

PAPP-A (PREGNANCY ASSOCIATED PLASMA PROTEIN-A)- MARKER CHROMOZÓMOVÝCH ABNORMALÍT

Róbert Dankovčík, Peter Urdzik, Radomír Hredzák

V štúdií boli stanovené hladiny PAPP-A u 494 žien v prvom trimestri od 10+0 do 13+6 týždňa gravidity. Výsledky meraní, stanovenie hodnôt percentilov MoM, regresné štúdie a grafy mediánov umožnia širšie zavedenie PAPP-A do klinickej praxe ako nového markera chromozómových abnormalít v prvom trimestri. Pre sérové hladiny PAPP-A pri Downovom syndróme je typické, že počas prvého a na začiatku druhého trimestra sú veľmi nízke, a preto vhodné na skriningové účely. PAPP-A je doteraz jediný známy čistý placentárny produkt, ktorého hladina je pri gravidite s Downovým syndrómom znížená.

Kľúčové slová: PAPP-A, prenatalný skrining, Downov syndróm

PAPP-A (PREGNANCY ASSOCIATED PLASMA PROTEIN-A) MARKER OF CHROMOSOMAL ABNORMALITIES

The study involved 494 women in the 1st trimester from 10+0 - 13+6 weeks of pregnancy in which the levels of PAPP-A were determined. Results of measuring, determining of levels of MoM percentils, regressive studies and median graphs enable to introduce PAPP-A as a new marker of chromosomal abnormalities in the 1st trimester into clinical practice. Serum levels of PAPP-A in Down`s syndrome are typically very low during the 1st trimester and thus suitable for screening. PAPP-A has been found to be the only clear placental product the level of which is in gravidity with Down`s syndrome lower.

Key words: PAPP-A, prenatal screening, Down`s syndrome

Gynekol prax 2005; 3 (3): 164-167

Úvod

PAPP-A (pregnancy associated plasma protein-A) je glykoproteín tvorený 4 podjednotkami s celkovou molekulovou hmotnosťou približne 750 000 Da. Prvýkrát bol opísaný v roku 1972 Gallom a Halbertom⁽¹⁾. Dve zo štyroch podjednotiek sú špecifické pre PAPP-A a dve sú identické s hlavným bážickým proteínom eozinofilov⁽²⁾. PAPP-A komplex je syntetizovaný v placente a vylučuje sa priamo do materskej cirkulácie⁽³⁾. Hladina PAPP-A sa dá prvý raz dokázať v 7. týždni gravidity, jeho hladina stúpa počas gravidity takmer proporcionálne s rastom placenty s maximálnymi hodnotami v termíne pôrodu⁽⁴⁾. Po pôrode je klírens PAPP-A z periférnej krvi pomalší ako u iných molekúl vytvorených trofoblastom. Biologická funkcia PAPP-A nebola dlho po svojom objavení známa. PAPP-A je proteínáza „insuline-like growth factor binding proteinu“ (IGFBP) v tehotenskom sére⁽⁵⁾.

Taktiež nie je jasná patofyziologická príčina jeho nízkych hodnôt pri graviditách postihnutých Downovým syndrómom (DS). S istotou možno povedať len to, že PAPP-A je jediný doposiaľ známy čistý placentárny produkt, ktorého hladina je pri gravidite s Downovým syndrómom nižšia. Všetky ostatné placentárne produkty majú v prvom a v druhom trimestri pri Downovom syndróme hodnoty vyššie, ako je norma pre zdravé tehotenstvo. Pre sérové hladiny PAPP-A pri Downovom syndróme je typické, že počas prvého a na začiatku druhého trimestra sú veľmi nízke, a preto vhodné na skriningové účely. Po 14. týždni sa táto výnimočná vlastnosť stráca a produkcia PAPP-A sa dostáva na úroveň zdravých gravidít. Znížená sekrecia v prvom trimestri sa vysvetľuje narušenou expresiou génov, narušenou syntézou proteínov, postsyntetickou sekrečnou funkciou alebo ich kombináciami⁽⁶⁾.

