciát mutat.²² Ennek jelenléte azonban a mérési módszerek ún. *klinikai szenzitivitásának* (annak a határértéknek, amely alatt a laboratórium negatívnak tünteti fel a mérés eredményét) helyes megválasztása esetén rendkívül ritkán okozhat diagnosztikai nehézséget.

A trophoblast-sejtekből élettani terhességben a teljes (dimer szerkezetű, hasítatlan) hCG molekula kerül ki a legnagyobb mennyiségben, emellett az ún. nagyméretű (hiperglikozilált-sága miatt dimerizálódásra képtelen) szabad α -alegység és hasítatlan β -alegység hagyja el a sejteket.²³ A hCG molekula hasítását (*nicking*) a trophoblastokkal asszociált macrophagok végzik,²⁴ az így létrejövő labilis származék rövid időn belül α - és hasított β -alegységre esik szét a keringésben. További hasítást követően valószínűleg a vesékben jön létre az utóbbiból a hCG fő lebomlási terméke, az ún. *β -core fragment*, amely a vizelettel választódik ki.²⁵ A hCG felezési ideje a keringésben 24 és 48 óra között mozog, amit a plazmakoncentráció is befolyásol.²⁶ Az injekció formájában bevitt hCG plazmaszintjének csökkenése ezzel szemben kétfázisú görbével írható le, amelynek első összetevője 5 óra körüli felezési időnek felel meg, míg a második lassú, 24–32 órás felezési idejű ürülést mutat.²⁷

Az előébrény nyolcsejtes állapotától kezdve kimutatható hormon a beágyazódást követően kerül az anyai keringésbe, ahová a későbbiekben a kifejlődő chorion-bolyhokból az intervillusos téren keresztül jut el. A biológiailag aktív, tehát hasítatlan, dimer szerkezetű hCG molekula (*non-nicked hCG*) szintje az anyai szérumban és vizeletben a terhesség első harmadában másfél–két nap körüli kettőződési idővel exponenciálisan növekszik,²⁸ és a 9–10. hét körül éri el 100 000 IU/l-es nagyságrendbeli csúcértékét, jöllehet az ekkor mérhető értékek meglehetősen nagy ingadozást mutatnak. Ezt követően a hormonszint mintegy ötödére esik vissza a 16. hétre, és a terhesség végéig alacsony szinten marad.²⁴

A hCG kimutatására szolgáló módszerek jelentős fejlődésen mentek keresztül azóta, hogy Aschheim és Zondek 1927-ben elsőként számolt be a terhes nők vizeletének nőstény egerek petefészkeire kifejtett hatásán alapuló biológiai próbáról.²⁹ Míg a hatvanas években kifejlesztett immunoassay-k jelentős keresztreakciót mutattak az LH-val, az 1970-es évek elején bemutatott „ β -hCG” radioimmunoassay (RIA) megoldást kínált erre a problémára, mivel ez utóbbihoz a tisztított β -alegység ellen termelt antitesteket alkalmaztak.³⁰ Ma már száznál is több, különféle módszereken (RIA, enzim-immunoassay, egy és két lépésből álló immuno-metriás assay, fluoroimmunoassay) alapuló „hCG-kit” van kereskedelmi forgalomban, amelyek az alkalmazott antitesttől vagy antitest-kombinációtól függően a hCG és metabolitjai közül más és más alakok kimutatására alkalmasak.²³

Ami a hormon koraterhességi mérésének szerepét illeti, a hCG-meghatározás segítségével kimutatott terhességi veszteségről szóló első beszámoló³¹ óta több vizsgálat igazolta, hogy az embriók jelentős része elpusztul, mielőtt a nők felismernék terhességüket. Több mint két évtized telt el azóta, hogy sorozatmérések segítségével igazolták a hCG szerepét a méhen kívüli és intrauterin terhességek elkülönítésében.³² Ezt követően számos vizsgálat eredményei támasztották alá a hCG-meghatározások prediktív értékét.^{33–37} Néhány közelmúltban megjelent beszámolóban az egyetlen szérummintából végzett hCG-szint-meghatározás szerepét vizsgálták a terhességek kimenetelének előrejelzésében.^{37–40} Egy másik tanulmányban az embriótranszfert (helyesebben: preembriótranszfert, magyarul: előébrény-beültetést) követő 14. és 20. nap között valamennyi napra külön-külön határértéket állapítottak meg a sikeres és sikertelen beágyazódás elkülönítésére,³⁷ míg egy norvég munkacsoport kizárólag a beültetés utáni 12. napon vett minták hCG-szintjén alapuló predikció pontosságát elemezte.⁴⁰ Egyik vizsgálatban sem szerepelt ugyanakkor olyan paraméter, amellyel a különböző napokon vett szérumminták hCG-szintjét össze lehetne hasonlítani. Mivel szervezési okok miatt sokhelyütt nem oldható meg a betegek beültetéstől számított azonos napra történő berendelése, saját vizsgálatainkban arra kerestük a választ, hogy az exponenciális emelkedés ismeretében „közös nevezőre” lehet-e hozni a különböző napokról származó szérumminták hCG-szintjét oly módon, hogy a kapott változó alkalmas legyen az IVF kezelés nyomán fogant terhességek kimenetelének előrejelzésére.

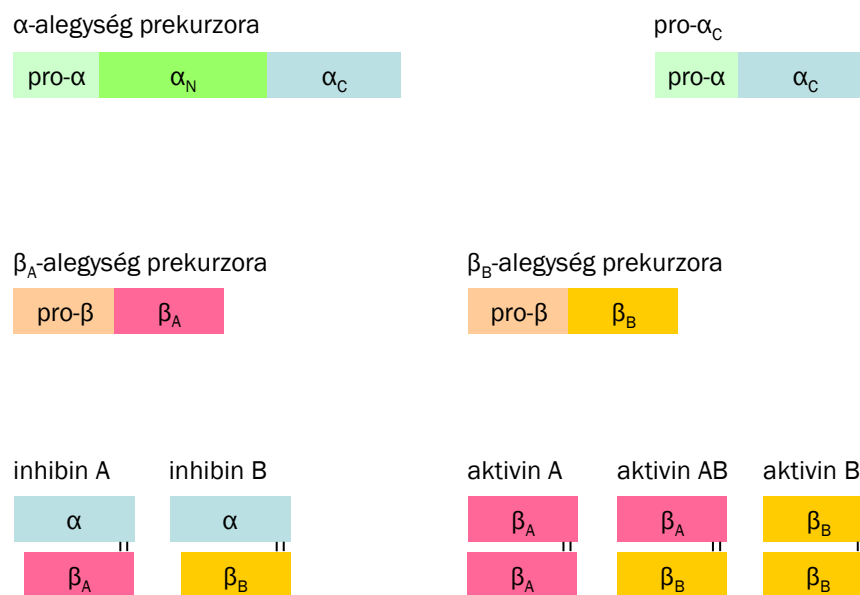
Trophoblast eredetű hormonról lévén szó, a terhesség alatti hCG-szint-meghatározás alkalmas a placentáció rendellenességeivel járó állapotok, így a praeeclampsia kialakulásának előrejelzésére,^{41,42} ezenkívül bizonyos aneuploidiák, többek közt a Down-szindróma első és második trimeszterbeli szűrésére is.⁴³ Rendkívül magas szérumszintek gestációs trophoblast-betegségekre (molaterhességre, choriocarcinomára vagy peteágyi trophoblasttumorra) utalnak,⁴⁴ de a here és a húgyhólyag daganataiban is gyakran figyelhető meg a szérum hCG-szintjének emelkedése.²⁶ Az említett kórállapotok esetén a keringésben jóval nagyobb – és változó – arányban vannak jelen a hCG metabolitjai (hasított alak, szabad β -alegység, β -core fragment), amit fontos figyelembe venni az érintett betegek állapotának nyomon követésében alkalmazott módszer kiválasztásakor.^{45,46}

Az elmúlt évtized nagyszámú pro- és retrospektív vizsgálata ellenére máig nincs egységes álláspont a tekintetben, vajon az asszisztált reprodukciós kezelések útján létrejött terhességekben másképp alakul-e a szérumban hCG-szintje, mint spontán fogamzást követően. A probléma gyakorlati jelentősége abban rejlik, hogy amennyiben valóban magasabb szintek mérhetőek ezekben az esetekben, akkor az átlagpopuláció MoM (multiple of median) értékeihez történő viszonyítás az álpozitív előrejelzések arányát növeli, így az aneuploidiák szűréséhez eltérő normálértékek meghatározása válhat szükségessé az asszisztált reprodukciós kezelések nyomán fogant terhességek esetében. Míg a korábbi felmérések során magasabbnak találták a hCG első és második trimeszterbeli szérumszintjét IVF kezelést és intracitoplazmatikus spermiuminjekciót (ICSI) követően,^{47–51} a közelmúltban megjelent beszámolók eredményei cáfolni látszanak az eltérések szignifikáns voltát,^{52–56} noha bizonyos tendencia mindvégig megfigyelhető.⁵⁶ Egy közelmúltban végzett hosszmetzeti tanulmány eredményei mindenestre azt mutatják, hogy a hCG (pontosabban a hormon β -alegységének) szérumszintjét az IVF kezelés sem a deszenzitizációs, sem a stimulációs fázisban nem befolyásolja, csupán a hCG-vel végzett ovulációindukció hatására figyelhető meg átmeneti (mintegy negyvenszeres) szérumszint-emelkedés, amely azonban a petesejtnyerés után 8 nappal már nem észlelhető.⁵⁷

2.2 *Az inhibinek szerepe a reprodukív működésekben*

2.2.1 AZ INHIBINEK SZERKEZETI FELÉPÍTÉSE

Az *inhibinek* a petefészek és a here által termelt, heterodimer szerkezetű glikoprotein hormonok, amelyek közös, 18 kDa-os α -alegységből és nagyfokú (70%-os) szerkezeti homológiát mutató β_A - vagy β_B -monomerből (14 kDa) épülnek fel (1. ábra). A kétféle alak elkülönítésére 1985-ben került sor,^{58,59} azonban az ezeket megkülönböztetni képes mérőmódszerek kifejlesztése még egy évtizedet váratott magára.⁶⁰ Az *inhibin A* diszulfidhidakon keresztül kapcsolódó α - és β_A -alegységből áll, míg az *inhibin B* szerkezeti felépítése $\alpha\beta_B$. Mindkét alak a fehérjék transzformáló növekedési hormon β (transforming growth factor β , TGF- β) szupercsaládjának tagja,⁶¹ és szelektíven – az LH-szekréción befolyásolása nélkül – képes az agyalapi mirigy gonadotrop sejtjeiben zajló FSH-elválasztás gátlására.⁶²



1. ábra. Az inhibin/aktivin család tagjainak szerkezeti felépítése

Ugyanebbe a szupercsaládba tartoznak a két-két β -alegység kapcsolódásából felépülő *aktivinek*, amelyek az alegység típusától függően homo- ($\beta_A\beta_A$: *aktivin A*, $\beta_B\beta_B$: *aktivin B*) vagy heterodimer szerkezetűek lehetnek ($\beta_A\beta_B$: *aktivin AB*). Közös tulajdonságuk az inhibinokkal ellentétben az, hogy az FSH-szekréciót serkenteni képesek.^{63,64} A közelmúltban további három β -alegységekből felépülő homodimert fedeztek fel, amelyek közül kettőt ($\beta_C\beta_C$: *aktivin C*, $\beta_D\beta_D$: *aktivin D*) eddig csak afrikai karmosbékában (*Xenopus laevis*) sikerült kimutatni.^{65–67} Rekombináns koexpressziós rendszerekben végzett kísérletek alapján úgy tűnik, hogy az α -alegység nem képes dimert képezni a β_C - és β_E -láncsal, így feltételezhető, hogy inhibin C és E nem is létezik.⁶⁸

Nem tisztázott, vajon az inhibinek saját receptorukon keresztül fejtik-e ki hatásukat a célsejteken, vagy az aktivinreceptorokhoz kötődnek. Utóbbiak közül a II-es típusú receptor (actRII) nagy affinitással köti meg az aktivineket az I-es típusú receptor (actRI) jelenlétében, amely a szignáltranszdukcióban játszik szerepet.⁶⁹ Mindkettő a szerin/treonin kináz jeltovábbító rendszeren keresztül közvetíti az aktivinek hatását (gerincesekben az aktivinreceptorokat fedezték fel elsőként ebből a típusból). Az inhibinek szintén kötődnek a II-es típusú aktivinreceptorhoz, igaz, jóval kisebb affinitással.⁷⁰ Egy másik elmélet szerint az

inhibinek saját receptorukon vagy egy „segédfehérjén” keresztül hatnak. Ezt támasztják alá azok a vizsgálatok is, amelyek kapcsán inhibinspecifikus kötőhelyek létezéséről számoltak be a petefészek granulosa-sejtjeiben és a here Leydig-sejtjeiben.⁷¹ A közelmúltban valóban kimutatták, hogy a III-as típusú TGF- β -receptor (β -glikán) társreceptorként szerepel az inhibin és a II-es típusú aktivinreceptor közötti kötés során.⁷²

Az inhibinek gyenge agonistájának tekinthető az előzőektől teljesen eltérő, monomer szerkezetű *follisztatin*, amely szintén gátolja a hypophysis FSH-elválasztását.^{73,74} A follisztatin ezenkívül megköti az aktivineket és – kisebb mértékben – az inhibineket is.⁷⁵ Ugyancsak részt vesz az inhibinek és aktivinek megkötésében az α_2 -makroglobulin is, amelynek affinitása kisebb ugyan, mint a follisztatiné, azonban annál jóval nagyobb koncentrációban van jelen a keringésben.

2.2.2 AZ INHIBINEK ÉLETTANI SZEREPE

Az adenohypophysis FSH-elválasztásának nem szteroid hormonok általi szabályozására vonatkozó elmélet kidolgozása Mottram és Kramer nevéhez fűződik,⁷⁶ akik patkánykísérletek során, a herék kanyarulat csatornácskáinak röntgensugárzással történő elpusztítását követően az agyalapi mirigy elülső lebenyének hypertrophiáját figyelték meg. Közel egy évtizeddel később, 1932-ben McCullagh arról számolt be, hogy vízdoldékony bikahere-kivonat adásával megakadályozható a hypophysis túltengése, és a gátló hatás miatt inhibinnek nevezte el az ekkor még csak feltételezett, de ki nem mutatott anyagot.⁷⁷ Az 1970-es években kidolgozott RIA-k segítségével végzett FSH-szint-meghatározások alapján derült fény arra, hogy az FSH-elválasztás szelektíven blokkolható herekivonattal.⁷⁸ Az inhibint a nyolcvanas évek közepén mutatták ki először szarvasmarha tüszőfolyadékából,⁵⁹ nem sokkal később pedig sertés-, birka- és emberi folliculusokból is.⁵⁸ Azóta számos vizsgálat igazolta, hogy a hormont elsősorban a granulosa-sejtek választják el a női szervezetben,^{59,79} jóllehet tudjuk, hogy termelése egyéb szervekben is megfigyelhető. Az inhibin felfedezését követően a szerkezetileg rokon, funkcionális szempontból antagonistának tekinthető aktiviné sem váratott sokat magára.⁶⁴

Az inhibinek mindkét nemben elsősorban az FSH szekréciójának endokrin szabályozásában vesznek részt negatív visszacsatolás révén. Ezzel szemben az aktívinek, amelyek termelése jóval több helyen folyik a szervezetben, szerteágazó hatásaikat főként parakrin mechanizmussal fejtik ki a célsejteken:^{80,81} a hypophysis gonadotrop sejtj csoportjai által termelt aktívinek helyileg serkentik a szomszédos sejtek FSH-szekrécióját,⁸² míg a nagy prae-ovulatoricus tüszőkben termelődő aktívinek a környező tüszők növekedésének gátlásához járulnak hozzá.⁸³ Az inhibinek és aktívinek együttesen befolyásolják a petesejt meioticus osztódását:^{84,85} patkánykísérletek tanúsága szerint az aktív A meiosis serkentő hatásával szemben az inhibinek késleltethetik az éretlen petesejtek meioticus folyamatait. A cumulus–petesejt komplex inhibin- és aktívintermelését támasztja alá, hogy valamennyi alegység mRNS-ének expresszióját sikerült igazolni ebben a rendszerben.^{86,87}

2.2.2.1 AZ INHIBINEK ÉLETTANI SZEREPE FÉRFIAKBAN

A gonadotrop sejtek inhibin iránti érzékenysége nem sokkal a születés után kezd kialakulni, és a serdülőkorra éri el maximumát.⁸⁸ Az inhibinről szóló első beszámoló 1932-ből származik, akkor a heréből kivont anyagként írták le, amely képes gátolni a hormontermelést az agyalapi mirigy elülső lebenyének sejtjeiben.⁷⁷ Azóta a férfi szervezet számos szervéről kimutatták ugyan, hogy inhibint termel, azonban a keringő hormon túlnyomórészt a here Sertoli-sejtjeiből származik.⁸⁹ (A közelmúltban végzett immunhisztokémiai és in situ hibridizációs vizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy a Leydig-sejtek is képesek az α -alegység előállítására.)^{90,91} A gonádok eltávolítását követő FSH-szint-emelkedésért tehát a szteroid-hormonok hiányán kívül az inhibinek termelődésének megszűnése is felelős. Az agyalapi mirigyre kifejtett endokrin hatásokon kívül az inhibinek helyi hatásai is jelentősek. Az α -alegység kiütését (targeted disruption) követően egerekben heretumороk kialakulását figyelték meg a születés után 3-4 héttel,⁹² ami tumorszuppresszor hatásra utal. A β_A -alegység hiányában szenvedő egereknél a perinatalis halálozás emelkedését figyelték meg szájpadafejlődési rendellenességek halmozott előfordulása következtében.⁹³ A herén kívül valamennyi inhibin alegység expresszióját kimutatták a prosztatában mind mRNS-, mind fehérje-

szinten,⁹⁴ amelyek közül az α -alegység termelődésének csökkenését figyelték meg a szerv rosszindulatú daganataiban.⁹⁵

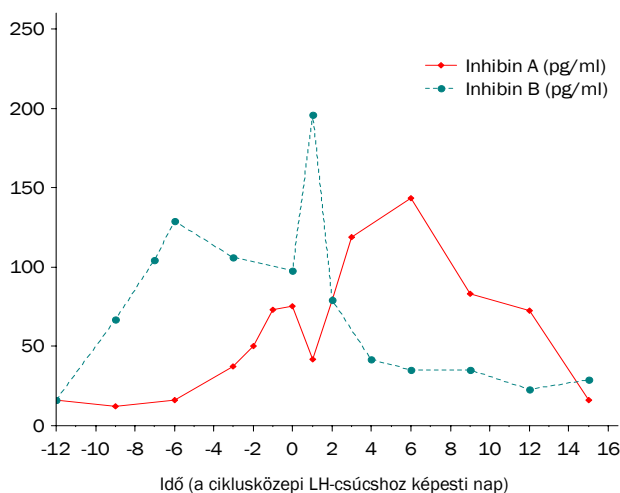
Ami az inhibinek klinikai alkalmazását illeti az andrológia területén, a férfiak meddőségének, pontosabban a Sertoli-sejtek működésének vizsgálatában az inhibin B kapott jelentősebb szerepet, mivel férfiakban – ellentétben más fajok hím egyedeivel – döntően ez az alak található meg a keringésben.⁹⁶ Mivel az inhibinválasztás serkentéséért az FSH a felelős, az inhibin B szintje a stimulálás mértékét és a sejtek válaszkészségét is tükrözi, így segíthet annak eldöntésében, hogy mely betegek esetében érdemes FSH adásával serkenteni a spermatogenezist.⁹⁷ Az inhibin B meghatározása ugyancsak hasznos lehet a dűlmirigy rosszindulatú daganatainak prognosztizálásában és nyomon követésében.⁹⁸

2.2.2.2 AZ INHIBINEK SZEREPE A MENSTRUÁCIÓS CIKLUS SZABÁLYOZÁSÁBAN

Az inhibineknek a női nemi működésekben játszott szerepéről lényegesen többet tudunk, mint a férfi szervezetbeli hatásokról, ami részben annak köszönhető, hogy a petefészekben zajló folliculogenesis könnyebben tanulmányozható *in vitro* körülmények között, mint a here kanyarulat csatornácskáiban zajló folyamatok. Az inhibinek élettani szerepét vizsgáló tanulmányok során kezdetben olyan RIA-t alkalmaztak – a módszer kidolgozásában részt vevő ausztrál kutatók munkahelye alapján az eljárás a *Monash-assay* elnevezést kapta –, amely alkalmatlan volt az inhibin A és B megkülönböztetésére, sőt az assay az α -alegység szabadon keringő, biológiailag inaktív alakjait is együtt mérte a két aktív dimerrel (1. ábra, 9. oldal).⁹⁹ Ez különösen zavaró, mivel a szabad α -alegység alakjai jóval nagyobb mennyiségben vannak jelen a testfolyadékokban, mint a dimerek.¹⁰⁰ A Monash-assay segítségével végzett korai meghatározások azt mutatták, hogy az inhibin(ek) szintje fokozatosan emelkedik a menstruációs ciklus tüszőfázisának második felében, amit az LH-csúccsal időben egybeeső szérumszintkiugrás követ, majd a sárgatestfázisban mérhető a legmagasabb értékek, amelyek korrelálnak a progeszteronszinttel is. Ez utóbbin kívül az a megfigyelés is alátámasztotta a sárgatest szerepét az inhibintermelésben, hogy hCG adásával megakadályozható a szérumszint esése a menstruáció előtt, és hasonlóképp védhető ki az inhibinszint csökkenése a GnRH-antagonista alkalmazása után beadott hCG-vel is.¹⁰¹ Ezt a feltételezést igazolták

továbbá azok a vizsgálatok is, amelyek során az inhibinszint csökkenését figyelték meg a sárgatest eltávolítását követően.¹⁰²

Az inhibin A-ra és B-re specifikus, nagy érzékenységű ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) rendszerek kifejlesztésével lehetővé vált a két alak menstruációs ciklus alatti lefutásának külön-külön történő vizsgálata.^{100,103,104} Ennek során azt tapasztalták, hogy az inhibin A szérumszintjének lefutása igen hasonló a RIA-val meghatározott immunoaktív alakéhoz, míg az inhibin B szintje a tüszőfázis elején és közepén a legmagasabb (ez a csúcs az FSH-szint csökkenésének kezdetével esik egybe), majd némi csökkenést követően periovulatoricus csúcs figyelhető meg, amely azzal magyarázható, hogy a megrepedt tüszőből felszabaduló follicularis folyadékából nagyobb mennyiségű inhibin B jut a keringésbe.¹⁰³ Ezt gyors esés követi, így az inhibin B legalacsonyabb szintjét az ovuláció utáni 7. napon éri el (2. ábra). Ez utóbbi megfigyelésből következik, hogy a sárgatest nem vesz részt az inhibin B termelésében.



2. ábra. Az inhibin A és B szérumszintjének lefutása spontán menstruációs ciklusban [Muttukrishna és mtsai (1994)¹⁰⁴ alapján, módosítva]

A petefészek granulosa-sejtjeinek inhibinválasztása az FSH szabályozása alatt áll.^{105,106} Az egyes alakok szérumszintjében megfigyelhető lefutásbeli különbségekből arra tudunk követ-

keztetni, milyen arányban termelődnek az inhibin alegységek a tüszőnövekedés egyes fázisaiban.⁸⁶ A praeantralis tüszőben a β_B -alegység termelése zajlik, α -alegység azonban nem mutatható ki, ami arra utal, hogy a granulosa-sejtek ebben a fázisban aktivin B homodimert állítanak elő. A kisméretű antralis folliculusokban is a β_B -alegység dominanciája figyelhető meg mRNS-szinten. A tüszők növekedésével párhuzamosan az FSH serkenti az α -alegység termelését, amely a β_B -alegységgel heterodimert alkotva az inhibin B kialakulását eredményezi. A kisméretű tüszőknek az inhibin B elválasztásában játszott szerepét jelzi az FSH-szint perimenopausában lévő nőkben megfigyelhető emelkedése is, amelyet részben a csökkenő számú tüsző által termelt inhibin B mennyiségének csökkenése okoz.¹⁰⁷

A folliculogenesis antralis és praeovulatoricus fázisában a domináns tüszőben egyre nagyobb mennyiségben keletkezik a β_A -alegység, amit az inhibin A szérumszintjének késői tüszőfázisban megfigyelhető emelkedése és ciklusközepi csúcsa is jelez. Az emelkedő ösztradiol- és inhibinszint hatására csökkenő FSH-szint ekkor a β_B -alegység praeantralis tüszőkben zajló expressziójának csökkenését vonja maga után.¹⁰⁰ *In vitro* körülmények között az LH serkenti az α - és a β_A -alegység mRNS-ének transzkripcióját a késői praeovulatoricus tüszők LH-receptorral rendelkező granulosa-sejteiben, ami az inhibin A szekréciójának fokozódásában nyilvánul meg.¹⁰⁸ Ugyanakkor az LH-csúcs idején valamennyi alegység expressziója visszaesik (noha a dimer szerkezetű inhibin B ekkor kerül a legnagyobb mennyiségben a keringésbe), majd a sárgatest kialakulásával az α - és β -alegység expressziója is helyreáll.

Az ösztradiolnak az FSH szekréciójára gyakorolt negatív hatása régóra ismert,^{109–112} az inhibin A és B szerepe azonban korántsem ennyire tisztázott. A lutealis fázis vége felé csökkenő intenzitással működő sárgatestből egyre kevesebb ösztradiol jut a keringésbe, ezáltal az FSH-elválasztás felszabadul a gátlás alól, ami szükséges ahhoz, hogy a rekrutációnak (recruitment) nevezett folyamat során több praeantralis tüsző az atresia elől megmenekülve fejlődésének antralis, majd praeovulatoricus szakaszába léphessen.¹¹³ Hasonló csökkenés figyelhető meg a sárgatestfázis vége felé az inhibin A szintjében is, ami felveti annak lehetőségét, hogy ez a hormon is befolyásolja az FSH elválasztását. Főemléksökben végzett kísérletek – inhibin A infúziója a sárgatestfázisban, amelynek hatására elmarad az FSH-szint menstruáció alatti kiugrása – igazolták ezt a feltételezést,¹¹⁴ az inhibin A immunneutralizációjával azonban nem sikerült növelni az FSH szintjét.^{115,116}

Nőknél végzett vizsgálatok során, állandó értéken tartva az ösztradiolszintet a sárgatestfázisban, nem tapasztalták az FSH szintjének emelkedését a luteofollicularis átmenetben az inhibin A szintjének csökkenése ellenére,^{117,118} ami ugyancsak megkérdőjelezi ez utóbbinak a szerepét az FSH-szekréció negatív visszacsatolós szabályozásában.

Az inhibin B regulációs szerepére utal, hogy az FSH szintje nagyjából 1 nappal az inhibin B szérumszintjének csúcsa előtt kezd hanyatlani a tüszőfázisban,^{106,118} és ezt támasztja alá az is, hogy az életkor növekedésével – a *reproductive aging*-nek nevezett folyamat során – a follicularis fázisban mért FSH-szint párhuzamosan emelkedik az inhibin B szintjének csökkenésével.^{107,119–121} Az inhibin A-nak a késői tüszőfázisban és a ciklus második felében játszott gátló hatására utalnak azok a megfigyelések, amelyek szerint az életkor előrehaladásával emelkedő FSH- és ösztradiolszint az inhibin A szérumkoncentrációjának csökkenésével is párhuzamot mutat.^{107,119–121}

Az ösztradiolnak és az inhibineknek az FSH-szekréció gátlásában betöltött relatív szerepére Welt és mtsainak közelmúltban végzett vizsgálatai derítették fényt.¹²² A kutatók spontán menstruációs ciklust követően egy teljes ciklusban naponta adagoltak tamoxifent vizsgálati alanyaiknak, amely szelektív ösztrogénreceptor-modulátor tulajdonsága révén antagonizálja az ösztradiol FSH-szekréciót gátló hatását a hypothalamusban. A kezeletlen ciklusban mért értékekkel összehasonlítva magasabb FSH-szintet mértek a sárgatestfázisban, valamint a luteofollicularis átmenetben és a korai tüszőfázisban, ami az ösztradiol szerepének fontosságát támasztotta alá, ugyanakkor az inhibinek szerepére is rávilágított, mivel az FSH szintje nem érte el a postmenopausalis korú vagy petefészek-eltávolításon átesett nőkben mérhető értékeket. Noha a tamoxifen-kezelés hatására bekövetkező FSH-szint-emelkedés arra utalt, hogy az inhibinek nem képesek önmagukban visszaszorítani a gonadotropin szintjét, az FSH-koncentráció növekedésének a késői tüszőfázisban észlelt – a sárgatestfázisban mérhetővel azonos ösztradiolszint melletti – elmaradása az ekkor legmagasabb szérumszintjét elérő inhibin B szerepét mutatja, míg az inhibin A inkább a sárgatestfázisban járul hozzá az FSH szekréciójának gátlásához.

Az FSH- és inhibinválasztás közötti szoros kapcsolatot támasztják alá a perimenopausában lévő nők körében végzett vizsgálatok is, amelyek arra utalnak, hogy az életkor előrehaladtával az inhibin A és B szintje az FSH-szint növekedésétől kísérve egyaránt

csökken,^{107,121} míg az ösztradiolszint viszonylag kevésbé változik a perimenopausa időszakában.^{123,124} Újabb vizsgálatok arra is fényt derítettek, hogy az inhibin B szintjében megfigyelhető hanyatlás megelőzi az inhibin A koncentrációjának csökkenését.¹²⁰

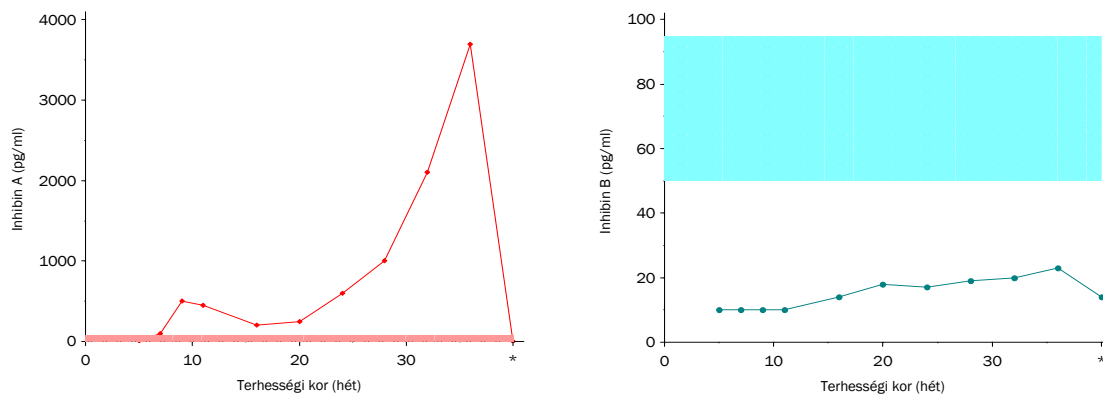
2.2.2.3 INHIBINEK A PETEFÉSZEK ASSZISZTÁLT REPRODUKCIÓS KEZELÉS CÉLJÁBÓL VÉGZETT GONADOTROPIN-STIMULÁCIÓJA ALATT

Az inhibineket először IVF kezelés céljából végzett stimuláció alatti mérésorozatban mutatták ki az emberi keringésben, így a Lancet hasábjain megjelent beszámoló volt az első, amelyben az inhibinek hormontermését igazolták.¹²⁵ Ma már tudjuk, hogy az akkori eredményeket nagymértékben befolyásolta a szabad α -alegységgel jelentős keresztreakciót mutató antitestek használata, ez azonban a lényegen nem változtat.

Az IVF kezeléseket megelőző, GnRH-agonisták alkalmazásával végzett deszenzitizáció az FSH és az LH termelését egyaránt blokkolja az agyalapi mirigy gonadotrop sejtjeiben, így a kezelésnek ebben a fázisában mesterséges hypogonadotrop állapot jön létre, aminek következtében a petefészek hormontermelése átmenetileg a menopausára jellemzőhöz hasonló nyugalmi szintre esik vissza. A deszenzitizáció hatására az inhibin A szintje mérhetetlenül alacsony szintre csökken, az inhibin B-é pedig az érzékenységi határ közelében mozog.¹²⁶ Az FSH-val végzett stimuláció alatt az inhibin A és B szintje egyaránt jelentősen emelkedik, hasonlóképp a szérum ösztradiolszintjében bekövetkező változásokhoz. Míg az utóbbi egészen a petesejtnyerésig emelkedik, addig az inhibin A koncentrációja a petesejtnyerés előtti napon (vagyis egy nappal az ovulációindukció után) éri el csúcát, az inhibin B szintje pedig néhány órával korábban kezd el csökkenni. A sárgatestfázisban mindhárom hormon szintjére a folyamatos csökkenés jellemző.¹²⁶ Hasonló lefutást tapasztaltak korábban a Monash-assay felhasználásával kломifen-citrát és hMG alkalmazásával, GnRH-agonista-előkezelés nélkül végzett stimuláció során,¹²⁵ valamint deszenzitizációt követően végzett hMG-stimuláció esetében is.¹²⁷

2.2.2.4 INHIBINEK A TERHESSÉGBEN

A korai, Monash-assay-n alapuló mérések tanúsága szerint az anyai szérumban az inhibin szintje röviddel a fogamzást követően növekedésnek indul,¹²⁸ első csúcsát a 13–16. héten éri el, majd a második trimeszterben megfigyelhető platót követően ismét növekedés jellemzi, amely egészen a szülésig tart.^{129,130} A későbbi, alegység-specifikus ELISA-k segítségével végzett vizsgálatok tisztázták, hogy a terhesség első és második harmadában elsősorban az inhibin A mutatható ki az anyai keringésben, míg a harmadik trimeszterbeli növekedésért az inhibin A és B egyaránt felelős (3. ábra).^{131–134} Spontán fogant egyes terhességekben az inhibin A szintje az 5. héttől kezd emelkedni, és először a nyolcadik héten tetőzik, amit egy platófázis követ,¹³¹ míg az inhibin B szintje a kimutathatóság határán mozog a terhesség első harmadában. A második trimeszterben visszaesés tapasztalható az inhibin A szintjében, amely a terhesség harmadik harmadában mintegy ötszörösére növekszik, és a 36. hét körül éri el maximumát.



