

Klinické využití nových biomarkerů preeklampsie

Sergiu Leahomschi, Pavel Calda

Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN

Korespondenční adresa: MUDr. Sergiu Leahomschi, Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN, Apolinářská 18, 128 00 Praha 2, Česká republika, e-mail: Sergiu.Leahomschi@vfn.cz

Publikováno: 19. 5. 2016 Přijato: 22. 3. 2016 Akceptováno: 29. 4. 2016
Actual Gyn 2016, 8, 29-33 ISSN 1803-9588 © 2016, Aprofema s.r.o.
Článek lze stáhnout z www.actualgyn.com



Citujte tento článek jako: Leahomschi S, Calda P. Klinické využití nových biomarkerů preeklampsie. Actual Gyn. 2016;8:29-33

NEW BIOMARKERS OF PREECLAMPSIA – CLINICAL IMPACT

Review article

Abstract

Hypertension in pregnancy does not always lead to preeclampsia. Differentiating between these two conditions is challenging and requires enormous resources. A biomarker which could predict the clinical onset of the severe pathology of preeclampsia would be very useful. Several multicentric prospective studies have demonstrated that the cytokines involved in angiogenesis potentially may be used as biomarkers to predict preeclampsia, using precise automated immunoassays. The results of studies of these immunoassays indicate that they have a negative predictive value, making it possible to rule out development of preeclampsia for at least one week. A part of this review paper is also the consensus statement of international experts in the use of angiogenic markers focused on the status of the risk of preeclampsia, and their use in clinical practice.

Key words: preeclampsia, prediction, biomarkers, PIGF, sFlt-1, pregnancy

Přehledový článek

Abstrakt

Management hypertenze v těhotenství při suspekci na preeklampsii je obtížný a ekonomicky náročný, vzhledem k tomu, že dosud chyběl biomarker predikující rozvoj této závažné těhotenské patologie. Několik prospektivních multicentrických studií poukazuje na možnost predikce pomocí stanovení sérových hladin cytokinů podílejících se na angiogenezi. Na základě poznatku o důležitosti těchto cytokinů v etiopatogenezi preeklampsie byly vyvinuty automatizované imunochemické metody použitelné v klinické praxi. Výsledky těchto studií prokázaly vysokou negativní prediktivní hodnotu tohoto testu, umožňující bezpečně propouštět těhotné do ambulantní péče minimálně na jeden týden. Součástí tohoto přehledového článku je i současné konsenzuální stanovisko předních světových odborníků na angiogenní markery, týkající se implementace testování rizika rozvoje preeklampsie pomocí imunochemického testu do klinické praxe.

Klíčová slova: preeklampsie, predikce, biomarkery, PIGF, sFlt-1, těhotenství

Úvod

Skupina hypertenzních chorob vyskytujících se v graviditě je jedním z příkladů mezioborové problematiky, se kterou se setkáváme v průběhu asi 10 % všech těhotenství. Populační riziko preeklampsie (PE), jakožto jednoho z představitelů této skupiny, činí 2-8 % (1). Základem úspěšné léčby a dobrých léčebných výsledků je správná a především časná diagnóza tohoto patologického stavu těhotenství. Z tohoto klinického hlediska je důležité odlišit PE od dalších onemocnění spojených s hypertenzí v graviditě.

Nemalou roli hrají i socioekonomické faktory (především délka hospitalizace, ale i rozsah a četnost laboratorních vyšetření vedoucích k diagnóze a lékařskému rozhodnutí o dalším postupu). Důležitým pomocníkem v tomto směru jsou nové biochemické markery, pomocí kterých se dá predikovat další vývoj hypertenzního stavu těhotné. Zavedením nových predikčních markerů PE do klinické praxe se dá snížit délka hospitalizace až o polovinu, a například v Anglii se tímto dá ušetřit cca 28 mil. liber ročně (2), což pouhou extrapolací na populaci ČR činí kolem 200 mil. Kč ročně.

Celosvětově se odhaduje, že PE je příčinou až 42 % úmrtí těhotných. Vzhledem k tomu, že momentálně je jedinou "léčbou" PE porod, patří mezi hlavní příčiny iatrogenních prematurit, kdy její odhadovaný celosvětový podíl na všech předčasných porodech činí kolem 15 % (3).