Tabuľka 1. Mediány MoM PAPP-A v graviditách s Downovým syndrómom (spracované podľa Canicka)⁽¹⁰⁾

Autor	Rok	Počet DS	MoM PAPP-A
Wald et al	1992	19	0,23
Brambati et al	1993	14	0,27
Hurley et al	1993	7	0,33
Iles et al	1993	25	0,38
Muller et al	1993	17	0,42
Brambati et al	1994	13	0,31
Brizot et al	1994	45	0,50
Macintosh et al	1994	17	0,40
Spencer et al	1994	21	0,60
van Lith et al	1994	20	0,27
Krantz et al	1996	22	0,41
Wald et al	1996	77	0,43
Berry et al	1997	52	0,50
Forest et al	1997	18	0,51
orlandi et al	1997	7	nestanovené
Qin et al	1997	36	0,40
Biagiotti et al	1998	32	0,42
Haddow et al	1998	48	0,41
Wheeler and Sinosich	1998	17	0,43
Casals et al	1999	32	0,36
Tsukerman et al	1999	31	0,42
Spolu		563	0,40

V roku 1991 Brambati a kol.⁽⁷⁾ ako prví písali o možnosti využitia PAPP-A ako skríningového markera chromozómových aberácií v prvom trimestri. Do roku 1996 bolo publikovaných 12 štúdií na 297 vzorkách gravidít s DS s takmer uniformne zhodným mediánom MoM pre DS-0,38 MoM. Namerané hladiny PAPP-A boli 2,5 krát nižšie ako pri zdravých plodoch⁽⁸⁾. Od roku 1996 bolo publikovaných ďalších 9 štúdií s celkovým počtom 273 vzoriek s DS bez výraznejších zmien v mediánoch MoM PAPP-A, typických pre Downov syndróm (0,38-0,40)⁽⁹⁾.

Matematickým modelom ako aj praktickými výsledkami bola stanovená senzitivita PAPP-A ako markera chromozómových abnormalít.

Záchytnosť Downovho syndrómu pri použití PAPP-A v prvom trimestri je 42 % pri 5 % falošnej pozitivite⁽⁹⁾.

Materiál a metodika

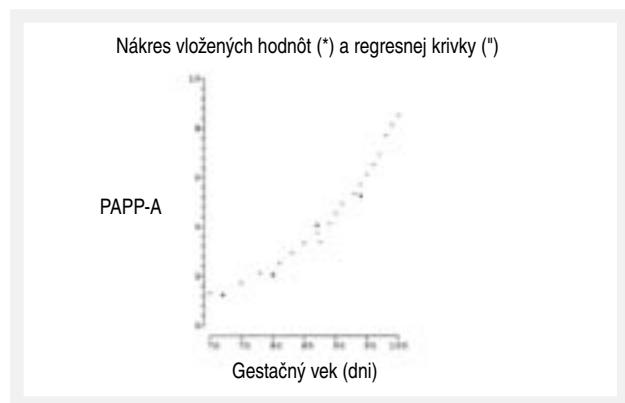
Pacientky a kontrolné skupiny

Vyšetovaný súbor tvorilo 494 tehotných pacientok, ktoré boli odoslané rajónnymi gynekológmi na ambulanciu 2. gynekologicko-pôrodnicej kliniky od 1.11.2001 do 30.10.2002 za účelom vyšetrenia v integrovanom teste. Do súboru boli zahrnuté pacientky všetkých vekových skupín, medián - 27 rokov. Do súboru sme nezahrnuli pacientky, ktoré sa po prvom odbere krvi na PAPP-A nedostavili na odber krvi na triple test a tiež pacientky, u ktorých sme si nevedeli overiť status novorodenca. Viacplodové gravidity sme do súboru nezahrnuli pre nemožnosť jednoznačnej interpretácie výsledku skríningu.