3. ábra. Az inhibin A és B szérumszintjének terhesség alatti alakulása az anyai keringésben.

A sátrózott terület a nem terhes állapotra jellemző átlagos hormonszintet (\pm SE) jelzi

* = a szülés után 3 nappal [Fowler és mtsai (1998)¹³⁴ alapján, módosítva]

Koraterhességben az inhibinek a sárgatestből¹³⁵ és/vagy a trophoblast-sejtekből, illetve a fejlődő placentából¹³⁶ kerülnek a keringésbe. Feltételezhető, hogy a luteoplacentaris átmenet az inhibinválasztás tekintetében fokozatosan zajlik a terhesség 4. és 6. hete között.¹³⁷ Mind az α -, mind a β_A -alegységet mRNS-^{138,139} és fehérjeszinten^{136,140} egyaránt kimutatták

az emberi méhlepényből, elsősorban a syncytiotrophoblastokból. Az inhibin A-val és az aktivin A-val szemben ugyanakkor az inhibin B-t nem a placenta termeli.^{132,141} Petesejt-adományozás révén teherbe esett nők bevonásával végzett összehasonlító vizsgálatok alapján arra lehet következtetni, hogy a terhesség első négy hetében a sárgatest jelenti az inhibin elsődleges forrását.^{130,142} Ugyanakkor az a tény, hogy petesejt-adományozás esetén is megfigyelhető az inhibinszint bizonyos fokú emelkedése – az előébrény-beültetést követő 14. napon az ily módon fogant terhességekben is kimutatható az inhibin A az anyai keringésben¹⁴³ –, arra utal, hogy termelésében a fetoplacentaris egység is részt vesz. Ez összhangban áll azzal, hogy a lepény trophoblast-sejtjeiben is zajlik inhibintermelés, és a terhesség végén a placenta jelentős mennyiségű inhibint tartalmaz.^{144,145} Az inhibin A koraterhesség alatti forrása körüli ellentmondások részben abból származnak, hogy az ezzel kapcsolatos eredmények túlnyomórészt IVF kezelés útján fogant terhességek körében végzett vizsgálatokon alapulnak. Ilyenkor ugyanis a gonadotropin-kezelés hatására több tüsző, azokból pedig több sárgatest alakul ki, amelyek mindegyikében az élettaninál magasabb szinten zajlik az inhibin A elválasztása.¹²⁶ Érthető módon ezt a hatást tovább erősítheti az is, ha a sárgatestfázis támogatására hCG-injekciót kapnak a betegek.¹⁴⁶

Az inhibinek terhesség alatt játszott élettani szerepe ma sem tisztázott. Feltételezhető, hogy a TGF- β szupercsalád más tagjaihoz hasonlóan részt vesznek a GnRH-, hCG- és progeszteronelválasztás,^{147,148} a sejtnövekedés, valamint a placentában végbemenő differenciálódási folyamatok szabályozásában.¹⁴⁹ Ezt támasztják alá azok az immunlokalizációs és in situ hibridizációs vizsgálatok is, amelyekben az α - és β -alegységet egyaránt sikerült kimutatni mind fehérje-, mind mRNS-szinten.^{150,151} Az inhibineknek ezenkívül tumor-suppresszor szerepük is lehet a későbbi magzati fejlődés során,⁹² az inhibin A FSH-szekréción gátló hatása pedig hozzájárulhat a petefészek-működés nyugalmi szinten tartásához a terhesség alatt.¹³⁴

2.2.3 AZ INHIBINSZINT- MEGHATÁROZÁS KLINIKAI ALKALMAZÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI

2.2.3.1 INHIBIN B A PETEFÉSZEK STIMULÁCIÓRA ADOTT VÁLASZÁNAK ÉS AZ ASSZISZTÁLT REPRODUKCIÓS KEZELÉSEK KIMENETELÉNEK ELŐREJELZÉSÉBEN

A petefészek gonadotropinokkal végzett stimulációra adott válaszána az optimálistól való elmaradása részben az ovarium rezervkapacitásának csökkenésével magyarázható. Ez az állapot – vagy inkább folyamat – mikroszkópos vizsgálat során a petefészektüszők számának csökkenésével jellemezhető. Ilyenkor a folliculusok a normálisnál kevesebb granulosa-sejtből épülnek fel, és működésük is károsodik. Mindez a petefészek hormontermelésének csökkent aktivitásában nyilvánul meg, így a keringésbe is kevesebb inhibin jut.¹⁵² Ez jelenti a kórélet-tani hátterét azoknak a tanulmányoknak, amelyekben az inhibinek szerepét vizsgálták a petefészek stimulációra adott válaszána és az IVF kezelések kimenetelének előrejelzésében.^{125,126,153–157} Kétségtelen, hogy a stimulációra gyengén reagáló betegek között a spontán menstruációs ciklus 3. napján normáltartományba eső FSH-koncentráció mellett is gyakran mérhető alacsony inhibin B szint,^{153,158} aminek alapján kezdetben nagy jelentőséget tulajdonítottak a spontán ciklus korai tüszőfázisában mért inhibin B szintnek a petefészek-válasz predikciójában. Újabb megfigyelések azonban cáfolni látszanak azt a nézetet, hogy a „3. napi” inhibin B meghatározás jelentős többletinformációt nyújtana a kezelésre adott reakció mértékének^{155,156,159} vagy az IVF kezelés kimenetelének előrejelzésében.^{156,159} Nem meglepő, hogy az eddigi tapasztalatok azt mutatják: a stimuláció alatti inhibin B szint meghatározás mindkét kérdésben pontosabb felvilágosítást nyújt.^{155,159,160}

A korábbi, nem alegységsspecifikus módszerekkel végzett inhibinmeghatározások során nem találtak különbséget a terhességet eredményező és a nem terhes IVF ciklusok között a stimuláció alatt mérhető hormonszintek tekintetében.^{161,162} Ennek ellenkezőjét azóta sem sikerült egyértelműen igazolni, mióta rendelkezésünkre állnak az inhibin A és B elkülönítésére alkalmas módszerek. Peñarrubia és mtsainak vizsgálatai azt mutatták, hogy a stimuláció 5. napján mért inhibin B szintre alapozott predikció pontossága nem haladja meg az ugyanezen a napon levett szérummintából meghatározott inhibin A és ösztradiolszint alapján történő előrejelzését.¹⁵⁹ Egy esetkontroll-tanulmányban Hall és mtsai magasabbnak

találták ugyan az inhibin B ovulációindukció napján mért szintjét azok körében, akiknél a kezelés terhességet eredményezett, azonban figyelembe véve a betegek életkorát és a nyert petesejtek számát, az inhibin B szintje nem nyújtott többletinformációt a terhességek előrejelzését tekintve.¹⁵⁵ Fried és mtsai sem az ovulációindukció napján vett szérumbintában, sem a tüszőfolyadékban mért inhibin B szintet illetően nem találtak különbséget terhes és nem terhes ciklusok között.¹⁶³ Saját vizsgálataink során csak a petesejtnyerés napján mért inhibin B szintet találtuk a klinikai terhességek életkortól, a stimuláció alatti maximális ösztradiolszinttől, valamint a nyert petesejtek és a beültetett előébrények számától független prediktív tényezőjének, azonban az ebben az időpontban végzett mérések klinikai jelentősége meglehetősen csekély.

2.2.3.2 INHIBIN A A TERHESSÉG KIMENETELÉNEK ELŐREJELZÉSÉBEN

A terhesség első harmadában magasabb inhibin A szint mérhető a szérumban, mint nem terhes állapotban.¹³¹ IVF kezelésen átesett betegek körében végzett vizsgálatok tanúsága szerint alacsony kezdeti inhibin A szint és gyors első trimeszterbeli csökkenés jellemzi a korai veszteséggel végződő terhességeket, míg többes terhességekben magasabb inhibin A szint mérhető az első trimeszterben.^{16,17} Az eredmények azt mutatták, hogy a koraterhességi veszteségeket már az előébrény-beültetést követő 13–14. napon végzett inhibin A meghatározás segítségével előre lehetett jelezni, vagyis legalább két héttel azelőtt, hogy ultrahangvizsgálattal egyáltalán felismerhető lett volna a magzati szív működés. Más vizsgálatok szerint nem mutatható ki különbség az első trimeszterbeli vetélések és a 12. hétnél tovább viselt terhességek esetében mérhető inhibin A szint, illetve az egyes és többes terhességek között, azonban a hormonmeghatározás lehetőséget nyújt az IVF kezelés útján fogant klinikai és biokémiai terhességek elkülönítésére.¹⁶⁴ Ez arra enged következtetni, hogy a koraterhességi inhibin A meghatározás alkalmas ugyan a kedvezőtlen kimenetel előrejelzésére, azonban ez leginkább a magzati szív működés megjelenése előtt bekövetkező veszteségekre igaz.

2.2.3.3 A SÁRGATESTMŰKÖDÉS ELLENŐRZÉSE

IVF kezelések kapcsán rutinszerű az endogén progeszterontermelés kiegészítése progeszteronkészítmények alkalmazásával, ezért ilyen esetben a progeszteron-meghatározás alkalmatlan a sárgatestműködés nyomon követésére. Az élettani alapok ismeretében az inhibin A meghatározása kitűnő alternatívát jelenthet a sárgatestfunkció ellenőrzésére.¹⁶⁴

2.2.3.4 A DOWN-SZINDRÓMA SZŰRÉSE

Wallace és mtsai mutatták ki először, hogy Down-szindrómás magzat esetén az anyai szérumban és a magzatvízben egyaránt emelkedett inhibin A szint mérhető.^{165–167} Down-szindrómával szövődött terhességekben a lepényben intenzívebbé válik az α - és β_A -alegység mRNS-ének expressziója.¹⁶⁸ Egy átfogó prospektív vizsgálatban a Down-szindróma második trimeszterbeli szűrésére széles körben alkalmazott, három elemből [AFP (α -fetoprotein), konjugátlan ösztriol és intakt β -hCG] álló „hagyományos” teszt (*triple test* vagy *multiple-marker screening test*) szenzitivitását 69%-nak, az álpozitív eredmények valószínűségét 20%-nak találták, míg ha a teszt értékelésekor figyelembe vették az inhibin A meghatározás eredményét is, megfelelő határértékeket alkalmazva a négyes kombináció segítségével 85%-os valószínűséggel ismerték fel a Down-szindrómás terhességeket, igaz, az álpozitív teszteredmények előfordulása csak 1 százalékponttal mérséklődött.¹⁶⁹ Az inhibin A ilyen irányú alkalmazása szempontjából előnyös, hogy szintje elenyésző mértékben változik a keringésben a terhesség 15. és 18. hete között. Az eddigi vizsgálatok eredményei alapján sajnos úgy tűnik, hogy az első trimeszterbeli szérummintákból végzett inhibin A meghatározás nem alkalmas az egészséges és a Down-szindrómával szövődött terhességek elkülönítésére.

2.2.3.5 A PRAECLAMPZIA ELŐREJELZÉSE

Úgy tűnik, az inhibin A meghatározása a praeclampsia szűrésében is segítséget jelenthet:^{170,171} a közelmúlt megfigyelései alapján praeclampszával szövődött terhességekben emelkedett anyai szérumszint mérhető a második trimeszterben, amely meglehetősen magas specificitással (91%) és negatív prediktív értékkel (97%), ugyanakkor viszonylag szerény szenzitivitással (47%) és pozitív prediktív érték (21%) mellett jelzi előre a kórkép kiala-

kulását.¹⁷² Újabb megfigyelések arra engednek következtetni, hogy az aktivin A szérumszintjének emelkedése érzékenyebb marker a praeclampsia predikciójában.^{173–175}

2.2.3.6 INHIBINEK A PETEFÉSZEK DAGANATAINAK SZŰRÉSÉBEN

Granulosa-sejtes petefészekdaganatok esetében a Monash-assay és az inhibin B-re specifikus ELISA segítségével egyaránt az esetek 100%-ában emelkedett inhibinszint mérhető a szérumban. Ezekben a daganatokban általában az inhibin A és a pro- α_C (az α -alegység prekursor molekulájának N-terminálisát és a C-terminális régiót tartalmazó alak) szintje is emelkedett.¹⁷⁶ Az α -alegység C-terminális régiója ellen termelt ellenanyagokkal reagáló valamennyi alak (ide tartozik az inhibin A és B, valamint a szabad α -alegység is) mérésére alkalmas új immunfluorometriás assay (α_C -IFMA) különösen a mucinosus ovariumdaganatok felismerésében jelenthet segítséget, amelyeknél a CA-125-meghatározás érzékenysége elmarad a kívánatostól.¹⁷⁶

2.3 CA-125 és asszisztált reprodukció

Az asszisztált reprodukciós kezelések sikerességének két fő zálogát az érett petesejtek megtermékenyítése és a beültetésre kerülő előébrény befogadására képes méhnyálkahártya, vagyis a receptív endometrium jelenléte képezi. A kezelésben részesülő betegek többségénél létrejön a megtermékenyülés, és a zigóta osztódni kezd, azonban a beültetett előébrényeknek viszonylag kis hányada ágyazódik be és fejlődik tovább életképes terhességgé.^{177,178} Az IVF kezelések kimenetelének előrejelzése kapcsán főként olyan markerek szerepét tanulmányozták, amelyek a tüszőérést vagy a trophoblast-sejtek működését tükrözik – ide tartoznak a korábban bemutatott inhibinek és a hCG is –, az endometrium receptivitását jellemző faktorok szérumszintjével és annak prediktív értékével kapcsolatban azonban jóval kevesebb adat áll rendelkezésre.

A méhnyálkahártya előkészítése a beágyazódáshoz nem pusztán megfelelő hormonstimuláció kérdése – az implantáció sikere a blastocysta és az endometrium közötti párbeszéden is múlik, amelyben meghatározó szerepet játszanak a két „fél” által termelt citokinek, növeke-

dési faktorok és adhéziós molekulák.¹⁷⁹ Ezek többnyire immunhisztokémiai eljárással az endometriumból vagy a méhüreg átöblítése során visszkapott mosófolyadékból mutathatók ki, többségük szérumszintjének alakulását ilyen vonatkozásban nem vizsgálták. Ide tartozik a *leukaemia inhibitory factor (LIF)*, amelynek rendellenes expresszióját figyelték meg ismeretlen eredetű meddőségben szenvedő betegek körében, és amelynek génjén eddig három pontmutációt sikerült azonosítani ebben a betegcsoportban.¹⁸⁰

A méhnyálkahártya által termelt anyagok közül szintén részt vesz az implantáció szabályozásában a nagy molekulású *MUC1 glükoprotein* vagy *polimorf epithelialis mucin (PEM)*, amely egyike azoknak az anyagoknak, amelyekkel a blastocysta felszíni sejtjei a megtapadás során először kerülnek kölcsönhatásba.¹⁸¹ Ismeretlen eredetű meddőségben szenvedő nők körében végzett genetikai vizsgálatok rávilágítottak arra, hogy a sterilitás hátterében az esetek egy részében a MUC1 alléljának megrövidülése állhat.¹⁸²

Ugyancsak szerepet játszanak az endometrium receptivitásában az adhéziós molekulák közé tartozó *integrinek*, amelyek közül az $\alpha_v\beta_3$ alak mutatható ki a legnagyobb mennyiségben a méhnyálkahártya luminalis felszínén az implantációs ablak idején.¹⁸³ A közelmúlt kutatási eredményei fényt derítettek arra, hogy az integrinek receptorként szolgálnak a beágyazódó előbrény számára, és a mátrix metalloproteinázok aktiválása révén elősegítik a trophoblast beágyazódását.¹⁸⁴ Az $\alpha_v\beta_3$ -integrin csökkent mértékű endometrialis termelődését több meddőségi betegcsoportban leírták, így endometriosisban,¹⁸⁵ sárgatest-elégtelenségben,¹⁸⁶ hydrosalpinx esetében,^{187,188} valamint ismeretlen eredetű meddőségben.¹⁸⁹ Úgy tűnik, hogy a hydrosalpinx épp az elégtelen integrinexpresszió révén, a beágyazódáshoz szükséges feltételek hiánya miatt vezet meddőséghez.

Az eddig felsoroltakkal ellentétben a szérumszint alakulását és annak klinikai felhasználási lehetőségét is vizsgálták az *1-es típusú kolóniastimuláló faktor (colony stimulating factor-1, CSF-1)* esetében, amelyről az elmúlt évtizedben bebizonyosodott, hogy a vérképzésben játszott szerepén kívül emberben a blastocysta fejlődését és a trophoblast differenciálódását is befolyásolja.¹⁹⁰ A CSF-1 expressziója elsősorban a sárgatestfázisban mutatható ki a méhnyálkahártyában, a terhesség első harmadában pedig deciduában és invazív extravillosus trophoblastban is igazolták jelenlétét.¹⁹¹ A faktor ezenkívül a keringésben és a tüszőfolyadékban is kimutatható, a kettő koncentrációja szorosan összefügg.¹⁹² Megfigyelések szerint habituális

vetélők körében alacsonyabb szérumszint mérhető a terhesség nyolcadik hetében, mint szövődménymentes terhességben.¹⁹³

Mivel az endometrium receptivitásában és a beágyazódásban számos citokin vesz részt, a közelmúltban a figyelem a *C-reaktív protein (CRP)* szerepe felé fordult, amelynek szintjét az említett citokinek is befolyásolják.¹⁹⁴ Az eredmények azt mutatják, hogy IVF kezelés során a CRP szérumszintje a petesejtnyerés és az előébrény-beültetés között emelkedik, azokban a ciklusokban azonban, amelyek terhességet eredményeznek, mérsékeltbb növekedés figyelhető meg.

Az endometrium-funkció egyik legszélesebb körben vizsgált markere a *glikodelin (placental protein 14, PP14)*, amelyet a szekréciós fázisban lévő és a decidualizálódott méhnyálkahártya termel. A kész glikoprotein túlnyomórészt a mirigylumenbe kerül, kisebb részben pedig a keringésbe. Az implantáció folyamatában játszott szerepéről annyit lehet tudni, hogy immunszupprimált mikrokörnyezetet biztosít a beágyazódó előébrény számára azáltal, hogy gátolja az immunrendszer natural killer (NK-) sejtjeinek működését.¹⁹⁵

A glikodelin szérumszintje progeszteron és relaxin hatására az ovuláció utáni 5. naptól a menstruációig növekszik,¹⁹⁶ és a következő ciklus tüszőfázisának közepén tér vissza az alapszintre,¹⁹⁷ míg fogamzás esetén a hCG szintjéhez hasonló lefutást mutat: a beágyazódást követő gyors emelkedés a 8–10. hétig tart, majd visszaesés következik. Ismeretlen eredetű meddőségben szenvedő betegek méhűri mosófolyadékában alacsonyabbnak találták a PP14 koncentrációját.¹⁹⁸ A glikodelin asszisztált reprodukciós kezelések kapcsán történő klinikai alkalmazásának lehetőségét mutatja, hogy terhességet eredményező IVF ciklusokban a stimuláció I. napján,¹⁹⁹ az ovulációindukció,²⁰⁰ a petesejtnyerés¹⁹⁹ és az előébrény-beültetés napján,²⁰⁰ valamint a preembriótranszfert követő 12. napon²⁰¹ magasabb a szérumszintje, mint nem terhes ciklusokban.

A *CA-125* elsősorban a nőgyógyászati onkológiából ismert tumormarker, amely szerkezetét tekintve egy nagy molekulású glikoprotein antigéndetermináns részét képezi. Expressziója a legtöbb petefészek-daganatban megfigyelhető,²⁰² meghatározása elsősorban a serosus és endometrioid típusú epithelialis petefészekdaganatok szűrése és kezelésének követése kapcsán jön szóba.²⁰³ Szérumszintjének emelkedését számos jóindulatú nőgyógyászati megbetegedés kapcsán is megfigyelték, így magasabb értékek mérhetők endometriosisban,²⁰⁴ kismenedcei

gyulladás esetén,²⁰⁵ benignus petefészek-cysták jelenlétében,²⁰⁶ valamint túlstimulálási szindróma kialakulásakor.²⁰⁷

A CA-125 kimutatható a coelomahám valamennyi származékában, így az endocervix és a petevezetékek hámjában, az endometrium mirigyének apicalis felszínén, valamint a mirigyek szekrétumában a proliferatív és a szekréciós fázisban egyaránt megtalálható.²⁰⁸ A CA-125, melynek jelenlétét immunhisztokémiai eljárással mind egészséges, mind hyperplasiás és malignusan átalakult méhnyálkahártyában igazolták,²⁰⁹ élettani viszonyok között is kimutatható a perifériás keringésben.²¹⁰ Az azonban egyelőre nem tisztázott, vajon a méhből vagy a petefészekből, esetleg a reproduktív rendszer más részéből kerül-e oda.

A CA-125 változó koncentrációban van jelen a keringésben a spontán menstruációs ciklus alatt: szintje a tüszőfázisban és az ovuláció körül a legalacsonyabb, míg csúcspontját a havi vérzés idején éri el.^{211,212} Az ingadozás magyarázata vélhetőleg abban keresendő, hogy a menstruáció alatt és az azt megelőző napokban a CA-125 könnyebben jut a keringésbe a leváló, széteső méhnyálkahártyából.²¹¹ Mások retrográd menstruációval magyarázzák a jelenséget, amelynek révén a hasüregbe kerülő CA-125 a hashártya nyirokútjain szívódik fel, de az is elképzelhető, hogy a menstruációs szövet által kiváltott lokális gyulladás serkenti a CA-125 intraperitonealis szekrécióját.^{213,214} A retrográd menstruáció kizárólagos szerepének ellentmondanak ugyanakkor Abrão és Bon független megfigyelései, akik kétoldali petevezeték-lekötés után,²¹⁵ illetve elzáródott méhkürttel rendelkező betegek körében²¹² hasonló változásokat figyeltek meg a ciklus során.

Nem egyértelmű ugyanakkor, befolyásolják-e a petefészek szteroidhormonjai a CA-125 szekrécióját. Jóllehet ezek CA-125-szintre kifejtett közvetlen hatását nem vizsgálták, a szteroidok szabályozó szerepére utalhat, hogy petefészek-eltávolításon átesett, postmenopausában lévő nők szérumában magasabb CA-125-szint mérhető, függetlenül attól, hogy a méh eltávolításra került-e.²¹⁶ A hormonpótló kezelésben részesülő nők körében megfigyelt alacsonyabb értékek ugyancsak az ovarialis szteroidok szabályozó szerepét támasztják alá.²¹⁷ Egy friss közlemény adatai szerint a méhüreg sárgatestfázisban történő átöblítése során nyert mosófolyadék CA-125-szintje nem különbözik spontán ciklusban, illetve (elmaradt) IVF kezelés céljából végzett stimulációt követően, ami arra utal, hogy a méhnyálkahártya

CA-125-szekrécióját nem befolyásolja közvetlenül a – vizsgált csoportok között jelentősen eltérő – ösztradiolszint.²¹⁸

Egymásnak ellentmondó beszámolók jelentek meg az irodalomban a szérum CA-125-szintjének alakulásáról IVF kezelés céljából végzett stimuláció idején,^{219–222} azonban endometriális eredete alapján feltételezhető volt, hogy a CA-125 előébrény-beültetést megelőző időszakban mért szérumszintjéből következtetni lehet a méhnyálkahártya befogadó-képességére. Nem egyértelmű ugyanakkor, vajon a stimuláció alatt,²²³ az ovulációindukció napján,^{200,222,223} a petesejtnyerés idején^{200,223,224} vagy a beültetés napján mért CA-125-szint^{200,222} megbízhatóan jelzi-e előre az IVF kezelés útján létrejött terhességeket. Baalbergen és mtsai 44 IVF beteg szérummintáiban vizsgálták a CA-125 szintjét a petesejtnyerés napján és az előébrény-beültetést követő 14. napon.²²¹ A kutatók a későbbi időpont-ról származó mintákat elemezve magasabbnak találtak azoknak a betegeknek a szérumszintjét, akiknél a kezelés terhesség létrejöttét eredményezte, mint akiknél az adott ciklus sikertelen volt. A terhességek kimenetelét azonban ebben az elemzésben nem vizsgálták, és a betegek bevonásának kritériumai sem voltak egyértelműek.

A szérumszint koraterhesség alatti alakulását illetően az eddigi, 6. és 12. hét között végzett vizsgálatok alapján úgy tűnik, hogy a CA-125 a magzatvízből és a deciduából jut az anyai keringésbe, a magzatvíz CA-125-szintje pedig a decidua basalis épségétől függ. Ezért a magas vagy emelkedő CA-125-koncentráció a decidua vagy a magzatburkok károsodását jelezheti az első trimeszterben.²²⁵ Ezt támasztják alá annak az esetkontrollos vizsgálatnak az eredményei is, amelyben fenyegető vetélés esetében szignifikánsan magasabbnak találták a szérum CA-125-szintjét, mint zavartalan terhességben, és kiemelkedően magas CA-125-szint mellett a vetélés az esetek 100%-ában be is következett.²²⁶ Hasonló következtetéseket lehet levonni abból a prospektív vizsgálatból is, amelynek során hüvelyi vérzéssel jelentkező terhesek körében sorozatméréssel követték nyomon a szérumszint alakulását. Ennek eredményei azt mutatták, hogy a vetéléssel végződött terhességekben a CA-125 szintje magas maradt, illetve tovább emelkedett, míg azoknál, akik terhességüket tovább viselték, a szérumszint visszaesését figyelték meg.²²⁷ Decidualis eredetre utal továbbá, hogy a CA-125 ebben a szövetben nagyobb mennyiségben van jelen, mint a magzatburkokban vagy a trophoblastban,²²⁸ valamint az is, hogy méhen kívüli terhességben – ahol a trophoblastok nem a

deciduába hatolnak be – alacsonyabb a szérum CA-125-szintje, mint intrauterin beágyazódás esetén.²²⁹

2.4 PAPP-A a terhességek kimenetelének előrejelzésében

A PAPP-A (*pregnancy-associated plasma protein A, terhességi plazmaprotein A*) nagy molekulású (400 kDa), homotetramer szerkezetű polipeptid, amelyet elsőként terhes nők szérumából izoláltak,^{230,231} azonban a fehérje nem terhes nők,²³² sőt férfiak szervezetében is^{233,234} kimutatható. A keringésben megtalálható fehérje több mint 99%-a 2:2 arányú kovalens komplexet képez a sejtek eozinofil granulumaiból izolált fő bázikus protein (major basic protein) előalakjával (proMBP).²³⁵ A PAPP-A expressziója mRNS- és fehérjeszinten egyaránt számos szövetben mutatható ki.²³⁶ A legintenzívebb termelődést alepényben figyelték meg: a terhesség végén az első trimeszterbeli értékekhez képest mintegy 75-szörös növekedés tapasztalható, ennek megfelelően az anyai keringésben mérhető szérumszint is exponenciális növekedést mutat.²³⁷ A PAPP-A szekrécióját valószínűleg a progeszteron helyi koncentrációja befolyásolja.^{238,239} In situ hibridizációs²⁴⁰ és reverz transzkripciót követő polimeráz láncreakcióval (RT-PCR) végzett vizsgálatok eredményei alapján²⁴¹ a PAPP-A mRNS-e mind a cytotrophoblast-sejtekben, mind a syncytiotrophoblastban kimutatható, és az immunlokalizációs módszerek alkalmazásával hasonló eloszlás figyelhető meg fehérjeszinten is. Jelentős mértékű expresszió folyik továbbá a nagyméretű antrális tüszők granulosa-sejtjeiben és a luteinizált theca-sejtekben.^{242,243}

Jóllehet a PAPP-A-t már több mint negyedszázada ismerjük, csak néhány éve derült fény a tüszőnövekedés endokrin szabályozásában betöltött szerepére. A metalloproteináz aktivitással rendelkező fehérje többek között az inzulinszerű növekedési faktor 4-es típusú kötőfehérjéjének (insulin-like growth factor-binding protein 4, IGFBP-4) proteolitikus hasítására képes, amit a proMBP a PAPP-A molekulájához irreverzibilisen kötődve gátolhat.^{244,245} Az IGFBP-k az I-es és II-es típusú inzulinszerű növekedési faktorok (IGF-I, IGF-II) kötőfehérjéi, amelyek megakadályozzák az utóbbiak kölcsönhatását receptoraikkal a granulosa-sejtek felszínén, így fontos szerepet játszanak az FSH részben IGF-eken keresztül közvetített, ösztrogén-szekréciót serkentő hatásának befolyásolásában.²⁴⁶ Az IGFBP-4

PAPP-A általi hasítása tehát a szabad IGF-frakció növekedéséhez vezet, így a PAPP-A alacsony szintje az IGF-szint csökkenését eredményezheti. Úgy tűnik tehát, hogy a PAPP-A a sejtek IGF-ellátottságának és növekedésének fontos szabályozója,²³⁹ és kísérletek tanúsága szerint szerepet játszik a tüszők szelekciójában, valamint a granulosa-sejtek luteinizálódásában.²⁴⁷

Az IGF-ek fenti hatásukon kívül a magzati növekedést is befolyásolják;²⁴⁸ trophoblast-tenyészeteken végzett megfigyelések alapján a sejtek glükóz- és aminosav-felvételét szabályozzák,²⁴⁹ továbbá szerepet játszhatnak a trophoblast decidualis inváziójának autokrin és parakrin szabályozásában.²⁵⁰

Míndezek ismeretében nem meglepő, hogy a PAPP-A-t az elmúlt évtizedben széles körben alkalmazták a lepény kialakulásának rendellenességeivel szövődött állapotok diagnosztikájában. A Down-szindróma és egyéb aneuploidiák szűrése sokhelyütt szérummarkerek segítségével történik. Míg a második trimeszterben a korábban említett három marker (intakt hCG vagy szabad β -hCG, α -fetoprotein, konjugátlan ösztriol) méréséből álló teszt alkalmazása terjedt el a leginkább,⁴⁷ amelynek segítségével 5% körüli álpozitív arány mellett a terhesek életkorának figyelembevételével a kóros esetek mintegy kétharmada szűrhető ki, addig az első trimeszterben az anyai szérum PAPP-A- és szabad β -hCG szintjének meghatározása hasonló pontossággal jelzi előre a Down-szindrómás eseteket,²⁵¹ ha pedig az ultrahangvizsgálat során meghatározott tarkóredő-vastagságot is figyelembe vesszük, a szenzitivitás az 5%-os álpozitív küszöb mellett a 85%-ot is elérheti.^{252–254} A PAPP-A első trimeszterbeli szérumszintje ezen kívül a 13-as és 18-as triszómia, triploidia, valamint a nemi kromoszómák számbeli rendellenességei esetén is alacsonyabb a normálisnál.^{255,256} Ugyancsak alacsonyabb szérumszintek mérhetők az értelmi fogyatékossgal, növekedési retardációval, végtagredukcióval, arc- és szívfejlődési rendellenességekkel, valamint gastrooesophagealis refluxszal és hallászavarral jellemezhető Cornelia de Lange-szindrómában, amely mai ismereteink szerint nem társul kromoszóma-rendellenességgel, és specifikus biokémiai eltérést sem azonosítottak a kórképpel kapcsolatban.²⁵⁷

A nyolcvanas évek elején végzett vizsgálatok eredményei arra utaltak, hogy a PAPP-A szérumszintjének emelkedése segítséget jelenthet a terhesség harmadik harmadában egyéb, kromoszóma-rendellenességtől független kedvezőtlen kimenetek, így a szülés előtti vérzés,

a fenyegető koraszülés, valamint a praeclampsia előrejelzésében.²⁵⁸ A közelmúltban a figyelem az első trimeszterben mért alacsony PAPP-A-szintek és a terhesség aneuploidiával nem járó kedvezőtlen kimenetele közötti potenciális összefüggés kutatása felé terelődött. Egy több mint ötezer terhes bevonásával végzett vizsgálat eredményei alapján a 10. és 14. terhességi hét között vett szérummintákban mért alacsony PAPP-A-szint prediktívnek tekinthető a praeclampsia, a méhen belüli növekedési retardáció, valamint a terhességi diabetes kialakulása szempontjából.²⁵⁹ Ezeket az adatokat támasztja alá Yaron és mtsainak prospektív vizsgálatosorozata, amelyben a terhesség 10. és 13. hete között levett szérummintákban a mintavétel időpontja szerinti MoM érték egynegyedét meg nem haladó PAPP-A-szint esetében szignifikánsan magasabbnak találták a növekedési retardáció, a praeclampsia, valamint a spontán vetélés későbbi előfordulását.²⁶⁰ Hasonló eredményeket állapítottak meg abban a multicentrikus, prospektív, csaknem kilencezer betegre kiterjedő kohorszvizsgálatban is, amelynek során a 8. és 14. hét közötti PAPP-A-szint-meghatározások eredménye szignifikáns prediktornak bizonyult a praeclampsia, a koraszülés és a méhen belüli elhalás tekintetében.²⁶¹

3 Célkitűzések

Az irodalmi ismeretek alapos áttanulmányozását követően, a rendelkezésemre álló klinikai adatbázis és fagyasztva tárolt szérumminták birtokában a következő kérdések megválaszolását tűztem ki célul:

1. Felhasználható-e a szérum teljes β -hCG szintjének koraterhességi alakulására jellemző exponenciális emelkedést leíró matematikai modell arra, hogy segítségével olyan változót hozzunk létre, amely alkalmas a különböző vérvételi napokról származó szérumminták hCG-szintjének összehasonlítására és az IVF kezelés útján fogant terhességek kimenetelének előrejelzésére?
2. Szolgál-e többletinformációval a szérum teljes β -hCG szintjéhez képest az inhibin A koncentrációjának meghatározása a terhességek kimenetelének prognosztizálásában?
3. Összefügg-e az előébrény-beültetést követő második héten vett („koraterhességi”) szérumminták CA-125-szintje az IVF kezelés kimenetelével?
4. Segíthet-e a terhességet eredményező és a sikertelen IVF kezelési ciklusok elkülönítésében a koraterhességi mintákban mért PAPP-A szintjének ismerete?
5. Kimutatható-e a terhesség korai stádiumában a hCG szabad β -alegysége az anyai keringésben, amelynek szintje az irodalmi adatok szerint IVF kezelés nyomán fogant terhességekben magasabb, mint spontán terhességekben? Ha igen, korrelál-e a teljes β -hCG szinttel, és következtetni lehet-e szérumkoncentrációjából a terhesség sorsára?