K hlavním rizikovým faktorům PE patří:

- PE v předchozím/ch těhotenství/ch
- Výskyt PE v rodinné anamnéze
- Věk těhotné pod 19 a nad 40 let
- Vícečetná gravidita
- Renální onemocnění nebo arteriální hypertenze u těhotné
- Obezita

Na druhé straně nepřítomnost preeklampsie v předchozí graviditě snižuje riziko rozvoje PE v dalším těhotenství, kdy se předpokládá ochranný vliv minimálně 3 roky. Stejně tak vyšší výška těhotné snižuje riziko preeklampsie (4,5,6).

Problematika diagnostiky a managementu hypertenzních epizod v těhotenství

Současný management hypertenze v těhotenství byl podrobně popsán již dříve (7). Zatímco některé patologické stavy v těhotenství související s arteriální hypertenzí nenesou odklad (např. HELLP syndrom) a jejich jediným řešením je neprodlené ukončení gravidity, jiné hypertenzní stavy (např. preexistující arteriální hypertenze) mohou při nasazení adekvátní antihypertenzní terapie a adekvátního ambulantního sledování stavu matky a plodu vést až k termínovému porodu. Bohužel PE nepatří ani do jedné z těchto skupin – na jednu stranu mírná PE není indikací k okamžitému ukončení gravidity, na druhou stranu ambulantní sledování těhotné s jasnými klinickými známkami PE ohrožuje těhotnou i plod. Management PE jsme popsali v přehledové práci (8), kde jsme uvedli i aktuální možnosti její predikce a prevence.

Symptomatologie PE je pestrá a nespecifická, mezi hlavní symptomy patří zejména:

- cefalea, poruchy vidění
- elevace krevního tlaku
- rychlý váhový přírůstek
- nauzea, bolesti břicha

- zvýšená proteinurie
- otoky dolních a horních končetin, obličeje

Hlavním úkolem u hospitalizovaných těhotných je rozlišení konkrétní hypertenzní poruchy ve smyslu možnosti predikce rozvoje PE v terénu již rozvinuté arteriální hypertenze, nehledě na to, zda se jedná o preexistující či gestační hypertenzi. Samotná měření krevního tlaku spolu s hodnotami proteinurie mají velmi nízkou pozitivní predikční hodnotu – pouze kolem 20 % (9). V praxi to znamená, že za současného stavu medicíny až u 80 % těhotných, které jsou hospitalizované s elevací krevního tlaku pro vyloučení PE, se žádná PE nevyvine. Navíc pro validní kvantifikaci proteinurie je nutno provést 24hodinový odběr moči (většinou od rána dalšího dne) s další několikahodinovou prodlevou související s transportem vzorku do laboratoře a jeho zpracováním. Reálně to znamená minimálně o jeden den delší hospitalizaci, ale většinou to bývá dnů několik.

Role angiogenních a antiangiogenních markerů v etiopatogenezi preeklampsie

Etiopatogeneze PE je multifaktoriální a není dosud kompletně objasněná. Vzhledem k současně existujícím vědeckým poznatkům jako nejperspektivnější a nejpravděpodobnější teorií se jeví teorie poruchy rovnováhy angiogenních faktorů. PE vzniká na úrovni placentární mikrocirkulace a toto tvrzení je podpořeno tím, že PE se může rozvinout i v případě molární gravidity. Tato placentací podmíněná patologie je charakterizovaná antiangiogenním stavem. Hlavní faktory této angiogenní dysbalance jsou uvedeny v **Tab. 1**. Na jedné straně to jsou faktory podporující angiogenezi jako: placentární růstový faktor (placental growth factor, PIGF), vaskulární endotelový růstový faktor (vascular endothelial growth factor, VEGF) a transformující růstový faktor β (transforming growth factor β , TGF β). Na straně druhé jsou faktory antiangiogenní jako: solubilní fms-like tyrozinkináza 1 (sFlt-1) a solubilní endoglin (sEng).

V případě PE dochází ke snížení plasmatických hladin volných (bioaktivních) proangiogenních faktorů tím, že jsou navázané na sebe zvýšeným množstvím antiangiogenních molekul, které mají vysokou afinitu k proangiogenním molekulám (10). Snižování plasmatických koncentrací solubilních forem proangiogenních molekul vede k endoteliální dysfunkci a ke klinickým obrazům PE (11,12,13). Tato myšlenka je podpořena pozorováním přítomnosti symptomů podobným PE (preeclampsia-like syndrome) v případě onkologických pacientů léčených antiangiogenní biologickou léčbou integrovanou do chemoterapeutických režimů (14,15).