Tabuľka 2. Tabuľka mediánov PAPP-A (dĺžka gravidity stanovená USG, hodnoty PAPP-A v mIU/ml)

Dĺžka gravidity		počet	Medián PAPP - A	
ukončený týždeň gravidity	medián (dni)		Jednotka	MoM
10	72,0	186	1,35	1,274
11	80,0	131	2,10	1,253
12	87,0	121	3,90	1,478
13	93,5	56	5,19	1,391
10-13		494		1,322
10 ty percentil:			0,559	
90 - ty percentil:			2,675	
S. D. (log 10 MoM):			0,265	

Graf 1. Regresná krivka mediánov PAPP-A / gestačný vek s tabuľkou hodnôt mediánov a rovnicou regresnej krivky



Rovnica regresnej krivky

Medián PAPP-A = A * B ** gestačný vek (dni)

A = 0,0112719

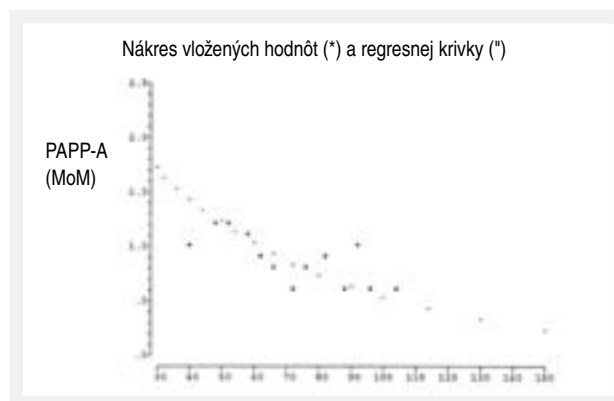
B = 1,0684910

Toto reprezentuje 57,1 % nárast v mediáne PAPP-A za týždeň

Hodnoty v regresnej tabuľke

Gestačný vek (dni)	Počet vzoriek	Medián PAPP-A	
		regredované	namerané
72,0	186	1,33	1,35
80,0	131	2,26	2,10
87,0	121	3,59	3,90
93,5	56	5,52	5,19

Graf 2. Regresná krivka PAPP-A / hmotnosť matky s tabuľkou hodnôt mediánov a rovnicou regresnej krivky



Rovnica regresnej krivky

Medián PAPP-A MoM = A * B * hmotnosť (kg)

A = 2,7718930

B = 0,9831084

Tabuľka hodnôt regresnej krivky PAPP-A / hmotnosť matky

Medián hmotnosti (kg)	Počet prípadov	Medián PAPP-A MoM	
		regredované	namerané
40,0	4	1,402	1,031
47,0	29	1,245	1,201
52,0	83	1,143	1,249
57,0	104	1,050	1,140
61,0	112	0,981	0,929
66,0	67	0,900	0,826
72,0	38	0,813	0,620
75,0	23	0,772	0,834
82,0	15	0,686	0,850
88,0	7	0,619	0,580
91,0	6	0,588	0,967
96,5	2	0,536	0,595
103,0	4	0,479	0,557

Princíp testu

DSL 10-27100 Active PAPP-A ELISA je enzymaticky amplifikovaný „dvojkrokový“ sendvičový typ imunoanalýzy. Štandardy, kontroly a vzorky vyšetrovaného séra sme inkubovali v mikrotitračných jamkách, ktoré boli opracované anti-PAPP-A protilátkou. Po inkubácii a premytí sme jamky opracovali druhou anti-PAPP-A protilátkou značenou chrenovou peroxidázou (HRP). Po druhej inkubácii a premytí sme jamky inkubovali s tetrametylbenzidíovým substrátom (TMB). Potom sme pridali roztok kyseliny - stop roztoku. Stupeň enzymatickej zmeny substrátu sme stanovili meraním absorbcie pri duálnej vlnovej dĺžke 450 a 620 nm.