4 Betegek és módszerek

Doktori értekezésemet a Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikájának Asszisztált Reprodukciós Osztályán (ARO) 1995 és 2001 között kezelt betegek klinikai adatai és az IVF kezelések kapcsán történt hormonmeghatározások céljából levett és fagyaszttva tárolt szérummintákból végzett mérések eredményei alapján készítettem el.

4.1 Klinikai jellemzők

4.1.1 A BETEGEK KIVIZSGÁLÁSA

A vizsgálatainkba bevont, IVF kezelésben részt vevő meddő párok mindegyikét az ARO protokollja szerint vizsgáltuk ki, a kezelésre e leletek birtokában került sor. A protokoll részét képezte a részletes anamnézis-felvételt követően, a betegek spontán menstruációs ciklusában elvégzett ún. *alaphormon-vizsgálat*, amelynek során a ciklus 3. és 5. napja között levett szérummintából az FSH-, LH-, prolaktin- és ösztradiolszint meghatározásán kívül az androgének (tesztoszteron és DHEAS) és kötőfehérjéjük (sex hormone-binding globulin, SHBG) koncentrációjának mérésére is sor került, továbbá a pajzsmirigyműködés vizsgálatára meghatároztuk a TSH (thyroid-stimulating hormone, tirotropin) alap- és TRH-val (thyrotropin-releasing hormone) végzett terhelést követő szintjét is. A ciklusközepi LH-csúcs bekövetkeztét jelző vizeletteszt pozitívvá válása utáni 5., 7. és 9. napon vett szérummintából ösztradiol- és progeszteronszintet mértünk, ezenkívül a sárgatestfázis alatti második megjelenés alkalmával prolaktinszint-meghatározást végeztünk metoclopramid-terhelés előtt és után. Ugyancsak a betegek kivizsgálásának részét képezte a kismencedei szervek ultrahangvizsgálata, a tüszőfázisban elvégzett hysterosalpingographiás vizsgálat, valamint a pár férfi tagjának andrológiai vizsgálata. Az utóbbi keretében készült spermigram mellett embriológiai laboratóriumunkban is sor került a partner spermavizsgálatára, amelynek eredményét az andrológustól kapott lelettel összevetve vettük figyelembe a diagnózis és a kezelési terv felállításakor.

4.1.2 AZ IVF KEZELÉS MENETE

Vizsgálatainkba csak az ún. *hosszú deszenzitizációs protokollal* kezelt betegeket vontunk be. Bár kidolgozása óta más protokollok is napvilágot láttak – ide értve például a GnRH-antagonistákkal végzett stimulációt –, az IVF kezelések céljából történő petefészkek-stimulációs ciklusok túlnyomó többségében a világon ma is ezt a sémát követik. Az ugyanazon beteg saját, nem terhes ciklusával végzett összehasonlításra épülő vizsgálatoktól eltekintve minden betegnek csak az első, terhességet eredményező kezelési ciklusát elemeztük. A petefészkek-cysták jelenlétének kismencedei ultrahangvizsgálattal történő kizárását követően betegeink agyalapi mirigyének gonadotropin-termelését a GnRH-agonisták csoportjába tartozó triptorelinnel (napi 0,1 mg Decapeptyl; Ferring, Kiel, Németország) vagy buserelinnel (napi 900–1200 µg Suprefact; Hoechst, Frankfurt am Main, Németország) gátoltuk a kezelést megelőző menstruációs ciklus sárgatestfázisának közepétől kezdve. Miután az ösztradiol- és LH-szint esésével igazoltuk a deszenzitizációt, megkezdjük a petefészkek kontrollált hiperstimulálását hMG-vel (Humegon; Organon, Oss, Hollandia vagy Pergonal; Serono, Róma, Olaszország) vagy vizeletből kivont FSH-t tartalmazó készítménnyel (Metrodin vagy Metrodin HP; Serono). A tüszők növekedését a stimuláció 5. napjától kezdve naponta végzett ultrahangos folliculometriával és ösztradiolszint-meghatározással követtük nyomon az ovulációindukció (10 000 IU hCG im.; Profasi; Serono) napjáig. Ez utóbbira akkor került sor, ha a hüvelyi ultrahangvizsgálat során legalább egy 18 mm-es vagy annál nagyobb átmérőjű, valamint legalább 2-3 14-16 mm-es folliculust láttunk, az ösztradiolszint pedig elérte a tüszőnkénti 2-300 pg/ml-es értéket. A petesejtnyerésre a hCG beadása után 36 órával, a hüvelyboltozaton keresztül, ultrahang-ellenőrzés mellett végzett tüszőpunkció útján került sor. A kezelés javallatától, a nyert petesejtek számától és minőségétől, valamint a kezelés napján leadott sperma vizsgálatának eredményétől függően IVF vagy ICSI segítségével megtermékenyített petesejtekből fejlődő előébrényeket (legfeljebb 4-et) a petesejtnyerést követő 2. vagy 3. napon ültettük be a méh üregébe. A sárgatestfázis támogatására napi 3×200 mg mikronizált progeszteront (Utrogestan; Besins Iscovesco, Párizs, Franciaország) adtunk hüvelyen keresztül a petesejtnyerés napjától a hCG-szint-meghatározás érdekében történő 2. vérvétel napjáig, illetve terhesség létrejöttére utaló hormonszintek esetén tovább, a 12. hét végéig. A terhesség kimutatása céljából

végzett szérumb-hCG-szint-meghatározásra az előébrény-beültetést követő 8. és 16. nap között kétnapos különbséggel vett („koraterhességi”) szérummintákból került sor.

4.2 *A vizsgálatok keretében végzett hormonmeghatározások*

Az FSH-, a teljes β -hCG és az ösztradiolszint meghatározása a frissen levett szérumbmintákból klinikánk Endokrinológiai Laboratóriumában történt, míg az inhibin A mérését – szintén a saját betegeinktől gyűjtött mintákban – a Ruprecht-Karls Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikája Nőgyógyászati Endokrinológiai Osztályának Hormonlaboratóriumában (Heidelberg, Németország) végeztem. A szérumb CA-125-szintjének meghatározására az Országos „Frédéric Joliot-Curie” Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Intézettel folytatott együttműködésünk keretében az intézet laboratóriumában került sor, míg a PAPP-A és a szabad β -hCG szintjét klinikánk Endokrinológiai Laboratóriumában mértük. A levett vérből előállított savót a retrospektív hormonmeghatározásokig lezárt Eppendorf-csövekben, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

4.2.1 **A SZÉRUMB FSH- ÉS ÖSZTRADIOLSZINTJÉNEK MEGHATÁROZÁSA**

A szérumb FSH- és ösztradiolszintjét az Abbott Laboratories (Abbott Park, IL, USA) mikrorészecskés enzim-immunoassay (mEIA) eljárásn alapuló, AxSYM nevet viselő rendszere segítségével határoztuk meg. Az FSH-assay érzékenysége (az FSH-t nem tartalmazó standarddal végzett többszöri mérések átlagánál a szórás kétszeresével magasabb érték) $0,37\text{ IU/l}$ volt, a méréssorozaton belüli (intraassay) variációs koefficiens (coefficient of variation, CV) értéke $3,7\%$ és $7,6\%$ között, míg a méréssorozatok közötti (interassay) CV érték $0,4\%$ és $4,8\%$ között mozgott a módszer méréstartományán ($0\text{--}150\text{ IU/l}$) belül. A visszanyerési tesztek (recovery test) átlagosan $99,2\%$ -os eredményt hoztak.

Az ösztradiolszint meghatározására alkalmazott eljárás során 20 pg/ml -es detektálási határral dolgoztunk, $2,9\%$ és $11,0\%$ közötti intraassay, illetve $4,8\%$ és $15,2\%$ közötti interassay CV értékek mellett.

4.2.2 A SZÉRUM TELJES β -HCG SZINTJÉNEK MEGHATÁROZÁSA

1995 novembere és 1998 májusa között laboratóriumunk az Abbott cég IMx elnevezésű mEIA rendszerét használta a szérumban a teljes hCG-szintjének mérésére. Ez az assay a hCG molekula valamennyi β -láncot tartalmazó alakját felismeri a végső bomlástermék (β -core fragment) kivételével, így tehát egyaránt alkalmas a kétláncú (α - és β -alegységből álló) hormonmolekula és a szabad β -alegység teljes és hasított alakjainak kimutatására. A továbbiakban ezekre az alakokra összefoglalóan a *teljes β -hCG* elnevezéssel hivatkozom. A mérések variációs koefficiensei 4,4% és 5,9% között mozogtak a 25 és 750 IU/l közötti tartományon belül. (Az első nemzetközi referenciakészítménnyel szemben kalibrálva 1 μ g tiszta, kétláncú hCG 9,3 IU-nek felel meg, vagyis 1 IU/l annak a mintának a koncentrációja, amelynek immunaktivitása megegyezik a kalibrációhoz használt tiszta hCG-ből készített 0,11 ng/ml-es oldatával.) 1998 júniusában a fent leírt AxSYM rendszer teljes β -hCG kitjére tértünk át, amely ugyanazokat az ellenanyagokat tartalmazza, mint az IMx rendszer. Az újabb módszer CV értékei 4,1% és 6,6% között alakultak, érzékenységi küszöbe pedig a korábbihoz hasonlóan 2 IU/l volt.

4.2.3 A SZÉRUM INHIBIN A SZINTJÉNEK MEGHATÁROZÁSA

A szérumban az inhibin A szintjét szilárd fázisú szendvics ELISA (Oxford Bio-Innovation, Oxford, Egyesült Királyság) segítségével határoztam meg a két „koraterhességi” szérumból oly módon, hogy minden mintát – egyazon mikrotiterlemezen (plate) – kétszer mértem le, és számításaim során a két mérés átlagát vettem figyelembe. Az assay kidolgozója által részletesen leírt módszer^{104,262} lényege a két alegység-specifikus antitest alkalmazása, amelyek közül a plate vályújához kötött, immobilizált (*capture*) monoklonális antitest a β -alegységre specifikus, míg a másik, szintén monoklonális ellenanyag, amely a kimutatáshoz szükséges alkalikus foszfatázzal áll kötésben, az α -alegységet ismeri fel. A módszer érzékenységének és specificitásának fokozása érdekében a mintákat nátrium-dodecilszulfáttal kezeltem elő, majd 3 percen keresztül 100 °C-os vízfürdőbe állítottam, amit a minták lehűlése után 6%-os hidrogén-peroxiddal történő kezelés követett. Az így előkészített

mintákat a mikrotiterlemez vályúiba helyeztem, majd éjszakán át tartó inkubációt követően, a plate többszöri átmosása után hozzáadtam a rendszerhez a detektáló antitesteket. Újabb mosás következett, végül a kimutatási fázisban az alkalikus foszfatáz szubsztrátjának és a reakció amplifikációját szolgáló anyagoknak a hozzáadására került sor. Az enzimreakció színes termék (formazan) kialakulásához vezetett, amelynek mennyisége – és így a szín intenzitása – a detektáló antitestek által megkötött inhibin A mennyiségével, végeredményben tehát a minta inhibin A koncentrációjával volt arányos. A színintenzitást kvantitatívan jellemző abszorpciót ELISA plate-ek leolvasására alkalmas spektrofotométer segítségével 492 nm hullámhosszon mértem, és a 620 nm-en mért értékekhez viszonyítottam. A standard oldatból készített hígítási sor felhasználásával valamennyi mikrotiterlemezhez nyolcpontos, kalibrációs görbe készült spline lineáris–logaritmikus illesztéssel, a minták inhibin A koncentrációjának meghatározására interpolációs módszerrel került sor. A variációs koefficiens értéke mind az egyes lemezekben belül, mind a mérések között 20% alattinak bizonyult. Az eljárás érzékenysége 3,9 pg/ml volt.

4.2.4 A SZÉRUM CA-125-SZINTJÉNEK MEGHATÁROZÁSA

A szérum CA-125-szintjét az Országos „Frédéric Joliot-Curie” Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Intézet (Budapest) által kifejlesztett, a CIS bio international (Gif-sur-Yvette, Franciaország) anyagaira épülő szilárd fázisú immunradiometriás módszerrel (IRMA) határoztuk meg a két „koraterhességi” szérumminta közül abban, amelyik levételi időpontját tekintve közelebb állt az előébrény-beültetés utáni II. naphoz. Az eljárás során alkalmazott, a CA-125-öt tartalmazó glikoprotein térben távol elhelyezkedő két epitópja ellen termelt monoklonális antitestek közül az egyik szilárd fázishoz (golyócskákhoz) kötött, míg a másik ¹²⁵I-jelzéssel van ellátva (*tracer*). A standardokban és a mérendő mintákban lévő CA-125 szendvicsként kötődik a két antitest közé. A bevonatos antitestből, antigénből, valamint jelzett antitestből álló szendvics létrejötte után a nem kötött tracer mosással távolítható el, így a golyón megkötött radioaktivitás arányos a minta CA-125-koncentrációjával. A 0 és 750 U/ml közötti mérési tartománnyal és 0,5 U/ml-es érzékenységgel jellemezhető módszer alkalmazása során a méréssorozaton belüli CV 4%, míg a

mérések közötti CV 5% alattinak bizonyult. A készlethez mellékelt leírás szerint a visszanyerési teszt 97% és 105% közötti eredményt hozott. Egészséges, nem terhes populáció tagjainál végzett mérések alapján a szérum CA-125-szintjének a népesség 95%-át jellemző normálértéktől kisebb, mint 35 U/ml.

4.2.5 A SZÉRUM PAPP-A-SZINTJÉNEK MEGHATÁROZÁSA

A szérum PAPP-A-szintjének meghatározása automatizált fluoroimmunoassay (Kryptor-PAPP-A; Brahms, Henningsdorf, Németország) segítségével történt a két „koraterhességi” szérumminta közül abban, amelyiket az előébrény-beültetés utáni 11. naphoz közelebbi időpontban vettük le. A módszer nagyfokú specificitása és érzékenysége a *TRACE* [*time-resolved amplified cryptate emission (időfelosztásos, erősített kriptátemisszió)*] jelenségének köszönhető. Ennek lényege, hogy a felhasznált két specifikus antitesthez egy-egy fluoreszcens jelzőanyag kapcsolódik, amelyek közül az egyik emissziós spektruma részben átfedi a másik excitációs spektrumát, ezért amennyiben mindkét antitest kötődik a felismerendő antigénhez – jelen esetben az eozinofil fő bázikus protein (major basic protein) előalakjával 2:2 arányban kötődő PAPP-A molekulához –, akkor az egyik tracer a neki megfelelő hullámhosszú fényrel gerjesztve energiát ad át a hozzá térben kellő közelségben elhelyezkedő másik jelzőanyagnak. Míg az utóbbi közvetlenül gerjesztve csak igen rövid ideig tartó fluoreszcenciára képes, az energiáttranszfer hatására kialakuló fluoreszcencia jóval hosszabb ideig tart, ezért a TRACE módszer alkalmazása során csak a közvetlen gerjesztés hatására kialakuló fényjelenség lecsengése után is fennálló jelkibocsátás kerül mérésre.

A módszer 0 és 6000 mIU/l közötti PAPP-A-koncentráció közvetlen mérésére alkalmas. A detektálási határ 4 mU/l, férfiak és nem terhes nők 95%-ánál 14 mIU/l alatti értékek mérhetők. A visszanyerési arány 90–110%-osnak bizonyult. A mérések során 3,4% és 5,4% közötti CV értékeket tapasztaltunk.

4.2.6 A SZÉRUM SZABAD β -HCG SZINTJÉNEK MEGHATÁROZÁSA

A szabad β -hCG mérését a PAPP-A-val kapcsolatban leírttal azonos elven alapuló módszerrel, ugyanazokból a mintákból végeztük, szintén a Brahms cég Kryptor automatájával. A felhasznált kit 0 és 150 ng/ml közötti értékek közvetlen mérésére alkalmas. (A nemzetközi referenciakészítménnyel szemben kalibrálva 1 IU 1 μ g szabad β -hCG-nek felel meg, így 1 ng/ml = 1 IU/l.)²⁶³ A visszanyerési arány a leírás szerint 87% és 102% közöttinek bizonyult. A 0,13 ng/ml-es analitikai és 0,20 ng/ml-es funkcionális érzékenységű mérőmódszer alkalmazása során 4,3% és 6,3% közötti CV értékeket mértünk. Egészséges férfiak és nem terhes nők körében a reagenskészlethez mellékelt leírás szerint a szérum szabad β -hCG szintje valamennyi esetben a detektálási határ alatt maradt.

4.3 A ciklusok felosztása a terhesség kimenetele alapján

A terhesség létrejöttét az előébrény-beültetést követő 8. és 16. nap között kétnapos különbséggel levett szérumminták teljes β -hCG szintjének meghatározásával igazoltuk. Biokémiai terhességet akkor állapítottunk meg, ha a két hCG-érték valamelyike elérte vagy meghaladta a 25 IU/l-es szintet, de a két héttel később végzett hüvelyi ultrahangvizsgálat során nem látszott petezsák. A klinikai terhesség kritériumának a fenti hCG-szinten túl a petezsák jelenlétét tekintettük. A biokémiai terhességeket, méhen kívüli terhességeket, valamint az első trimeszterbeli vetéléssel végződött ciklusokat a *koraterhességi veszteség* (*early pregnancy loss*) név alatt foglaltuk össze, míg a második trimeszterbeli vetéléseket, valamint a szüléssel végződött egyes és többes terhességeket az „*ongoing*” *terhesség* elnevezéssel illettük. (Sajnos a magyar nyelvben tudomásom szerint nem honosodott meg olyan kifejezés, amely egyértelműen utalna a 12. hétnél tovább viselt terhességekre, ezért kényszerülök az angol elnevezést használni.)

4.4 Statisztikai elemzések

A folytonos változók eloszlását a *Shapiro–Wilk-féle W -próba* és *normal probability plotok* segítségével vizsgáltam. Normális (Gauss-féle), illetve log-normális (az adatok logaritmikus transzformációját követően „normalizálódott”) eloszlás esetén paraméteres, ennek hiányában nemparaméteres statisztikai próbákat alkalmaztam. Párosított minták között az egyes változókban mutatkozó különbségeket az előbbi feltétel teljesülése esetén *egymintás t -teszttel*, ellenkező esetben a *Wilcoxon-féle előjeles rangpróbával* (*Wilcoxon’s matched pairs rank sum test*) elemeztem. Hasonlóképp, nem párosított csoportok között *kétmintás t -próbával*, illetve a *Mann–Whitney-féle U -próbával* végeztem el az összehasonlításokat. Kettőnél több minta esetén a folytonos változók összehasonlítására *varianciaanalízist* (*analysis of variance, ANOVA*) végeztem. Az egyes változók közötti összefüggéseket a paraméteres *Pearson-féle (r)*, illetve a nemparaméteres *Spearman-féle korrelációs együttható (r_s)* számításával elemeztem.

Folytonos változók bináris (kétféle lehetséges) kimenetelű kategorikus változókra gyakorolt hatásának elemzéséhez az *egy- és többváltozós logisztikus regresszió* módszerét hívtam segítségül. Az utóbbi esetben a kimeneti változót szignifikáns mértékben befolyásoló független változókat *kizárásos lépésenkénti regresszióval* (*backward stepwise logistic regression*) választottam ki, és az eredményt a potenciális változók lépcsőzetes beválogatásával (*forward stepwise logistic regression*) ellenőriztem. A multikollinearitás kizárása érdekében kiszámítottam a változók *tolerancia-együtthatóját*. Az egyes változókhoz tartozó regressziós koefficiensek szignifikanciáját a *Wald-próba P értékével* jellemeztem, végül a modell illeszkedését az ún. *modell- χ^2 -próba* alkalmazásával vizsgáltam.

Az, hogy egy adott teszttel (esetünkben hormonvizsgálattal) milyen pontosan jelezhető előre valamely bináris kimenetel, többféle paraméterrel, így többek közt a *szenzitivitással* (*érzékenységgel*), *specificitással* (*fajlagossággal*), valamint a *pozitív és negatív prediktív értékkel* jellemezhető. Ezek a tulajdonságok azonban meghatározott határértékre vonatkoznak. Ha a vizsgálat célja épp az optimális határérték megállapítása, olyan statisztikai módszerre van szükség, amelynek segítségével szemléletesen összehasonlítható valamennyi lehetséges határérték az előrejelzés pontosságát jellemző paraméterek szempontjából. Erre szolgálnak az ún. *receiver-operating characteristic (ROC) görbék*,²⁶⁴ amelyekhez úgy juthatunk, ha az x tengelyen az egyes határ-

értékekhez tartozó specificitás I -ből történő kivonása után fennmaradó részt (I -specificitás, azaz az álpozitív találatok arányát), míg az y tengelyen a szenzitivitást (vagyis a valódi pozitív találatok arányát) ábrázoljuk, és az így kapott pontokat összekötjük.

Minden vizsgálati módszerre jellemző egyfajta alku a valódi és álpozitív (hasonlóképp a valódi és álnegatív) esetek találati aránya között, vagyis az egyik növekedése többé-kevésbé maga után vonja a másik emelkedését is. Ha egy teszt semmivel nem nyújt pontosabb felvilágosítást a puszta találgatásnál, azaz minden határértékhez ugyanannyi valós, mint hamis predikció tartozik, akkor az összetartozó valódi és álpozitív arányokkal jellemzett pontok az ismertetett koordinátarendszerben ábrázolva 45° -os meredekségű egyenest alkotnak. Minél inkább a helyes előrejelzés felé tolódik el ez az egyensúly, annál inkább „húzódik ki” a görbe középső része a bal felső sarokhoz. Míg az előbbi esetben a „görbe” alatti terület (area under the curve, AUC) pontosan 0,5, addig egy olyan teszt esetén, amely valamennyi lehetséges határértéket figyelembe véve szinte teljes pontossággal jelzi előre a szóban forgó kimenetelt, I -hez közelítő görbe alatti területet kapunk. (A görbe alatti terület kiszámítására több eljárás is létezik, a legkézenfekvőbb és legáltalánosabban alkalmazható ezek közül a trapézolós módszer.)

Ha arra vagyunk kíváncsiak, hogy egyazon mintára (például betegcsoportra) vonatkozólag két különböző tesztet alkalmazva valamelyikkel pontosabb előrejelzéshez jutunk-e, a két ROC görbét ábrázolhatjuk ugyanabban a koordinátarendszerben, és a választ szerencsés esetben szabad szemmel is leolvashatjuk. A tesztek értékének kvantitatív összehasonlításához azonban a két görbe alatti területet kell összevetnünk. Az erre szolgáló statisztikai módszer, amelynek kidolgozása Hanley és McNeil nevéhez fűződik,²⁶⁵ lényegében az előjelpróba módosított változata: figyelembe veszi ugyanis a két görbe alatti terület közötti korrelációt, amely annak következménye, hogy a mérések mindkét teszttel ugyanazon a mintán kerültek elvégzésre. Az optimális határérték meghatározása – ha egyéb szempontok nem befolyásolnak, amelyek alapján nagyobb fontosságot célszerű tulajdonítanunk a szenzitivitásnak, mint a specificitásnak, vagy fordítva – oly módon történhet, hogy a Pitagorasz-tételt alkalmazva megkeressük a ROC görbén azt a pontot, amely a legközelebb esik a bal felső sarokhoz (vagyis a maximális szenzitivitás és specificitás elméleti találkozásához). Vizsgálataink során

ezeket a megfontolásokat követtem az optimális határértékek meghatározásakor, valamint a különböző hormonvizsgálatok prediktív értékének összehasonlításakor.

Ismert tény, hogy a szérumban teljes β -hCG szintje a terhesség első néhány hetében exponenciálisan növekszik.²⁸ Mivel a terhesség kimutatását szolgáló β -hCG-szint-meghatározás betegenként eltérő időben (az előébrény-beültetést követő 8. és 16. nap között kétnapos különbséggel levett két szérummintából) történt, ezt az exponenciális lefutást használtuk ki az egyes betegek hormonértékeinek összehasonlításakor. A hormonszintek és a két minta levétele közötti időintervallum ismeretében a β -hCG-szint kettőzödési ideje (doubling time, DT) az alábbi képlet alapján számítható ki:

$$DT = \frac{\log_{10} 2 \times \text{intervallum}}{\log_{10} \frac{hCG_2}{hCG_1}}$$

Az így kapott kettőzödési idő alapján, interpolációval a két mintavételi nap között bármely időpontra kiszámítható egy elméleti β -hCG-szint. Tekintettel arra, hogy a betegek többségénél az első szérummintát a 11. napon vettük le, a lehető legtöbb valódi – tehát tényleges hormonmeghatározásból származó – adat felhasználása érdekében erre a napra számítottam ki a későbbi összehasonlítás alapjául szolgáló értéket a

$$hCG_{11.\text{nap}_i} = hCG_1 \times 2^{\frac{11-\text{nap}_i}{DT}}$$

képlet segítségével, ahol nap_1 jelöli az első szérumminta levételének napját. Könnyen belátható, hogy ugyanerre az eredményre juthatunk a második szérumminta hormonértékének és napjának alkalmazásával is. (Bizonyos korlátokkal a képlet természetesen extrapolációra is alkalmas.)

Inhibin A esetében hasonló összefüggés nem ismert, ezért számításaim során a kétnapos különbséggel vett két koraterhességi szérumminta inhibin A szintjének átlagát vettem alapul. Valamennyi elemzés esetében kétoldalas statisztikai próbákat végeztem. Ezek eredményét akkor tekintettem szignifikánsnak, ha a P értéke 0,05 alatt volt. A számításokat a Statistica 6.0 szoftver segítségével végeztem (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

4.5 *Az egyes elemzésekbe beválogatott betegek*

4.5.1 A KORATERHESSÉGI HCG-MÉRÉSEK JELENTŐSÉGE AZ IVF ÚTJÁN FOGANT TERHESSÉGEK KIMENETELÉNEK ELŐREJELZÉSÉBEN

Az elemzésbe eredetileg 137 beteget vontunk be, akiknél 1995 novembere és 1999 augusztusa között az ARO-n végzett IVF kezelés nyomán terhesség jött létre, és rendelkezésre állt az előébrény-beültetést követően végzett mindkét β -hCG-szint-meghatározás eredménye. Tekintettel a kívülről bevitt hCG egy-másfél napos felezési idejére,²⁷ vizsgálatunkból kizártuk azokat a betegeket, akiknél a sárgatestfázis támogatása hCG-injekciók formájában történt. Így ebben az elemzésben összesen 120 beteg adatai szerepelnek.

4.5.2 A KORATERHESSÉGI INHIBIN A MEGHATÁROZÁSOK SZEREPE AZ IVF TERHESSÉGEK KIMENETELÉNEK ELŐREJELZÉSÉBEN

Ebbe a retrospektív vizsgálatba az előzőhöz hasonló kritériumok alapján választottuk be a terheseket, azzal a különbséggel, hogy a vizsgálati periódust 1999 decemberéig hosszabbítottuk meg. Mivel az inhibin A szintjének meghatározására utólag került sor, további feltétel volt, hogy maga a két szérumminta is rendelkezésre álljon a mérések elvégzéséhez. Egy beteget azért kellett kizárnunk, mert mindkét szérummintája a 11. nap után került levételre és a β -hCG-szint csökkenő tendenciát mutatott, így a korábbi időpontra történő extrapoláció fals eredménnyel járt volna [ezzel kapcsolatban lásd még a Statisztikai elemzések szakasz vonatkozó részét (40. oldal)]. Mindezek után 150 beteg adatai kerültek a végső elemzésbe, amelyben az életkor, a nyert petesejtek és a beültetett előébrények száma, valamint a koraterhességi inhibin A szint és a számított 11. napi teljes β -hCG szint szerepét vizsgáltuk az IVF kezelés útján fogant terhességek kimenetelének előrejelzésében.

4.5.3 A SZÉRUM KORATERHESSÉGI CA-125-SZINTJÉNEK JELENTŐSÉGE AZ IVF TERHESSÉGEK KIMENETELÉNEK ELŐREJELZÉSÉBEN

Elemzésünkbe a fenti időszakot meghosszabbítva 2001 decemberével bezárólag válogattuk a betegeket. Mivel endometriosisban magasabb CA-125-szint mérhető a keringésben,^{204,266} ilyen betegek adatai nem kerültek elemzésre. Ciklusonként egy szérummintában határoztuk meg a CA-125 koncentrációját. Célunk az volt, hogy minél kisebb legyen a szórás a mintavételi napok közt, ezért amennyiben mindkét koraterhességi minta rendelkezésre állt, a kettő közül a 11. napi, illetve ahhoz közelebbi mintát választottuk ki a CA-125-szint méréséhez, mivel a legtöbb beteg esetében a 11. napon történt hCG-szint-meghatározás. Mindezt figyelembe véve összesen 182 betegünk terhességet eredményező ciklusa került be az elemzésbe. 41 beteg korábbi, nem terhes ciklusából is rendelkezésre állt legalább egy szérumminta a CA-125 szintjének meghatározásához, ezek sajátkontrollos összehasonlítás céljából szintén mérésre kerültek. (Több sikertelen – terhességgel nem végződő – ciklus esetén a terhességet eredményező kezeléshez időben legközelebb álló ciklus előébrény-beültetést követően levett szérummintáját használtuk fel.)

4.5.4 PAPP-A MEGHATÁROZÁSA KORATERHESSÉGI SZÉRUMMINTÁKBÓL

Ebbe az elemzésbe az előzőhöz hasonló módon azokat az 1995 novembere és 2001 decembere között terhességgel végződött IVF ciklusokat – szám szerint 256-ot – vontuk be, amelyeknél rendelkezésre állt a fagyasztva tárolt koraterhességi szérumminta. A nem terhes kontroll ciklusokból származó minták száma 48 volt. (Több szérumminta, illetve nem terhes ciklus esetén a CA-125-meghatározásnál említetteknek megfelelően jártunk el a lemérendő minta kiválasztásánál.)

4.5.5 A SZÉRUM SZABAD β -HCG SZINTJÉNEK MEGHATÁROZÁSA KORATERHESSÉGI MINTÁKBÓL

A PAPP-A-mérésekhez hasonló módon végzett betegbeválogatás eredményeképpen 260 terhes és 48 nem terhes ciklusból származó szérummintát mértünk le.

5 Eredmények

5.1 Koraterhességi teljes β -hCG szint mérések

A vizsgálatba bevont betegek életkora 23 és 43 év között mozgott, a medián érték 31 év volt. Az IVF kezelésre az esetek 49%-ában kürt eredetű, 40%-ban andrológiai eredetű meddőség miatt, 5%-ban pedig endometriosis miatt került sor, míg 6%-ban részletes kivizsgálás után sem derült fény a meddőség okára. A terhességek kimenetelének megoszlását a csoportokra jellemző 11. napi hCG-értékekkel együtt az 1. táblázatban tüntettük fel.

