

1977-06

HUMAN PLACENTAL LACTOGEN EN ALFA - FOETOPROTEINE

in serum van zwangeren

(een klinisch onderzoek in de tweede helft van de zwangerschap)

Human placental Lactogen and alfa-foetoprotein

in serum of pregnant women

(a clinical investigation in the second half of pregnancy)

With a summary in English

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN
DE GENEESKUNDE AAN DE ERASMUS UNIVERSITEIT
TE ROTTERDAM OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNI-
FICUS PROF.DR.B.LEIJNSE EN VOLGENS BESLUIT
VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN. DE OPENBARE
VERDEDIGING ZAL PLAATS VINDEN OP WOENSDAG
16 NOVEMBER 1977 DES NAMIDDAGS TE 3 UUR
PRECIES

DOOR

RONALD BARENTSEN

GEBOREN TE MIDDELBURG

DRUK: WIBRO HELMOND

Promotor : Dr.H.C.S.Wallenburg

Co-referenten: Prof.Dr.A.C.Drogendijk jr.

Dr.G.Hennemann

Voor Marianne
Alexander en Linda

VOORWOORD.

Het in dit proefschrift beschreven onderzoek werd uitgevoerd in de afdeling Obstetrie van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt onder leiding van Dr.H.C.S.Wallenburg. Zonder zijn inzet en stimulerende acties zou dit proefschrift nimmer zijn voltooid.

Dr. G. Hennemann en Prof.Dr.A.C.Drogendijk Jr. lazen als coreferenten het manuscript kritisch door en voorzagen het van waardevolle kanttekeningen.

Alle bepalingen werden verricht op de afdeling Nucleaire Geneeskunde van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt (Hoofd: Dr. G. Hennemann).

Aan de samenwerking met Drs. W.H. Bakker, die veel tijd en energie heeft besteed aan het opzetten van de bepalingsmethoden van HPL en AFP, denk ik met genoegen terug.

De bepalingen werden accuraat en, ondanks de onvermijdelijke tegenslagen, met grote blijmoedigheid uitgevoerd door Mevrouw P. Rotmans. De Heer R. van Strik, lector, (Hoofd Afdeling Biostatistica) leverde waardevolle bijdragen aan de opzet van het onderzoek.

Drs. H.J.A. Schouten verzorgde de tijdrovende statistische bewerking. De staf van de afdeling Pathologische Anatomie I (Hoofd: Prof.Dr. G. Wielenga) verzorgde het microscopisch onderzoek van alle placentas. Bij het macroscopisch onderzoek was de hulp van de heer C.C.J. van Vroonhoven onmisbaar.

Mevrouw H. Brons-Guidotti typte op uitnemende wijze het gehele manuscript. Zij tekende ook alle figuren en verzorgde de lay-out. De grote afstand tussen Deurne en Rotterdam maakte deze taak niet eenvoudig. Alle figuren werden gefotografeerd door het Audio Visueel Centrum van de Erasmus Universiteit Rotterdam.

Het verzamelen van het materiaal was alleen mogelijk dankzij de volle medewerking van de collegae-assistenten, stafleden en personeel van de polikliniek Obstetrie.

Collega F.J. van der Beek heeft mij in staat gesteld mij uit mijn praktijk vrij te maken voor de noodzakelijke besprekingen.

Na het voltooien van dit proefschrift hoop ik mijn vrouw en kinderen weer de tijd te kunnen geven waar zij recht op hebben.

INHOUDSOPGAVE.

Hoofdstuk 1

INLEIDING EN VRAAGSTELLING.	11
-----------------------------	----

Hoofdstuk 2

LITERATUUROVERZICHT BETREFFENDE HUMAN PLACENTAL LACTOGEN (HPL).

2.1.	Inleiding en nomenclatuur.	15
2.2.	Structuur van HPL.	15
2.3.	Biosynthese van HPL.	16
2.4.	Metabolisme van HPL.	17
2.5.	Fysiologische factoren die de HPL-concentratie in het maternale serum beïnvloeden.	20
2.6.	Dagritme en dagschommelingen van HPL.	21
2.7.	Biologische werking van HPL.	22
2.8.	HPL-concentratie in serum buiten de zwangerschap.	23
2.9.	HPL-concentratie in moederlijk serum tijdens de zwangerschap.	23
2.9.1.	De ongestoorde zwangerschap.	24
2.9.2.	De gestoorde zwangerschap.	27
2.9.2.1.	HPL-concentraties bij hypertensie en toxicose.	27
2.9.2.2.	HPL-concentraties bij stoornissen in de koolhydraatstofwisseling.	27
2.9.2.3.	HPL-concentraties bij actief Rhesus-antagonisme.	29
2.9.2.4.	HPL-concentraties bij foetale groeivertraging.	29
2.9.2.5.	HPL-concentraties bij intrauteriene vruchtdood.	32
2.9.3.	De HPL-bepaling tijdens de ongestoord verloopende zwangerschap als screeningstest voor foetale nood durante partu.	34

Hoofdstuk 3

LITERATUUROVERZICHT BETREFFENDE ALFA-FOETOPROTEINE (AFP).

3.1.	Inleiding en nomenclatuur.	37
3.2.	Structuur van AFP.	37
3.3.	Biosynthese van AFP.	38
3.4.	Metabolisme van AFP.	38
3.5.	Biologische werking van AFP.	40
3.6.	AFP-concentratie in serum buiten de zwangerschap.	40

3.7.	AFP-concentraties tijdens de zwangerschap.	41
3.7.1.	AFP-concentraties in het serum van zwangeren.	41
3.7.1.1.	De ongestoorde zwangerschap.	41
3.7.1.2.	De gestoorde zwangerschap.	43
3.7.2.	AFP-concentraties in het navelstrengbloed.	44
3.7.3.	AFP-concentraties in het vruchtwater.	44

Hoofdstuk 4

OPZET EN UITVOERING VAN HET EIGEN ONDERZOEK.

4.1.	Kriteria voor de selectie van de zwangeren.	47
4.2.	Numerieke samenstelling van de onderzochte groepen.	50
4.3.	Het placentaonderzoek.	51

Hoofdstuk 5

DE RADIOIMMUNOLOGISCHE BEPALING VAN HPL.

5.1.	Het principe van de bepaling van HPL.	53
5.2.	Werkprocedure en eigenschappen van de gebruikte bepalingsmethode.	57
5.3.	Dagritme en dagschommelingen van HPL.	60

Hoofdstuk 6

RESULTATEN VAN DE HPL-BEPALING IN DE ONGESTOORDE EN IN DE GESTOORDE ZWANGERSCHAP.

6.1.	De ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus.	63
6.1.1.	De transversale HPL-referentiecurve.	63
6.1.2.	De longitudinale HPL-curven.	66
6.2.	De ongestoorde zwangerschap met niet-optimale neonatus.	71
6.2.1.	Geboortegewicht < 10e percentiel.	71
6.2.2.	Geboortegewicht > 90e percentiel.	74
6.2.3.	Apgarscore na 1 minuut < 7.	75
6.2.4.	Congenitale afwijkingen van het kind.	77
6.2.5.	Samenvatting.	77
6.3.	De gestoorde zwangerschap.	79
6.3.1.	Hypertensie en toxicose.	79
6.3.2.	Stoornis in de glucosetolerantie.	84
6.3.3.	Actief Rhesusantagonisme.	90
6.3.4.	Placenta praevia en solutio placentae.	91

6.3.5.	Diverse stoornissen in de zwangerschap.	94
6.3.6.	Samenvatting.	95
6.4.	Meerlingzwangerschappen.	97

Hoofdstuk 7

DE RADIOIMMUNOLOGISCHE BEPALING VAN AFP.

7.1.	Het principe van de bepaling van AFP.	99
7.2.	Werkprocedure en eigenschappen van de gebruikte bepalings-100 methode.	100
7.3.	Dagritme en dagschommelingen van AFP.	102

Hoofdstuk 8

RESULTATEN VAN DE AFP-BEPALING IN DE ONGESTOORDE EN IN DE GESTOORDE ZWANGERSCHAP.