Nameraná absorbcia bola priamo úmerná koncentrácii PAPP-A vo vzorke. Štandardy sme používali na vytvorenie štandardnej krivky absorbcie oproti PAPP-A koncentrácii, z ktorej sme vypočítali koncentrácie PAPP-A vo vzorkách.

Výsledky

V **tabuľke 2** sú uvedené hodnoty mediánov PAPP-A, ktoré medzi 10. a 14. týždňom stúpajú od 1,35 mIU/ml do 5,19 mIU/ml. Hodnota mediánov PAPP-A sa zvyšuje o 57,1 % za týždeň. Vypočítali sme hodnoty 10. a 90. percentilu MoM, ako aj štandardnú odchýlku (S.D. log 10 MoM) logaritmu MoM.

Výsledkom regresnej štúdie PAPP-A je tabuľka mediánov pre 10., 11., 12. a 13. týždeň gravidity a regresná krivka mediánov. Rovnica regresnej krivky s koeficientami

A a B umožňuje vypočítať hodnotu mediánu PAPP-A programom Alpha, po zadani príslušného dňa gravidity ako koeficienta GA v regresnej rovnici (**graf 1**).

V **tabuľke 3** sú uvedené hodnoty mediánov PAPP-A po ich regresii na hmotnosť matky. Vzhľadom k známemu počtu vzoriek sme vykonali váženú regresiu. Hmotnosť sme zadávali v skupinách po 5 kg. V **tabuľke 2** sú hodnoty mediánov PAPP-A nekorigované a v tabuľke 3. korigované ku hmotnosti matky. Medzi nekorigovanými hodnotami mediánov sú neštandardizované a štandardizované hodnoty. Hodnoty štandardizovaných nekorigovaných hodnôt MoM sme vypočítali tak, že neštandardizovaný MoM v každej váhovej skupine bol vydelený celkovým neštandardizovaným mediánom MoM (napr. pre váhovú skupinu pod 45 bol výpočet nasledovný: $1,363 : 1,318 = 1,035$). Na výpočet korigovaných mediánov PAPP-A k hmotnosti matky sme v regresnej štúdii používali hodnoty štandardizovaných MoM.

V našom súbore 494 pacientok sme namerali hodnotu PAPP-A pod cutoff 0,4, celkovo 17-krát (3,44%). V sledovanom súbore sa vyskytovali 3 chromozómové abnormality. V prípade, kedy bol u plodu s karyotypom 46, XY zistený abnormálne dlhý chromozóm Y, ktorého veľkosť zodpovedala chromozómom zo skupiny E, bola hodnota PAPP-A=0,73 MoM. V prípade verifikovaného Turnerovho syndrómu sme namerali hodnotu PAPP-A zodpovedajúcu 0,94 MoM. U plodu s Downovým syndrómom bola hodnota PAPP-A zodpovedajúca 0,88 MoM. Hodnotu PAPP-A=0,35 MoM sme namerali u plodu, ktorý mal defekt komorového septa pri normálnom karyotype.

Diskusia

Táto štúdia bola prvou na Slovensku, ktorá v humánom výskume použila PAPP-A ako antenatálny marker chromozómových abnormalít.

Nami namerané hodnoty mediánov PAPP-A medzi 10.-14. týždňom gravidity stúpajú o 57,1 % za týždeň. PAPP-A je produkovaný placentou a je priamo vylučovaný do materskej cirkulácie. Proporčný nárast sérových hladín PAPP-A zistený v našej štúdii je v zhode s viacerými autormi⁽⁴⁾, ktorí ho vysvetľujú nárastom veľkosti placenty. PAPP-A je doteraz jediný známy čistý placentárny produkt, ktorého hladina je pri gravidite s Downovým syndrómom nižšia. Všetky ostatné placentárne produkty majú v prvom a v druhom trimestri pri Downovom syndróme hodnoty vyššie, ako je norma pre zdravé tehotenstvo.