1. táblázat. A szérum 11. napi számított hCG-szintje a különböző kimenetelű terhességek esetében

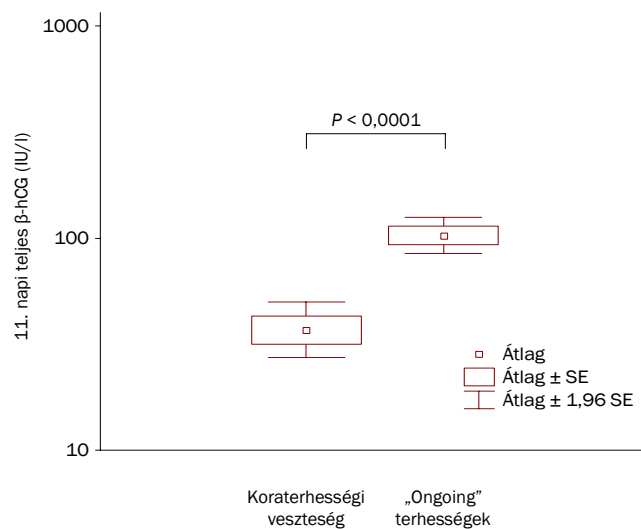
	Terhességek száma (%)	hCG (IU/l)
Koraterhességi veszteség	24 (20%)	36,9 ^a (27,3-49,8)
Biokémiai terhesség	14 (12%)	35,6 (23,6-53,6)
Első trimeszterbeli vetélés	9 (7%)	37,8 (22,7-62,7)
Méhén kívüli terhesség	1 (1%)	49,5
12. hétnél tovább viselt terhesség	96 (80%)	102,9 ^a (84,9-124,7)
Egyes terhesség	52 (43%)	62,5 (48,8-80,0)
Többes terhesség	44 (37%)	185,6 (154,1-223,6)

Megjegyzések: A hCG-szinteket mértani átlag és 95%-os konfidenciaintervallum alakjában tüntettük fel.

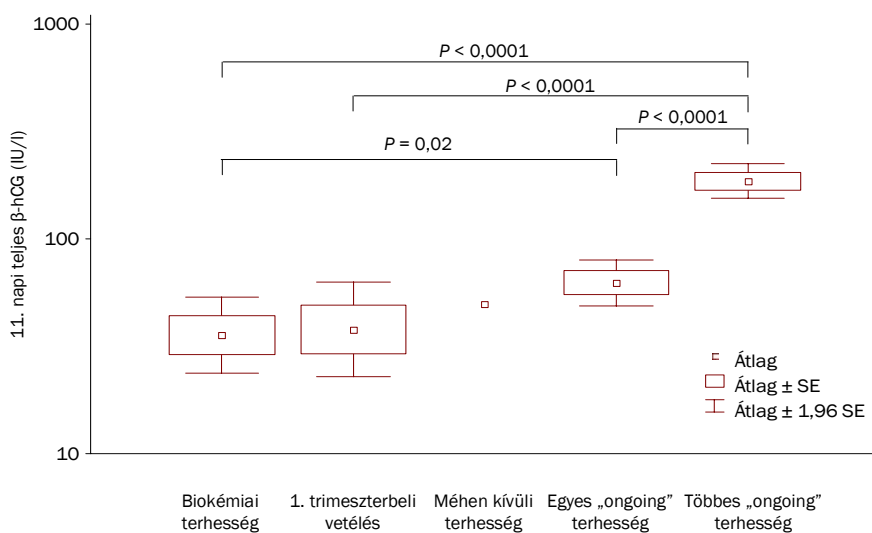
^a $P < 0,0001$

A korai veszteséggel végződött és a 12. hétnél tovább viselt terhességek között nem volt különbség a betegek életkorát illetően ($P = 0,24$), azonban az exponenciális növekedés alapján számított 11. napi hCG-szint az előbbi csoportban szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult, mint az utóbbiban ($P < 0,0001$) (4. ábra).

Az egyes alcsoportok összehasonlításából kiderül, hogy a biokémiaiak bizonyult terhességekben mért 11. napi hCG-szint szignifikáns mértékben eltért mind az egyes, mind a többes „ongoing” terhességekben mérhető értékektől. Másrészt a 12. hétnél tovább viselt többes terhességek és a többi alcsoport 11. napi hCG-szintje közötti különbség az egyetlen méhen kívüli terhességtől eltekintve valamennyi esetben elérte a statisztikai szignifikancia szintjét (5. ábra).

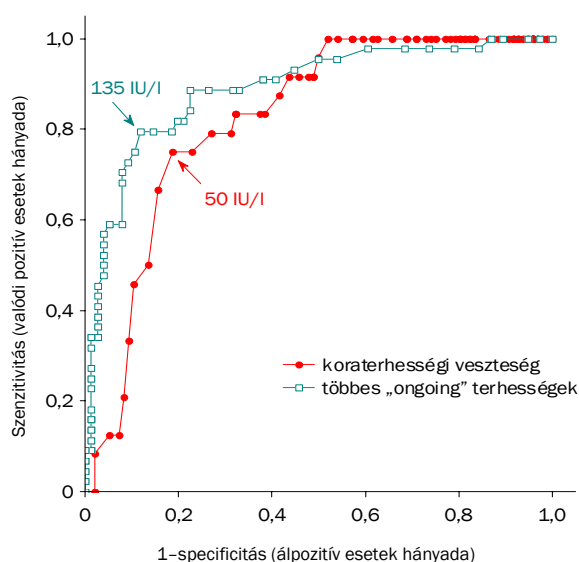


4. ábra. A szérum 11. napi számított teljes β -hCG szintje koraterhességi veszteségek esetében és 12. hétnél tovább viselt terhességekben



5. ábra. A szérum 11. napi számított teljes β -hCG szintje különböző kimenetelű terhességekben

A statisztikai módszerek között bemutatott ROC analízishez készített görbe vizsgálata alapján az 50 IU/l-es határértéket ítéltük a legmegfelelőbbnek a koraterhességi veszteség előrejezésére, amely 75%-os szenzitivitás és 81%-os specificitás mellett segített a kétféle kimenetel elkülönítésében (6. ábra). Ez a beteganyagunkra jellemző prevalencia-eloszlást figyelembe véve 50%-os pozitív és 93%-os negatív prediktív értéknek felelt meg. Más szóval, 50 IU/l alatti 11. napi β -hCG-szint mellett 50%-os eséllyel lehetett koraterhességi veszteségre számítani, míg a terhesség 93%-os valószínűséggel tartott 12 hétnél tovább, ha a hCG-szint elérte vagy meghaladta ezt a határértéket.



6. ábra. Nemparaméteres ROC görbék a koraterhességi veszteség és a 12. hétnél tovább viselt terhességek elkülönítésére, valamint a 12. hétnél tovább viselt többes terhességek előrejelzésére a szérumban 11. napi számított teljes β -hCG szintje alapján. A nyilak az optimálisnak ítélt határértékeket jelölik

A 12. hétnél tovább viselt többes terhességek előrejelzéséhez minden más kimenetelt összevontunk, hiszen a ROC analízis kimenetelpárok prognosztizálásában nyújt segítséget. A görbe elemzése alapján ezúttal a 135 IU/l-es 11. napi hCG-határértéket találtuk optimálisnak, amely mellett 80%-os szenzitivitással, 88%-os specificitással, valamint 80%-os pozitív és 88%-os negatív prediktív értékkel lehetett megjósolni a 12. hétnél tovább viselt többes terhességeket (6. ábra).

5.2 *Az inhibin A és a teljes β -hCG szint meghatározásának jelentősége koraterhességi szérummintákból*

Klinikai terhességekben a szérum inhibin A és teljes β -hCG szintjét egyaránt szignifikánsan magasabbnak találtuk, mint biokémiai terhességekben. Hasonló különbséget figyeltünk meg a 12. hétnél tovább viselt terhességek és a koraterhességi veszteségek, valamint a 12. hétnél tovább viselt többes terhességek és valamennyi egyéb kimenetel között (2. táblázat). Az egyes csoportok között nem volt szignifikáns különbség a betegek életkorát, illetve a nyert petesejtek és a beültetett előébrények számát tekintve.

A szérum inhibin A és teljes β -hCG szintje között szignifikáns mértékű korrelációt észleltünk a teljes mintában ($r_s = 0,51$; $P < 0,001$).

Az egyváltozós logisztikus regresszió eredménye alapján a vizsgált potenciális prognosztikai tényezők közül csak a magasabb 11. napi teljes β -hCG szint és a szintén magasabb átlagos inhibin A koncentráció jelezte előre statisztikai szempontból megbízhatóan a klinikai terhességeket, míg az összes paraméter bevonásával végzett többváltozós regresszió során csak az inhibin A bizonyult szignifikáns prediktornak. A felállított egyváltozós modell pontosságán a 11. napi hCG-szint bevonása nem javított (3. táblázat felső harmada, 48. oldal).

ROC görbék elemzésével kerestük a választ arra a kérdésre, vajon pontosabban jelezhető-e előre a klinikai terhességek a koraterhességi szérummintákból végzett inhibin A szint meghatározás segítségével, mint a „klasszikus” hCG-szint-méréssel (pontosabban a két mintából számított 11. napi értékkel), illetve mennyiben javít az előrejelzés pontosságán, ha a kétféle mérés eredményét együtt értékeljük. Utóbbihoz az inhibin A és a hCG kétváltozós elemzés során kapott regressziós együtthatóinak felhasználásával számított lineáris kombinációt vettük figyelembe. A görbék kvalitatív és kvantitatív összehasonlítása alapján elmondható, hogy a számított 11. napi hCG-szinttel elérhető predikció pontossága szignifikáns mértékben elmaradt mind az inhibin A szint meghatározására, mind a két változó kombinációjára alapozott előrejelzés precizitásától, továbbá az is látható, hogy a kombináció nem javít szignifikáns mértékben az inhibin A mérésén alapuló előrejelzés pontosságán (4. táblázat felső harmada, 50. oldal, valamint 7/A ábra, 49. oldal).

2. táblázat. A betegek klinikai és endokrinológiai jellemzői a különböző kimenetelű terhességekben

	Összesen (n = 150)	Klinikai terhességek (n = 136)	Biokémiai terhességek (n = 14)	P ^a	„Ongoing” terhességek (n = 122)	Koraterhességi vesztések (n = 28)	P ^b	Többes „ongoing” terhességek (n = 57)	Egyéb kimenetel (n = 93)	P ^c
Életkor (év)	31 (28-35)	31 (28-35)	32,5 (29-36)	0,27	31 (28-35)	32,5 (29-35)	0,17	30 (27-34)	32 (28-35)	0,03
Nyert petesejtek száma	7 (6-9)	7 (6-9)	7 (4-8)	0,60	7 (6-9)	7 (6-9)	0,92	7 (6-9)	7 (5-9)	0,91
Beültetett előébrények száma	4 (3-4)	4 (3-4)	3,5 (3-4)	0,53	4 (3-4)	4 (3-4)	0,97	4 (3-4)	4 (3-4)	0,32
11. napi hCG-szint (IU/l)	83,8 (41,7-164,1)	94,4 (47,5-166,5)	36,5 (26,6-57,3)	<0,001	104,0 (57,7-179,0)	41,5 (26,8-54,6)	<0,001	179,0 (108,0-271,3)	57,3 (32,0-94,0)	<0,001
Átlagos inhibin A szint (pg/ml)	55,7 (14,1-117,8)	69,4 (22,4-138,3)	3,1 (2,1-11,3)	<0,001	72,0 (22,6-142,0)	7,6 (2,6-41,3)	<0,001	88,6 (52,8-162,2)	33,1 (6,5-94,1)	<0,001

Megjegyzések: A táblázatban a változók medián értékét (zárójelben az interkvartilis tartományt) tüntettük fel.

^aA klinikai és biokémiai terhességek közötti különbség szignifikanciáját jellemző P érték.

^bA 12. hétnél tovább viselt terhességek és a koraterhességi vesztések közötti különbség szignifikanciáját jellemző P érték.

^cA 12. hétnél tovább viselt többes terhességek és a többi kimenetel közötti különbség szignifikanciáját jellemző P érték.

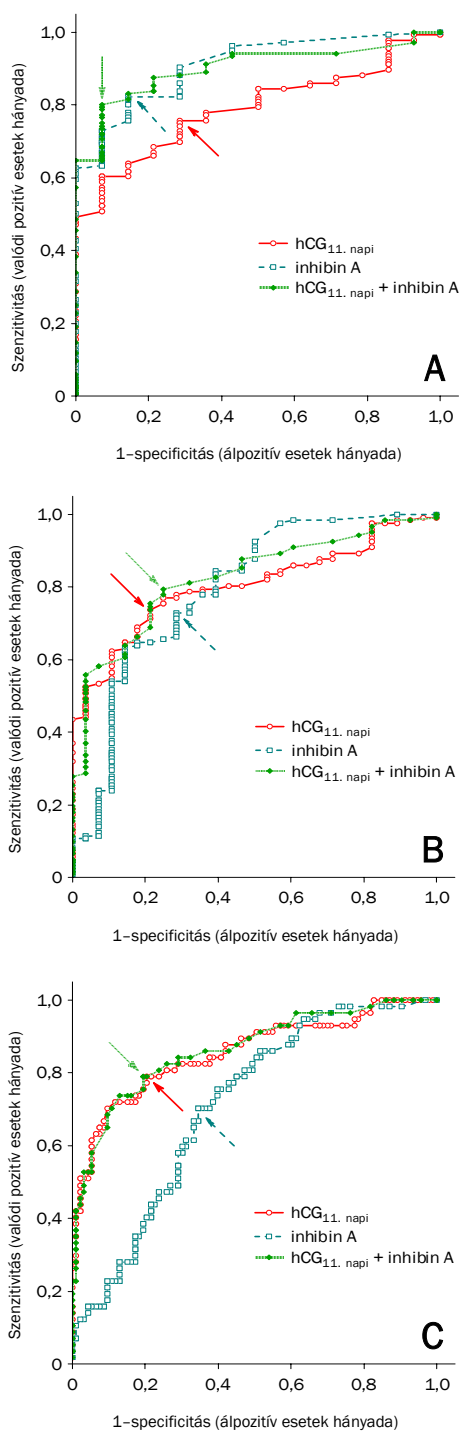
3. táblázat. Egy- és többváltozós modellek a klinikai terhességek, a 12. hétnél tovább viselt terhességek, valamint a 12. hétnél tovább viselt többes terhességek előrejelzésére

	Esélyhányados (95%-os KI)	P
Klinikai terhességek előrejelzése		
Egyváltozós elemzés		
Életkor (évenként)	0,93 (0,82–1,05)	0,22
Nyert petesejtek száma (petesejtenként)	1,05 (0,85–1,29)	0,68
Beültetett előébrények száma (előébrényenként)	1,48 (0,78–2,84)	0,23
11. napi számított hCG-szint (IU/l-enként)	1,03 (1,01–1,04)	0,005
Átlagos inhibin A szint (pg/ml-enként) ^a	1,09 (1,02–1,16)	0,008
Kétfváltozós elemzés (hCG + inhibin A)		
11. napi számított hCG-szint (IU/l-enként)	1,01 (0,99–1,03)	0,38
Átlagos inhibin A szint (pg/ml-enként)	1,07 (1,00–1,15)	0,04
12. hétnél tovább viselt terhességek előrejelzése		
Egyváltozós elemzés		
Életkor (évenként)	0,93 (0,85–1,02)	0,13
Nyert petesejtek száma (petesejtenként)	1,01 (0,86–1,17)	0,94
Beültetett előébrények száma (előébrényenként)	1,04 (0,61–1,78)	0,89
11. napi számított hCG-szint (IU/l-enként) ^b	1,02 (1,01–1,04)	<0,001
Átlagos inhibin A szint (pg/ml-enként)	1,02 (1,01–1,03)	0,002
Kétfváltozós elemzés (hCG + inhibin A)		
11. napi számított hCG-szint (IU/l-enként)	1,02 (1,01–1,03)	0,001
Átlagos inhibin A szint (pg/ml-enként)	1,01 (1,00–1,02)	0,10
12. hétnél tovább viselt többes terhességek előrejelzése		
Egyváltozós elemzés		
Életkor (évenként)	0,92 (0,85–0,99)	0,03
Nyert petesejtek száma (petesejtenként)	1,003 (0,887–1,135)	0,96
Beültetett előébrények száma (előébrényenként)	1,41 (0,88–2,26)	0,15
11. napi számított hCG-szint (IU/l-enként) ^b	1,02 (1,01–1,03)	<0,001
Átlagos inhibin A szint (pg/ml-enként)	1,007 (1,003–1,011)	<0,001
Kétfváltozós elemzés (hCG + inhibin A)		
11. napi számított hCG-szint (IU/l-enként)	1,02 (1,01–1,03)	<0,001
Átlagos inhibin A szint (pg/ml-enként)	1,004 (0,999–1,008)	0,13

Megjegyzések: KI = konfidenciaintervallum

^aA mind az öt változót tartalmazó lépésenkénti regresszióanalízis során az inhibin A bizonyult az egyetlen szignifikáns prediktornak; a regressziós együttható – így a pg/ml-enkénti növekedésre vonatkozó esélyhányados is – megegyezik az egyváltozós modellben kapott értékkel.

^bA mind az öt változót tartalmazó lépésenkénti regresszióanalízis során a 11. napi számított teljes β -hCG szint bizonyult az egyetlen szignifikáns prediktornak; a regressziós együttható – így a IU/l-enkénti növekedésre vonatkozó esélyhányados is – megegyezik az egyváltozós modellben kapott értékkel.



7. ábra. A 11. napi számított teljes β -hCG szinten, a szérum átlagos inhibin A koncentrációján, valamint a kettő lineáris kombinációján alapuló előrejelzés pontosságát jellemző nemparaméteres ROC görbék. A vizsgált kimenetelpárok: **A** – klinikai terhesség és biokémiai terhesség; **B** – 12. hétnél tovább viselt terhesség és koraterhességi veszteség; **C** – 12. hétnél tovább viselt többes terhesség és minden egyéb kimenetel együtt. A nyilak a szóban forgó kimenetelpárok elkülönítése szempontjából optimálisnak ítélt határértékeket jelölik

A 12. hétnél tovább viselt terhességek előrejelzésében ugyancsak a magasabb inhibin A és 11. napi hCG-szint bizonyult szignifikáns prediktornak, ebben a kérdésben azonban a hCG-vel való összefüggést találtuk kifejezettebbnek az egyváltozós regresszió alapján. Ezt támasztották alá a két- és többváltozós regresszióval felállított modellek is, amelyekben csak a 11. napi hCG-értékek szerepeltek szignifikáns prediktorként (3. táblázat középső harmada, 48. oldal). A ROC görbék vizsgálata alapján a számított hCG-szint, az inhibin A koncentráció és a kettő lineáris kombinációja segítségével hasonló pontossággal jelezhetők előre a 12. hétnél tovább viselt terhességek (4. táblázat középső harmada, 7/B ábra, 49. oldal).

4. táblázat. A 11. napi számított teljes β -hCG szinten, az átlagos inhibin A szinten, valamint a kettő lineáris kombinációján alapuló előrejelzés pontossága

	AUC (95%-os KI)	Optimális határérték	Szenzi- tivitás	Speci- ficitás	PPV	NPV
Klinikai terhesség ↔ biokémiai terhesség						
11. napi hCG-szint	0,79 (0,69–0,89) ^{a,c}	46 IU/l	0,76	0,71	0,96	0,23
Átlagos inhibin A szint	0,91 (0,85–0,96) ^a	12 pg/ml	0,82	0,86	0,98	0,33
Lineáris kombináció (X) (hCG + inhibin A)	0,90 (0,84–0,96) ^c	1,7	0,80	0,93	0,99	0,33
„Ongoing” terhesség ↔ koraterhességi veszteség						
11. napi hCG-szint	0,80 (0,73–0,88)	58 IU/l	0,74	0,79	0,94	0,41
Átlagos inhibin A szint	0,79 (0,71–0,87)	28 pg/ml	0,73	0,71	0,92	0,38
Lineáris kombináció (Y) (hCG + inhibin A)	0,83 (0,75–0,90)	0,9	0,80	0,75	0,93	0,46
Többes „ongoing” terhesség ↔ egyéb kimenetel						
11. napi hCG-szint	0,86 (0,79–0,92) ^b	100 IU/l	0,79	0,80	0,70	0,86
Átlagos inhibin A szint	0,71 (0,62–0,80) ^{b,c}	60 pg/ml	0,70	0,66	0,56	0,78
Lineáris kombináció (Z) (hCG + inhibin A)	0,86 (0,80–0,93) ^c	-0,5	0,79	0,81	0,71	0,86

Megjegyzések: X, Y, Z – lineáris kombinációs változók:

$$X = 0,0622 + 0,00843 \times \text{hCG}_{11. \text{ napi}} + 0,0708 \times \text{inhibin A}$$

$$Y = -0,464 + 0,0210 \times \text{hCG}_{11. \text{ napi}} + 0,00686 \times \text{inhibin A}$$

$$Z = -3,114 + 0,0199 \times \text{hCG}_{11. \text{ napi}} + 0,00366 \times \text{inhibin A}$$

KI = konfidenciaintervallum

PPV (positive predictive value) = pozitív prediktív érték

NPV (negative predictive value) = negatív prediktív érték

A felső indexben szereplő azonos betűk a görbék alatti terület szignifikáns különbségét jelölik:

^aP = 0,02; ^bP = 0,004; ^cP < 0,001

A 12. hétnél tovább viselt többes terhességek előrejelzésének kérdésében az egyváltozós regresszió az előzőekhez hasonlóan a magasabb 11. napi számított hCG-értéket és az ugyancsak magasabb inhibin A koncentrációt hozta ki szignifikáns prediktorként, igaz, a szignifikancia választott szintjét minimálisan meghaladó mértékben a fiatalabb anyai életkor is meghatározó tényezőnek bizonyult. Két- és többváltozós regresszióval azonban egyaránt a 11. napi hCG-szintet találtuk a 12. hétnél tovább viselt többes terhességek egyetlen szignifikáns prediktorának (3. táblázat alsó harmada, 48. oldal). A ROC görbék elemzése alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a 11. napi számított hCG-szinttel, valamint a hCG- és inhibin A koncentráció kombinációjával egyaránt szignifikánsan pontosabb előrejelzést kapunk, mint ha azt egyedül az inhibin A szintjére alapoznánk (4. táblázat alsó harmada, 50. oldal, valamint 7/C ábra, 49. oldal).

Az egyes kimenetelpárokhoz tartozó optimális határértékek, valamint az azokhoz tartozó szenzitivitási és specificitási jellemzők szintén a 4. táblázatból (50. oldal) olvashatók le.

5.3 *Összefüggések a koraterhességi szérumminták CA-125-szintje és az IVF kezelés kimenetele között*

A különböző napokon levett szérummintákban mért CA-125-szintek varianciaanalízise során nem találtunk különbséget az egyes mintavételi napok értékei között, ezért az összes mérési értéket együtt elemeztük. A terhes és nem terhes ciklusok párosítatlan és párosított összehasonlítása során a szérum CA-125-, inhibin A és teljes β -hCG szintje, valamint a nyert petesejtek és a beültetett előébrények száma egyaránt szignifikánsan magasabbnak bizonyult a terhesek csoportjában, míg az életkor, a spontán ciklus korai tüszőfázisában mért FSH-szint, valamint az ovulációindukció napján mért ösztadiolkoncentráció tekintetében nem volt szignifikáns különbség a két csoport között (5. és 6. táblázat, 52–53. oldal).

A terhességek CA-125- és inhibin A meghatározások segítségével történő előrejelzésének pontosságát ROC görbék elemzésével vizsgáltuk (8/A ábra, 54. oldal). (A hCG-szintmérések prediktív erejét ebben a kérdésben nem vizsgálhattuk, hiszen a terhesség megállapítása előre meghatározott hCG-szinthez volt kötve.) A CA-125-mérések esetében a görbe alatti terület 0,61-nak bizonyult (95%-os konfidenciaintervallum: 0,51–0,69),

optimális határértéknek pedig a $\geq 37,7$ U/ml-es CA-125-szintet találtuk, amelyhez 58%-os szenzitivitás és 56%-os specificitás tartozott. Az inhibin A mérések alapján megrajzolt ROC görbe alatti terület nagysága ezzel szemben 0,85 volt (0,79–0,90), és az $\geq 5,7$ pg/ml-es határértéket ítéltük a legmegfelelőbbnek a terhességek előrejelzésére, amely mellett a szenzitivitás 82%-osnak, a specificitás pedig 73%-osnak bizonyult. A két egymásra fektetett görbe alakjából és az adatok formális elemzéséből ($P < 0,001$) egyaránt kitűnik, hogy az előébrény-beültetés utáni második héten levett szérumbintákból meghatározott inhibin A szint szignifikánsan pontosabban jelzi előre a terhességeket, mint a CA-125 szintje.

5. táblázat. Párosítatlan terhes és nem terhes ciklusok jellemzőinek összehasonlítása

	Nem terhesek	Terhesek	P
Életkor (év)	32 (30–36) (n = 41)	31 (28–35) (n = 182)	0,053 NS
FSH spontán ciklus 3. napján (IU/l)	6,5 (5,6–7,7) (n = 41)	6,6 (5,6–7,7) (n = 182)	0,99 NS
E ₂ az ovulációindukció napján (pg/ml)	2292 (1554–2813) (n = 34)	2360 (1654–3102) (n = 135)	0,40 NS
Nyert petesejtek száma	6 (4–8) (n = 41)	7 (6–10) (n = 182)	0,003
Beültetett előébrények száma	3 (2–4) (n = 41)	4 (3–4) (n = 182)	0,005
CA-125-szint (U/ml)	35,7 (18,5–51,9) (n = 41)	43,6 (26,2–72,1) (n = 182)	0,008
Teljes β -hCG szint (IU/l)	0 (0–1) (n = 41)	70 (36–164) (n = 182)	<0,001
Inhibin A szint (pg/ml)	4,1 (0,0–6,7) (n = 41)	39,4 (7,5–1153,0) (n = 158)	<0,001

Megjegyzések: A táblázatban a változók medián értékét (zárójelben az interkvartilis tartományt) tüntettük fel.

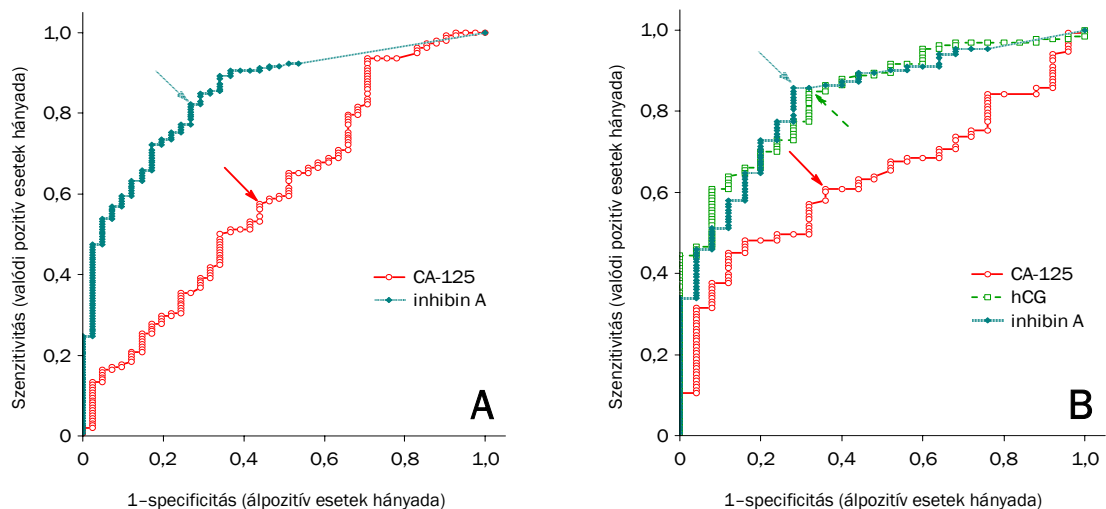
NS = nem szignifikáns

6. táblázat. Párosított terhes és nem terhes ciklusok jellemzőinek összehasonlítása

	Párok száma	Nem terhesek	Terhesek	P
E ₂ az ovulációindukció napján (pg/ml)	24	2350 (1951–3169)	2498 (1772–3506)	0,79 NS
Nyert petesejtek száma	41	6 (4–8)	7 (6–9)	0,005
Beültetett előébrények száma	41	3 (2–4)	4 (4–4)	<0,001
CA-125-szint (U/ml)	41	35,7 (18,5–51,9)	40,5 (25,4–61,2)	0,017
Teljes β-hCG szint (IU/l)	41	0 (0–1)	57 (42–141)	<0,001
Inhibin A szint (pg/ml)	37	4,2 (0,0–6,2)	61,3 (6,4–99,8)	<0,001

Megjegyzések: A táblázatban a változók medián értékét (zárójelben az interkvartilis tartományt) tüntettük fel. NS = nem szignifikáns

Mind a CA-125, mind az inhibin A és a teljes β-hCG szintje szignifikánsan magasabbnak bizonyult a klinikai terhességet eredményező ciklusokban, mint biokémiai terhességekben, míg a nyert petesejtek és a beültetett előébrények számában, valamint az ovulációindukció napján mért szérumsztradiol-szintben nem találtunk szignifikáns különbséget a két csoport között (7. táblázat, 55. oldal). Az előrejelzés pontosságát jellemző ROC görbe alatti terület CA-125 esetében 0,63-nak bizonyult (0,52–0,74), optimális határértéknek a $\geq 37,8$ U/ml-es szintet ítéltük 61%-os szenzitivitás és 64%-os specificitás mellett. A szérumsztradiol teljes β-hCG szintjén alapuló előrejelzés 0,84-os ROC görbe alatti területet eredményezett (0,77–0,91), az optimálisnak ítélt 36,4 IU/l-es határértékhez 85%-os szenzitivitás és 68%-os specificitás tartozott, míg inhibin A-ra 0,83-os görbe alatti terület (0,76–0,90) mellett a $\geq 6,7$ pg/ml-es határértéket ítéltük a legmegfelelőbbnek (86%-os szenzitivitás, 72%-os specificitás) (8/B ábra). A klinikai terhességek CA-125-koncentrációk alapján történő előrejelzése szignifikánsan kevésbé bizonyult pontosnak, mint akár a hCG-szinteken ($P = 0,002$), akár az inhibin A koncentrációkon ($P < 0,001$) alapuló predikció.



8. ábra. A terhesség létrejöttére (A), illetve a klinikai és biokémiai terhesség elkülönítésére (B) vonatkozó, az előébrény-beültetést követő második héten vett szérumminta CA-125-, teljes β -hCG, valamint inhibin A szintjén alapuló előrejelzés pontosságát jellemző nemparaméteres ROC görbék. A nyilak az elkülönítés szempontjából optimálisnak ítélt határértékeket jelölik

A koraterhességi veszteségek és a 12. hétnél tovább viselt terhességek, továbbá az utóbbin belül az egyes és többes terhességek között nem találtunk szignifikáns különbséget a szérumban CA-125-szintjét tekintve, míg a teljes β -hCG és inhibin A szint a 12. hétnél tovább viselt terhességek, illetve a többes terhességek esetében magasabbnak bizonyult (7. táblázat).

A terhes ciklusokon belül a szérumban CA-125-szintje szoros összefüggést mutatott az ugyanazon mintából meghatározott teljes β -hCG ($n = 182$; $r = 0,16$; $P = 0,04$), illetve inhibin A szinttel ($n = 158$; $r = 0,47$; $P < 0,001$). A nyert petesejtek és beültetett előébrények számával, illetve az ovulációindukció napján mért ösztradiolszinttel azonban nem találtunk szignifikáns korrelációt.