8.1.	De ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus.	105
8.1.1.	De transversale AFP-referentiecurve.	105
8.1.2.	De longitudinale AFP-curven.	108
8.2.	De ongestoorde zwangerschap met niet-optimale neonatus.	108
8.2.1.	Geboortegewicht < 10e percentiel.	108
8.2.2.	Geboortegewicht > 90e percentiel.	112
8.2.3.	Apgarscore na 1 minuut < 7.	112
8.2.4.	Congenitale afwijkingen van het kind.	115
8.3.	De gestoorde zwangerschap.	115
8.3.1.	Hypertensie en toxicose.	115
8.3.2.	Stoornis in de glucosetolerantie.	118
8.3.3.	Actief Rhesusantagonisme.	118
8.3.4.	Placenta praevia en solutio placentae.	118
8.3.5.	Diverse stoornissen in de zwangerschap.	118
8.4.	Meerlingzwangerschappen.	122
8.5.	Samenvatting.	122

Hoofdstuk 9

SLOTBESCHOUWING EN CONCLUSIES.

9.1.	Algemeen.	127
9.2.	Het HPL-onderzoek.	127
9.3.	Het AFP-onderzoek.	128

<u>SAMENVATTING.</u>	133
<u>SUMMARY.</u>	139
<u>LITERATUURLIJST.</u>	145

HOOFDSTUK 1.

INLEIDING EN VRAAGSTELLING.

"Het ideaal van de verloskunde bestaat uit het toevoegen aan de mensheid van een gezond kind, met behoud van de gezondheid van de moeder, als resultaat van iedere zwangerschap" (Holmer, 1956). In de moderne verloskunde draagt de prenatale zorg in zeer belangrijke mate bij aan de verwerkelijking van dit ideaal. Het doel van de prenatale zorg is het opsporen, herkennen en zo mogelijk behandelen van storingen in het fysiologische verloop van de zwangerschap. De hoeksteen van de prenatale zorg wordt nog steeds gevormd door het door iedere verloskundige uit te voeren manuele en auscultatoire verloskundige onderzoek, het bepalen van de bloeddruk en het gewicht van de zwangere, en het eenvoudige biochemische onderzoek van bloed en urine. Daarnaast zijn in de afgelopen 20 jaar in snelle opeenvolging biochemische en fysische methoden ter beschikking gekomen voor evaluatie van de toestand van de foetus en foetoplacentaire eenheid. Sinds ongeveer 1970 staat van de biochemische methoden de bepaling van Human Placental Lactogen (HPL) in moederlijk plasma of serum sterk in de belangstelling. Deze belangstelling is zeker ook gestimuleerd door het in de handel komen van complete pakketten (Kits) voor de radioimmunologische bepaling van dit in de syncytiotrofoblast gevormde eiwithormoon. Hierdoor is deze bepaling binnen het bereik van een groot aantal laboratoria gekomen. In een aantal publicaties (Letchworth e.a., 1972a; Yates, 1973 en England e.a., 1974) wordt zelfs gesuggereerd dat hiermee een mogelijkheid zou zijn gegeven om elke zwangerschap met behulp van deze relatief eenvoudige bepaling te "screenen" op het bestaan van (nog) niet ontdekte placentaire insufficiëntie en/of foetale nood. England e.a. (1974) spreken zelfs van "HPL: the watch-dog of fetal distress". Hetzelfde geldt mutatis mutandis, zij het minder uitgesproken, voor de bepaling van de concentratie van Alfa-foetoproteïne (AFP) in moederlijk plasma of serum. Dit alfaglobuline wordt gevormd in de foetale lever en komt via de placenta in vrij geringe hoeveelheid in de moederlijke circulatie. De HPL-concentratie zou dus een maat kunnen zijn voor de functie van de placenta, het AFP-gehalte voor de toestand van de foetus.

Alle biochemische bepalingen in moederlijk bloed, urine of in vruchtwater, die worden gebruikt ter beoordeling van de functie van de foetoplacentaire eenheid berusten op het principe van het meten van de concentratie of uitscheiding van stoffen -hormonen, enzymen, eiwitten e.a.- die binnen de foetoplacentaire eenheid worden gemaakt. Aan de aldus verkregen waarden worden conclusies verbonden betreffende de toestand en het functioneren van foetus en/of placenta. Hierbij kunnen een aantal kanttekeningen worden gemaakt.

a. De concentraties van een in de foetoplacentaire eenheid gevormd product in moederlijk bloed en urine of in vruchtwater zijn niet uitsluitend afhankelijk van de productie, doch eveneens van metabolisme en clearance. Ook zal het moederlijke extracellulaire volume invloed hebben op de concentratie in plasma of serum. Alle genoemde factoren zullen oorzaak kunnen zijn van grote intra- en interindividuele variaties in concentratie en uitscheiding bij gelijke productie.

b. De concentraties van een in de foetoplacentaire eenheid gevormde stof bij de moeder kunnen een afspiegeling vormen van de mate, waarin de foetoplacentaire eenheid in staat is tot biosynthese van de betreffende stof. Het is echter niet zonder meer aan te nemen dat daaruit conclusies kunnen worden getrokken over de transportfunctie van de trofoblast en over de algemene toestand van de foetus.

c. Het trekken van conclusies uit bepaling van foetoplacentaire hormonen en enzymen bij de moeder wordt in ernstige mate belemmerd door het feit, dat zowel de fysiologische functie van deze stoffen alsook de mechanismen die de productie ervan beïnvloeden grotendeels onbekend zijn.

Uit het bovenstaande volgt, dat bepaling van door de foetoplacentaire eenheid geproduceerde stoffen bij de moeder of in het vruchtwater een potentiële maat voor de toestand en de functie van foetus en placenta kan opleveren, doch dat de klinische waarde van een dergelijke bepaling altijd empirisch zal moeten worden vastgesteld.

De beslissing of een bepaalde variabele al dan niet afwijkend (pathologisch) moet worden geacht berust op de definitie van de grenzen van de "normale waarden" van die variabele. Het is in de klinische geneeskunde -en de verloskunde maakt daarop zeker geen uitzondering- meestal moeilijk en soms onmogelijk om een volledig representatieve steekproef te verkrijgen uit de populatie, waarvoor men het normaal-

waardenbereik van een variabele wil bepalen. In ieder geval moet echter worden geeist, dat de "normale" populatie waaruit de steekproef wordt genomen -in ons geval de "ongestoorde zwangerschap"- zo nauwkeurig en ondubbelzinnig mogelijk wordt gedefinieerd. Verder dient de steekproef in principe aselekt te worden genomen. Bij empirisch klinisch onderzoek naar de betekenis van waarden van een variabele in een pathologische situatie is uiteraard een zo nauwkeurig mogelijke definitie van de te onderzoeken pathologische populatie van essentieel belang. Verder zal de gevonden waarde van de variabele geen invloed mogen uitoefenen op het klinische beleid, tenzij dit gebeurt in het kader van een vooropgezet, gerandomiseerd klinisch onderzoek. Uit een in 1973 binnen de afdeling Obstetrie van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt verricht literatuuronderzoek betreffende de klinische betekenis van de HPL-bepaling bleek dat geen van de gepubliceerde onderzoeken aan deze basale methodologische vereisten voldeed en de resultaten veelal sterk uiteenliepen en slecht vergelijkbaar waren. Daarom werd besloten deze bepaling vooralsnog niet in het obstetrisch-diagnostische pakket op te nemen, doch eerst een eigen onderzoek uit te voeren naar de klinische waarde van de HPL-bepaling in moederlijk serum. Aangezien in dezelfde periode publicaties verschenen over de mogelijke waarde van de AFP bepaling in moederlijk serum als maat voor de toestand van de foetus werd ook deze bepaling in het onderzoek opgenomen.

De doelstellingen van het in dit proefschrift beschreven onderzoek kunnen dan ook als volgt worden geformuleerd.