Zjištění, že v patogenezi preeklampsie hrají důležitou roli cytokiny ovlivňující angiogenezi, otevřelo nové velice za-

Tab. 1 Hlavní proangiogenní a antiangiogenní molekuly regulující angiogenní homeostázu

Proangiogenní	Antiangiogenní
PIGF (placental growth factor)	sFlt-1 (soluble fms-like tyrosine kinase 1)
VEGF (vascular endothelial growth factor)	sEng (soluble endoglin)
TGF β (transforming growth factor β)	

jímavé možnosti. Na jednu stranu je to možnost časné predikce vývoje PE na základě vyšetření plasmatických hladin těchto cytokinů (viz níže), a na straně druhé – konečně možnost cílené léčby PE. Experimentální cílenou léčbou PE se od roku 2011 zabývala zatím pouze jedna pilotní studie – RAAPID, jejíž velice slibné a zajímavé výsledky byly nedávno publikovány (16). Studie popisuje možnost, účinnost a bezpečnost aferetického odstranění antiangiogenního sFlt-1 z krevního oběhu těhotných s klinickými známkami PE (elepace TK, proteinurie nad 300 mg/l), a poměrem sFlt-1/PIGF > 85. Ve výsledkové části tohoto projektu je porovnána délka pokračování gravidity po aferéze u žen, které ji podstoupily, s délkou pokračování gravidity v kontrolní skupině těhotných (které aferézu nepodstoupily). Zatímco v kontrolní skupině (n = 22) medián délky těhotenství po zařazení do studie činil 3 dny (0–14 dní), ve skupině, která podstoupila aferetické odstranění sFlt-1 jednou (n = 6), byl medián 8 dní (2–11 dní), a ve skupině, kde aferéza byla provedena celkem 2krát (n = 4) nebo 3krát (n = 1), činil medián 15 dní (11–21 dní). Ve všech případech byla, tato léčba dobře tolerovaná jak těhotnou, tak i plodem a nebyly pozorovány žádné nežádoucí účinky. Nicméně tato pilotní studie musí být samozřejmě ještě potvrzená větší randomizovanou studií.

Role angiogenních a antiangiogenních biomarkerů v predikci rozvoje preeklampsie

Poznání úlohy angiogenních faktorů jako mediátoru PE vedlo k jejich využití v roli časných prediktorů rozvoje této patologie těhotenství. Změny jako zvýšené hladiny sFlt-1, snížené hladiny PIGF, a tím pádem i zvýšený poměr sFlt-1/PIGF jsou detekovatelné v sérech těhotných, kterým byla diagnostikována nejen PE, ale i růstová retardace plodu (IUGR) nebo intrauterinní úmrtí plodu, přičemž tyto změny korelují s vážností klinického projevu těchto patologických stavů. Čím časnější je patologie gravidity, tím markantnější je dysbalance angiogenních faktorů. Dalším důležitým zjištěním je to, že dysbalance angiogenních faktorů je detekovatelná v sérech těhotných ještě před

začátkem manifestace klinických příznaků onemocnění (12,17). Úspěchem skončila i snaha o stanovení diagnostických a klinicky využitelných hraničních hodnot pro poměr sFlt-1/PIGF v závislosti na gestačním stáří (18).

Již v roce 2010 vyšla řada prací vyhodnocujících bezpečnost a efektivitu stanovování sérových hladin sFlt-1 a PIGF pomocí automatizovaných imunochemických testů Elecsys® (3,19,20). Možnost rychlého vyšetření (výsledky do 20 minut) ze séra dělá z těchto testů (a zejména ze stanovování poměru sFlt-1/PIGF) velice užitečný nástroj pro klinickou praxi při potřebě rychlého rozhodování v rámci managementu preeklampsie.