7. táblázat. A terhes ciklusok alcsoportjainak párosítatlan összehasonlítása

<i>Biokémiai terhesség ↔ klinikai terhesség</i>			
	Biokémiai terhesség	Klinikai terhesség	P
Életkor (év)	32 (29-35) (n = 38)	31 (28-35) (n = 144)	0,26 NS
FSH spontán ciklus 3. napján (IU/l)	6,4 (5,4-7,2) (n = 38)	6,6 (5,7-7,9) (n = 144)	0,37 NS
E ₂ az ovulációindukció napján (pg/ml)	1968 (1542-2920) (n = 29)	2570 (1785-3270) (n = 106)	0,19 NS
Nyert petesejtek száma	7 (5-10) (n = 38)	7 (6-10) (n = 144)	0,45 NS
Beültetett előébrények száma	3 (3-4) (n = 38)	4 (3-4) (n = 144)	0,20 NS
CA-125-szint (U/ml)	34,4 (25,8-47,1) (n = 38)	48,7 (26,6-80,9) (n = 144)	0,006
Teljes β-hCG szint (IU/l)	32 (13-51) (n = 38)	100 (49-186) (n = 144)	<0,001
Inhibin A szint (pg/ml)	5,5 (4,1-10,7) (n = 25)	60,1 (12,6-143,0) (n = 133)	<0,001
<i>Koraterhességi veszteség ↔ 12. hétnél tovább viselt terhesség</i>			
	Koraterhességi veszteség	„Ongoing” terhesség	P
Életkor (év)	32 (29-35) (n = 64)	31 (28-35) (n = 118)	0,15 NS
FSH spontán ciklus 3. napján (IU/l)	6,3 (5,2-7,4) (n = 64)	6,7 (5,7-7,9) (n = 118)	0,14 NS
E ₂ az ovulációindukció napján (pg/ml)	2213 (1593-3320) (n = 45)	2445 (1681-3000) (n = 90)	0,75 NS
Nyert petesejtek száma	7 (6-10) (n = 64)	7 (6-9) (n = 118)	0,45 NS
Beültetett előébrények száma	3 (3-4) (n = 64)	4 (3-4) (n = 118)	0,29 NS
CA-125-szint (U/ml)	39,9 (27,2-55,7) (n = 64)	47,3 (26,0-84,6) (n = 118)	0,18 NS
Teljes β-hCG szint (IU/l)	37 (21-60) (n = 64)	127 (58-202) (n = 118)	<0,001
Inhibin A szint (pg/ml)	6,3 (4,3-32,5) (n = 40)	68,2 (14,2-147,6) (n = 118)	<0,001
<i>Egyes terhesség ↔ többes terhesség (a 12. hétnél tovább viselt terhességeken belül)</i>			
	Egyes „ongoing” terhesség	Többes „ongoing” terhesség	P
Életkor (év)	31 (28-35) (n = 65)	30 (27-34) (n = 53)	0,23 NS
FSH spontán ciklus 3. napján (IU/l)	7,0 (5,8-7,9) (n = 65)	6,4 (5,7-7,6) (n = 53)	0,53 NS
E ₂ az ovulációindukció napján (pg/ml)	2626 (2015-3290) (n = 51)	2199 (1647-2901) (n = 39)	0,18 NS
Nyert petesejtek száma	8 (5-9) (n = 65)	7 (6-9) (n = 53)	0,77 NS
Beültetett előébrények száma	4 (3-4) (n = 65)	4 (3-4) (n = 53)	0,32 NS
CA-125-szint (U/ml)	43,4 (26,1-72,1) (n = 65)	51,2 (25,4-85,7) (n = 53)	0,54 NS
Teljes β-hCG szint (IU/l)	82 (45-141) (n = 65)	187 (123-271) (n = 53)	<0,001
Inhibin A szint (pg/ml)	31,4 (10,1-99,8) (n = 65)	94,7 (39,6-181,7) (n = 53)	0,004

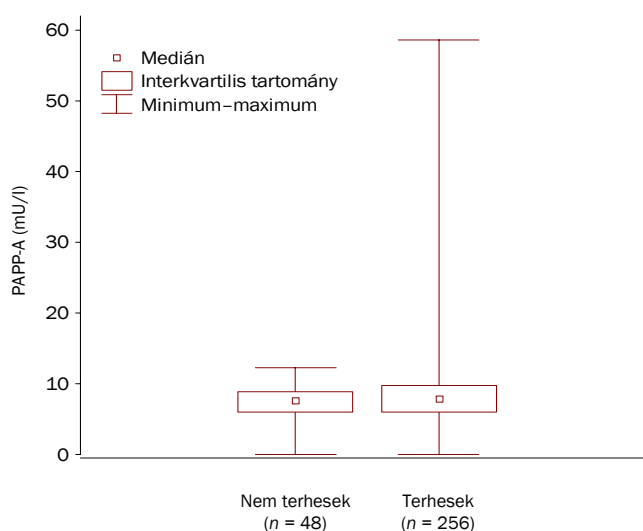
Megjegyzések: A táblázatban a változók medián értékét (zárójelben az interkvartilis tartományt) tüntettük fel.

NS = nem szignifikáns

5.4 A szérumban PAPP-A-szintje és az IVF kezelés kimenetele közötti összefüggés vizsgálata

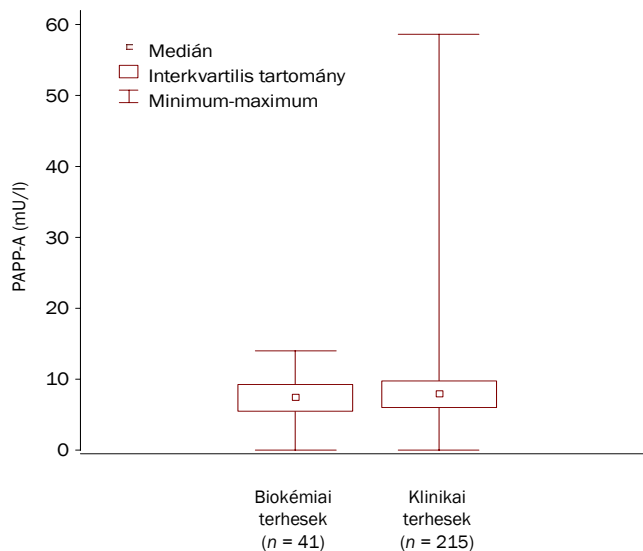
A mérési módszer szenzitivitási küszöbe alatti értékeket kaptunk az összes ciklus 7%-ában (20 esetben), és hasonlóan (17/256) bizonyult az arány a terheseken belül is. Az összes mérés eredményének 99%-a (300 minta) a – kitéhez mellékelt leírás alapján – nem terhesekre jellemző <14 mU/l tartományba esett, jóllehet a 304 mintából 256 terhes ciklusból származott.

Hasonló, 97%-os volt a nem terhesekre jellemző tartományba eső mérések aránya a terhesek mintáin belül is (összesen 4 érték haladta meg a 14 mU/l-es szintet). Eltekintve két outliertól (22,1, illetve 58,6 mU/l), az adatok mind a terhesek, mind a nem terhesek körében normál eloszlásúaknak tekinthetők, így a két csoport összehasonlítására elvileg elvégezhető lett volna a kétmintás t -próba, azonban ennek validitása a minták varianciájának összehasonlítását szolgáló F -próba eredményeképpen kapott $P = 0,0001$ érték miatt erősen korlátozott. Ezért a Mann–Whitney-féle U -próba elvégzése mellett döntöttem, amelynek eredménye $P = 0,60$ lett, tehát a nem terhesek és terhesek PAPP-A-szérumszintje közt nem volt kimutatható szignifikáns különbség (9. ábra).



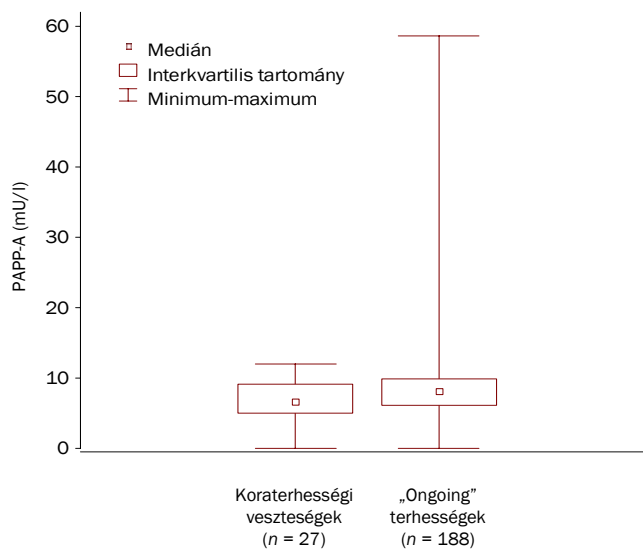
9. ábra. A szérumban PAPP-A-szintje nem terhes és terhes ciklusokban az előébrény-beültetést követő 11 ± 3 . napon

A klinikai terhesek mintáinak 96%-a a nem terhesekre jellemző <14 mU/l tartományba esett. Az előzőekhez hasonló megfontolások miatt itt is nemparaméteres összehasonlításhoz folyamodtunk, amelynek eredménye ($P = 0,28$) alapján a biokémiai és klinikai terhesek PAPP-A-szérumszintje közt sem találtunk szignifikáns különbséget (10. ábra).



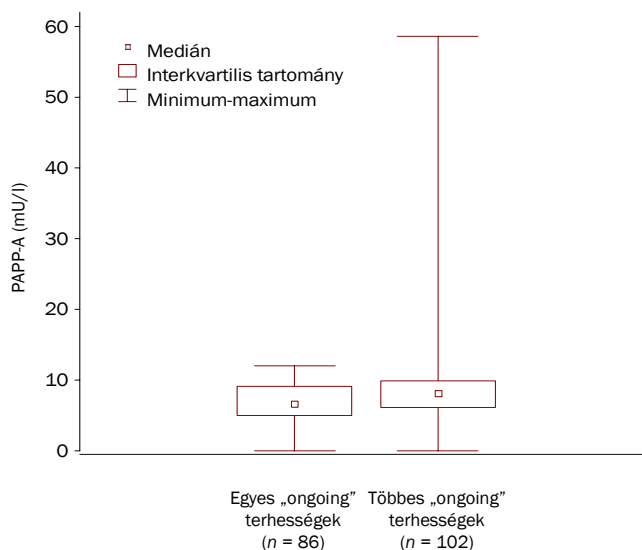
10. ábra. A szérumszintje biokémiai és klinikai terhesek körében az előébrény-beültetést követő 11 ± 3 . napon

Hasonló arányú volt a PAPP-A-szint eloszlása a 12. hétnél tovább viselt terhességek csoportjában is; ezeket a koraterhességi veszteségektől szintén nem lehetett elkülöníteni a szérumszintje alapján ($P = 0,06$) (11. ábra).



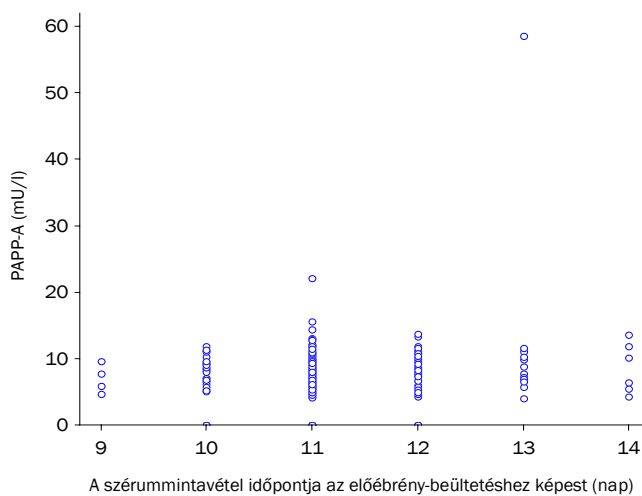
11. ábra. A szérumszintje koraterhességi veszteség és 12. hétnél tovább viselt („ongoing”) terhesség esetében az előébrény-beültetést követő 11 ± 3 . napon

Végül ugyanilyen eredményre jutottunk a 12. hétnél tovább viselt egyes és többes terhességek összehasonlítása kapcsán is ($P = 0,33$) (12. ábra). A két korábban említett outlier érték elhagyása egyik összehasonlítás tekintetében sem változtatott lényegesen az eredményeken.



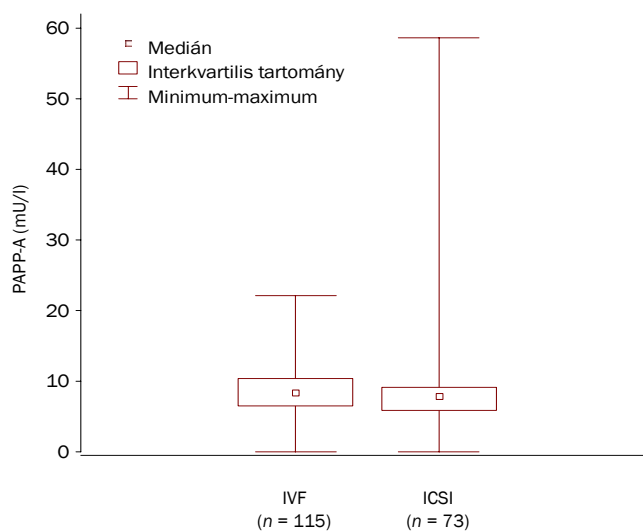
12. ábra. A szérumban PAPP-A-szintje 12. hétnél tovább viselt („ongoing”) egyes és többes terhesség esetében az előébrény-beültetést követő 11 ± 3 . napon

A PAPP-A-szint és a mérés napja között sem a klinikai ($r_s = 0,08$; $P = 0,25$), sem ezen belül a 12. hétnél tovább viselt terhességek körében ($r_s = 0,07$; $P = 0,35$) nem találtunk összefüggést (13. ábra).



13. ábra. Klinikai terhések szérumban-PAPP-A-szintjének eloszlása a mintavétel időpontjának függvényében

A 12. hétnél tovább viselt terhességeken belül vizsgálva a PAPP-A szérumszintje és a kezelés módja közötti összefüggést, magasabb értékeket találtunk az IVF kezelésben részesült betegek mintáiban, mint ICSI kezelést követően, akár megtartottuk, akár eltávolítottuk az elemzésből a két felső outliert. Szignifikanciáját tekintve azonban a különbség alig lépte túl a választott küszöböt ($P = 0,03$) (14. ábra).



14. ábra. A szérum PAPP-A-szintje 12. hétnél tovább viselt („ongoing”) terhességeken belül az előébrény-beültetést követő 11 ± 3 . napon, a kezelési mód függvényében

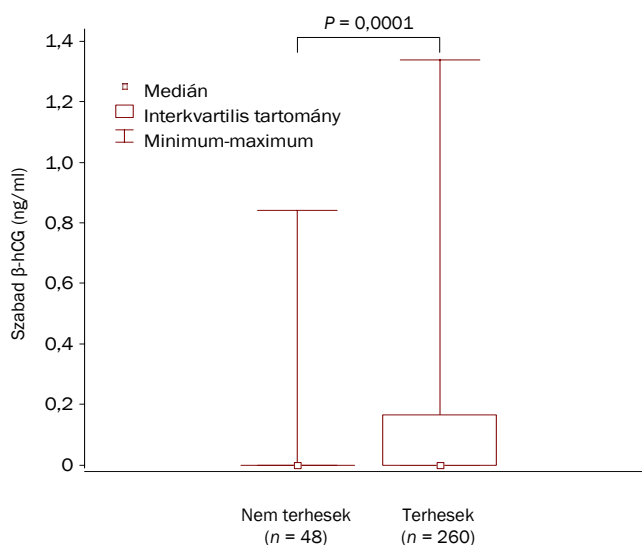
Ez nem függött össze azzal a körülménnyel, hogy egyes vagy többes terhességről volt-e szó, mivel a két kezelési csoport tagjainak körében az egyes és többes terhességek arányát tekintve nem volt szignifikáns különbség ($P = 0,17$) (8. táblázat).

8. táblázat. Egyes és többes terhességek aránya a 12. hétnél tovább viselt terhességeken belül, a kezelési mód függvényében

	Egyes terhességek	Többes terhességek
IVF (n (%))	48 (42%)	67 (58%)
ICSI (n (%))	38 (52%)	35 (48%)

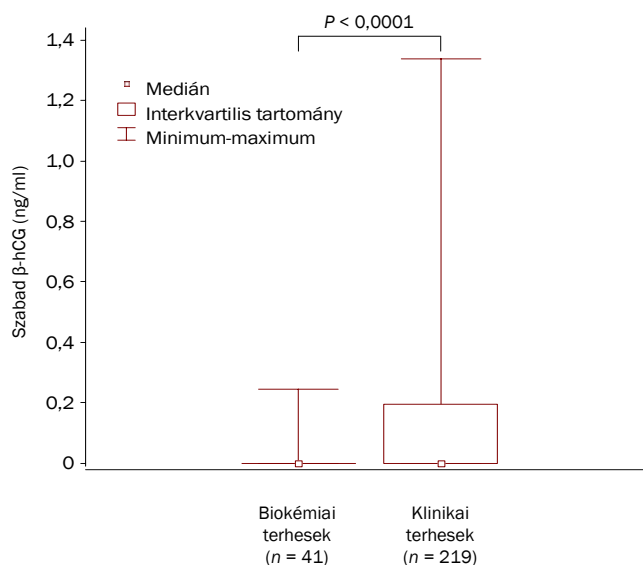
5.5 A szérumban szabad β -hCG szintje és az IVF kezelés kimenetele közötti összefüggés vizsgálata

A 308 mérés közül 224 (73%) eredménye az analitikai szenzitivitás alattinak ($<0,13$ ng/ml) bizonyult, míg a funkcionális érzékenységet (0,20 ng/ml) nem érte el 250 (81%). A nem terhesek 92%-a, a terhesek több mint kétharmada (69%) mutatott méréshatár alatti eredményt. Ilyen arányú ún. *tied rank* esetén (ezek olyan értékek, amelyeket mindkét összehasonlítható csoport tagjai felvesznek) a Mann–Whitney-féle *U*-próba értékelhetősége rendkívüli mértékben beszűkül, ami természetesen valamennyi itt következő összehasonlításra érvényes. Ezt szem előtt tartva, a teszt szerint a terhesek előébrény-beültetést követő második héten meghatározott szabad β -hCG szintje szignifikánsan magasabbnak bizonyult a nem terhesek csoportjában mérhető értékeknél (15. ábra).



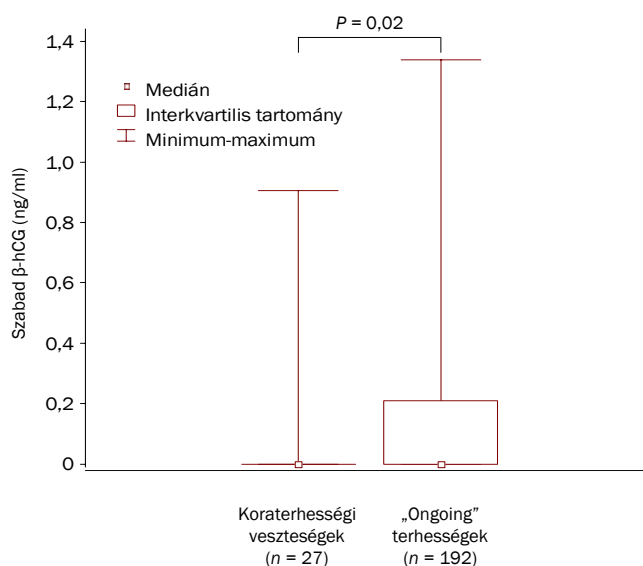
15. ábra. A szérumban szabad β -hCG szintje nem terhes és terhes ciklusokban az előébrény-beültetést követő 11 ± 3 . napon

A biokémiai terhességek 98%-a, a klinikai terhességeknek pedig csaknem kétharmada (64%) méréshatár alatti szabad β -hCG értéket mutatott. [A Mann–Whitney-féle *U*-próba ez esetben is szignifikáns különbséget jelzett a két csoport között (16. ábra).]



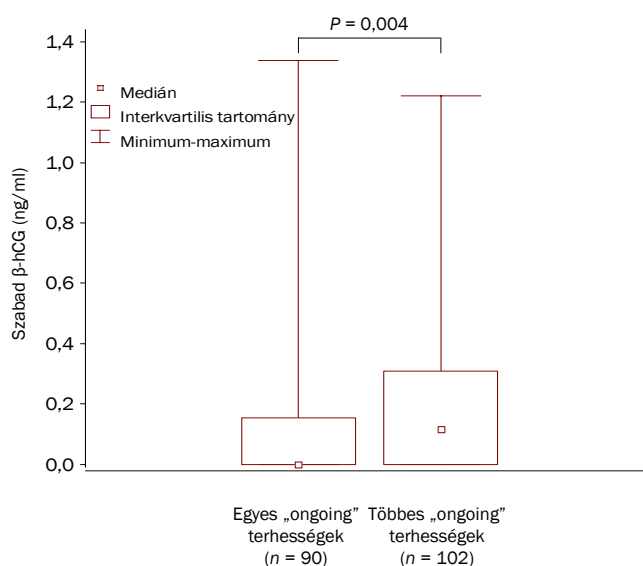
16. ábra. A szérumban szabad β -hCG szintje biokémiai és klinikai terhesek körében az előébrény-beültetést követő 11 ± 3 . napon

A koraterhességi veszteségek több mint négyötödénél (81%), míg a 12. hétnél tovább viselt terhességek több mint háromötödénél (61%) szintén mérés határ alatti szabad β -hCG értékeket kaptunk. [Emellett a Mann–Whitney-féle U -próba ezúttal is szignifikáns különbséget mutatott (17. ábra).]



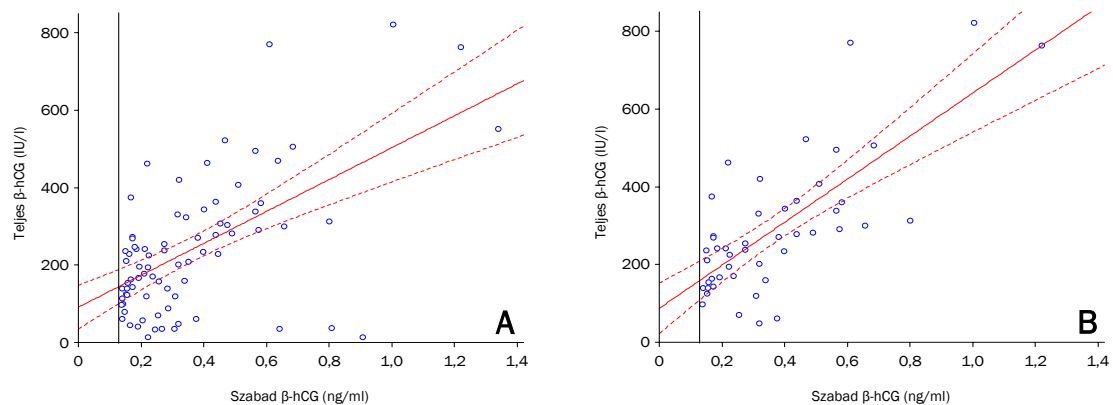
17. ábra. A szérumban szabad β -hCG szintje koraterhességi veszteség és 12. hétnél tovább viselt („ongoing”) terhesség esetében az előébrény-beültetést követő 11 ± 3 . napon

Végül a 12. hétnél tovább viselt terhességeken belül az egyes terhességek több mint kétharmadában (71%), a többes terhességeknek pedig több mint felében (53%) figyeltünk meg méréshatár alatti szabad β -hCG értékeket. A szigorúbb funkcionális szenzitivitást az egyes terhességek kevesebb mint ötödében (18%), a többeseknek pedig egyharmadában (33%) érte el a szérumban szabad β -hCG szintje. [Mindemellett a Mann–Whitney-féle U -próba szignifikáns különbséget mutatott a két csoport között (18. ábra).]



18. ábra. A szérumban szabad β -hCG szintje 12. hétnél tovább viselt („ongoing”) egyes és többes terhesség esetében az előébrény-beültetést követő 11 ± 3 . napon

A méréshatár fölötti értékeket elemezve szignifikáns korrelációt tapasztaltunk a terhesek szérumban szabad β -hCG szintje és a teljes β -hCG szint között ($r_s = 0,49$; $P < 0,0001$) (19/A ábra). Az összefüggés az alcsoportok közül a 12. hétnél tovább viselt többes terhességek körében bizonyult a legszorosabbnak ($r_s = 0,65$; $P < 0,0001$) (19/B ábra).



19. ábra. A szérumban szabad és teljes β -hCG szintje közötti összefüggés ábrázolása a terhesek körében (A) és a 12. hétnél tovább viselt többes terhességek alcsoportjában (B). A 0,13 ng/ml-es értéknél húzott függőleges vonal a szabad β -hCG szint meghatározásához alkalmazott mérési módszer analitikai szenzitivitását jelöli. Az ábrákon látható regressziós egyenesek és a hozzájuk tartozó 95%-os konfidenciaintervallumot jelölő szaggatott vonalak csak a szemléltetés célját szolgálják, adataink eloszlása a formális regressziószámítás feltételeinek nem felel meg.

6 Megbeszélés

6.1 Koraterhességi teljes β -hCG szint mérések

A széles körben elterjedt, korszerű terhességi tesztek igen érzékenyek és specifikusak,²⁶⁷ azonban a leolvasható eredmény nem tartalmaz kvantitatív információt, és alkalmatlan a terhesség kimenetelének előrejelzésére.

Vizsgálatunk során a megelőző irodalmi adatoknál korábbi időpontra vonatkozó határértékeket állítottunk fel a terhesség kimenetelének a szérumban hCG-szintjén alapuló előrejelzésére. Más szerzők az előébrény-beültetést követő 12. napon^{40,268} vagy későbbi időpontban^{37–39} vett szérumminták elemzése alapján vizsgálták a hCG prediktív szerepét. A terhességeket az általunk alkalmazott felosztással megegyező módon csoportosítva Bjercke és mtsai az 55 IU/l-nél magasabb 12. napi hCG-szintet ítélték optimálisnak a 12. hétnél tovább viselt terhességek előrejelzése szempontjából, ami összemérhető saját, 50 IU/l-es 11. napi határértékünkkel (6. ábra, 45. oldal).⁴⁰ Az ehhez a küszöbértékhez tartozó 73%-os szenzitivitás és 83%-os specificitás, valamint 60%-os pozitív és 90%-os negatív prediktív érték alig tér el saját eredményeinktől, ami arra utal, hogy az általunk alkalmazott matematikai modell alapján számított értékek segítségével a ténylegesen mért hCG-szint-meghatározásokon alapuló predikcióhoz hasonló pontossággal jelezhető előre az IVF útján fogant terhességek kimenetele. Hasonló eredményekkel járt az a vizsgálat is, amelyben IVF, fagyasztva tárolt előébrény beültetése vagy intrauterin inszemináció nyomán fogant terhességekben elemezték a szérumban hCG-koncentrációját a petesejtnyerés, LH-csúcs vagy ondófelhelyezés utáni 14. és 21. napon.²⁶⁹ Ennél korábbi időpontban – az előébrény-beültetést követő 9. napon – mérve úgy tűnik, hogy a hCG-mérések eredménye alapján nem jelezhető előre a terhesség kimenetele.²⁷⁰

Poikkeus és mtsai közel 800 IVF ciklus adatainak elemzése alapján 76 IU/l-nek találták a beültetést követő 12. napon mért teljes β -hCG szint „életképes” (legalább 22 héten át viselt) terhesség előrejelzésére vonatkozó optimális határértékét, melyhez 80%-os szenzitivitás és 82%-os specificitás, valamint 87%-os pozitív és 74%-os negatív prediktív érték tartozott.²⁶⁸

Valamennyi biokémiai terhesség esetében 100 IU/l alatti hCG-értékeket mértek, ami egybecseng saját, 11. napi számított eredményeinkkel (maximális hCG-szint biokémiai terhességekben: 94,7 IU/l) (5. ábra, 44. oldal). Ugyancsak összemérhető a „nem életképes” (a szerzők terminológiája szerint a 22. hét előtt befejeződött) terhességek esetében mért hCG-szint 75 percentiles értéke (64 IU/l) a koraterhességi veszteséggel végződött terhességek körében mért saját, 11. napi 54,6 IU/l-es értékünkkel. Az eredmények értékelése szempontjából lényeges, hogy a koraterhességi hCG-szint a megtapadt, továbbfejlődő embriók számától függ, nem pedig a beültetett preembriókétól,²⁶⁸ hiszen a hCG-t koraterhességben a beágyazódott előébrény trophoblast-sejtjei termelik. Ezt a tényt támasztják alá mások vizsgálatai mellett^{35,37,38,40} saját eredményeink is: többes terhességek esetében szignifikánsan magasabb hCG-szintet mértünk, mint bármely más csoportban, és igen jó szenzitivitás és specificitás, valamint pozitív és negatív prediktív érték mellett találtunk határértéket a többes terhességek előrejelzésére (5. és 6. ábra, 44. és 45. oldal).

A terhesség kimenetelének hCG-szint-meghatározáson alapuló előrejelzésével kapcsolatos elemzéseink során a középidoős vetélést – más munkacsoportokhoz hasonlóan^{37,40} – a szülésekkel együtt vizsgáltuk, mivel a koraterhességi hCG-szint a beágyazódás sikerességét tükrözi, márpedig a középidoős vetélések hátterében számos egyéb tényező, például a méh fejlődési rendellenessége, a belső méhszáj zárófunkciójának elégtelensége vagy a méh üregét deformáló myoma-göb állhat.

A méhen kívüli terhességek gyakorisága az IVF kezelésen átesett betegek körében az átlagpopulációban észlelt érték 3–5-szöröse,^{271,272} és elsősorban a kürt eredetű meddőségben szenvedőket fenyegeti.²⁷¹ Extrauterin graviditas mellett végzett többszöri β -hCG-meghatározás esetén alacsony kezdeti érték és gyors növekedés figyelhető meg.²⁶⁹ Noha vizsgálataink során alacsony hCG-szintet mértünk méhen kívüli terhességben, ez nem különbözött az egyéb koraterhességi veszteségekben észlelt értékektől. (A statisztikailag szignifikáns különbség kimutatásának további gátját jelentette, hogy egyik vizsgálatunkban mindössze egy, a másikban pedig kettő extrauterin terhesség szerepelt.) Következésképp az alacsony β -hCG-szint önmagában nem tekinthető a méhen kívüli terhesség jellemzőjének, azonban sérült vagy hiányzó petevezeték esetén felhívhatja a figyelmet az extrauterin terhesség lehetőségére, amelyet alapos, mihamarabbi hüvelyi ultrahangvizsgálattal szükséges kizárni.^{273,274}

6.2 *Az inhibin A és a teljes β -hCG szint meghatározásának jelentősége koraterhességi szérummintákból*

A korábbi irodalmi adatokból ismert volt, hogy az anyai szérum koraterhességi inhibin A szintje összefügg a terhesség kimenetelével. Vizsgálatunk során az volt a célunk, hogy megállapítsuk, többletinformációt nyújt-e az előébrény-beültetést követő 8. és 16. nap között kétnapos különbséggel levett két mintából végzett inhibin A mérés átlaga az IVF/ICSI kezelés útján fogant terhességek kimenetele szempontjából ahhoz az előrejelzéshez képest, ami a két szérumminta teljes β -hCG szintjéből az exponenciális növekedést figyelembe vevő matematikai modell segítségével számított 11. napi hCG-érték alapján adható.

Eredményeink arról tanúskodnak, hogy az inhibin A és a hCG alacsony szintje gyakrabban társul biokémiai terhességgel és koraterhességi veszteséggel, míg magas inhibin A, illetve hCG-szint esetén gyakrabban fordul elő többes terhesség (2. táblázat, 47. oldal). Megállapítottuk továbbá, hogy az inhibin A meghatározás lényegesen pontosabb eszközt jelent a biokémiai terhességek predikciójában, mint a hCG-mérések, és a kettő kombinációja nem javít az előrejelzés megbízhatóságán (3. és 4. táblázat, 48. és 50. oldal, valamint 7. ábra, 49. oldal). Ami a koraterhességi veszteségek és a 12. hétnél tovább viselt terhességek elkülönítését illeti, eredményeink alapján úgy tűnik, nem mutatható ki szignifikáns különbség a két hormon meghatározásán, illetve a kettő kombinációján alapuló predikció pontosságát tekintve. A többes „ongoing” terhességek tekintetében pedig az inhibin A meghatározására alapozott előrejelzés pontossága lényegesen elmarad a hCG-méréseken, illetve a két hormoneredmény kombinációján alapuló predikció megbízhatóságától. Mindezek alapján úgy gondoljuk, hogy a szérum koraterhességi inhibin A szintjének rutinszerű meghatározása nem tekinthető megalapozottnak az IVF kezeléseknél nyomán fogant terhességek nyomon követésében.

A biokémiai terhességek korai inhibin A meghatározáson alapuló előrejelzésének lehetőségére utaló eredményeink összhangban állnak egy közelmúltban végzett vizsgálat adataival, amelyben a petesejtnyerést követő 16. napon vett szérummintából végzett mérések alapján biokémiai terhességekben szignifikánsan alacsonyabbnak találták az inhibin A szintjét, mint a 12. hétnél tovább viselt terhességekben.¹⁶⁴ Saját eredményeinktől eltérően az említett tanulmányban nem találtak különbséget a korai vetélés és a 12. hétnél tovább viselt

terhességek között, ami arra utalhat, hogy bár az inhibin A alkalmas a kedvezőtlen kimenetel előrejelzésére, a magzati szív működés kimutatása után bekövetkező veszteségek esetében nem nyújt kellő pontosságú felvilágosítást.

Koraterhességben végzett vizsgálatok során a sárgatestben¹³⁵ és a trophoblastban^{136,140} egyaránt kimutatták az inhibin α - és β_A -alegységét. Birdsall és mtsai petesejt-adományozás révén létrejött, kiviselt egyes és többes terhességekben vizsgálták az inhibin A szintjét az 5. és 12. hét között, és az adatokat spontán terhességekből származó mérések eredményeivel hasonlították össze.¹⁴³ Megfigyeléseik szerint a donor és spontán terhességekben azonos időpontban mért értékek nem különböznek egymástól szignifikáns mértékben, ami arra utal, hogy a keringő inhibin A nem a sárgatestből származik, hiszen a spontán terhességekkel ellentétben petesejt-adományozás esetén nem jön létre sárgatest. Ezt a feltételezésüket támasztotta alá az is, hogy a donor terhességeken belül többes terhességben magasabb értékeket mértek, mint egyes terhességben. Ugyancsak a trophoblast, illetve a placenta szerepére utal az a megfigyelés is, hogy (nem orvosi javallatra végzett) terhesség-megszakítás esetén az anyai szérumban az inhibin A szintje jelentős mértékben zuhan a befejezés utáni első órában.²⁷⁵ Meglehet azonban, hogy a terhesség megszakítása nem közvetlenül az inhibin A termelésében részt vevő sejtek, illetve szövetek eltávolítását jelenti, hanem a petefészekben zajló inhibin A elválasztást serkentő faktorok forrását. Az ellentmondó adatok ismeretében az tűnik a legvalószínűbbnek, hogy az inhibin A termelését a megtermékenyítés utáni 2. és 4. hét között fokozatosan a trophoblast-sejtek veszik át a sárgatesttől.¹⁴⁹

Saját megfigyeléseink során a 12. hétnél tovább viselt többes terhességekben mérhető inhibin A szintet [medián: 88,6 (interkvartilis tartomány: 52,8–162,2) pg/ml] szignifikánsan ($P < 0,001$) magasabbnak találtuk mind az összes többi kimenetelhez képest, mind pedig a 12. hétnél tovább viselt egyes terhességekkel összehasonlítva [53,6 (12,3–112,8) pg/ml], ami szintén arra utal, hogy a trophoblast-sejtek mennyisége meghatározó szerepet játszhat az anyai keringésben megjelenő inhibin A szint kialakításában.