1. Het met behulp van een algemeen toepasbare radio-immunologische methode bepalen van concentraties van HPL en AFP in serum van zwangeren met een volgens omschreven criteria ongestoord verlopende zwangerschap en het samenstellen van referentiecurven. .
2. Het in een prospectieve opzet evalueren van de klinische waarde van HPL- en AFP-concentraties in het serum van zwangeren met een omschreven afwijkend verloop van de zwangerschap, als maat voor de toestand van de foeto-placentaire eenheid.
3. Het toetsen van de literatuurgegevens aan de resultaten van dit onderzoek.

Hoofdstuk 2.

Literatuuroverzicht betreffende Human Placental Lactogen (HPL).

2.1. Inleiding en nomenclatuur

Erhardt (1936) toonde als eerste een prolactine-achtige activiteit aan in extracten van menselijk placentaweefsel. Ito en Higashi (1961) berichtten 25 jaar later de isolatie van een placenta-extract, dat in de duivekroptest eenzelfde werking had als hypofysair prolactine. Josimovich en McLaren (1962) isoleerden uit placenta-extracten en uit perifere en retroplacentaire bloeden van zwangeren \bar{a} terme een substantie, die een partiële immunologische kruisreactie toonde met menselijk groeihormoon. Deze substantie, die de groei van de duivekrop bleek te stimuleren, noemden zij Human Placental Lactogen (HPL). Kaplan en Grumbach (1964) bevestigden deze bevindingen, doch behalve de lactogene werking stelden zij ook een somatotroop effect vast. Gezien de overeenkomsten met zowel groeihormoon als prolactine introduceerden zij de naam: chorionic growth hormone prolactin (CGP). Behalve de genoemde namen worden in de literatuur ook gebruikt: human placental factor (Currie e.a., 1966), placental protein (Friesen, 1965b) en purified placental protein (PPP) (Florini e.a., 1966). Om een einde te maken aan deze verwarrende nomenclatuur is door leidende onderzoekers voorgesteld de naam Human Chorionic Somatomammotropin (HCS) (Li e.a., 1968) te gebruiken. Nadien is op een conferentie over lactogene hormonen (Lactogenic Hormones, 1972) voorgesteld om de oorspronkelijke benaming Human Placental Lactogen (HPL) te blijven gebruiken, gezien het feit dat de fysiologische rol van het hormoon nog duister is. Om deze reden en mede op historische gronden is ook in dit proefschrift de voorkeur gegeven aan de term HPL.

2.2. Structuur van HPL

Human placental lactogen is een polypeptide met een molecuulgewicht van ongeveer 22.000. Door diverse groepen is de structuur opgehelderd (Catt e.a., 1967a, 1967b; Sherwood, 1967; Sherwood e.a., 1971; Li e.a., 1971 en 1973; Niall e.a., 1971 en 1973). Het HPL bestaat uit één lange keten van 191 aminozuren. Binnen de keten bestaan twee disulfide bruggen. Door deze bruggen wordt de tertiaire structuur en

daarmee het immunologische gedrag van het hormoon bepaald (Aloy e.a., 1972). Verbreking van deze bruggen doet de immunologische activiteit verdwijnen (Handwerger e.a., 1972).

Er bestaat een grote overeenkomst tussen de structuur van HPL en die van groeihormoon; van de 191 aminozuren bevinden zich er 160 op identieke plaatsen in de keten. Van de 31 verschillen zijn er 24, die vrijwel zeker geen invloed hebben op het biologische gedrag van het hormoon, terwijl er slechts 7 verschillen zijn, die werkelijk van belang lijken te zijn (Dayhoff, 1972). Suwa en Friesen (1969a) zagen bij in vitro synthese van HPL door extracten van placentaweefsel behalve HPL met een molecuulgewicht van ongeveer 20.000 ook een eiwit met een molecuulgewicht van meer dan 100.000 ontstaan, dat eveneens reageerde met anti-HPL-serum. Alleen het klein-moleculaire HPL werd aan het medium afgegeven. Zij suggereren dat HPL in de placenta wordt gevormd als precursor, met een molecuulgewicht van meer dan 100.000, waarna deze precursor wordt omgezet tot het klein-moleculaire HPL, dat weer aan de bloedbaan wordt afgestaan. Geiger e.a. (1974) hebben echter aannemelijk gemaakt dat groot-moleculair HPL in serum wordt gevormd door aggregatie gedurende een incubatietijd van enige uren en dus als een artefact moet worden beschouwd.

2.3. Biosynthese van HPL

De mogelijkheid om HPL te extraheren uit placentas, verkregen bij elke zwangerschapsduur vanaf 3½ week na de conceptie tot à terme, de aanwezigheid in trofoblastweefsel bij de afwezigheid van een foetus (mola hydatidosa en windei) en het niet aanwezig zijn van HPL in de deciduaweefsel suggereren een placentaire genese (Josimovich en Atwood, 1964; Josimovich en Brande, 1964). Sciarra e.a. (1963) toonden met immunofluorescentie de aanwezigheid aan van HPL in het cytoplasma van de syncytiotrofoblast. Deze bevindingen zijn later bevestigd door Currie e.a. (1966), Beck e.a. (1969), Beck (1970) en Ikonicoff e.a. (1973). Het jongste embryo waarbij HPL in de syncytiotrofoblast is aangetroffen, is een embryo van 12 dagen na de conceptie (Currie e.a., 1966).

Het uiteindelijke bewijs voor de placentaire synthese werd geleverd door Grumbach en Kaplan (1964), die in-vitro synthese van HPL door weefselcultures van menselijke placentas aantoonde. Met meer moderne

technieken werd dit eveneens aangetoond door Gusdon en Yen (1967), Suwa en Friesen (1969a, 1969b), Friesen e.a. (1969) en Boime e.a. (1974).

2.4. Metabolisme van HPL

Na de geboorte van de placenta verdwijnt HPL snel uit de moederlijke circulatie. Een overzicht van de literatuur betreffende de halfwaardetijd wordt gegeven in tabel 2.1. Aanvankelijk werd een enkelvoudige exponentiële verdwijningscurve van HPL gevonden met een halfwaardetijd variërend van 10 - 30 minuten. Bij langere observatieperioden (tot 4 dagen) bleek, dat de verdwijningscurve uit tenminste twee componenten bestond. De eerste (snelle) component heeft een halfwaardetijd van 9.2 - 25 minuten. De tweede (langzame) component heeft een halfwaardetijd van 66 uur. Geiger (1973) neemt aan dat de snelle component de verdwijning van HPL uit de intravasculaire ruimte weergeeft en de langzame component de verdwijning van HPL dat gebonden is aan de cellen. De metabole klaring is berekend op 175 ml per minuut (Beck en Daughaday, 1967) onafhankelijk van de hoeveelheid HPL in het serum (Kaplan e.a., 1968). De produktie van HPL door de placenta, berekend uit de concentratie in moederlijk plasma en de metabole klaring, loopt op van ongeveer 50 mg per dag aan het einde van het eerste trimester van de zwangerschap tot ongeveer 1.5 gram per dag \bar{a} terme. Het voorkomen van deze, voor een hormoon enorme, produktie kon worden bevestigd door in-vitro studies. Ongeveer 10 % van alle door de placenta geproduceerde eiwitten wordt gevormd door HPL (Friesen, 1968; Friesen e.a., 1969; Suwa e.a., 1969a en 1969b; Boime e.a., 1974). De placenta staat het gevormde HPL vrijwel uitsluitend af aan de moederlijke circulatie; zeer weinig is terug te vinden in foetaal bloed of in vruchtwater.

Over de afbraak in het lichaam van de moeder en over de uitscheiding van HPL is weinig bekend. Zeer geringe hoeveelheden HPL worden in de urine gevonden, variërend van \pm 1 microgram per dag in het eerste trimester van de zwangerschap tot \pm 50 microgram per dag \bar{a} terme met een zeer grote spreiding (Grumbach e.a., 1968; Geiger, 1974). De hoeveelheid met de urine uitgescheiden HPL is dus te verwaarlozen in vergelijking met de dagproduktie. De renale klaring is \pm 0.006 ml per minuut met een grote individuele spreiding (Keller e.a., 1970a;

Tabel 2.1.: De biologische halfwaardetijd van HPL.