Dosud největší prospektivní, multicentrická studie PROGNOSIS, jejíž výsledky byly čerstvě publikovány (21), si stanovila za cíl zjištění hraničních hodnot poměru sFlt-1/PIGF pro predikci rozvoje PE u těhotných s jednotlivou graviditou, se suspektní PE v rozmezí gestačního stáří 24 týdnů + 0 dnů až 36 týdnů + 6 dnů. Celkový počet sledovaných gravidit činil 1 050, primárním cílem bylo stanovení jednobodové hraniční hodnoty. Výsledky studie udávají klinicky použitelnou cut-off hodnotu 38 a poukazují na to, že při sFlt-1/PIGF < 38 je negativní prediktivní hodnota 99,3 %, se senzitivitou 80 % a specifivitou 78,3 %. Pozitivní prediktivní hodnota při sFlt-1/PIGF > 38 činí 36,7 %, se senzitivitou 66,2 % a specifivitou 83,1 %.

Pro jednodušší implementaci vyšetřování a používání poměru sFlt-1/PIGF do klinické praxe bylo ve spolupráci s předními světovými odborníky na tuto problematiku vypracované konsenzuální stanovisko (**Tab. 2**) aplikovatelné na následující dvě skupiny těhotných (22):

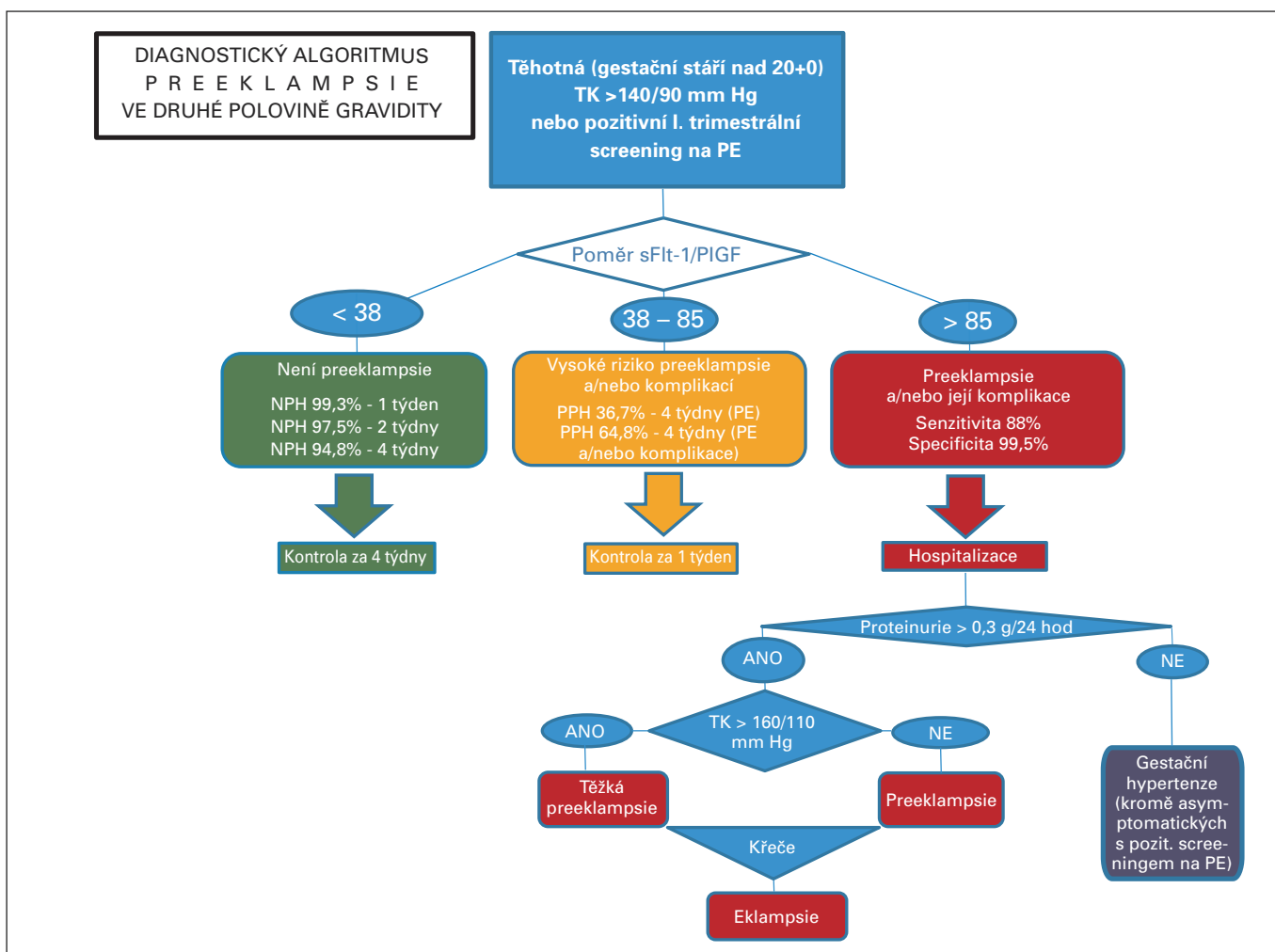
1. Těhotné se známkami a symptomy PE (suspektní nebo potvrzená PE)
2. Asymptomatické těhotné se zvýšeným rizikem rozvoje PE.