Kísérletes megfigyelések szerint a hCG a lepényben¹⁴⁷ és a sárgatestben¹⁴⁶ zajló inhibin-termelést egyaránt serkenti. Egy másik vizsgálatban azt tapasztalták, hogy a lutealis fázisban adott hCG-injekció hatására nem terhes nőkben fokozódik a sárgatest inhibin-elválasztása.¹³²

Jóllehet az elemzésbe bevont betegek közül senkinél sem alkalmaztunk hCG-t a sárgatestfázis támogatására, a trophoblast által termelt hCG inhibin A szekréciót serkentő hatása magyarázatul szolgálhat a hCG és az inhibin A között tapasztalt szoros korrelációra. Logisztikus regresszióval végzett elemzéseinek módot adtak arra, hogy az inhibin A szintre vonatkozó értékeket a hCG-szint szerint korrigáljuk. Ennek során azt tapasztaltuk, hogy bár a klinikai és biokémiai terhességek inhibin A meghatározáson alapuló elkülönítése független a hCG szintjétől, a 12. hétnél tovább viselt, valamint ezen belül a többes terhességek előrejelzésének kérdésében az inhibin A nem tekinthető a hCG-től független prediktornak (3. táblázat, 48. oldal).

Ebben az elemzésben az előző (6.1) pontban leírt, a 11. napi hCG-szint prognosztikai szerepét elemző vizsgálatban kapottaktól némileg eltérő határértékeket ítéltünk optimálisnak, azonban az eredmények sem az egyes csoportok közötti különbségek mértékében, sem az egyes határértékekhez tartozó szenzitivitás–specificitás párok értékében nem tértek el lényegesen (4. táblázat, 50. oldal). A különbség a korábbi vizsgálathoz képest kibővült mintának tudható be, ami rámutat annak a körülménynek a fontosságára, hogy bármely vizsgálat, teszt, szűrő módszer eredményeit minden laboratóriumnak a saját beteganyagán végzett meghatározások alapján kell validálnia.

Tekintettel arra, hogy az inhibin A meghatározás csak a klinikai/biokémiai terhességek előrejelzésében nyújtott „jobb” eredményt, mint a hCG-meghatározáson alapuló prognózis, míg a 12. hétnél tovább viselt terhességeket illetően az előrejelzés hasonló pontosságú volt mindkét hormon esetében, a többes terhességeket illetően pedig az inhibin A szintre alapozott predikció pontossága elmaradt a hCG-n alapuló előrejelzésétől, eredményeink alapján úgy véljük, hogy a koraterhességi inhibin A meghatározásnak egyelőre nincs létjogosultsága az IVF kezelés révén fogant terhességek nyomon követésére alkalmazott rutin módszerek sorában.

6.3 *Összefüggések a koraterhességi szérumminták CA-125-szintje és az IVF kezelés kimenetele között*

Klinikai szempontból egy prediktív változó értéke a szervezeten kívüli megtermékenyítés sikerességének előrejelzésében annál nagyobb, minél korábbi fázisban tudjuk segítségével megjósolni a kezelés eredményességét. Ha az endometrium befogadóképességét (receptivitását) figyelembe kívánjuk venni annak eldöntéséhez, hogy az IVF kezelés nyomán létrejött előébrényeket az adott ciklusban vagy – fagyasztva tárolást követően – egy későbbi időpontban ültessük-e be, nyilvánvaló, hogy olyan tesztre van szükségünk, amely ezt az információt legkésőbb a transzfer tervezett napján biztosítja. A CA-125 esetében azonban ellentmondásos eredmények születtek a marker beültetés napján vagy azt megelőzően vett szérummintákban mért szintje és a kezelés kimenetele közötti összefüggés tekintetében, és saját adataink is megcáfolni látszanak a stimuláció alatti CA-125-mérések prediktív értékét ebben a kérdésben. Figyelmünk ezért az előébrény-beültetést követő második héten, a rutin β -hCG-meghatározás céljából vett szérummintákban meghatározott CA-125-szint predikcióban betöltött potenciális szerepe felé terelődött.

Ennek elemzése során IVF kezelés útján létrejött terhességekben magasabbnak találtuk a szérum CA-125-szintjét, mint sikertelen kezelést követően (5. táblázat, 52. oldal és 6. táblázat, 53. oldal). Megállapítottuk továbbá, hogy klinikai terhességekben szignifikánsan magasabb CA-125-szintek mérhetők, mint biokémiai terhesség esetében (7. táblázat, 55. oldal). Eredményeink egybecsengenek Baalbergen és mtsainak adataival, akik a petesejtnyerés napján és 14 nappal az előébrény-beültetés után vetették össze a terhes ciklusokban mért szérumszinteket a nem terhesek körében mért értékekkel.²²¹ Az idézett tanulmány szerzői azonban nem végeztek párosított összehasonlításokat terhesek és nem terhesek között, és nem vizsgálták a különböző kimenetelű terhességek közötti különbségeket.

Úgy véljük, hogy a terhességgel, ezen belül is a klinikai terhességgel járó ciklusokban mért magasabb szérum-CA-125-szint a blastocysta sikeresebb endometrialis invázióját tükrözi. Ezt a feltételezésünket azokra a megfigyelésekre alapozzuk, amelyek szerint a szérum CA-125-szintjének emelkedése hátterében a méhnyálkahártya dezintegrációja áll,²⁷⁶ amely a menstruáció idején megfigyelt szérumszint-emelkedésért is felelős.^{211–213,277,278} A jelenség

valószínű oka, hogy a CA-125 a havi vérzés alatt könnyebben jut be a keringésbe az endometrium hámból.²¹¹

Több okból sem tűnik valószínűnek, hogy a keringő CA-125 az IVF kezelés alatt és nem sokkal utána a petefészekből származna. Először is, más munkacsoportok eredményeihez hasonlóan^{221,223,279} saját anyagunkban sem találtunk korrelációt a szérum CA-125-szintje és az ovulációindukció napján mért ösztradiolszint, illetve a nyert petesejtek száma között. Másrészt, bár túlstimulálási szindrómában magasabb szérumszinteket figyeltek meg,²⁸⁰ ez nem járt a tüszőfolyadék CA-125-szintjének emelkedésével.²⁸¹ Ugyancsak ovarialis eredet ellen szól, hogy sem granulosa-, sem theca-sejtekből nem sikerült kimutatni immunhisztokémiai eljárással a CA-125-öt,²¹⁰ és humán granulosa-sejtek tenyészetének tápfolyadéká sem tartalmazta a fehérjét.²²¹

Korábbi tanulmányok eredményei szerint a CA-125 szérumszintje sem a méhnyálkahártya vastagságával, sem erezettségének mértékével nem mutat összefüggést,^{222,223} ami némileg ellentmond annak, hogy a keringő CA-125 az endometriumból származna. Lehetséges azonban, hogy a CA-125 szérumszintjének alakulása nem a méhnyálkahártya mennyiségi, hanem inkább funkcionális változásaival függ össze.

Az, hogy szignifikáns mértékű korrelációt figyeltünk meg a szérum CA-125- és hCG-, illetve inhibin A szintje között, valószínűleg annak a következménye, hogy mindkét utóbbi hormon megbízhatóan jelzi az IVF kezelés kimenetelét, amint azt saját vizsgálataink alapján is igazoltuk (ld. az 5.1 és 5.2 pontokat). Ugyanakkor a hCG-vel és az inhibin A-val szemben a CA-125 esetében nem mutattunk ki szignifikáns különbséget a 12. hétnél tovább viselt terhességek és a koraterhességi veszteségek, illetve az egyes és többes „ongoing” terhességek között (7. táblázat, 55. oldal), így nem valószínű, hogy az anyai keringésbe jutó CA-125 embrionális eredetű volna. Kétségtelen, hogy a koraterhességi viszonyokra csak közvetetten és fenntartásokkal vihető át a következtetés, azonban megemlítendő: az is embrionális, illetve magzati eredet ellen szól, hogy magzati köldökzsinórvérben, illetve vizeletben igen alacsonynak találták a CA-125 szintjét.²⁸²

Mivel elemzésünk nem tért ki a beültetett előébrények minőségének vizsgálatára, nem állíthatjuk, hogy a terhes és nem terhes csoport ebből a szempontból összemérhető volt egymással. Ezért helytelen volna azt a következtetést levonni, hogy a CA-125 szintjében

észlelt különbségek csak a méhnyálkahártya eltérő állapotával függnek össze. Eredményeink alapján annyit mondhatunk el, hogy a magasabb CA-125-szint a blastocysta és az endometrium közötti sikeresebb interakciót jelezheti.

Megfigyeléseink alapján megállapíthatjuk, hogy noha az előébrény-beültetést követő második héten végzett CA-125-szint-meghatározások alapján következtetni lehet a terhesség, azon belül a klinikai terhesség bekövetkeztére, a predikció pontossága elmarad a hCG vagy az inhibin A meghatározásán alapuló előrejelzés megbízhatóságától (8. ábra, 54. oldal), ráadásul az eredmény a beágyazódott preembriók számáról és életképességéről sem ad felvilágosítást.

6.4 *A szérum koraterhességi PAPP-A-szintje és a terhesség kimenetele közötti összefüggés vizsgálata*

Mint az irodalmi áttekintésből kiderül, a szérum PAPP-A-szintjének terhesség alatti meghatározása elsősorban a Down-szindróma és egyéb kromoszóma-rendellenességek szűrésében játszik szerepet napjainkban.^{255,256} Az utóbbi évek eredményei arra utalnak, hogy a PAPP-A-szint prediktív értékkel bír egyéb kóros terhességi állapotok, így a praeeclampsia, az intrauterin növekedési retardáció, a spontán vetélés, a koraszülés, valamint a méhen belüli elhalás előrejelzésében is.^{259–261} A kedvezőtlen kimenetel predikciójával kapcsolatos jelenlegi ismereteink a terhesség 8. és 14. hete között levett szérummintákból meghatározott értékeken alapulnak. Arra vonatkozólag azonban nem találtunk támpontot az irodalomban, miként alakul a szérum PAPP-A-szintje az IVF kezelést követő második héten, a rutin „koraterhességi” hCG-szint-meghatározás idején, továbbá van-e különbség a PAPP-A szintjében különböző kimenetelű terhességek között. A méréshez használt kitéhez mellékelt leírás szerint a PAPP-A az alkalmazott módszerrel a fogamzást követő 21. naptól kezdve mutatható ki az anyai keringésben, de az nem derült ki, hogy ez az adat IVF kezelést követően fogant terhességekre vonatkozik-e. Elképzelhető, hogy a hivatkozás alapját a több mint húsz évvel ezelőtt, RIA-vel kapott eredmények képezik, amelyek szerint a PAPP-A egyes terhességek esetében 32, míg többes terhességekben 21 nappal a fogamzás után mutatható ki először az anyai szérummintákban.²⁸³

Ismeretes, hogy asszisztált reprodukciós kezeléseket követően a spontán fogant terhességekben mérhetőől eltérő értékek figyelhetők meg gyakorlatilag az összes második trimeszterbeli terhességi marker esetében. Ez a kromoszóma-rendellenességek szűrése esetén az álpozitív teszteredmények valószínűségét növeli mind egyes,^{51,284} mind többes terhességekben.²⁸⁵ Különösen a hCG-szintek kapcsán figyelhető meg az értékek felfelé tolódása. A különbség legvalószínűbb magyarázata az IVF kezelést megelőző és azt követően folytatott hormonkezelés, valamint a stimuláció által előidézett többszörös tüszőnövekedés, következésképp a létrejövő sárgatestek számában mutatkozó különbség lehet. Az idő múlásával, a terhességi kor előrehaladtával ezek hatása mind csekélyebb, így feltételezhető, hogy az első trimeszterben mért szérumszintekben mutatkozó eltérés még kifejezettebb. Az eddigi tapasztalatok valóban ezt támasztják alá: az első trimeszterbeli markerek közül a PAPP-A alacsonyabb szintjét figyelték meg spontán fogant terhességekhez képest egy közelmúltban készült retrospektív tanulmányban,²⁸⁶ amelynek eredményeit három frissen megjelent, prospektív vizsgálatról szóló beszámoló adatai is alátámasztják.⁵⁴⁻⁵⁶ Az utóbbi tanulmány külön érdekessége a különböző időpontokban mért PAPP-A-szintek alakulásának összehasonlítása spontán és asszisztált reprodukciós eljárás során fogant terhességek esetében, amely azt mutatja, hogy a szérum PAPP-A-szintje mind IVF, mind ICSI kezelés esetén meredekebben emelkedik, mint spontán terhességekben, és a különbség a második trimeszter elejére eltűnik, ami egyfajta lépényi kompenzációs mechanizmusra utalhat.⁵⁶ Az, hogy fagyasztva tárolt, majd felolvasztott előébrények beültetését követően – tehát gonadotropin-stimuláció nélküli kezelés esetén – nem mutatkozott különbség a spontán terhességekhez képest, alátámasztja a hormonkezelés szerepét az alacsonyabb PAPP-A-szint kialakulásában.

A spontán és asszisztált reprodukciós eljárással fogant terhességek között tapasztalt különbségek élettani háttere egyelőre nem ismert, de feltételezhető, hogy az IVF kezelésben részesülő betegek meddőségével is összefüggő metabolikus eltérések is szerepet játszanak benne.⁵⁴ Erre utal az is, hogy a túlnyomórészt andrológiai okból végzett ICSI kezelés nyomán fogant terhességekben mérhető PAPP-A-szint kevésbé tér el a spontán terhességekben megfigyelt koncentrációtól, mint a nem mikroinjekciós eljárással végzett IVF kezeléseket követően mért értékek. Érdekes, hogy saját anyagunkban ezzel ellentézőleg, szignifikánsan magasabb PAPP-A-szintet mértünk az IVF kezelésen átesett betegek körében, mint ICSI

kezelést követően (14. ábra, 59. oldal), ami nem magyarázható az egyes és többes terhességek (vagyis a megtapadt és fejlődésnek indult előébrények számának) eltérő megoszlásával a két kezelési csoport között (8. táblázat, 59. oldal). Nem valószínű, hogy az észlelt különbség hátterében a két kezelési csoport tagjainak eltérő meddőségi oka állna, mivel a vizsgált időszak alatt több éven keresztül mikroinjekciós kezelés nem folyt osztályunkon, így az érintett periódusban a kezelés módja természetesen nem függött a meddőség okától.

Jóllehet a korábbi irodalmi adatokkal ellentétben a terheseiktől származó mintáink nagy részében (93%) már a fogamzást – szervezeten kívüli megtermékenyítést – követő második héten a kimutathatóság határa fölötti PAPP-A-szintet mértünk a szérumban, eredményeink azt mutatják, hogy a terhességnek ebben a korai szakaszában a PAPP-A-meghatározás sem a terhesség létrejöttének igazolására, sem kimenetelének előrejelzésére nem alkalmas (9–12. ábrák, 56–58. oldal).

6.5 *A szabad β -hCG szint koraterhességi mintákban mért szintje és a terhesség kimenetele közötti összefüggés vizsgálata*

A hCG szabad β -alegysége kétféle formában van jelen a keringésben. Az egyik a közvetlenül a trophoblastból kikerülő alak (*non-nicked free β -hCG*), amely a β -lánc valamennyi aminosavát tartalmazza, míg a másik a teljes hCG molekula β -láncának enzimatis hasítása nyomán keletkező, labilis dimer alegységekre történő szétesése során szabadul fel (*nicked free β -hCG*). A szabad β -hCG féléletideje a keringésben 23 óra.²⁸⁷ Az elmúlt évtizedben számos szabad β -alegységre specifikus kit került kereskedelmi forgalomba,²³ amelyek a két említett alak együttes mérésére alkalmasak. Ezek szintje a keringésben nagyjából követi a teljes hCG molekula szintjének alakulását, mennyiségük azonban élettani terhességben elenyésző a két-láncú, teljes alakéhoz képest: az arány a második hónapban 0,9%, amely a terhesség végére 0,5%-ra csökken.²⁴

Hasonló arányt feltételezve a beágyazódás körüli időszakban, a koraterhességi (előébrény-beültetést követő második héten mért) teljes β -hCG koncentráció ismeretében durva becslést adhatunk a szabad β -hCG szintek nagyságrendjére ugyanezekben a mintákban. Saját

anyagunkban a korábban ismertetett mérésorozatban (ld. az 5.1 pont alatt) 100 IU/l körüli teljes β -hCG szinteket mértünk a 12. hétnél tovább viselt egyes és többes terhességek körében, ami azt jelenti, hogy a minták átlagos immunaktivitása megegyezett a kalibrációs standard 10,75 $\mu\text{g/l}$ -es, azaz 10,75 ng/ml-es koncentrációjú oldatának aktivitásával (ld. a mérési módszerek leírásánál, a 4.2.2 pont alatt). Az irodalmi adatokban szereplő 1% körüli arány moláris viszonyokra vonatkozik, így a becslés során figyelembe kell vennünk a teljes hCG molekula és a szabad β -alegység molekulasúlyának hozzávetőleges arányát (1,65). Ennek alapján a mintákban 0,07 ng/ml-es szabad β -alegység szintet várhatunk, ami nagyjából fele a méréseinkhez alkalmazott módszer analitikai érzékenységének. Ez a becslés megfelel eredményeinknek, hiszen méréseink során a 12. hétnél tovább viselt terhességek több mint háromötödében méréshatár alatti értékeket kaptunk, így lehetséges, hogy a méréshatárt meghaladó értékek a becsülthöz hasonló átlag körüli szórás részét képezték.

Becslésünk helyességének ellenőrzése céljából azokat a terhes ciklusokból származó mintákat elemeztük, amelyekben méréshatár fölötti szabad β -hCG értéket mértünk. Ennek során a fenti megfontolások figyelembevételével azt tapasztaltuk, hogy a szabad β -hCG a teljes β -hCG szint 2%-ának megfelelő moláris mennyiségben volt jelen az anyai keringésben. A szabad β -alegység és a teljes β -hCG szint közötti összefüggés meglétét a legjobban a kettő közötti szignifikáns korreláció igazolta, amely numerikusan kifejezve a legmagasabb szabad β -hCG szintekkel rendelkező csoporton, a 12. hétnél tovább viselt többes terhességek csoportján belül bizonyult a legszorosabbnak. A 19. ábráról (63. oldal) az is leolvasható, hogy a méréshatár közelében nagyobb az adatok szóródása, ami a mérési módszerek érzékenységi küszöbe körüli értékek esetében általánosan tapasztalt nagyobb bizonytalanság tükrében nem meglepő.

A szabad alegység koncentrációja és a teljes β -hCG szint közötti összefüggés alapján érthető az is, hogy a különböző kimenetelű csoportok között a teljes β -hCG szint elemzése során megfigyelt különbségek a méréshatár alatti értékek rendkívül nagy aránya ellenére ebben a mérésorozatban is rendre jelen voltak (15–18. ábrák, 60–62. oldal), noha tisztában vagyunk azzal, hogy a csoportok összehasonlítására alkalmazott statisztikai próbák értéke ilyen körülmények között erősen korlátozott.

Az irodalmi adatok egy része azt mutatja, hogy asszisztált reprodukciós eljárásokat követően az első trimeszterben magasabb szabad β -hCG szintek mérhetők, mint spontán terhességben.^{47–51,56} Saját méréseink tanúsága szerint azonban az előébrény-beültetést követő második héten vett szérumminták túlnyomó többségében a szabad β -alegység koncentrációja még a kimutathatóság alatt marad, ezért ez a mérési időpont alkalmatlan arra, hogy a szérumban szabad β -hCG szintje alapján következtetni tudjunk az IVF kezelés útján fogant terhességek kimenetelére. Hozzá kell tennünk ugyanakkor, hogy forgalomban vannak olyan β -alegység-specifikus kitek is, amelyek érzékenysége az általunk használt kiténél egy nagyságrenddel jobb,²⁸⁷ így lehetséges, hogy ilyen módszer használatával jobban értékelhető eredményekre juthattunk volna. Kétségtelen azonban, hogy a szabad β -hCG meghatározásnak jelenleg elsősorban az aneuploidiák szűrésében, valamint a terhességi trophoblast-betegségek diagnosztizálásában és követésében van helye. Ezekben az esetekben – a kórkép jellegéből, illetve a szűrés időpontjából fakadóan – nagyságrendekkel magasabb β -hCG-szintek mérhetők a szérumban.

1. Koraterhességben a szérum teljes β -hCG szintje exponenciálisan növekszik. Ennek alapján, az IVF kezelések után rutinszerűen a második héten, kétnapos különbséggel levett két szérumminta hCG-szintjének ismeretében kiszámítható a 11. napi érték, amely alkalmas a vérvétel céljából különböző okok miatt más és más napokra berendelt betegek hCG-szintjének összehasonlítására és a koraterhességi veszteség, valamint a 12. hétnél tovább viselt többes terhességek előrejelzésére. Optimális határérték (50, illetve 135 IU/l) megválasztása esetén – saját beteganyagunkban – a korai veszteségek 75%-os szenzitivitással és 81%-os specificitással jelezhetők előre, míg a 12. hétnél tovább viselt többes terhességek esetében 80%-os szenzitivitás és 88%-os specificitás érhető el.
2. Logisztikus regresszió és ROC analízis segítségével megállapítottam, hogy a koraterhességi szérummintákból meghatározott inhibin A szint alapján nagyobb pontossággal lehet előrejelezni a klinikai terhességeket, mint a 11. napi teljes β -hCG szint alapján, azonban a 12. hétnél tovább viselt terhességek és a többes terhességek előrejelzésében az inhibin A mérése nem nyújt nagyobb segítséget, mint a hCG-szint-meghatározás.
3. Terhességet eredményező IVF kezelések után a második héten levett szérummintákból meghatározott koraterhességi CA-125-szintet magasabbnak találtam, mint nem terhes ciklusokban, azonban a predikció erőssége nem bizonyult jobbnak az inhibin A meghatározáson alapuló előrejelzés pontosságánál. Ugyancsak magasabb CA-125-szintek jellemzik a klinikai terhességeket, mint a biokémiaiakat, azonban a prognózis pontossága ebben a kérdésben is elmarad az inhibin A-val, illetve teljes β -hCG-vel elérhető szinthez képest. A kezelések kimenetelének a klinikai terhességeken belüli további csoportok szerinti felosztására a CA-125-szint meghatározása nem bizonyult alkalmasnak.

4. A szérum PAPP-A-szintjének meghatározása nem alkalmas az IVF kezelések kimenetelének előrejelzésére az előébrény-beültetést követő második héten: a terhesek 97%-ában is a nem terhes állapotra jellemző PAPP-A-értékeket figyeltem meg, és nem találtam különbséget a különböző kimenetellel végződött terhességek között.

5. A szérum szabad β -hCG szintje szintén nem alkalmas az IVF kezelések kimenetelének előrejelzésére a beültetés utáni második héten. Jóllehet a szabad β -alegység szintjében a különböző kimenetelű terhességek között a teljes β -hCG szint meghatározásának eredményével összhangban lévő különbségek tapasztalhatók, és a méréshatár fölötti értékek esetében szoros összefüggés mutatható ki a szérum szabad és teljes β -hCG szintje között, az alkalmazott módszer mellett a minták túlnyomó többségében a szabad β -alegység koncentrációja még nem éri el a kimutathatóság határát, így az eredményekből sem statisztikai, sem klinikai szempontból megalapozottnak tekinthető következtetést levonni nem lehet.

8 Összefoglalás

Az asszisztált reprodukciós eljárások útján létrejött terhességek közül lényegesen több végződik vetéléssel vagy egyéb nem kívánt módon, mint spontán fogamzás esetén. Ugyancsak gyakoribb a többes terhességek előfordulása. Érthető hát az igény, hogy az in vitro fertilizációs (IVF) kezelés során fogant terhességek várható kimenetelét minél előbb és minél megbízhatóbban lehessen előrejelezni, és amennyiben szükséges, a monitorozást, illetve a kezelést ezen információ birtokában módosítani. A koraterhességi ultrahangvizsgálat részét képezi a kezelés protokolljának, azonban a petezsák csak az ovulációindukció utáni 33–37. naptól mutatható ki, ezért számos próbálkozás történt a terhesség endokrin markerek segítségével történő korábbi kimutatására, illetve kimenetelének előrejelzésére. Ezek közül vizsgálataink során a teljes β -hCG szint koraterhességi alakulására jellemző exponenciális emelkedést leíró matematikai modell klinikai alkalmazásának lehetőségeit elemeztük, továbbá az inhibin A, a CA-125, a PAPP-A, valamint a szabad β -hCG szint meghatározásának potenciális szerepét vizsgáltuk a terhességek kimenetelének előrejelzésében. Eredményeink alapján az alábbi következtetésekre jutottunk: (1) Az előébrény-beültetés után rutinszerűen a második héten, kétnapos különbséggel levett két szérumminta teljes β -hCG szintje ismeretében számított 11. napi érték alapján a korai terhességi veszteségek és a kiviselt többes terhességek nagy pontossággal jelezhetők előre. (2) A koraterhességi inhibin A szint alapján pontosabban lehet előrejelezni a klinikai terhességeket, mint a 11. napi teljes β -hCG szintre alapozva, azonban a 12. hétnél tovább viselt terhességek és a többes terhességek előrejelzésében a hCG-szint-mérés nagyobb segítséget jelent. (3) A CA-125-szint sem a terhességek, sem azok kimenetelének előrejelzésében nem nyújt pontosabb prognózist, mint az inhibin A vagy a teljes β -hCG szint ismerete. (4) A szérum PAPP-A-szintjének meghatározása nem alkalmas az IVF kezelések kimenetelének előrejelzésére az előébrény-beültetést követő második héten. (5) A szérum szabad β -hCG szintje szintén nem alkalmas a kezelések kimenetelének előrejelzésére a preembriótranszfer utáni második héten, noha a méréshatár fölötti értékek esetében szoros összefüggés mutatható ki a szérum szabad és teljes β -hCG szintje között.

9 Summary

Pregnancies obtained after in vitro fertilization (IVF) and embryo transfer (ET) are at increased risk for an adverse outcome compared with women who conceive naturally. Multiple gestations also occur more frequently after IVF. Therefore, there is a need for markers that accurately detect the establishment of pregnancy and predict its outcome as early as possible, allowing for modification of monitoring and treatment if required. Ultrasound (US) examination is part of the routine follow-up after IVF, but a gestational sac is not reliably visible until 33–37 days after ovulation induction. As a result of the inability of US to identify very early pregnancy abnormalities, there is an ongoing effort to find endocrine markers that can earlier detect the establishment of pregnancy and forecast its outcome. We aimed to assess the predictive value of the following potential serum markers, measured in the second week after ET: total β -hCG (theoretical post-ET day 11 values, calculated from levels in two samples collected with a difference of two days, based on the mathematical model describing its exponential increase in early pregnancy), inhibin A, CA-125, PAPP-A, and free β -hCG. Based on our results, we conclude that (1) day 11 total β -hCG can be used to compare hCG levels in samples from different sampling days and to predict early pregnancy losses and multiple ongoing pregnancies with high sensitivity and specificity; (2) inhibin A concentrations are more accurate than day 11 hCG levels for predicting preclinical abortion after IVF but they have no advantage in forecasting ongoing or multiple ongoing pregnancies; (3) prognostic accuracy of CA-125 measurements for the prediction of pregnancy as well as its outcome is inferior to that achieved with inhibin A; (4) serum PAPP-A measurements on the second week after ET are not useful in predicting the outcome of IVF treatment; (5) serum free β -hCG levels on post-ET week 2 cannot be used for predicting IVF outcome because free β -subunit concentrations are below detection limit in the vast majority of samples at this time point. Nevertheless, differences in free β -hCG concentrations among pregnancies with different outcomes seem to correspond to those observed in total β -hCG levels.

1. Nyboe Andersen A, Gianaroli L, Nygren KG. Assisted reproductive technology in Europe, 2000. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2004;19:490–503.
2. Zinaman MJ, Clegg ED, Brown CC, O'Connor J, Selevan SG. Estimates of human fertility and pregnancy loss. *Fertil Steril* 1996;65:503–9.
3. Slama R, Eustache F, Ducot B, Jensen TK, Jørgensen N, Horte A *et al.* Time to pregnancy and semen parameters: a cross-sectional study among fertile couples from four European cities. *Hum Reprod* 2002;17:503–15.
4. Chard T. Frequency of implantation and early pregnancy loss in natural cycles. *Bailliere's Clin Obstet Gynaecol* 1991;5:179–89.
5. Edwards RG, Fishel SB, Cohen J, Fehilly CB, Purdy JM, Slater JM *et al.* Factors influencing the success of in vitro fertilization for alleviating human infertility. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1984;1:3–23.
6. Ben Rafael Z, Fateh M, Flickinger GL, Tureck R, Blasco L, Mastroianni L, Jr. Incidence of abortion in pregnancies after in vitro fertilization and embryo transfer. *Obstet Gynecol* 1988;71:297–300.
7. Bergh T, Ericson A, Hillensjö T, Nygren KG, Wennerholm UB. Deliveries and children born after in-vitro fertilisation in Sweden 1982–95: a retrospective cohort study. *Lancet* 1999;354:1579–85.
8. Friedman T. Infertility and assisted reproduction. *Bailliere's Clin Obstet Gynaecol* 1989;3:751–67.
9. Stray-Pedersen B, Stray-Pedersen S. Etiologic factors and subsequent reproductive performance in 195 couples with a prior history of habitual abortion. *Am J Obstet Gynecol* 1984;148:140–6.
10. Shapiro BS, Escobar M, Makuch R, Lavy G, DeCherney AH. A model-based prediction for transvaginal ultrasonographic identification of early intrauterine pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:1495–500.
11. Kauppila A, Heikinheimo M, Lohela H, Ylikorkala O. Human chorionic gonadotrophin and pregnancy-specific beta-1-glycoprotein in predicting pregnancy outcome and in association with early pregnancy vomiting. *Gynecol Obstet Invest* 1984;18:49–53.
12. Witt BR, Wolf GC, Wainwright CJ, Johnston PD, Thorneycroft IH. Relaxin, CA-125, progesterone, estradiol, Schwangerschaft protein, and human chorionic gonadotropin as predictors of outcome in threatened and nonthreatened pregnancies. *Fertil Steril* 1990;53:1029–36.
13. Hahlin M, Sjöblom P, Lindblom B. Combined use of progesterone and human chorionic gonadotropin determinations for differential diagnosis of very early pregnancy. *Fertil Steril* 1991;55:492–6.
14. Buyalos RP, Glassman LM, Rifka SM, Falk RJ, Macarthy PO, Tyson VJ *et al.* Serum beta-human chorionic gonadotropin, estradiol and progesterone as early predictors of pathologic pregnancy. *J Reprod Med* 1992;37:261–6.

15. Long CA, Whitworth NS, Murthy HM, Bacquet K, Cowan BD. First-trimester rapid semi-quantitative assay for urine pregnanediol glucuronide predicts gestational outcome with the same diagnostic accuracy as serial human chorionic gonadotropin measurements. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:1822–5.
16. Lockwood GM, Ledger WL, Barlow DH, Groome NP, Muttukrishna S. Measurement of inhibin and activin in early human pregnancy: demonstration of fetoplacental origin and role in prediction of early-pregnancy outcome. *Biol Reprod* 1997;57:1490–4.
17. Lockwood GM, Ledger WL, Barlow DH, Groome NP, Muttukrishna S. Identification of the source of inhibins at the time of conception provides a diagnostic role for them in very early pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1998;40:303–8.
18. Glinoer D, de Nayer P, Bourdoux P, Lemone M, Robyn C, van Steirteghem A *et al.* Regulation of maternal thyroid during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:276–87.
19. Landefeld TD, McWilliams DR, Boime I. The isolation of mRNA encoding the alpha subunit of human chorionic gonadotropin. *Biochem Biophys Res Commun* 1976;72:381–90.
20. Vaitukaitis JL. Changing placental concentrations of human chorionic gonadotropin and its subunits during gestation. *J Clin Endocrinol Metab* 1974;38:755–60.
21. Birken S, Maydelman Y, Gawinowicz MA, Pound A, Liu Y, Hartree AS. Isolation and characterization of human pituitary chorionic gonadotropin. *Endocrinology* 1996;137:1402–11.
22. Stenman UH, Alfthan H, Ranta T, Vartiainen E, Jalkanen J, Seppälä M. Serum levels of human chorionic gonadotropin in nonpregnant women and men are modulated by gonadotropin-releasing hormone and sex steroids. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:730–6.
23. Cole LA. Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites. *Clin Chem* 1997;43:2233–43.
24. Cole LA, Kardana A, Park SY, Braunstein GD. The deactivation of hCG by nicking and dissociation. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:704–10.
25. Birken S, Armstrong EG, Kolks MA, Cole LA, Agosto GM, Krichevsky A *et al.* Structure of the human chorionic gonadotropin beta-subunit fragment from pregnancy urine. *Endocrinology* 1988;123:572–83.
26. Braunstein GD. False-positive serum human chorionic gonadotropin results: causes, characteristics, and recognition. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:217–24.
27. Wehmann RE, Nisula BC. Metabolic and renal clearance rates of purified human chorionic gonadotropin. *J Clin Invest* 1981;68:184–94.
28. Pittaway DE, Reish RL, Wentz AC. Doubling times of human chorionic gonadotropin increase in early viable intrauterine pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1985;152:299–302.
29. Aschheim S, Zondek B. Hypophysenvorderlappenhormon und Ovarialhormon im Harn von Schwangeren. *Klin Wochenschr* 1927;6:1322.
30. Vaitukaitis JL, Braunstein GD, Ross GT. A radioimmunoassay which specifically measures human chorionic gonadotropin in the presence of human luteinizing hormone. *Am J Obstet Gynecol* 1972;113:751–8.