<u>Auteurs</u>	<u>A. Uitgaande van een enkelvoudig exponentiele verdwijningscurve post partum</u>	<u>halfwaardetijd (minuten)</u>	<u>observatietijd (minuten)</u>
Kaplan en Grumbach (1965b)		13	?
Beck e.a. (1965)		21.7 - 23.2	90
Samaän e.a. (1966)		30	60
Spellacy e.a. (1966)		29	180
Kaplan e.a. (1968), Grumbach e.a. (1968)		11.5 - 19.6	60
Keller e.a. (1970a)		21	?
Singer e.a. (1970)		14.5	30
Pavlou e.a. (1972)		10.8 - 20.2	60
Melchert (1973)		12	45
Sato (1973)		17.2	60
Crystle e.a. (1974)		10 - 30 à 60	240
Gaede e.a. (1974b)		13.2 - 16.4	40
<u>B. Uitgaande van een enkelvoudig exponentiele verdwijningscurve na toediening van radioactief gemerkt HPL</u>			
Beck en Daughaday (1967)		13.4 - 26.5	30
Kaplan e.a. (1968)		21.4 - 29.3	60
<u>C. Uitgaande van een dubbel exponentiele verdwijningscurve post partum</u>			
Kaplan e.a. (1968)	resp. 10.0 - 15.2 en 32.7 - 61.3		5 uur
Berie e.a. (1973)	resp. 24 en ?		57 uur
Geiger (1973)	resp. 18 - 25 66 uur		4 dagen
<u>D. Uitgaande van een dubbel exponentiele verdwijningscurve na toediening van radioactief gemerkt HPL</u>			
Grumbach e.a. (1968)	resp. 9.2 - 13 en 45.6 - 82.7		2½ uur

Geiger 1974). De uitscheiding van HPL via de darm is aan het einde der zwangerschap minder dan 0.5 mg per dag (Geiger, 1974), dus eveneens gering. Uit dierexperimenteel onderzoek (Rochman e.a., 1972) is gebleken, dat het HPL wordt afgebroken in de nier; de lever zou slechts een ondergeschikte rol spelen. Ylikorkala (1973) vond echter bij patiënten met icterus gravidarum hoge tot zeer hoge HPL-spiegels, hetgeen toch wijst op een mogelijke functie van de lever in het metabolisme van HPL, zoals dat ook het geval is bij de afbraak van het verwante groeihormoon (Taylor e.a., 1972). De concentratie van HPL in navelstrengbloed is zeer laag: ongeveer 20 microgram per liter (Grumbach e.a., 1964; Beck e.a., 1965; Samaän e.a., 1966; Spellacy e.a., 1966). De verhouding tussen de HPL-concentratie in navelstrengbloed en in moederlijk bloed is 1 : 300 à 1 : 500 met een grote spreiding (1 : 80 tot 1 : 1700) (Grumbach e.a., 1968; Singer e.a., 1970; Geiger e.a., 1971; Crosignani e.a., 1972; Sprague e.a., 1973; Geiger, 1973, 1974). Gezien deze lage concentratie van HPL in het navelstrengbloed kan worden gesteld, dat de placenta het HPL voor het grootste gedeelte afgeeft aan de moederlijke circulatie. Geiger e.a. (1971) en Geiger (1974) bepaalden de HPL-spiegels zowel in de arteria als vena umbilicalis. Vrijwel steeds was de concentratie in de vena hoger dan in de arteria.

Over het metabolisme van HPL binnen het foetale compartiment is zeer weinig bekend. HPL wordt in uiterst geringe hoeveelheden gevonden in foetale urine en in meconium (Geiger, 1974). Dit uitscheidingspatroon komt dus overeen met dat van de moeder. De biologische halfwaardetijd van HPL bij de neonatus is eveneens dubbel exponentieel met een halfwaardetijd voor het eerste uur van 26-38 minuten (Geiger, 1973). Ook in vruchtwater kan HPL worden aangetoond; à terme is de concentratie ongeveer 0.5 nanogram/l (Grumbach e.a., 1968; Keller e.a., 1970a; Crosignani e.a., 1972; Tyson e.a., 1972; Berle, 1974). Van de 11e tot de 23e zwangerschapsweek blijft de HPL-concentratie in het vruchtwater constant; na de 24e week stijgt de concentratie tot ongeveer het dubbele, waarna de concentratie constant blijft tot de 35e week om vervolgens weer te dalen (Berle, 1974). Gezien de grote spreiding is het verschil tussen de gemiddelde waarden in de diverse stadia van de zwangerschap niet significant. Chez e.a. (1970) vonden dat passage van HPL in vitro door een amnion-chorion preparaat

plaatsvond via zuivere diffusie. Indien dit in vivo eveneens het geval zou zijn, moet HPL in vruchtwater en/of foetus worden gemetaboliseerd om het grote concentratieverschil te kunnen handhaven.

2.5. Fysiologische factoren die de HPL-concentratie in het maternale serum beïnvloeden

Door vele onderzoekers is nagegaan welke fysiologische factoren de HPL-concentratie in het maternale serum kunnen beïnvloeden. Vooral veranderingen in de koolhydraatstofwisseling hebben in dit verband veel aandacht gehad.

a veranderingen in de koolhydraatstofwisseling

Door een aantal onderzoekers werd de mening naar voren gebracht dat hyperglycemie een daling en hypoglycemie een stijging van de HPL-spiegels ten gevolge had (Burt e.a., 1970; Spellacy e.a., 1971a; Pavlou e.a., 1973; Gaspard e.a., 1974). Andere onderzoekers vonden dit echter niet (Samaän e.a., 1966; Spellacy e.a., 1966; Grumbach e.a., 1968; Ajabor e.a., 1972; Tyson e.a., 1971). Nadere analyse van de gegevens leert dat de opgemerkte veranderingen in de HPL-concentratie steeds binnen de variatie van de bepalingmethode lagen. Alleen een chronische hongertoeestand, waarbij een langdurige hypoglycemie ontstaat, heeft een stijging van de HPL-concentratie tot gevolg (Tyson e.a., 1971; Kim e.a., 1971).

b andere factoren die de HPL-concentratie zouden kunnen beïnvloeden

- geen invloed van anemie van de moeder (Hb < 8 gr%) (Spellacy e.a., 1971a);
- geen correlatie met het geslacht van de foetus (Spellacy e.a., 1971a; Crosignani e.a., 1972);
- geen invloed van zware inspanningen op een ergometer (Lindberg e.a., 1973a; Pavlou e.a., 1973);
- geen invloed van intraveneus toegediend oxytocine (Lindberg e.a., 1973a) of prostaglandine F_{2α} (Keller e.a., 1972b) in een dosering, gebruikelijk ter inleiding van de partus à terme;
- geen invloed van continu roken gedurende 30 minuten (Pavlou e.a., 1973);
- geen invloed van staande of liggende houding (Ylikorkala e.a., 1973a);

- geen verandering van de HPL-spiegels gedurende 10 dagen bedrust (Letchworth e.a., 1974);
- geen invloed van dexamethason oraal (Ylikorkala e.a., 1974) en oestrogenen intraveneus (Niven e.a., 1974);
- geen invloed van verhoging resp. verlaging van de concentratie van vrije vetzuren (Morris e.a., 1974);
- de in vitro synthese van HPL door placentahomogenaten werd niet beïnvloed door toevoeging van resp. progesteron, insuline, cortisol, cortisol + insuline, en cyclisch AMP (Suwa en Friesen, 1969b).

Op grond van deze gegevens kan worden geconcludeerd dat een chronische hongertoestand de enige experimentele omstandigheid is, die de HPL-concentratie in het moederlijk serum beïnvloedt. Onder fysiologische omstandigheden lijkt de productie door de placenta autonoom te zijn.