Autoři tohoto konsenzuálního stanoviska upozorňují na následující skutečnosti:

- poměr sFlt-1/PIGF zatím nebyl ověřen jako screeningová metoda
- poměr sFlt-1/PIGF nenahrazuje další metody sledování vysoce rizikových pacientek

Tab. 2 Doporučení pro management hodnot poměru sFlt-1/PIGF dle konsenzuálního stanoviska (22)

Poměr sFlt-1/PIGF	Preeklampsie v době testování	Riziko rozvoje preeklampsie	Doporučení
< 38 (více než 80% těhotných)	není	nízké (méně než 4% během dalšího týdne)	- možno propustit do ambulantního sledování - další kontroly dle potřeby
38 – 85 (časná PE) 38 – 110 (pozdní PE)	není	vysoké	- při < 34+0 – kontrolní odběr za 1–2 týdny - při ≥ 34+0 – zvážit dřívější termín pro indukci porodu
> 85 (časná PE) > 110 (pozdní PE)	vysoce pravděpodobná PE nebo jiná placentární porucha	velmi vysoké	- dle místních doporučených postupů - opakování odběru za 2–4 dny pro sledování trendu dle uvážení lékaře a dle klinické závažnosti - extrémní hodnoty (> 655 v < 34+0 a > 201 v ≥ 34+0) spojené s nutností ukončení gravidity do 48 h - pečlivé monitorování a v případě < 34+0 zahájit indukci plicní zralosti

Obř. 1 Diagnostický algoritmus preeklampsie ve druhé polovině gravidity (23)

- rozhodnutí ohledně ukončení těhotenství není podmíněno pouze hodnotami poměru sFlt-1/PIGF, ale je vždy zároveň podmíněno ostatními dostupnými metodami a klinickým stavem pacientek
- většina studií týkajících se poměru sFlt-1/PIGF byla provedena pomocí testů Elecsys® (Roche Diagnostics), a proto všechny cut-off hodnoty uvedené v tomto stanovisku byly ověřeny pouze pro tento typ testu.

V případě těhotných s již diagnostikovanou PE (elevací TK a proteinurií) měření poměru sFlt-1/PIGF nepřináší další diagnostické informace, ale může přispět k určování vážnosti a prognózy onemocnění.

Závěr

PE je stále závažnou patologií těhotenství ohrožující život těhotných i plodů. Existence automatizovaných imunochemických testů Elecsys® (Roche Diagnostics) dovoluje rychlé vyhodnocení rizika rozvoje PE v krátkém časovém horizontu s pozoruhodnou a klinicky použitelnou negativní prediktivní hodnotou, dovolující hospitalizovat pouze těhotné se zvýšeným rizikem. Zatím však neexistuje žádná randomizovaná kontrolovaná studie, která by zkoumala pozitivní přínos vyšetření poměru sFlt-1/PIGF ve vztahu k mateřské a novorozenecké morbiditě a mortalitě. Tento test (poměr sFlt-1/PIGF) by se měl provádět pouze u vysoce rizikových těhotných s hrozícím rozvojem PE. Za takové považujeme :

1. symptomatické těhotné s opakovanými hodnotami TK nad 140/90 mm Hg nebo proteinurií nad 300 mg/24 hod a/nebo přítomností alespoň jedné z následujících známek:
 - a. nově vzniklá cefalea a/nebo poruchy vizu
 - b. nausea, zvracení
 - c. epigastrická bolest
 - d. trombocytopenie < 100x10⁹/l
 - e. elevace JT (ALT, AST – více než dvojnásobek normy), progredující jaterní selhání
 - f. oligurie < 400 ml/24 hod
 - g. plicní edém
2. asymptomatické těhotné s pozitivním screeningem na PE v I. trimestru. (4,6)

Cílená léčba PE je možná ovlivněním angiogenní dysbalance, ale jsou nutné větší randomizované studie k potvrzení efektivity a bezpečnosti těchto metod. Nové biomarkery PE (sFlt-1 a PIGF) mohou být důležitým pomocníkem lékařů z hlediska její krátkodobé predikce a diagnostiky.