31. Morris NM, Udry JR. Daily immunologic pregnancy testing of initially nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 1967;98:1148–50.
32. Kadar N, DeVore G, Romero R. Discriminatory hCG zone: its use in the sonographic evaluation for ectopic pregnancy. *Obstet Gynecol* 1981;58:156–61.
33. Confino E, Demir RH, Friberg J, Gleicher N. The predictive value of hCG beta subunit levels in pregnancies achieved by in vitro fertilization and embryo transfer: an international collaborative study. *Fertil Steril* 1986;45:526–31.
34. Dor J, Rudak E, Rotmench S, Levrán D, Blankstein J, Lusky A *et al.* The role of early post-implantation beta-HCG levels in the outcome of pregnancies following in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1988;3:663–7.
35. Heiner JS, Kerin JF, Schmidt LL, Wu TC. Can a single, early quantitative human chorionic gonadotropin measurement in an in vitro fertilization–gamete intrafallopian transfer program predict pregnancy outcome? *Fertil Steril* 1992;58:373–7.
36. Fridström M, Garoff L, Sjöblom P, Hillensjö T. Human chorionic gonadotropin patterns in early pregnancy after assisted reproduction. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1995;74:534–8.
37. Glatstein IZ, Hornstein MD, Kahana MJ, Jackson KV, Friedman AJ. The predictive value of discriminatory human chorionic gonadotropin levels in the diagnosis of implantation outcome in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 1995;63:350–6.
38. Schmidt LL, Asch RH, Frederick JL, Rojas FJ, Stone SC, Balmaceda JP. The predictive value of a single beta human chorionic gonadotropin in pregnancies achieved by assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 1994;62:333–8.
39. Guth B, Hudelson J, Higbie J, Solomon B, Polley S, Thomas S *et al.* Predictive value of hCG level 14 days after embryo transfer. *J Assist Reprod Genet* 1995;12:13–4.
40. Bjercke S, Tanbo T, Dale PO, Mørkrid L, Åbyholm T. Human chorionic gonadotrophin concentrations in early pregnancy after in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1999;14:1642–6.
41. Müller F, Savey L, Le Fiblec B, Bussières L, Ndayizamba G, Colau JC *et al.* Maternal serum human chorionic gonadotropin level at fifteen weeks is a predictor for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:37–40.
42. Lambert-Messerlian GM, Silver HM, Petraglia F, Luisi S, Pezzani I, Maybruck WM *et al.* Second-trimester levels of maternal serum human chorionic gonadotropin and inhibin A as predictors of preeclampsia in the third trimester of pregnancy. *J Soc Gynecol Investig* 2000;7:170–4.
43. Macri JN, Kasturi RV, Krantz DA, Cook EJ, Moore ND, Young JA *et al.* Maternal serum Down syndrome screening: free beta-protein is a more effective marker than human chorionic gonadotropin. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:1248–53.
44. Cole LA, Kohorn EI, Kim GS. Detecting and monitoring trophoblastic disease. New perspectives on measuring human chorionic gonadotropin levels. *J Reprod Med* 1994;39:193–200.
45. Catalona WJ, Vaitukaitis JL, Fair WR. Falsely positive specific human chorionic gonadotropin assays in patients with testicular tumors: conversion to negative with testosterone administration. *J Urol* 1979;122:126–8.
46. Light PA, Felton T, Eckert H. False-positive markers in testicular tumours. *Lancet* 1982;2:1214.

47. Ribbert LS, Kornman LH, De Wolf BT, Simons AH, Jansen CA, Beekhuis JR *et al.* Maternal serum screening for fetal Down syndrome in IVF pregnancies. *Prenat Diagn* 1996;16:35–8.
48. Heinonen S, Ryyänen M, Kirkinen P, Hippelainen M, Saarikoski S. Effect of in vitro fertilization on human chorionic gonadotropin serum concentrations and Down's syndrome screening. *Fertil Steril* 1996;66:398–403.
49. Frishman GN, Canick JA, Hogan JW, Hackett RJ, Kellner LH, Saller DN, Jr. Serum triple-marker screening in in vitro fertilization and naturally conceived pregnancies. *Obstet Gynecol* 1997;90:98–101.
50. Wald NJ, White N, Morris JK, Huttly WJ, Canick JA. Serum markers for Down's syndrome in women who have had in vitro fertilisation: implications for antenatal screening. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:1304–6.
51. Maymon R, Shulman A. Comparison of triple serum screening and pregnancy outcome in oocyte donation versus IVF pregnancies. *Hum Reprod* 2001;16:691–5.
52. Lam YH, Yeung WS, Tang MH, Ng EH, So WW, Ho PC. Maternal serum alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotrophin in pregnancies conceived after intracytoplasmic sperm injection and conventional in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1999;14:2120–3.
53. Wøjdemann KR, Larsen SO, Shalmi A, Sundberg K, Christiansen M, Tabor A. First trimester screening for Down syndrome and assisted reproduction: no basis for concern. *Prenat Diagn* 2001;21:563–5.
54. Maymon R, Shulman A. Serial first- and second-trimester Down's syndrome screening tests among IVF-versus naturally-conceived singletons. *Hum Reprod* 2002;17:1081–5.
55. Orlandi F, Rossi C, Allegra A, Krantz D, Hallahan T, Orlandi E *et al.* First trimester screening with free beta-hCG, PAPP-A and nuchal translucency in pregnancies conceived with assisted reproduction. *Prenat Diagn* 2002;22:718–21.
56. Bersinger NA, Wunder D, Vanderlick F, Chanson A, Pescia G, Janecek P *et al.* Maternal serum levels of placental proteins after in vitro fertilisation and their implications for prenatal screening. *Prenat Diagn* 2004;24:471–7.
57. Unkila-Kallio L, Tiitinen A, Alfthan H, Vuorela P, Stenman U, Ylikorkala O. Effect of an in vitro fertilization program on serum CA 125, tumor-associated trypsin inhibitor, free beta-subunit of human chorionic gonadotropin, and common alpha-subunit of glycoprotein hormones. *Fertil Steril* 2000;74:1125–32.
58. Ling N, Ying SY, Ueno N, Esch F, Denoroy L, Guillemin R. Isolation and partial characterization of a Mr 32,000 protein with inhibin activity from porcine follicular fluid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82:7217–21.
59. Robertson DM, Foulds LM, Leversha L, Morgan FJ, Hearn MT, Burger HG *et al.* Isolation of inhibin from bovine follicular fluid. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;126:220–6.
60. Groome N, O'Brien M. Immunoassays for inhibin and its subunits. Further applications of the synthetic peptide approach. *J Immunol Methods* 1993;165:167–76.
61. Kingsley DM. The TGF-beta superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev* 1994;8:133–46.

62. Burger HG, Igarashi M. Inhibin: definition and nomenclature, including related substances. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66:885–6.
63. Ling N, Ying SY, Ueno N, Shimasaki S, Esch F, Hotta M *et al.* Pituitary FSH is released by a heterodimer of the beta-subunits from the two forms of inhibin. *Nature* 1986;321:779–82.
64. Vale W, Rivier J, Vaughan J, McClintock R, Corrigan A, Woo W *et al.* Purification and characterization of an FSH releasing protein from porcine ovarian follicular fluid. *Nature* 1986;321:776–9.
65. Hötten G, Neidhardt H, Schneider C, Pohl J. Cloning of a new member of the TGF-beta family: a putative new activin betaC chain. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;206:608–13.
66. Oda S, Nishimatsu S, Murakami K, Ueno N. Molecular cloning and functional analysis of a new activin beta subunit: a dorsal mesoderm-inducing activity in *Xenopus*. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;210:581–8.
67. Fang J, Yin W, Smiley E, Wang SQ, Bonadio J. Molecular cloning of the mouse activin beta E subunit gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;228:669–74.
68. Mellor SL, Cranfield M, Ries R, Pedersen J, Cancilla B, de Kretser D *et al.* Localization of activin beta(A)-, beta(B)-, and beta(C)-subunits in human prostate and evidence for formation of new activin heterodimers of beta(C)-subunit. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4851–8.
69. Mathews LS, Vale WW. Expression cloning of an activin receptor, a predicted transmembrane serine kinase. *Cell* 1991;65:973–82.
70. Mathews LS. Activin receptors and cellular signaling by the receptor serine kinase family. *Endocr Rev* 1994;15:310–25.
71. Woodruff TK, Mather JP. Inhibin, activin and the female reproductive axis. *Annu Rev Physiol* 1995;57:219–44.
72. Lewis KA, Gray PC, Blount AL, MacConell LA, Wiater E, Bilezikjian LM *et al.* Betaglycan binds inhibin and can mediate functional antagonism of activin signalling. *Nature* 2000;404:411–4.
73. Robertson DM, Klein R, de Vos FL, McLachlan RI, Wettenhall RE, Hearn MT *et al.* The isolation of polypeptides with FSH suppressing activity from bovine follicular fluid which are structurally different to inhibin. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;149:744–9.
74. Michel U, Farnworth P, Findlay JK. Follistatins: more than follicle-stimulating hormone suppressing proteins. *Mol Cell Endocrinol* 1993;91:1–11.
75. Shimonaka M, Inouye S, Shimasaki S, Ling N. Follistatin binds to both activin and inhibin through the common subunit. *Endocrinology* 1991;128:3313–5.
76. Mottram JC, Kramer W. Report on the general effects of exposure to radium on metabolism and tumour growth in the rat and special effects on testis and pituitary. *J Exp Physiol* 1923;13:209–29.
77. McCullagh EP. Dual endocrine activity in the testis. *Science* 1932;76:19–20.
78. Franchimont P, Millet D, Vendrely E, Letawe J, Legros JJ, Netter A. Relationship between spermatogenesis and serum gonadotropin levels in azoospermia and oligospermia. *J Clin Endocrinol Metab* 1972;34:1003–8.

79. Findlay JK, Drummond AE, Dyson M, Baillie AJ, Robertson DM, Ethier JF. Production and actions of inhibin and activin during folliculogenesis in the rat. *Mol Cell Endocrinol* 2001;180:139–44.
80. Corrigan AZ, Bilezikjian LM, Carroll RS, Bald LN, Schmelzer CH, Fendly BM *et al.* Evidence for an autocrine role of activin B within rat anterior pituitary cultures. *Endocrinology* 1991;128:1682–4.
81. Woodruff TK. Regulation of cellular and system function by activin. *Biochem Pharmacol* 1998;55:953–63.
82. Roberts V, Meunier H, Sawchenko PE, Vale W. Differential production and regulation of inhibin subunits in rat testicular cell types. *Endocrinology* 1989;125:2350–9.
83. Mizunuma H, Liu X, Andoh K, Abe Y, Kobayashi J, Yamada K *et al.* Activin from secondary follicles causes small preantral follicles to remain dormant at the resting stage. *Endocrinology* 1999;140:37–42.
84. Alak BM, Coskun S, Friedman CI, Kennard EA, Kim MH, Seifer DB. Activin A stimulates meiotic maturation of human oocytes and modulates granulosa cell steroidogenesis in vitro. *Fertil Steril* 1998;70:1126–30.
85. O WS, Robertson DM, de Kretser DM. Inhibin as an oocyte meiotic inhibitor. *Mol Cell Endocrinol* 1989;62:307–11.
86. Roberts VJ, Barth S, el Roeiy A, Yen SS. Expression of inhibin/activin subunits and follistatin messenger ribonucleic acids and proteins in ovarian follicles and the corpus luteum during the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1402–10.
87. Sidis Y, Fujiwara T, Leykin L, Isaacson K, Tóth T, Schneyer AL. Characterization of inhibin/activin subunit, activin receptor, and follistatin messenger ribonucleic acid in human and mouse oocytes: evidence for activin's paracrine signaling from granulosa cells to oocytes. *Biol Reprod* 1998;59:807–12.
88. Tilbrook AJ, de Kretser DM, Clarke IJ. Changes in the suppressive effects of recombinant inhibin A on FSH secretion in ram lambs during sexual maturation: evidence for alterations in the clearance rate of inhibin. *J Endocrinol* 1999;161:219–29.
89. Steinberger A, Steinberger E. Secretion of an FSH-inhibiting factor by cultured Sertoli cells. *Endocrinology* 1976;99:918–21.
90. Majdic G, McNeilly AS, Sharpe RM, Evans LR, Groome NP, Saunders PT. Testicular expression of inhibin and activin subunits and follistatin in the rat and human fetus and neonate and during postnatal development in the rat. *Endocrinology* 1997;138:2136–47.
91. Noguchi J, Hikono H, Sato S, Watanabe G, Taya K, Sasamoto S *et al.* Ontogeny of inhibin secretion in the rat testis: secretion of inhibin-related proteins from fetal Leydig cells and of bioactive inhibin from Sertoli cells. *J Endocrinol* 1997;155:27–34.
92. Matzuk MM, Finegold MJ, Su JG, Hsueh AJ, Bradley A. Alpha-inhibin is a tumour-suppressor gene with gonadal specificity in mice. *Nature* 1992;360:313–9.
93. Matzuk MM, Kumar TR, Vassalli A, Bickenbach JR, Roop DR, Jaenisch R *et al.* Functional analysis of activins during mammalian development. *Nature* 1995;374:354–6.

94. Thomas TZ, Chapman SM, Hong W, Gurusingfhe C, Mellor SL, Fletcher R *et al.* Inhibins, activins, and follistatins: expression of mRNAs and cellular localization in tissues from men with benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 1998;34:34–43.
95. Thomas TZ, Wang H, Niclasen P, O'Bryan MK, Evans LW, Groome NP *et al.* Expression and localization of activin subunits and follistatins in tissues from men with high grade prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3851–8.
96. Illingworth PJ, Groome NP, Byrd W, Rainey WE, McNeilly AS, Mather JP *et al.* Inhibin-B: a likely candidate for the physiologically important form of inhibin in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1321–5.
97. Foresta C, Bettella A, Rossato M, La Sala G, De Paoli M, Plebani M. Inhibin B plasma concentrations in oligozoospermic subjects before and after therapy with follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1999;14:906–12.
98. Risbridger GP, Schmitt JF, Robertson DM. Activins and inhibins in endocrine and other tumors. *Endocr Rev* 2001;22:836–58.
99. McLachlan RI, Robertson DM, Healy DL, Burger HG, de Kretser DM. Circulating immunoreactive inhibin levels during the normal human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;65:954–61.
100. Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Cooke I, Ganesan TS, Baird DT *et al.* Detection of dimeric inhibin throughout the human menstrual cycle by two-site enzyme immunoassay. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994;40:717–23.
101. Roseff SJ, Bangah ML, Kettel LM, Vale W, Rivier J, Burger HG *et al.* Dynamic changes in circulating inhibin levels during the luteal–follicular transition of the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;69:1033–9.
102. Illingworth PJ, Reddi K, Smith KB, Baird DT. The source of inhibin secretion during the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:667–73.
103. Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Pai R, Rodger FE, Mather JP *et al.* Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1401–5.
104. Muttukrishna S, Fowler PA, Groome NP, Mitchell GG, Robertson WR, Knight PG. Serum concentrations of dimeric inhibin during the spontaneous human menstrual cycle and after treatment with exogenous gonadotrophin. *Hum Reprod* 1994;9:1634–42.
105. Hall JE, Schoenfeld DA, Martin KA, Crowley WF, Jr. Hypothalamic gonadotropin-releasing hormone secretion and follicle-stimulating hormone dynamics during the luteal–follicular transition. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:600–7.
106. Welt CK, Martin KA, Taylor AE, Lambert-Messerlian GM, Crowley WF, Jr., Smith JA *et al.* Frequency modulation of follicle-stimulating hormone (FSH) during the luteal–follicular transition: evidence for FSH control of inhibin B in normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2645–52.
107. Welt CK, McNicholl DJ, Taylor AE, Hall JE. Female reproductive aging is marked by decreased secretion of dimeric inhibin. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:105–11.
108. Eramaa M, Tuuri T, Hilden K, Ritvos O. Regulation of inhibin alpha- and beta A-subunit messenger ribonucleic acid levels by chorionic gonadotropin and recombinant follicle-stimulating hormone in cultured human granulosa-luteal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:1670–7.

109. Chetkowski RJ, Meldrum DR, Steingold KA, Randle D, Lu JK, Eggena P *et al.* Biologic effects of transdermal estradiol. *N Engl J Med* 1986;314:1615–20.
110. Lutjen PJ, Findlay JK, Trounson AO, Leeton JF, Chan LK. Effect on plasma gonadotropins of cyclic steroid replacement in women with premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:419–23.
111. Gill S, Sharpless JL, Rado K, Hall JE. Evidence that GnRH decreases with gonadal steroid feedback but increases with age in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2290–6.
112. Gill S, Lavoie HB, Bo-Abbas Y, Hall JE. Negative feedback effects of gonadal steroids are preserved with aging in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2297–302.
113. Brown JB. Pituitary control of ovarian function – concepts derived from gonadotrophin therapy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1978;18:46–54.
114. Stouffer RL, Dahl KD, Hess DL, Woodruff TK, Mather JP, Molskness TA. Systemic and intraluteal infusion of inhibin A or activin A in rhesus monkeys during the luteal phase of the menstrual cycle. *Biol Reprod* 1994;50:888–95.
115. Fraser HM, Tsonis CG. Manipulation of inhibin during the luteal–follicular phase transition of the primate menstrual cycle fails to affect FSH secretion. *J Endocrinol* 1994;142:181–6.
116. Fraser HM, Smith KB, Lunn SF, Cowen GM, Morris K, McNeilly AS. Immunoneutralization and immunocytochemical localization of inhibin alpha subunit during the mid-luteal phase in the stump-tailed macaque. *J Endocrinol* 1992;133:341–7.
117. le Nestour E, Marraoui J, Lahlou N, Roger M, de Ziegler D, Bouchard P. Role of estradiol in the rise in follicle-stimulating hormone levels during the luteal–follicular transition. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:439–42.
118. Lahlou N, Chabbert-Buffet N, Christin-Maitre S, le Nestour E, Roger M, Bouchard P. Main inhibitor of follicle stimulating hormone in the luteal–follicular transition: inhibin A, oestradiol, or inhibin B? *Hum Reprod* 1999;14:1190–3.
119. Santoro N, Adel T, Skurnick JH. Decreased inhibin tone and increased activin A secretion characterize reproductive aging in women. *Fertil Steril* 1999;71:658–62.
120. Burger HG, Cahir N, Robertson DM, Groome NP, Dudley E, Green A *et al.* Serum inhibins A and B fall differentially as FSH rises in perimenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998;48:809–13.
121. Klein NA, Illingworth PJ, Groome NP, McNeilly AS, Battaglia DE, Soules MR. Decreased inhibin B secretion is associated with the monotropic FSH rise in older, ovulatory women: a study of serum and follicular fluid levels of dimeric inhibin A and B in spontaneous menstrual cycles. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:2742–5.
122. Welt CK, Pagan YL, Smith PC, Rado KB, Hall JE. Control of follicle-stimulating hormone by estradiol and the inhibins: critical role of estradiol at the hypothalamus during the luteal–follicular transition. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:1766–71.
123. Lee SJ, Lenton EA, Sexton L, Cooke ID. The effect of age on the cyclical patterns of plasma LH, FSH, oestradiol and progesterone in women with regular menstrual cycles. *Hum Reprod* 1988;3:851–5.

124. MacNaughton J, Banah M, McCloud P, Hee J, Burger H. Age related changes in follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, oestradiol and immunoreactive inhibin in women of reproductive age. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992;36:339–45.
125. McLachlan RI, Robertson DM, Healy DL, de Kretser DM, Burger HG. Plasma inhibin levels during gonadotropin-induced ovarian hyperstimulation for IVF: a new index of follicular function? *Lancet* 1986;1:1233–4.
126. Lockwood GM, Muttukrishna S, Groome NP, Knight PG, Ledger WL. Circulating inhibins and activin A during GnRH-analogue down-regulation and ovarian hyperstimulation with recombinant FSH for in-vitro fertilization–embryo transfer. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996;45:741–8.
127. Matson PL, Morris ID, Sun JG, Ibrahim ZH, Lieberman BA. Serum inhibin as an index of ovarian function in women undergoing pituitary suppression and ovarian stimulation in an in vitro fertilization program. *Horm Res* 1991;35:173–7.
128. Lenton EA, de Kretser DM, Woodward AJ, Robertson DM. Inhibin concentrations throughout the menstrual cycles of normal, infertile, and older women compared with those during spontaneous conception cycles. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:1180–90.
129. Abe Y, Hasegawa Y, Miyamoto K, Yamaguchi M, Andoh A, Ibuki Y *et al.* High concentrations of plasma immunoreactive inhibin during normal pregnancy in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:133–7.
130. Yohkaichiya T, Polson D, O'Connor A, Bishop S, Mamers P, McLachlan V *et al.* Concentrations of immunoactive inhibin in serum during human pregnancy: evidence for an ovarian contribution. *Reprod Fertil Dev* 1991;3:671–8.
131. Muttukrishna S, George L, Fowler PA, Groome NP, Knight PG. Measurement of serum concentrations of inhibin-A (alpha–beta A dimer) during human pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995;42:391–7.
132. Illingworth PJ, Groome NP, Duncan WC, Grant V, Tovanabutra S, Baird DT *et al.* Measurement of circulating inhibin forms during the establishment of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1471–5.
133. Petraglia F, Luisi S, Benedetto C, Zonca M, Florio P, Casarosa E *et al.* Changes of dimeric inhibin B levels in maternal serum throughout healthy gestation and in women with gestational diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2991–5.
134. Fowler PA, Evans LW, Groome NP, Templeton A, Knight PG. A longitudinal study of maternal serum inhibin-A, inhibin-B, activin-A, activin-AB, pro-alphaC and follistatin during pregnancy. *Hum Reprod* 1998;13:3530–6.
135. Yamoto M, Minami S, Nakano R. Immunohistochemical localization of inhibin subunits in human corpora lutea during menstrual cycle and pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:470–7.
136. Petraglia F, Garuti GC, Calza L, Roberts V, Giardino L, Genazzani AR *et al.* Inhibin subunits in human placenta: localization and messenger ribonucleic acid levels during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:750–8.
137. Rombauts L, Verhoeven G, Meuleman C, Koninckx PR, Poncelet E, Franchimont P. Dimeric inhibin A and alpha-subunit immunoreactive material in maternal serum during spontaneous and in vitro fertilization pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:985–9.

138. Meunier H, Rivier C, Evans RM, Vale W. Gonadal and extragonadal expression of inhibin alpha, beta A, and beta B subunits in various tissues predicts diverse functions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:247–51.
139. Baird DT, Smith KB. Inhibin and related peptides in the regulation of reproduction. *Oxf Rev Reprod Biol* 1993;15:191–232.
140. Minami S, Yamoto M, Nakano R. Immunohistochemical localization of inhibin/activin subunits in human placenta. *Obstet Gynecol* 1992;80:410–4.
141. Muttukrishna S, Fowler PA, George L, Groome NP, Knight PG. Changes in peripheral serum levels of total activin A during the human menstrual cycle and pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3328–34.
142. McLachlan RI, Healy DL, Robertson DM, Burger HG, de Kretser DM. Circulating immunoreactive inhibin in the luteal phase and early gestation of women undergoing ovulation induction. *Fertil Steril* 1987;48:1001–5.
143. Birdsall M, Ledger W, Groome N, Abdalla H, Muttukrishna S. Inhibin A and activin A in the first trimester of human pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1557–60.
144. McLachlan RI, Healy DL, Robertson DM, Burger HG, de Kretser DM. The human placenta: a novel source of inhibin. *Biochem Biophys Res Commun* 1986;140:485–90.
145. Riley SC, Wathen NC, Chard T, Groome NP, Wallace EM. Inhibin in extra-embryonic coelomic and amniotic fluids and maternal serum in early pregnancy. *Hum Reprod* 1996;11:2772–6.
146. Illingworth PJ, Reddi K, Smith K, Baird DT. Pharmacological 'rescue' of the corpus luteum results in increased inhibin production. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1990;33:323–32.
147. Petraglia F, Sawchenko P, Lim AT, Rivier J, Vale W. Localization, secretion, and action of inhibin in human placenta. *Science* 1987;237:187–9.
148. Petraglia F, Vaughan J, Vale W. Inhibin and activin modulate the release of gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone from cultured human placental cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86:5114–7.
149. Ledger WL. Measurement of inhibin A and activin A in pregnancy – possible diagnostic applications. *Mol Cell Endocrinol* 2001;180:117–21.
150. Harkness LM, Baird DT. Morphological and molecular characteristics of living human fetuses between Carnegie stages 7 and 23: immunolocalization of inhibin alpha and beta a subunits. *Hum Reprod Update* 1997;3:35–57.
151. Harkness LM, Baird DT. Morphological and molecular characteristics of living human fetuses between Carnegie stages 7 and 23: localization of inhibin mRNA alpha and beta a subunits by in-situ hybridization. *Hum Reprod Update* 1997;3:59–92.
152. Seifer DB, Gardiner AC, Lambert-Messerlian G, Schneyer AL. Differential secretion of dimeric inhibin in cultured luteinized granulosa cells as a function of ovarian reserve. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:736–9.
153. Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril* 1997;67:110–4.

154. Balasch J, Creus M, Fábregues F, Carmona F, Casamitjana R, Ascaso C *et al.* Inhibin, follicle-stimulating hormone, and age as predictors of ovarian response in in vitro fertilization cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist–gonadotropin treatment. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1226–30.
155. Hall JE, Welt CK, Cramer DW. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. *Hum Reprod* 1999;14:409–15.
156. Creus M, Peñarrubia J, Fábregues F, Vidal E, Carmona F, Casamitjana R *et al.* Day 3 serum inhibin B and FSH and age as predictors of assisted reproduction treatment outcome. *Hum Reprod* 2000;15:2341–6.
157. Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2002;77:328–36.
158. Seifer DB, Scott RT, Jr., Bergh PA, Abrogast LK, Friedman CI, Mack CK *et al.* Women with declining ovarian reserve may demonstrate a decrease in day 3 serum inhibin B before a rise in day 3 follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril* 1999;72:63–5.
159. Peñarrubia J, Balasch J, Fábregues F, Carmona F, Casamitjana R, Moreno V *et al.* Day 5 inhibin B serum concentrations as predictors of assisted reproductive technology outcome in cycles stimulated with gonadotrophin-releasing hormone agonist–gonadotrophin treatment. *Hum Reprod* 2000;15:1499–504.
160. Farhi J, Homburg R, Ferber A, Orvieto R, Ben Rafael Z. Non-response to ovarian stimulation in normogonadotrophic, normogonadal women: a clinical sign of impending onset of ovarian failure pre-empting the rise in basal follicle stimulating hormone levels. *Hum Reprod* 1997;12:241–3.
161. Hughes EG, Robertson DM, Handelsman DJ, Hayward S, Healy DL, de Kretser DM. Inhibin and estradiol responses to ovarian hyperstimulation: effects of age and predictive value for in vitro fertilization outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:358–64.
162. Urbancsek J, Rabe T, Grunwald K, Kiesel L, Klinga K, Papp Z *et al.* Serum inhibin levels in gonadotrophin stimulated in-vitro fertilization/gamete intra-fallopian transfer cycles. *Hum Reprod* 1992;7:1195–200.
163. Fried G, Remaeus K, Harlin J, Krog E, Csemiczky G, Aanesen A *et al.* Inhibin B predicts oocyte number and the ratio IGF-I/IGFBP-I may indicate oocyte quality during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet* 2003;20:167–76.
164. Treetampinich C, O'Connor AE, MacLachlan V, Groome NP, de Kretser DM. Maternal serum inhibin A concentrations in early pregnancy after IVF and embryo transfer reflect the corpus luteum contribution and pregnancy outcome. *Hum Reprod* 2000;15:2028–32.
165. Wallace EM, Grant VE, Swanston IA, Groome NP. Evaluation of maternal serum dimeric inhibin A as a first-trimester marker of Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1995;15:359–62.
166. Wallace EM, Crossley JA, Groome NP, Aitken DA. Amniotic fluid inhibin-A in chromosomally normal and Down's syndrome pregnancies. *J Endocrinol* 1997;152:109–12.
167. Wallace EM, Crossley JA, Riley SC, Balfour C, Groome NP, Aitken DA. Inhibin-B and pro-alphaC-containing inhibins in amniotic fluid from chromosomally normal and Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 1998;18:213–7.

168. Lambert-Messerlian GM, Luisi S, Florio P, Mazza V, Canick JA, Petraglia F. Second trimester levels of maternal serum total activin A and placental inhibin/activin alpha and betaA subunit messenger ribonucleic acids in Down syndrome pregnancy. *Eur J Endocrinol* 1998;138:425–9.
169. Wenstrom KD, Owen J, Chu D, Boots L. Prospective evaluation of free beta-subunit of human chorionic gonadotropin and dimeric inhibin A for aneuploidy detection. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:887–92.
170. Muttukrishna S, Knight PG, Groome NP, Redman CW, Ledger WL. Activin A and inhibin A as possible endocrine markers for pre-eclampsia. *Lancet* 1997;349:1285–8.
171. Cuckle H, Sehmi I, Jones R. Maternal serum inhibin A can predict pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:1101–3.
172. Aquilina J, Barnett A, Thompson O, Harrington K. Second-trimester maternal serum inhibin A concentration as an early marker for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:131–6.
173. Petraglia F, De Vita D, Gallinelli A, Aguzzoli L, Genazzani AR, Romero R *et al.* Abnormal concentration of maternal serum activin-A in gestational diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:558–61.
174. Silver HM, Lambert-Messerlian GM, Star JA, Hogan J, Canick JA. Comparison of maternal serum total activin A and inhibin A in normal, preeclamptic, and nonproteinuric gestationally hypertensive pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:1131–7.
175. Muttukrishna S, North RA, Morris J, Schellenberg JC, Taylor RS, Asselin J *et al.* Serum inhibin A and activin A are elevated prior to the onset of pre-eclampsia. *Hum Reprod* 2000;15:1640–5.
176. Robertson DM, Cahir N, Burger HG, Mamers P, Groome N. Inhibin forms in serum from postmenopausal women with ovarian cancers. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;50:381–6.
177. Paulson RJ, Sauer MV, Lobo RA. Factors affecting embryo implantation after human in vitro fertilization: a hypothesis. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:2020–3.
178. Munné S, Alikani M, Tomkin G, Grifo J, Cohen J. Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril* 1995;64:382–91.
179. Cross JC, Werb Z, Fisher SJ. Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle. *Science* 1994;266:1508–18.
180. Giess R, Tanasescu I, Steck T, Sendtner M. Leukaemia inhibitory factor gene mutations in infertile women. *Mol Hum Reprod* 1999;5:581–6.
181. DeLoia JA, Krasnow JS, Brekosky J, Babaknia A, Julian J, Carson DD. Regional specialization of the cell membrane-associated, polymorphic mucin (MUC1) in human uterine epithelia. *Hum Reprod* 1998;13:2902–9.
182. Horne AW, White JO, Margara RA, Williams R, Winston RM, Lalani E. MUC 1: a genetic susceptibility to infertility? *Lancet* 2001;357:1336–7.
183. Aplin JD, Spanswick C, Behzad F, Kimber SJ, Vicovac L. Integrins beta 5, beta 3 and alpha v are apically distributed in endometrial epithelium. *Mol Hum Reprod* 1996;2:527–34.
184. Brooks PC, Stromblad S, Sanders LC, von Schalscha TL, Aimes RT, Stetler-Stevenson WG *et al.* Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin alpha v beta 3. *Cell* 1996;85:683–93.

185. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, Schinnar R, Bilker W *et al.* Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:643–9.
186. Lessey BA, Yeh I, Castelbaum AJ, Fritz MA, Ilesanmi AO, Korzeniowski P *et al.* Endometrial progesterone receptors and markers of uterine receptivity in the window of implantation. *Fertil Steril* 1996;65:477–83.
187. Meyer WR, Castelbaum AJ, Somkuti S, Sagoskin AW, Doyle M, Harris JE *et al.* Hydrosalpinges adversely affect markers of endometrial receptivity. *Hum Reprod* 1997;12:1393–8.
188. Strandell A, Lindhard A, Waldenström U, Thorburn J, Janson PO, Hamberger L. Hydrosalpinx and IVF outcome: a prospective, randomized multicentre trial in Scandinavia on salpingectomy prior to IVF. *Hum Reprod* 1999;14:2762–9.
189. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Sun J. Integrins as markers of uterine receptivity in women with primary unexplained infertility. *Fertil Steril* 1995;63:535–42.
190. Saito S, Saito M, Enomoto M, Ito A, Motoyoshi K, Nakagawa T *et al.* Human macrophage colony-stimulating factor induces the differentiation of trophoblast. *Growth Factors* 1993;9:11–9.
191. Kauma SW, Aukerman SL, Eierman D, Turner T. Colony-stimulating factor-1 and c-fms expression in human endometrial tissues and placenta during the menstrual cycle and early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:746–51.
192. Shinetugs B, Runesson E, Bonello NP, Brännström M, Norman RJ. Colony stimulating factor-1 concentrations in blood and follicular fluid during the human menstrual cycle and ovarian stimulation: possible role in the ovulatory process. *Hum Reprod* 1999;14:1302–6.
193. Katano K, Matsumoto Y, Ogasawara M, Aoyama T, Ozaki Y, Kajiura S *et al.* Low serum M-CSF levels are associated with unexplained recurrent abortion. *Am J Reprod Immunol* 1997;38:1–5.
194. Almagor M, Hazav A, Yaffe H. The levels of C-reactive protein in women treated by IVF. *Hum Reprod* 2004;19:104–6.
195. Okamoto N, Uchida A, Takakura K, Kariya Y, Kanzaki H, Riittinen L *et al.* Suppression by human placental protein 14 of natural killer cell activity. *Am J Reprod Immunol* 1991;26:137–42.
196. Seppälä M, Koistinen H, Koistinen R. Glycodelins. *Trends Endocrinol Metab* 2001;12:111–7.
197. Westergaard LG, Wiberg N, Andersen CY, Laursen SB, Kliem A, Westergaard JG *et al.* Circulating concentrations of placenta protein 14 during the natural menstrual cycle in women significantly reflect endometrial receptivity to implantation and pregnancy during successive assisted reproduction cycles. *Hum Reprod* 1998;13:2612–9.
198. Mackenna A, Li TC, Dalton C, Bolton A, Cooke I. Placental protein 14 levels in uterine flushing and plasma of women with unexplained infertility. *Fertil Steril* 1993;59:577–82.
199. Westergaard LG, Yding AC, Erb K, Laursen SB, Rasmussen PE, Rex S *et al.* Placental protein 14 concentrations in circulation related to hormonal parameters and reproductive outcome in women undergoing IVF/ICSI. *Reprod Biomed Online* 2004;8:91–8.
200. Chryssikopoulos A, Mantzavinos T, Kanakas N, Karagouni E, Dotsika E, Zourlas PA. Correlation of serum and follicular fluid concentrations of placental protein 14 and CA-125 in in vitro fertilization–embryo transfer patients. *Fertil Steril* 1996;66:599–603.

201. Li TC, Dalton C, Bolton AE, Ling E, Warren A, Cooke ID. An analysis of the variation of plasma concentrations of placental protein 14 in artificial cycles. *Fertil Steril* 1992;57:776–82.
202. Kenemans P, Yedema CA, Hilgers JH, Massuger LF, Verheijen RH, Thomas CM *et al.* Clinical applications of monoclonal antibodies against ovarian cancer-associated antigens. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1988;29:207–18.
203. Bast RC, Jr., Knapp RC. Use of the CA 125 antigen in diagnosis and monitoring of ovarian carcinoma. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1985;19:354–6.
204. Barbieri RL, Niloff JM, Bast RC, Jr., Scaetzl E, Kistner RW, Knapp RC. Elevated serum concentrations of CA-125 in patients with advanced endometriosis. *Fertil Steril* 1986;45:630–4.
205. Halila H, Stenman UH, Seppälä M. Ovarian cancer antigen CA 125 levels in pelvic inflammatory disease and pregnancy. *Cancer* 1986;57:1327–9.
206. Niloff JM, Knapp RC, Schaetzl E, Reynolds C, Bast RC, Jr. CA125 antigen levels in obstetric and gynecologic patients. *Obstet Gynecol* 1984;64:703–7.
207. Jäger W, Diedrich K, Wildt L. Elevated levels of CA-125 in serum of patients suffering from ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1987;48:675–8.
208. Quirk JG, Jr., Brunson GL, Long CA, Bannon GA, Sanders MM, O'Brien TJ. CA 125 in tissues and amniotic fluid during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988;159:644–9.
209. Mylonas I, Makovitzky J, Richter DU, Jeschke U, Briese V, Friese K. Immunohistochemical expression of the tumour marker CA-125 in normal, hyperplastic and malignant endometrial tissue. *Anticancer Res* 2003;23:1075–80.
210. Zeimet AG, Müller-Holzner E, Marth C, Daxenbichler G, Dapunt O. Tumor marker CA-125 in tissues of the female reproductive tract and in serum during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril* 1993;59:1028–35.
211. Mastropaolo W, Fernandez Z, Miller EL. Pronounced increases in the concentration of an ovarian tumor marker, CA-125, in serum of a healthy subject during menstruation. *Clin Chem* 1986;32:2110–1.
212. Bon GG, Kenemans P, Dekker JJ, Hompes PG, Verstraeten RA, van Kamp GJ *et al.* Fluctuations in CA 125 and CA 15-3 serum concentrations during spontaneous ovulatory cycles. *Hum Reprod* 1999;14:566–70.
213. Pittaway DE, Fayez JA. Serum CA-125 antigen levels increase during menses. *Am J Obstet Gynecol* 1987;156:75–6.
214. Hompes PG, Koninckx PR, Kennedy S, van Kamp GF, Verstraeten RA, Cornillie F. Serum CA-125 concentrations during midfollicular phase, a clinically useful and reproducible marker in diagnosis of advanced endometriosis. *Clin Chem* 1996;42:1871–4.
215. Abrão MS, Podgaec S, Filho BM, Ramos LO, Pinotti JA, de Oliveira RM. The use of biochemical markers in the diagnosis of pelvic endometriosis. *Hum Reprod* 1997;12:2523–7.
216. Westhoff C, Gollub E, Patel J, Rivera H, Bast R, Jr. CA 125 levels in menopausal women. *Obstet Gynecol* 1990;76:428–31.
217. Grover S, Koh H, Weideman P, Quinn MA. The effect of the menstrual cycle on serum CA 125 levels: a population study. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:1379–81.

218. Ng EH, Laird SM, Li TC, Yeung WS, Ho PC. Concentrations of endometrial protein PP 14 and CA-125 in uterine flushings performed in natural and stimulated cycles. *Hum Reprod* 2004;19:905–10.
219. Lanzone A, Fulghesu AM, Guida C, Muscatello R, Caruso A, Mancuso S. Serum CA-125 levels do not depend on ovarian steroidogenesis. *Fertil Steril* 1990;54:415–8.
220. Zweers A, De Boever J, Serreyn R, Vandekerckhove D. Correlation between peripheral CA-125 levels and ovarian activity. *Fertil Steril* 1990;54:409–14.
221. Baalbergen A, Janssen JW, van der Weiden RM. CA-125 levels are related to the likelihood of pregnancy after in vitro fertilization and embryo transfer. *Am J Reprod Immunol* 2000;43:21–4.
222. Vujisić S, Kupešić S, Mihaljević D, Akšamija A, Kurjak A. Evaluation of serum CA 125 concentration before and during hormonal induced cycles as predictor of IVF/ET outcome. *Am J Reprod Immunol* 2002;48:355–60.
223. Miller KA, Deaton JL, Pittaway DE. Evaluation of serum CA 125 concentrations as predictors of pregnancy with human in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1996;65:1184–9.
224. Noci I, Maggi M, Biagiotti R, D'Agata A, Criscuoli L, Marchionni M. Serum CA-125 values on the day of oocyte retrieval are not predictive of subsequent pregnancy with in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1999;14:1773–6.
225. O'Brien TJ, Hardin JW, Bannon GA, Norris JS, Quirk JG, Jr. CA 125 antigen in human amniotic fluid and fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1986;155:50–5.
226. Öger F, Beşe T, Sarıdoğan E, Aydınlı K, Atasü T. The prognostic significance of maternal serum CA125 measurement in threatened abortion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1992;46:137–42.
227. Schmidt T, Rein DT, Foth D, Eibach HW, Kurbacher CM, Mallmann P *et al.* Prognostic value of repeated serum CA 125 measurements in first trimester pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;97:168–73.
228. Kabawat SE, Bast RC, Jr., Bhan AK, Welch WR, Knapp RC, Colvin RB. Tissue distribution of a coelomic-epithelium-related antigen recognized by the monoclonal antibody OC125. *Int J Gynecol Pathol* 1983;2:275–85.
229. Brumsted JR, Nakajima ST, Badger G, Riddick DH, Gibson M. Serum concentration of CA-125 during the first trimester of normal and abnormal pregnancies. *J Reprod Med* 1990;35:499–502.
230. Lin TM, Galbert SP, Kiefer D, Spellacy WN, Gall S. Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. *Am J Obstet Gynecol* 1974;118:223–36.
231. Bischof P. Purification and characterization of pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A). *Arch Gynecol* 1979;227:315–26.
232. Sjöberg J, Wahlström T, Seppälä M. Pregnancy-associated plasma protein A in the human endometrium is dependent on the effect of progesterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58:359–62.
233. Schindler AM, Bischof P. Histochemical localization of pregnancy-associated plasma protein A in fetal, infant, and adult organs and comparison between antisera. *Gynecol Obstet Invest* 1984;18:88–94.

234. Schindler AM, Dayer A, Bischof P. Immunohistochemical localization of pregnancy-associated plasma protein-A in the male genital tract. *Hum Reprod* 1986;1:55–9.
235. Popken-Harris P, Checkel J, Loegering D, Madden B, Springett M, Kephart G *et al.* Regulation and processing of a precursor form of eosinophil granule major basic protein (ProMBP) in differentiating eosinophils. *Blood* 1998;92:623–31.
236. Overgaard MT, Oxvig C, Christiansen M, Lawrence JB, Conover CA, Gleich GJ *et al.* Messenger ribonucleic acid levels of pregnancy-associated plasma protein-A and the proform of eosinophil major basic protein: expression in human reproductive and nonreproductive tissues. *Biol Reprod* 1999;61:1083–9.
237. Sørensen S, Mømsen G, Ruge S, Pedersen JF. Differential increase in the maternal serum concentrations of the placental proteins human chorionic gonadotrophin, pregnancy-specific beta 1-glycoprotein, human placental lactogen and pregnancy-associated plasma protein-A during the first half of normal pregnancy, elucidated by means of a mathematical model. *Hum Reprod* 1995;10:453–8.
238. Barnea ER, Sanyal MK, Brami C, Bischof P. In vitro production of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) by trophoblastic cells. *Arch Gynecol* 1986;237:187–90.
239. Giudice LC, Conover CA, Bale L, Faessen GH, Ilg K, Sun I *et al.* Identification and regulation of the IGFBP-4 protease and its physiological inhibitor in human trophoblasts and endometrial stroma: evidence for paracrine regulation of IGF-II bioavailability in the placental bed during human implantation. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2359–66.
240. Bonno M, Oxvig C, Kephart GM, Wagner JM, Kristensen T, Sottrup-Jensen L *et al.* Localization of pregnancy-associated plasma protein-A and colocalization of pregnancy-associated plasma protein-A messenger ribonucleic acid and eosinophil granule major basic protein messenger ribonucleic acid in placenta. *Lab Invest* 1994;71:560–6.
241. Guibourdenche J, Frenco JL, Pidoux G, Bertin G, Luton D, Müller F *et al.* Expression of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) during human villous trophoblast differentiation in vitro. *Placenta* 2003;24:532–9.
242. Hourvitz A, Widger AE, Filho FL, Chang RJ, Adashi EY, Erickson GF. Pregnancy-associated plasma protein-A gene expression in human ovaries is restricted to healthy follicles and corpora lutea. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4916–20.
243. Rhoton-Vlasak A, Gleich GJ, Bischof P, Chegini N. Localization and cellular distribution of pregnancy-associated plasma protein-A and major basic protein in human ovary and corpora lutea throughout the menstrual cycle. *Fertil Steril* 2003;79:1149–53.
244. Lawrence JB, Oxvig C, Overgaard MT, Sottrup-Jensen L, Gleich GJ, Hays LG *et al.* The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy-associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:3149–53.
245. Overgaard MT, Haaning J, Boldt HB, Olsen IM, Laursen LS, Christiansen M *et al.* Expression of recombinant human pregnancy-associated plasma protein-A and identification of the proform of eosinophil major basic protein as its physiological inhibitor. *J Biol Chem* 2000;275:31128–33.
246. Clemmons DR. Role of insulin-like growth factor binding proteins in controlling IGF actions. *Mol Cell Endocrinol* 1998;140:19–24.
247. Conover CA, Faessen GF, Ilg KE, Chandrasekher YA, Christiansen M, Overgaard MT *et al.* Pregnancy-associated plasma protein-A is the insulin-like growth factor binding protein-4

- protease secreted by human ovarian granulosa cells and is a marker of dominant follicle selection and the corpus luteum. *Endocrinology* 2001;142:2155.
248. van Kleffens M, Groffen C, Lindenberg-Kortleve DJ, van Neck JW, Gonzalez-Parra S, Dits N *et al.* The IGF system during fetal-placental development of the mouse. *Mol Cell Endocrinol* 1998;140:129–35.
249. Kniss DA, Shubert PJ, Zimmerman PD, Landon MB, Gabbe SG. Insulin-like growth factors. Their regulation of glucose and amino acid transport in placental trophoblasts isolated from first-trimester chorionic villi. *J Reprod Med* 1994;39:249–56.
250. Irwin JC, Suen LF, Martina NA, Mark SP, Giudice LC. Role of the IGF system in trophoblast invasion and pre-eclampsia. *Hum Reprod* 1999;14 Suppl 2:90–6.
251. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Williams J, Miller WA, Johnson A. Screening of maternal serum for fetal Down's syndrome in the first trimester. *N Engl J Med* 1998;338:955–61.
252. De Biasio P, Siccardi M, Volpe G, Famularo L, Santi F, Canini S. First-trimester screening for Down syndrome using nuchal translucency measurement with free beta-hCG and PAPP-A between 10 and 13 weeks of pregnancy – the combined test. *Prenat Diagn* 1999;19:360–3.
253. de Graaf IM, Pajkrt E, Bilardo CM, Leschot NJ, Cuckle HS, van Lith JMM. Early pregnancy screening for fetal aneuploidy with serum markers and nuchal translucency. *Prenat Diagn* 1999;19:458–62.
254. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10–14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13:231–7.
255. Brambati B, Macintosh MC, Teisner B, Maguiness S, Shrimanker K, Lanzani A *et al.* Low maternal serum levels of pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) in the first trimester in association with abnormal fetal karyotype. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:324–6.
256. Ochshorn Y, Kupferminc MJ, Wolman I, Orr-Urtreger A, Jaffa AJ, Yaron Y. First trimester PAPP-A in the detection of non-Down syndrome aneuploidy. *Prenat Diagn* 2001;21:547–9.
257. Aitken DA, Ireland M, Berry E, Crossley JA, Macri JN, Burn J *et al.* Second-trimester pregnancy associated plasma protein-A levels are reduced in Cornelia de Lange syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 1999;19:706–10.
258. Hughes G, Bischof P, Wilson G, Klopper A. Assay of a placental protein to determine fetal risk. *Br Med J* 1980;280:671–3.
259. Ong CY, Liao AW, Spencer K, Munim S, Nicolaides KH. First trimester maternal serum free beta human chorionic gonadotrophin and pregnancy associated plasma protein A as predictors of pregnancy complications. *BJOG* 2000;107:1265–70.
260. Yaron Y, Heifetz S, Ochshorn Y, Lehavi O, Orr-Urtreger A. Decreased first trimester PAPP-A is a predictor of adverse pregnancy outcome. *Prenat Diagn* 2002;22:778–82.
261. Smith GC, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein a and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1762–7.

262. Wallace EM, Crossley JA, Ritoe SC, Aitken DA, Spencer K, Groome NP. Evolution of an inhibin A ELISA method: implications for Down's syndrome screening. *Ann Clin Biochem* 1998;35(Pt 5):656–64.
263. Storrington PL, Gaines-Das RE, Bangham DR. International Reference Preparation of Human Chorionic Gonadotrophin for Immunoassay: potency estimates in various bioassay and protein binding assay systems; and International Reference Preparations of the alpha and beta subunits of human chorionic gonadotrophin for immunoassay. *J Endocrinol* 1980;84:295–310.
264. Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem* 1993;39:561–77.
265. Hanley JA, McNeil BJ. A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology* 1983;148:839–43.
266. Pittaway DE, Fayed JA. The use of CA-125 in the diagnosis and management of endometriosis. *Fertil Steril* 1986;46:790–5.
267. Chard T. Pregnancy tests: a review. *Hum Reprod* 1992;7:701–10.
268. Poikkeus P, Hiilesmaa V, Tiitinen A. Serum HCG 12 days after embryo transfer in predicting pregnancy outcome. *Hum Reprod* 2002;17:1901–5.
269. Sugantha SE, Webster S, Sundar E, Lenton EA. Predictive value of plasma human chorionic gonadotrophin following assisted conception treatment. *Hum Reprod* 2000;15:469–73.
270. Legro RS, Paulson RJ, Lobo RA, Sauer MV. Association of early beta-human chorionic gonadotrophin values with pregnancy wastage and multiple implantation in a donor oocyte programme. *Hum Reprod* 1995;10:3293–6.
271. Dubuisson JB, Aubriot FX, Mathieu L, Foulot H, Mandelbrot L, de Jolière JB. Risk factors for ectopic pregnancy in 556 pregnancies after in vitro fertilization: implications for preventive management. *Fertil Steril* 1991;56:686–90.
272. Strandell A, Thorburn J, Hamberger L. Risk factors for ectopic pregnancy in assisted reproduction. *Fertil Steril* 1999;71:282–6.
273. Mol BW, van d, V, Hajenius PJ, Engelsbel S, Ankum WM, Hogerzeil HV *et al.* Diagnosis of ectopic pregnancy after in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1997;68:1027–32.
274. Mock P, Bischof P, Rivest R, Campana A, Chardonens D. Modulation of human chorionic gonadotrophin bioactivity during the first trimester of pregnancy. *Hum Reprod* 1998;13:2629–32.
275. Muttukrishna S, Child TJ, Groome NP, Ledger WL. Source of circulating levels of inhibin A, pro alpha C-containing inhibins and activin A in early pregnancy. *Hum Reprod* 1997;12:1089–93.
276. Predanic M. Differentiating tubal abortion from viable ectopic pregnancy with serum CA-125 and beta-human chorionic gonadotropin determinations. *Fertil Steril* 2000;73:522–5.
277. Jäger W, Meier C, Wildt L, Sauerbrei W, Lang N. CA-125 serum concentrations during the menstrual cycle. *Fertil Steril* 1988;50:223–7.
278. Abaè M, Gibson M, Chapisit J, Riddick DH, Brumsted JR. CA-125 levels in human uterine fluid. *Fertil Steril* 1992;57:531–4.
279. Tavmergen E, Sendag F, Goker EN, Levi R. Value of serum CA-125 concentrations as predictors of pregnancy in assisted reproduction cycles. *Hum Reprod* 2001;16:1129–34.

280. Ozaksit G, Turhan NO, Oral H, Dogu N, Gokmen O. Relationship between serum CA 125 levels, endometrial thickness and corpus luteum function in different stages of ovarian activity. *J Endocrinol Invest* 1993;16:175–9.
281. Wilke G, Hinney B, Rath W, Henze C, Wuttke W, Kuhn W. [CA-125 serum level in early pregnancy follow hMG/hCG stimulated and unstimulated cycles]. *Geburtsilfe Frauenbeilkd* 1990;50:941–6.
282. Barbati A, Anceschi MM, Alberti P, Pomili G, Di Renzo GC, Cosmi EV. Ontogeny of CA 125 antigen in pregnancy: immunoradiometric determination in amniotic fluid and immunohistochemical localization in fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160:514–7.
283. Sinosich MJ, Teisner B, Folkersen J, Saunders DM, Grudzinskas JG. Radioimmunoassay for pregnancy-associated plasma protein A. *Clin Chem* 1982;28:50–3.
284. Bar-Hava I, Yitzhak M, Krissi H, Shohat M, Shalev J, Czitron B *et al.* Triple-test screening in in vitro fertilization pregnancies. *J Assist Reprod Genet* 2001;18:226–9.
285. Rätty R, Virtanen A, Koskinen P, Laitinen P, Forsström J, Salonen R *et al.* Maternal mid-trimester serum AFP and free beta-hCG levels in in vitro fertilization twin pregnancies. *Prenat Diagn* 2000;20:221–3.
286. Liao AW, Heath V, Kametas N, Spencer K, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomy 21 in singleton pregnancies achieved by assisted reproduction. *Hum Reprod* 2001;16:1501–4.
287. Korhonen J, Alfthan H, Ylostalo P, Veldhuis J, Stenman UH. Disappearance of human chorionic gonadotropin and its alpha- and beta-subunits after term pregnancy. *Clin Chem* 1997;43:2155–63.

II A doktori értekezés alapjául szolgáló saját közlemények jegyzéke

II.1 A doktori értekezés témájával kapcsolatos közlemények

- I. Urbancsek J, Hauzman E, Fedorcsák P, Halmos A, Dévényi N, Papp Z. Serum human chorionic gonadotropin measurements may predict pregnancy outcome and multiple gestation after in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 2002;78:540–2.
IF: 3,202
- II. Hauzman E, Fedorcsák P, Klinga K, Papp Z, Rabe T, Strowitzki T, Urbancsek J. Use of serum inhibin A and human chorionic gonadotropin measurements to predict the outcome of in vitro fertilization pregnancies. *Fertility and Sterility* 2004;81:66–72.
IF: 3,483
- III. Urbancsek J, Hauzman E, Lagarde AR, Osztoivits J, Papp Z, Strowitzki T. Serum CA-125 levels in the second week after embryo transfer predict clinical pregnancy. *Fertility and Sterility* 2005;83:1414–21.
IF: 3,483
- IV. Hauzman E, Lagarde AR, Fancsovits P, Murber Á, Jánoki Gy, Papp Z, Urbancsek J. Prognostic value of serum CA-125 measurements on stimulation day 1 and on the day of oocyte pickup in the prediction of IVF treatment outcome. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2005;22:265–8.
IF: 0,735

I I.2 *A doktori értekezés témájával kapcsolatos, nemzetközi folyóiratban megjelent idézhető absztraktok*

Hauzman E, Fedorcsák P, Halmos A, Vass Z, Dévényi N, Papp Z, Urbancsek J. hCG concentrations may predict pregnancy outcome after IVF. *Human Reproduction* 2000;15 (Abstract Book 1):150–1.

IF: 2,997

Urbancsek J, Hauzman E, Murber Á, Klinga K, Rabe T, Strowitzki T, Papp Z. Serum inhibin B levels before start of gonadotrophin treatment can predict ovarian response in combined GnRH-analogue + gonadotrophin stimulation. *Human Reproduction* 2001;16 (Abstract Book 1):149–50.

IF: 2,987

Hauzman E, Klinga K, Murber Á, Rabe T, Strowitzki T, Papp Z, Urbancsek J. Clinical significance of inhibin A measurements in early pregnancies conceived by IVF. *Human Reproduction* 2001;16 (Abstract Book 1):93–4.

IF: 2,987

Hauzman E, Urbancsek J, Klinga K, Rabe T, Murber Á, Papp Z, Strowitzki T. Prediction of multiple pregnancies with the use of early inhibin A measurements in pregnancies conceived by IVF. *Fetal Diagnosis and Therapy* 2002;17(S1):42–3.

IF: 1,053

Urbancsek J, Hauzman E, Klinga K, Rabe T, Murber Á, Papp Z, Strowitzki T. Clinical significance of early inhibin A measurements in the prediction of the outcome of IVF pregnancies. *Fetal Diagnosis and Therapy* 2002;17(S1):32–3.

IF: 1,053

Hauzman E, Urbancsek J, Klinga K, Papp Z, Strowitzki T. Is the combination of early inhibin A and hCG measurements superior to hCG assessment alone in the prediction of IVF pregnancies? *Human Reproduction* 2002;17 (Abstract Book 1):87–8.

IF: 3,253

Urbancsek J, Hauzman E, Klinga K, Rabe T, Papp Z, Strowitzki T. Inhibin A and B do not have a role in the development of polycystic ovarian syndrome. *Human Reproduction* 2002;17(Abtract Book 1):180–1.

IF: 3,253

Hauzman E, Lagarde AR, Osztoivits J, Nagy K, Jánoki Gy, Papp Z, Urbancsek J. Serum CA 125 levels in the prediction of ovarian response to gonadotrophin stimulation in IVF cycles. *Human Reproduction* 2004;19(Supplement 1):76.

IF: 3,125

Hauzman E, Lagarde AR, Osztoivits J, Nagy K, Jánoki Gy, Papp Z, Urbancsek J. Serum CA-125 levels in the second week after ET predict IVF outcome. *Human Reproduction* 2005;20(Supplement 1):17.

IF: 3,125

I I.3 *A doktori értekezés témájával kapcsolatos egyéb idézhető absztraktok*

Hauzman E, Fedorcsák P, Halmos A, Vass Z, Dévényi N, Papp Z, Urbancsek J. Role of serum hCG measurements in predicting pregnancy outcome and multiple gestation after in vitro fertilization. Abstracts of the Fourth World Conference on Early Pregnancy (2000)

Urbancsek J, Hauzman E, Klinga K, Murber Á, Rabe T, Papp Z, Strowitzki T. Measurement of serum inhibin A and B concentration of female patients of an in vitro fertilization (IVF) program. Abstracts of the 2nd German Inhibin Workshop (2001)

Hauzman E, Fedorcsák P, Halmos A, Dévényi N, Murber Á, Papp Z, Urbancsek J. A koraterhességi hCG-mérések jelentősége az in vitro fertilisatio nyomán fogant terhességek kimenetelének előrejelzésében. A Magyar Asszisztált Reprodukciós Társaság 7. Nemzeti Kongresszusának – „Az asszisztált reprodukció az új évezred hajnalán” – absztraktgyűjteménye (2001)

Urbancsek J, Hauzman E, Murber Á, Klinga K, Rabe T, Strowitzki T, Papp Z. Inhibin B during IVF – no prediction to treatment outcome. Abstract Book of the 17th World Congress on Fertility and Sterility (2001)

Urbancsek J, Hauzman E, Klinga K, Rabe T, Murber Á, Papp Z, Strowitzki T. Clinical significance of serum inhibin A and B measurement in women with premature ovarian insufficiency. Abstract Book of the 12th World Congress on In Vitro Fertilization and Molecular Reproduction (2002)

Hauzman E, Urbancsek J, Klinga K, Rabe T, Murber Á, Papp Z, Strowitzki T. Többes terhességek előrejelzése IVF kezeléseket követően végzett koraterhességi inhibin A meghatározások segítségével. *Nőgyógyászati és Szülészeti Továbbképző Szemle* 2002;4(S1):42.

Urbancsek J, Hauzman E, Klinga K, Rabe T, Murber Á, Papp Z, Strowitzki T. A koraterhességi inhibin A meghatározások jelentősége az in vitro fertilisatio nyomán fogant terhességek kimenetelének előrejezésében. *Nőgyógyászati és Szülészeti Továbbképző Szemle* 2002;4(S1):41–2.

Urbancsek J, Hauzman E, Lagarde AR, Osztoivits J, Nagy K, Jánoki Gy, Papp Z. Prognostic value of serum CA-125 measurements on stimulation day 1 and on the day of oocyte pickup in the prediction of IVF treatment outcome. Abstract Book of the 18th World Congress on Fertility and Sterility (2004)

Urbancsek J, Hauzman E, Klinga K, Rabe T, Papp Z, Strowitzki T. Bedeutung der Bestimmung der Serum-Inhibin-Konzentration bei Patientinnen eines IVF-Programmes. Abstraktbuch des 55. Kongresses der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (2004)

I I.4 *A tudományos munkásságot megalapozó egyéb közlemények*

Urbancsek J, Hauzman E. Az asszisztált reprodukció módszerei. Új trendek. *Kórház* 2000;7:20–3.

Urbancsek J, Vass Z, Fancsovits P, Hauzman E, Dévényi N, Tóthné GZs, Pohola E. Kezdeti tapasztalataink a GnRH-antagonista cetorelix in vitro fertilitásiós kezelésben való alkalmazása során. *Magyar Nőorvosok Lapja* 2000;63:357–63.

Urbancsek J, Hauzman E. A tiszta progeszteronkészítmények alkalmazása a sterilitás és infertilitás kezelésében. *Magyar Nőorvosok Lapja* 2001;64:127–35.

Kolenko VM, Uzzo RG, Dulin N, Hauzman E, Bukowski R, Finke JH. Mechanism of apoptosis induced by zinc deficiency in peripheral blood T lymphocytes. *Apoptosis* 2001;6:419–29.

IF: 0,909

Urbancsek J, Hauzman E, Fancsovits P, Murber Á, Pappné RJ, Tóthné GZs, Papp Z. A GnRH-antagonista cetorelix egyszeri és többszöri adagolási séma szerinti alkalmazásával szerzett tapasztalatok összehasonlítása in vitro fertilitásiós kezelése során. *Magyar Nőorvosok Lapja* 2002;65:147–53.

Urbancsek J, Hauzman E, Klinga K, Rabe T, Papp Z, Strowitzki T. Serum inhibin B levels at the start of ovarian stimulation and at oocyte pickup in the prediction of assisted reproduction treatment outcome. *Fertility and Sterility* 2005;83:341–8.

IF: 3,483

Hauzman E. Megtagadhatja-e az anya a császármetszést? *Nőgyógyászati és Szülészeti Továbbképző Szemle* 2005;7:68–71.

Urbancsek J, Hauzman E, Murber Á, Lagarde AR, Rabe T, Papp Z, Strowitzki T. Serum CA-125 and inhibin B in the prediction of ovarian response to gonadotropin stimulation. *Gynecological Endocrinology* 2005;21:38–44.

IF: 0,870

Köszönetnyilvánítás

E dolgozat nem jött volna létre, ha 1999 nyarán egy szempár nem tudatja mosolygásával azt, hogy Ph.D. hallgató lettem az általa vezetett klinikán. *Dr. Papp Zoltán* professzornak a klinikum és kutatás határmezsgyéjén végzett munka lehetőségének biztosításán túl azért a támogatásért is hálával tartozom, amelyről a vele való együttműködésben eltöltött évek során, utamat egyengetve mindvégig biztosított.

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, *dr. Urbancsek János* egyetemi docensnek a lankadatlan ambícióért és hitért – melyből valamennyi rám is ragadt –, amely segített abban, hogy az apró részfeladatok teljesítését is sikerként éljem meg. Hálás vagyok továbbá azért, mert az általa vezetett osztályon végzett munka során megtapasztalhattam: tartósan magas teljesítmény csak fegyelmezett munkastílus mellett, a magunkkal és kollégáinkkal szemben támasztott szigorú elvárásokat betartva születhet. A dolgozat megírásához az irányítása alatt hosszú évek alatt létrehozott szérumminta-gyűjtemény és precízen vezetett klinikai adatbázis rendelkezésemre bocsátásán túl azzal is hozzájárult, hogy gondoskodott az eredményes munkához szükséges feltételekről.

A kutatómódszertan megszerettetéséért, a statisztika rejtelmeinek felderítése kapcsán tett bizonytalan kezdeti lépéseim során nyújtott segítségért *dr. Fedorcsák Péter* barátomnak tartozom hálával, akire mindig számíthattam, ha valamely agyonbonyolított gondolatmenet érthetőségét szerettem volna ellenőrizni az utolsó előtti pillanatban (és aki sohasem tört le azzal, ha közölte olykor nyers, de mindig őszinte véleményét).

Köszönet illeti a Baross Utcai Női Klinika Asszisztált Reprodukciós Osztályának munkatársait, különösképp az Endokrinológiai Laboratórium dolgozóit, *dr. Dévényi Nóra* laborvezetőt és két odaadó kolléganőjét, *Ambrus Lajosnét* és *Pappné Rideg Juditot* a szérumminták (jég)tengerében vívott küzdelmeim során nyújtott segítségükért, valamint a PAPP-A- és szabad β -hCG-szint meghatározásában való közreműködésükért.

Ugyancsak köszönöm *dr. Halmos Amrita* és *dr. Osztoivits János* hajdani medikusok segítségét a mérendő minták kiválogatásában.

Az inhibinmeghatározások elvégzéséhez szükséges laboratóriumi ismereteket elsősorban a heidelbergi Ruprecht-Karls Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikája Nőgyógyászati Endokrinológiai Osztályának Hormonlaboratóriumában sajátítottam el, *dr. Klaus Klinga* laborvezető irányításával és készséges kolléganőinek segítségével.

Hálás lehetek *dr. Vannay Ádám* barátomnak, egykori egyetemi csoporttársamnak is, akivel annak idején hosszasan latolgattuk a „Ph.D.-zés” hasznát és értelmét, és akinek véleménye kétségtelenül szerepet játszott abban, hogy végül erre az útra adtam a fejem.

Az értekezés megírásában nem kis szerepe volt annak a sok biztatásnak, amelyet *dr. Bárd Petra* és *dr. Rátai Balázs* jogász barátaimtól kaptam, amiért ezúton is köszönetemet fejezem ki nekik. A dolgozat *Bárd Johanna* grafikusművész aranyat érő tanácsait figyelembe véve nyerte el végső formáját. A művésznővel végzett aprólékos munka a rideg tartalom összeállítása után könnyed felüdülést, a kikapcsolódás óráit jelentette számomra.

E felsorolás végén, de természetesen korántsem utolsósorban fejezem ki örök hálámat *Szüleimnek*, akik lehetővé tették számomra, hogy az egyetem elvégzését követően saját elhatározásomból a klinikai kutatásnak szenteljek néhány évet, és akik lankadatlan türelemmel, megértéssel és odaadással tettek meg mindent azért, hogy nyugodt körülmények között készíthessem el értekezésemet.