2.6. Dagritme en dagschommelingen van HPL

Vele onderzoekers (Spellacy e.a., 1966, 1971a; Samaän e.a., 1966; Keller e.a., 1970a; Teoh e.a., 1971; Berle e.a., 1972; Lindberg e.a., 1972, 1973a; Pavlou e.a., 1972; Gaede e.a., 1974b) hebben nagegaan of de HPL-concentratie in het moederlijk plasma een bepaald dagritme vertoont. Geen van hen kon een vast patroon vinden; wel werden over de loop van de dag verschillen gemeten, die echter binnen de variatie van de bepalingsmethode bleken te vallen. Lindberg e.a. (1973a) en Pavlou e.a. (1972) hebben het dagritme onderzocht door het nemen van monsters met zeer korte intervallen (resp. 5 en 15 minuten). Zij zagen bij een groot deel der proefpersonen variaties in de HPL-concentratie die groter waren dan zou kunnen worden verklaard uit de variatie van de bepalingsmethode; in deze variaties was geen vast patroon te herkennen.

Het lijkt dus vast te staan dat de HPL-concentratie in het maternale plasma geen vast dagritme vertoont; wel treden er in de loop van de dag schommelingen op van wisselende grootte.

Het eigen onderzoek naar het dagritme van HPL is beschreven in hoofdstuk 5.3.

2.7. Biologische werking van HPL

De grote overeenkomst tussen de structuur van HPL en die van groeihormoon heeft aanleiding gegeven tot intensief onderzoek naar een mogelijke beïnvloeding van de moederlijke stofwisseling door HPL. In de zwangerschap is de HPL-concentratie vele malen groter dan de concentratie van groeihormoon, zodat mag worden verwacht dat het HPL hormonale effecten zal hebben op het lichaam van de zwangere, ook al bezit het slechts een fractie van de hormonale potentie van het groeihormoon.

- a Een anabole werking is aangetoond, zowel in dierproeven (Kaplan e.a., 1964; Grumbach e.a., 1964; Friesen, 1965a, 1965b, 1966; Florini e.a., 1966; Josimovich e.a., 1968; Murakawa e.a., 1968; Breuer, 1969) als bij hypofysaire dwergen (Grumbach e.a., 1968; Kaplan e.a., 1974).
- b HPL heeft op het vetweefsel van proefdieren in goede voedings-toestand een lipogene invloed; het bevordert de synthese van vetzuren uit glucose en opslag daarvan (Felber e.a., 1972). Op het vetweefsel van proefdieren na een periode van vasten heeft HPL juist een lipolytisch effect, waardoor vrije vetzuren uit het vetweefsel worden vrijgemaakt (Turtle en Kipnis, 1967; Felber e.a., 1972; Fredholm e.a., 1973; Strange e.a., 1974).
- c HPL heeft een insuline-antagonistisch effect op de weefselutili-satie van glucose. De glucosetolerantie vermindert onder invloed van HPL (Beck en Daughaday, 1965; Kalkhof e.a., 1969). Het effect van HPL op de insulinesecretie is nog onduidelijk. In vitro stimuleert HPL de synthese en de secretie van insuline (Malaisse e.a., 1969; Martin e.a., 1969), doch tesamen met progesteron blijkt HPL dit effect niet te hebben (Beck, 1970; Hager e.a., 1972).
- d De lactogene werking van HPL is in diverse bioassays aangetoond (Josimovich e.a., 1962; Kaplan e.a., 1964; Friesen, 1965b; Flo-rini e.a., 1966; Forsyth, 1967; Turkington e.a., 1966; Turking-ton, 1968). Beck (1972) toonde bij de rhesusaap aan dat HPL samen met 17β -oestradiol en progesteron een belangrijke rol speelt bij de voorbereiding van de mammae op de lactatie.

Uit dit alles kan worden geconcludeerd, dat HPL een fysiologisch be-langrijke hormonale werking heeft, vooral door de beïnvloeding van

de koolhydraat-en vetstofwisseling (Kaplan e.a., 1974). De hogere insulinespiegels (al dan niet onder invloed van HPL) tesamen met HPL resulteren bij zwangeren in goede voedingstoestand in een toegenomen eiwitsynthese, terwijl de verminderde glucosetolerantie ertoe bijdraagt dat, ondanks de hoge insulinespiegels, voldoende glucose beschikbaar is voor foetus en placenta. Na vasten treedt een versterkte lipolyse op, zodat vrije vetzuren bijdragen aan de energievoorziening. Mogelijk draagt het HPL ook bij de mens bij aan het tot stand komen van de lactatie.

2.8. HPL-concentratie in serum buiten de zwangerschap

HPL is in zeer kleine hoeveelheden aangetoond in het serum van patiënten met tumoren waarin trofoblastelementen aanwezig zijn: choriocarcinoma testis, choriocarcinoma ovarii, retroperitoneaal choriocarcinoma, teratocarcinoma testis, teratocarcinoma ovarii, dysgerminoma ovarii met choriocarcinoma, embryonaalcelcarcinoma (Frantz e.a., 1965; Saxena e.a., 1968b; Grumbach e.a., 1968; Goldstein, 1971; Weintraub e.a., 1971). Ook bij patiënten met tumoren zonder trofoblastelementen wordt een enkele maal HPL in het serum aangetroffen. Grumbach e.a. (1968) en Weintraub e.a. (1971) vermelden het voorkomen van HPL bij een aantal patiënten met longcarcinoom, bij een man met akute leukemie, bij een man met een feochromocytoom, bij een man met een hepatoom en bij een vrouw met een hepatoblastoom.

2.9. HPL-concentratie in moederlijk serum tijdens de zwangerschap

In de literatuur is veel aandacht besteed aan het verloop van HPL-spiegels in de zwangerschap, vooral met het oog op de mogelijkheid van toepassing van de HPL-bepaling voor bewaking van risikozwangerschappen. Wegens de autonome produktie van HPL door de placenta zou de bepaling van de concentratie van dit hormoon in maternaal serum goede informatie kunnen geven over de werking van de trofoblast. Omdat er geen internationale HPL-standaard bestaat en tevens omdat vrijwel iedere onderzoeker een eigen bepalingsmethode heeft ontwikkeld, zijn de resultaten van verschillende onderzoekers kwantitatief niet goed vergelijkbaar. Bij iedere bepalingsmethode dienen daarom de HPL-waarden verkregen in gestoorde zwangerschappen te worden geëvalueerd tegen de achtergrond van de waarden in ongestoorde zwangerschappen, verkregen met behulp van dezelfde bepalingsmethode.

2.9.1. de ongestoorde zwangerschap

In de literatuur zijn ruim dertig publikaties verschenen waarin waarden worden gegeven van de HPL-concentraties in het moederlijke serum tijdens de ongestoorde zwangerschap. Door ons werd nagegaan in hoeverre deze literatuurgegevens inderdaad betrouwbare "normaalwaarden" opleveren, die zouden kunnen worden gebruikt als referentiewaarden bij onderzoek van de HPL-concentraties in gestoorde zwangerschappen. Een onderzoek kan slechts betrouwbare "normaalwaarden" opleveren als tenminste aan de volgende voorwaarden wordt voldaan:

- a - aselechte verzameling van het materiaal, of bij selectie vermelding van de selectiekriteria;
- b - omschrijving van het begrip "normale zwangerschap";
- c - vermelding of het een longitudinaal of een transversaal onderzoek betreft; voor transversale studies is een vereiste, dat slechts één monster per patiënt bij het onderzoek is betrokken.

In tabel 2.2. is een overzicht gegeven van de onderzoekers die een transversale studie hebben verricht; longitudinale onderzoeken zijn samengevat in tabel 2.3.