Viacere štúdie stanovili medián PAPP-A typický pre Downov syndróm v pásme 0,38 násobku mediánu. V našej štúdii 494 vzoriek PAPP-A medzi 10.-14. týždňom gravidity sme namerali hodnotu PAPP-A nižšiu ako cutoff 0,4 celkovo 17-krát. Ani v jednom prípade sme nezachytili chromozómovú abnormalitu. Podlimitnú hodnotu PAPP-A=0,35 MoM sme namerali u plodu, ktorý mal defekt komorového septa pri normálnom karyotype. Doterajšie práce deklarovali takmer 50 %

Tabuľka 3. Tabuľka mediánov PAPP-A / hmotnosť matky

Hmotnosť matky (kg)		Počet vzoriek	Medián PAPP-A MoM		
Váhové skupiny	Mediány váhových skupín		neupravený vzhľadom k váhe		Upravený vzhľadom k váhe
			neštandardizovaný medián	štandardizovaný medián	
< 45	40,0	4	1,363	1,031	1,085
45 -	47,0	29	1,588	1,201	1,28
50 -	52,0	83	1,651	1,249	1,452
55 -	57,0	104	1,507	1,140	1,336
60 -	61,0	112	1,228	0,929	1,205
65 -	66,0	67	1,092	0,826	1,123
70 -	72,0	38	0,820	0,620	0,867
75 -	75,0	23	1,103	0,834	1,274
80 -	82,0	15	1,124	0,850	1,298
85 -	88,0	7	0,766	0,580	1,291
90 -	91,0	6	1,279	0,967	1,615
95 -	96,5	2	0,786	0,595	1,457
100	103,0	4	0,736	0,557	1,017
	60,0	494	1,322		1,263

Poznámka: Štandardizované mediány neupravené vzhľadom k MoM hodnotám sú vypočítané delením neštandardizovaných mediánov MoM v každej váhovej skupine celkovým neštandardizovaným mediánom MoM

Pri použití regresnej postupnosti na vypočítanie koeficientov pre úpravu vzhľadom k váhe by mali byť použité štandardizované MoM hodnoty

senzitivitu na hladine 5% falošnej pozitivity⁽¹¹⁾. V našom súbore sme takú citlivosť PAPP-A, ako markera chromozómových abnormalít, nezistili. Táto rozdielnosť výsledkov mohla byť spôsobená tým, že väčšina experimentálnych, ako aj klinických publikovaných štúdií, vyhodnocovala selektované skupiny žien, u ktorých bol realizovaný antenálny skrining (vyššie vekové skupiny, ženy s rizikovou anamnézou). Naša štúdia vyhodnocovala neselektívnu vzorku žien, ktoré konsekutívne navštevovali našu kliniku na základe odoslania obvodným gynekológom.

Ďalším vysvetlením môže byť relatívne malý počet žien vyšetrených v našej štúdií. Vzhľadom na neselektívnu vzorku žien a pravdepodobnosť výskytu chromozómových abnormalít v neselektovanej populácii žien sme sa s chromozómovou abnormalitou ani nemuseli stretnúť. Chromozómové abnormality zachytené integrovaným testom v našom súbore (M. Down a M. Turner) neboli zachytené triple testom. Hodnoty PAPP-A boli v oboch prípadoch v medziach normy.

Výsledky meraní PAPP-A na vzorke 494 žien, stanovenie hodnôt percentilov MoM, regresné štúdie a grafy mediánov umožnia širšie zavedenie PAPP-A do klinickej praxe ako nového markera chromozómových abnormalít v prvom trimestri.