Literatura

1. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol.* 2009;33(3):130-7, doi: 10.1053/j.semperi.2009.02.010
2. Strunz-McKendry T, et al. COGI 2014, Paris. Abstract P73

3. Verlohren S, et al. An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(2):161.e1-161.e11, doi: 10.1016/j.ajog.2009.09.016
4. Akolekar R, et al. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. *Prenat Diagn.* 2011;31(1):66-74, doi: 10.1002/pd.2660
5. Wright D, et al. A competing risks model in early screening for preeclampsia. *Fetal Diagn Ther.* 2012;32(3):171-8, doi: 10.1159/000338470
6. Poon LC, Nicolaides KH. First-trimester maternal factors and biomarker screening for preeclampsia. *Prenat Diagn.* 2014;34(7):618-27, doi: 10.1002/pd.4397
7. Koucký M. Současný pohled na léčbu hypertenze v těhotenství. *Vnitr. Lek.* 2011 Sep; 57(9):728-731
8. Leahomschi S, Calda P. Preeklampsie v těhotenství – predikce, prevence a další management. *Ceska Gynecol.* 2014 Nov;79(5):356-362
9. Zhang J, et al. Prediction of adverse outcomes by common definitions of hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2001 Feb;97(2):261-267
10. Hod T, et al. Molecular Mechanisms of Preeclampsia. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015;5(10), doi: 10.1101/cshperspect.a023473
11. Maynard SE, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003;111(5):649-658, doi: 10.1172/JCI17189
12. Levine RJ, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med.* 2004;350(7):672-683, doi: 10.1056/NEJMoa031884
13. Romero RT, Chaiworapongsa. Preeclampsia: a link between trophoblast dysregulation and an antiangiogenic state. *J Clin Invest.* 2013;123(7):2775-2777, doi: 10.1172/JCI70431
14. Hurwitz H. Integrating the anti-VEGF-A humanized monoclonal antibody bevacizumab with chemotherapy in advanced colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2004 Oct;4 Suppl 2:S62-68
15. Vigneau C, et al. All anti-vascular endothelial growth factor drugs can induce 'pre-eclampsia-like syndrome': a RARE study. *Nephrol Dial Transplant.* 2014;29(2):325-332, doi: 10.1093/ndt/gft465
16. Thadhani R, et al. Removal of Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase-1 by Dextran Sulfate Apheresis in Preeclampsia. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(3):903-13, doi: 10.1681/ASN.2015020157
17. Verlohren S, et al. The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206(1):58.e1-58.e8, doi: 10.1016/j.ajog.2011.07.037
18. Verlohren S, et al. New gestational phase-specific cut-off values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia. *Hypertension.* 2014;63(2):346-352, doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01787
19. Ohkuchi A, et al. Evaluation of a new and automated electrochemiluminescence immunoassay for plasma sFlt-1 and PlGF levels in women with preeclampsia. *Hypertens Res.* 2010;33(5):422-427, doi: 10.1038/hr.2010.15
20. Schiettecatte J, et al. Multicenter evaluation of the first automated Elecsys sFlt-1 and PlGF assays in normal pregnancies and preeclampsia. *Clin Biochem.* 2010;43(9):768-770, doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.02.010
21. Zeisler H, et al. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med.* 2016;374(1):13-22, doi: 10.1056/NEJMoa1414838
22. Stepan H, et al. Implementation of the sFlt-1/PlGF ratio for prediction and diagnosis of pre-eclampsia in singleton pregnancy: implications for clinical practice. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(3):241-246, doi: 10.1002/uog.14799
23. National Institute for Health and Care Excellence (2016) PlGF based testing to help diagnose suspected pre-eclampsia. NICE Guideline. Available at: <https://www.nice.org.uk/guidance/dg23> [Accessed 11th May 2016]

Podpořeno MZ ČR - RVO VFN64165.