Slechts vier onderzoekers vermelden een aselechte verzameling van het materiaal; bij alle andere studies ontbreken hierover gegevens. Slechts enkele malen is duidelijk omschreven welke criteria werden gehanteerd om een zwangerschap "normaal" te noemen; diverse auteurs geven hierover slechts geringe informatie, terwijl velen hieraan geheel voorbijgaan. Ook aan het derde criterium (aantal monsters = aantal patiënten) blijken slechts weinig studies te voldoen. Geen enkel onderzoek voldoet aan alle genoemde criteria. Feitelijk kan uit de literatuur dus geen enkele uitspraak worden gedaan betreffende het verloop en de spreiding van de HPL-spiegels tijdens de normaal verlopende zwangerschap en is daarmee tevens een evaluatie van de literatuurgegevens betreffende de HPL-spiegels tijdens pathologisch verlopende zwangerschappen niet mogelijk. Om hierover toch enige indruk te verkrijgen zullen de resultaten van de 15 studies waarbij het materiaal aselekt is verzameld en/of waarbij is voldaan aan het criterium één monster per patient mits althans enige informatie wordt gegeven over het begrip normale zwangerschap, worden gebruikt als "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurven, waaraan de

Tabel 2.2.: Overzicht van transversale studies betreffende HPL-concentraties in serum van zwangeren met een ongestoorde zwangerschap.

Auteurs	A. Onderzoeken, waarvan de resultaten nader worden besproken			
	aselecte verzameling	kriteria normale zwangerschap	aantal patiënten	aantal monsters
Saxena e.a. (1968a)	+	+	50	95
Saxena e.a. (1969)	+	+	?	112
Singer e.a. (1970)	-	±	285	285
Letchworth e.a. (1971b)	+	±	100	593
Spencer (1971)	-	+	167	167
Genazzani e.a. (1971)	-	±	214	214
Spellacy e.a. (1971b)	-	±	204	377
Gaspard e.a. (1972)	-	+	150	150
Cohen e.a. (1973)	+	-	241	241
Ylikorkala (1973)	-	+	263	411
Spellacy e.a. (1974b)	-	+	804	3014
	B. Onderzoeken, waarvan de resultaten buiten beschouwing worden gelaten			
Beck e.a. (1965)	-	-	79	79
Samaän e.a. (1966)	-	-	48	97
Samaän e.a. (1969)	-	-	8	80
Keller e.a. (1970b)	-	-	>200	183
Josimovich e.a. (1970)	-	-	151	?
Selenkow e.a. (1971)	-	-	155	155
Teoh e.a. (1971)	-	+	204	377
Spona e.a. (1971)	-	±	10	95
Niven e.a. (1972)	-	-	634	736
Genazzani e.a. (1972)	-	+	284	400
Lindberg e.a. (1972)	-	±	?	384
Lindberg e.a. (1973a)	-	±	?	432
Ward e.a. (1973)	-	±	41	185
Ylikorkala e.a. (1973b)	-	-	203	203
Melchert (1973)	-	-	205	205
Melchert (1974)	-	-	?	272
Siebert e.a. (1974)	-	+	67	?
Dudenhausen e.a. (1974)	-	±	137	254
Roger e.a. (1974)	-	±	320	589
Gaede e.a. (1974b)	-	-	436	436
Geiger (1974)	-	-	?	300
Nieder e.a. (1976)	-	-	79	101

+ : vermelding van duidelijke criteria; ± : geringe informatie; - : geen criteria vermeld

Tabel 2.3.: Overzicht van longitudinale studies betreffende HPL-concentraties in serum van zwangeren met een ongestoorde zwangerschap.

<u>Auteurs</u>	<u>A. Onderzoeken, waarvan de resultaten nader worden besproken</u>		
	aselecte verzameling	kriteria normale zwangerschap*	aantal curven
Saxena e.a. (1968a)	-	+	2
Spellacy e.a. (1970)	-	+	11
Teoh e.a. (1971)	-	+	12
Lindberg e.a. (1973a)	-	+	22
	<u>B. Onderzoeken, waarvan de resultaten buiten beschouwing worden gelaten</u>		
Kaplan e.a. (1965a)	-	-	4
Beck e.a. (1965)	-	-	9
Samaän e.a. (1966)	-	-	13
Spellacy e.a. (1966)	-	-	16
Singer e.a. (1970)	-	-	4
Geiger (1974)	-	-	7
Christensen e.a. (1974a)	-	-	23

* + : wel enige informatie, geen duidelijke criteria

- : geen informatie

resultaten uit pathologisch verlopende zwangerschappen kunnen worden getoetst (tabel 2.2.a en 2.3.a). Deze curven zullen ook worden vergeleken met de uit de gegevens van het eigen onderzoek samengestelde referentiecurve (zie hoofdstuk 6.1.). Alle overige onderzoeken zullen in dit proefschrift verder buiten beschouwing worden gelaten (tabel 2.2.b en 2.3.b), aangezien de informatie die hieruit kan worden verkregen onbetrouwbaar moet worden geacht.

2.9.2. de gestoorde zwangerschap

Hoewel evaluatie van de literatuurgegevens betreffende de HPL-spiegels tijdens pathologische zwangerschappen feitelijk niet goed mogelijk is (zie 2.9.1) zal toch worden gepoogd uit de beschikbare gegevens enige indruk te verkrijgen. In de volgende paragrafen wordt aangegeven welke literatuurgegevens met betrekking tot HPL-concentraties in de gestoorde zwangerschap in dit proefschrift zullen worden gebruikt bij de bespreking van de resultaten van het eigen onderzoek. Voor de feitelijke bespreking wordt verwezen naar de onderdelen van hoofdstuk 3 waarin het eigen onderzoek aan de orde komt.

2.9.2.1. HPL-concentraties bij hypertensie en toxicose

Veel auteurs hebben het verloop van de HPL-concentraties bij zwangeren met hypertensie en/of toxicose nagegaan (tabel 2.4.). Van in totaal 30 door ons onderzochte publicaties blijkt dat bij 15 onderzoeken het begrip hypertensie resp. toxicose in het geheel niet is omschreven. Van de resterende 15 onderzoeken is slechts bij 7 een "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurve beschikbaar (zie 2.9.1.). Alleen de resultaten van de auteurs die het begrip hypertensie resp. toxicose hebben omschreven en tevens beschikken over een "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurve (tabel 2.4.a) komen in aanmerking voor verdere bestudering en zullen bij de bespreking der resultaten van het eigen onderzoek worden betrokken (hoofdstuk 6.3.1.). De overige onderzoeken geven geen betrouwbare informatie (tabel 2.4.b).

2.9.2.2. HPL-concentraties bij stoornissen in de koolhydraatstofwisseling

Ook de HPL-concentraties bij zwangeren met diabetes mellitus zijn door een groot aantal auteurs beschreven. Selenkow e.a. (1971) zien in hun omvangrijke materiaal (111 patiënten, 797 monsters) geen systematische verschillen tussen de HPL-spiegels bij patiënten in de

Tabel 2.4.: Overzicht van de literatuur betreffende HPL-concentraties in serum van zwangeren met hypertensie en toxicose.

Auteurs	A. Onderzoeken, waarvan de resultaten nader worden besproken		
	omschrijving begrip hypertensie/toxicose	referentiecijve "onder voorbehoud bruikbaar" (2.9.1.)	aantal zwangeren
Spellacy e.a. (1970)	+	+	13
Teoh e.a. (1971)	+	+	71
Spellacy e.a. (1971b)	+	+	239
Letchworth e.a. (1972b)	+	+	55
Ylikorkala (1973)	+	+	214
Spellacy e.a. (1974b)	+	+	949
Kelly e.a. (1975)	+	+	308
B. Onderzoeken, waarvan de resultaten buiten beschouwing worden gelaten			
Saxena e.a. (1968a)	-	+	2
Saxena e.a. (1969)	-	+	17
Samaän e.a. (1969)	-	-	14
Josimovich e.a. (1970)	-	-	17
Seppälä e.a. (1970)	-	-	13
Singer e.a. (1970)	-	+	12
Keller (1970)	-	-	3
Keller e.a. (1971a)	+	-	72
Keller e.a. (1971b)	+	-	45
Keller e.a. (1971c)	-	-	94
Samaän e.a. (1971)	-	-	17
Spona e.a. (1971)	-	-	37
Varma e.a. (1971)	-	-	13
Spencer (1971)	-	+	8
Genazzani e.a. (1971)	-	+	53
Genazzani e.a. (1972)	-	-	80
Weber e.a. (1972)	+	-	6
Spona e.a. (1972)	+	-	2
Gitsch e.a. (1973)	+	-	1
Berie (1973)	+	-	5
Ward e.a. (1973)	-	-	13
Lindberg e.a. (1973b)	+	-	104
Christensen e.a. (1974b)	+	-	82
Nieder e.a. (1976)	-	-	26

+ : vermelding van duidelijke criteria; - : geen criteria vermeld

diverse klassen (klassificatie volgens White, 1965). Deze bevinding wordt onderschreven door alle overige auteurs die dit hebben nagegaan. De resultaten van de onderzoekers die hun patiënten niet volgens genoemde classificatie hebben ingedeeld, kunnen derhalve toch in de verdere beschouwingen worden betrokken. Helaas ontbreekt ook hier bij vele auteurs een "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurve. De onderzoeken waarin de HPL-spiegels bij zwangeren met diabetes mellitus worden beschreven ten opzichte van een "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurve (zie 2.9.1.) en waarin tevens wordt ingegaan op de relatie tussen de HPL-concentraties en de foetale resp. neonatale toestand (tabel 2.5.a) zullen bij de bespreking van de resultaten van het eigen onderzoek worden betrokken (hoofdstuk 6.3.2.). De overige onderzoeken (tabel 2.5.b) leveren onvoldoende informatie.