Literatúra

- Gall SA, Halbert SP. Antigenic constituent in pregnancy plasma which are undetectable in normal non-pregnant female or male plasma. *Int Arch Allergy* 1972; 42: 503-515.
- Qin QP, Christiansen M, Oxvig C. Double monoclonal immunofluorometric assays for pregnancy associated plasma protein A (proeosinophil major basic protein) complex in first trimester maternal serum screening for Down's syndrome. *Clin Chem* 1997; 43: 2323-2332.
- Bonno M, Oxvig C, Kephart GM. Localisation of pregnancy associated plasma protein A and colocalisation of pregnancy associated plasma protein. A messenger ribonucleic acid and eosinophil granule major basic protein messenger ribonucleic acid in the placenta. *Lab Invest* 1994; 71: 560-566.
- Folkersen J, Grudzinskas JG, Hindersson P. Pregnancy associated plasma protein A: circulating levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 139: 910-914.
- Lawrence JB et al. The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts in pregnancy-associated plasma protein -A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 3149-3153.

Záver

Hodnoty mediánov PAPP-A medzi 10.-14. týždňom gravidity stúpajú o 57,1% za týždeň. PAPP-A je preto stabilný marker. Výsledky meraní PAPP-A na vzorke 494 žien, stanovené hodnoty percentilov MoM, regresné štúdie a grafy mediánov umožnia širšie zavedenie PAPP-A do klinickej praxe ako markera chromozómových abnormalít v prvom trimestri. K jeho zavedeniu do klinickej praxe na Slovensku napomáha aj rozšírené používanie počítačového programu Alpha, ktorý slúži na vyhodnocovanie biochemického skriningu Downovho syndrómu. Triple test (AFP, uE3, hCG) spolu s vyšetrením PAPP-A v prvom trimestri, t.j. biochemický integrovaný test, dosahuje pri 5% falošnej pozitivite nálezov až 85% senzitivitu⁽¹²⁾.

Adresa pre korešpondenciu:

MUDr. Róbert Dankovčík, PhD.
II. gynekologicko-pôrodnická klinika LF UPJŠ Košice
Rastislavova 43, 040 00 Košice
e-mail: dankovcik@mail.pvt.sk

MUDr. Peter Urdzík, MUDr. Radomír Hredzák
II. gynekologicko-pôrodnická klinika LF UPJŠ Košice

- Brizot ML, Hyett JA, Mcie AT. Gene expression of human pregnancy associated plasma protein-A in placenta from trisomic pregnancies. *Placenta* 1996; 17: 33-36.
- Brambati B et al. Low maternal serum levels of PAPP-A in the first trimester in association with abnormal fetal karyotype. *Br J Obstet Gynaecol* 1993; 100: 324-326.
- Wald NJ, et al. Antenatal screening for Down's syndrome. *Health Technology Assessment* 1998; 2: 5-88.
- Cuckle H. Time for total shift to first trimester screening for Down's syndrome. *The Lancet* 2001; 358: 1658-1659.
- Canick JA, Kellner LM. First trimester screening for aneuploidy: Serum biochemical markers. *Sem Perinat* 1999; 23: 359-368.
- Wald NJ, Hackshaw AK. Advances in antenatal screening for Down syndrome. *Baillière's Clinical Obstet Gynecol* 2000; 14: 563-580.
- Wald NJ et al. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the serum, urine and ultrasound screening study (SURUSS). *Health Technology Assessment* 2003; 7: 11-24.

Turnerův syndrom

2. vydání

Jan Lebl, Jiřina Zapletalová

Maxdorf 2005, 72 str. ISBN: 80-7345-064-X cena: 145 Kč, formát: 110×190, brož.

Druhé aktualizované vydání knihy je věnováno otázkám vrozeního a poměrně častého omezení žen, při kterém se žena rodí pouze s jedním chromozomem X, což vede k omezení činnosti pohlavních žláz, včetně neplodnosti, poruchám růstu a dalším abnormalitám.

**KONTAKT: MAXDORF s.r.o., nakladatelství odborné literatury, Na Šejdru 247/6a,
142 00 Praha 4 - Libuš, tel.: +420 241 011 681, fax: +420 241 710 245**