2.9.2.3. HPL-concentraties bij actief Rhesus-antagonisme

De gemiddelde HPL-spiegel bij zwangeren met een zeer ernstig Rhesus-antagonisme, waarbij intrauterine transfusie noodzakelijk was of waarbij hydrops foetalis ontstond, is volgens een aantal auteurs hoger dan de gemiddelde HPL-spiegel bij zwangeren met een minder ernstige aantasting van het kind (Samaän e.a., 1969; Genazzani e.a., 1971, 1972; Lindberg e.a., 1973b; Ylikorkala, 1973; Ward e.a., 1974). De HPL-spiegels bij Rhesus-antagonisme in relatie tot de toestand van de foetus/neonatus kunnen slechts worden vergeleken met de HPL-spiegels in normale zwangerschappen in de onderzoeken van Genazzani e.a. (1971), Ylikorkala (1973) en Ward e.a. (1974), daar bij de overige auteurs of een "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurve ontbreekt of de relatie tussen de HPL-concentratie en de toestand van de foetus/neonatus niet wordt besproken (tabel 2.6.a en 2.6.b). Hoewel de genoemde onderzoekers vermelden dat bij zwangeren met een ernstig Rhesusantagonisme regelmatig HPL-concentraties worden gezien die liggen boven de bovengrens van hun referentiecurve, zien zij bij vergelijkbare zwangeren toch ook normale HPL-spiegels. De HPL-bepaling heeft, voorzover te beoordelen op basis van de weinige literatuurgegevens, geen waarde bij het actieve Rhesus-antagonisme.

2.9.2.4. HPL-concentraties bij foetale groeivertraging

Slechts bij enkele auteurs kunnen gegevens worden gevonden over HPL-

Tabel 2.5.: Overzicht van de literatuur betreffende HPL-concentraties in serum van zwangeren met diabetes mellitus.

<u>Auteurs</u>	<u>A. Onderzoeken, waarvan de resultaten nader worden besproken</u>		
	referentiecurve "onder voorbehoud bruikbaar" (2.9.1.)	bespreking relatie HPL/ foetale toe- stand	aantal zwangeren
Spellacy e.a. (1971b)	+	+	33
Teoh e.a. (1971)	+	+	25
Cohen e.a. (1973)	+	+	24
UrSELL e.a. (1973)	+	+	34
Ylikorkala (1973)	+	+	34
<u>B. Onderzoeken, waarvan de resultaten buiten beschouwing worden gelaten</u>			
Beck e.a. (1965)	-	-	7
Saxena e.a. (1968a)	+	-	6
Saxena e.a. (1969)	+	-	12
Samaän e.a. (1969)	-	-	14
Josimovich e.a. (1970)	-	-	11
Keller e.a. (1970a)	-	-	7
Singer e.a. (1970)	+	-	13
Samaän e.a. (1971)	-	+	24
Selenkow e.a. (1971)	-	-	111
Spona e.a. (1971)	-	-	39
Varma e.a. (1971)	-	-	19
Genazzani e.a. (1971)	+	-	8
Genazzani e.a. (1972)	-	-	16
Keller e.a. (1972a)	-	-	22
Lindberg e.a. (1973b)	-	+	40
Persson e.a. (1973)	-	+	45
Ward e.a. (1973)	-	-	4
Spellacy e.a. (1974b)	+	-	23
Wiese e.a. (1974)	-	+	56

Voor verklaring + en - : zie tabel 2.4.

Tabel 2.6.: Overzicht van de literatuur betreffende HPL-concentratie in serum van zwangeren met actief Rhesusantagonisme.

<u>Auteurs</u>	<u>A. Onderzoeken, waarvan de resultaten nader worden besproken</u>		
	referentiecurve "onder voorbehoud bruikbaar" (2.9.1.)	bespreking relatie HPL/ foetale toestand	aantal zwangeren
Genazzani e.a. (1971)	+	+	14
Ylikorkala (1973)	+	+	18
Ward e.a. (1974)	+	+	74
	<u>B. Onderzoeken, waarvan de resultaten buiten beschouwing worden gelaten</u>		
Samaän e.a. (1969)	-	+	20
Josimovich e.a. (1970)	-	-	26
Singer e.a. (1970)	+	-	14
Spellacy e.a. (1971b)	+	-	57
Teoh e.a. (1971)	+	-	5
Varma e.a. (1971)	-	-	5
Genazzani e.a. (1972)	-	+	26
Keller e.a. (1972a)	-	-	19
Lindberg e.a. (1973b)	-	+	59
Berle e.a. (1974)	-	+	80
Spellacy e.a. (1974b)	+	-	38
Bock e.a. (1976)	-	+	59
Nieder e.a. (1976)	-	+	7

Voor verklaring + en - : zie tabel 2.4.

concentraties bij zwangeren die een kind met een te laag geboortegewicht (small-for-dates) baarden en waarbij voor de groeiachterstand geen duidelijke oorzaak aanwezig was (geen hypertensie, geen toxicose, geen congenitale afwijkingen e.d.) (tabel 2.7.). Hiervan geven alleen Genazzani e.a. (1971) zowel een definiering van het begrip groeiachterstand, als een "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurve (zie 2.9.1.). Ylikorkala (1973) geeft resultaten van een groep zwangeren (inclusief toxicose etc.) met kinderen met een groeivertraging waarbij eveneens een goede definiering en een bruikbare referentiecurve wordt gegeven. De gegevens van deze beide publicaties worden verder besproken in hoofdstuk 6.2.2. Bij de overige auteurs ontbreekt een omschrijving van het begrip groeivertraging en/of een "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurve. Deze gegevens kunnen verder buiten beschouwing worden gelaten.

2.9.2.5. HPL-concentraties bij intrauterine vruchtdood

In vrijwel alle onderzoeken die gewijd zijn aan de klinische waarde van de HPL-bepaling, vindt men mededelingen over de HPL-concentratie in het moederlijk plasma vóór intrauterine vruchtdood. Meestal worden voorafgaande aan foetale dood HPL-concentraties gevonden, die liggen beneden de ondergrens van de referentiecurve, behalve in gevallen waarin de foetale dood een gevolg is van congenitale misvormingen, van uitzakken van de navelstreng, van actief Rhesus-antagonisme (Ward e.a., 1974) of in verband staat met een niet of slecht geregelde diabetes mellitus (Cohen e.a., 1973). Spellacy e.a. (1975) beschrijven de resultaten van een uitgebreide prospectieve studie, die wij nader zullen analyseren. Alle zwangeren met een "high-risk" zwangerschap werden willekeurig verdeeld in een onderzoeksgroep en een controlegroep. Bij iedere praenatale controle werd een HPL-bepaling verricht. De uitslagen van de bepaling bij zwangeren uit de onderzoeksgroep werden aan de behandelende artsen meegedeeld en in het beleid betrokken; de uitslagen van de controlegroep werden niet meegedeeld. In de verdere begeleiding waren geen verschillen. Bij de HPL-concentraties in de zogenaamde "fetal danger zone" (minder dan 4 mg per liter na de 30e zwangerschapsweek) werd, zodra het kind rijp genoeg werd geacht (L/S ratio in vruchtwater > 2.0) de zwangerschap beëindigd, hetzij langs vaginale, hetzij langs abdominale weg. De onderzoeksgroep bestond uit 1362 patiënten, de controlegroep uit

Tabel 2.7.: Overzicht van de literatuur betreffende HPL-concentraties in serum van zwangeren met foetale groeivertraging.

<u>Auteurs</u>	<u>A. Onderzoeken, waarvan de resultaten nader worden besproken</u>				aantal zwangeren
	referentiecurve "onder voorbehoud bruikbaar" (2.9.1)	omschrijving begrip foetale groeiver- traging	geen duidelijke oorzaak voor foetale groei- vertraging		
Genazzani e.a. (1971)	+	+	+		5
Ylikorkala (1973)	+	+	-		66
<u>B. Onderzoeken, waarvan de resultaten buiten beschouwing worden gelaten</u>					
Saxena e.a. (1969)	+	-	-		11
Josimovich e.a. (1970)	-	-	-		15
Spencer (1971)	+	-	-		4
Varma e.a. (1971)	-	+	+		8
Genazzani e.a. (1972)	-	-	-		13
Ward e.a. (1973)	-	-	-		6
Lindberg e.a. (1973b)	-	+	+		6
Barentsen e.a. (1973)	-	+	+		15
Boog e.a. (1974)	-	+	-		51
Siebert e.a. (1974)	-	-	-		20

Voor verklaring + en - : zie tabel 2.4.

1371 patiënten. Van deze groepen hadden 117 resp. 113 patiënten één of meer HPL-waarden in de F-D zone; van de 117 patiënten uit de onderzoeksgroep overleden 4 kinderen perinataal, van de 113 patiënten uit de controlegroep overleden er 17. Helaas worden over deze kinderen geen nadere gegevens verstrekt. Ook wordt niet vermeld de perinatale sterfte bij de 2503 zwangeren waarbij geen HPL-waarden beneden de 4 mg per liter werden gevonden. De schrijvers zeggen alleen, dat deze sterfte laag was en in beide groepen niet significant verschilde. Als wij uitgaan van een totale perinatale sterfte van 1.6 %, zoals over geheel Nederland in 1973 (Phaff, 1975), zouden in de gehele bij dit onderzoek betrokken groep zwangeren 44 gevallen van perinatale sterfte moeten zijn opgetreden; aangezien alle zwangeren "high-risk" patiënten waren lijkt het zelfs waarschijnlijk dat dit aantal groter zal zijn.

Dit zou betekenen dat in dit onderzoek in ruim de helft van de gevallen van perinatale sterfte normale HPL-waarden zouden zijn gevonden! Hoewel in de groep zwangeren met HPL-waarden in de F-D zone een significante daling werd gezien van de perinatale sterfte wanneer de zwangerschap bij voldoende rijpheid van de foetus werd beëindigd, is in dit onderzoek niet aangetoond, dat de perinatale sterfte in beide groepen totaal significant verschilt.

2.9.3. de HPL-bepaling tijdens de ongestoord verlopende zwangerschap als screeningstest voor foetale nood durante partu

Letchworth e.a. (1972a), Yates (1973) en England e.a. (1974) onderzochten de relatie tussen HPL-waarden en tekenen van foetale resp. neonatale nood (hartactie < 120 slagen per minuut, meconiumhoudend vruchtwater, pH foetus < 7.25, Apgarscore na 1 minuut < 6) bij ongecompliceerd verlopen zwangerschappen. Al deze onderzoekers beschikken over een "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurve. Letchworth e.a. (1972a) en Yates (1973) nemen als kritische ondergrens een HPL-spiegel van 4 mg/l na de 35e zwangerschapsweek. HPL-waarden onder dit niveau worden gezien bij 13 % van alle normaal verlopende zwangerschappen. Deze auteurs vermelden dat bij 30 % van de zwangeren met één of meer HPL-waarden beneden 4 mg/l tekenen van foetale nood werden gezien. Dit was eveneens het geval bij 6½ % der patiënten met alle HPL-spiegels boven dit niveau. England e.a.

(1974) nemen als kritische ondergrens een HPL-concentratie van 3.5 mg/l na de 35e zwangerschapsweek bij dezelfde bepalingmethode. Zij zien bij 50 % van de zwangeren met één of meer HPL-waarden onder dit niveau tekenen van foetale nood durante partu, tegen 16 % bij zwangeren met alle HPL-waarden boven dit niveau.

Bij eerste beschouwing van deze gegevens lijkt een screening van schijnbaar normaal verlopende zwangerschappen dan ook zinvol, daar een gedeelte hiervan toch op basis van de uitslag van de HPL-bepaling als een "high-risk" groep kan worden onderscheiden. Een nadere analyse van de gegevens zet achter deze conclusie een vraagteken. Als criterium voor een normaal geboortegewicht wordt een gewicht van 2500 gram à terme aangenomen. In de intrauterine groeicurven van Kloosterman (1970) komt een gewicht van 2500 gram bij een zwangerschapsduur van 38 weken ongeveer overeen met de tiende percentiel; bij 42 weken ligt dit gewicht beduidend onder de 2.3 percentiel. Binnen de zogenaamde normale groep van bovengenoemde onderzoekers komen dus een aantal kinderen voor met een duidelijke groeivertraging. Volgens de literatuur (zie 2.9.2.4. en 6.2.) komen in zwangerschappen met foetale groeivertraging niet zelden lage HPL-waarden voor. Juist in gevallen van foetale groeivertraging door chronische placenta-insufficiëntie treedt vaak durante partu foetale nood op. Het is in de vermelde onderzoeken niet duidelijk in hoeverre juist bij deze groep de combinatie van lage HPL-waarden en foetale nood voorkomt, vergeleken met de groep zonder foetale groeivertraging.

Een tweede bezwaar tegen deze studies is, dat niet wordt vermeld op welke wijze het al dan niet bestaan van foetale nood is aangetoond. Een vereiste hiervoor is, dat alle baringen worden begeleid door continue registratie van de foetale hartactie en door foetale bloedgasanalyse, zodat het afwezig zijn van tekenen van foetale nood eveneens objectief wordt vastgelegd. De mogelijkheid van selectie, doordat bij zwangeren met lage HPL-waarden een meer frequente en meer adequate registratie van gegevens heeft plaatsgevonden dan bij de overige zwangeren, is niet uitgesloten. Samengevat kan worden gesteld, dat de literatuurgegevens weliswaar suggereren dat de HPL-bepaling als screeningstest in de normale zwangerschap zinvol kan zijn, doch dat nadere analyse van deze literatuur uitwijst dat het mogelijk en zelfs waarschijnlijk is, dat de resultaten zijn beïnvloed

door een te ruime omschrijving van het begrip normaal (met name voor wat betreft het geboortegewicht van het kind) en door selectie bij de bewaking durante partu.

Hoofdstuk 3.

Literatuuroverzicht betreffende Alfa-foetoproteïne (AFP).

3.1. Inleiding en nomenclatuur

In 1944 ontdekte Pedersen in het serum van runderfoetus een alfa-globuline, dat niet aanwezig was in het serum van volwassen runderen. Hij noemde dit eiwit fetuïne.

Tijdens een onderzoek naar de samenstelling van de eiwitten in het serum van de menselijke foetus met behulp van papierelectroforese vonden Bergstrand en Czar (1956, 1957) en iets later Halbrecht e.a. (1958) eveneens een alfa-globuline, dat niet bleek voor te komen in het serum van volwassenen en evenmin in dat van praematuur geboren kinderen. Daarna bleek dat bij alle daarop onderzochte zoogdieren een voor embryonen specifiek serum alfa-globuline aanwezig is (Gitlin en Boesman, 1967a). Dit eiwit heeft in de literatuur diverse benamingen:

- substance X (Bergstrand en Czar, 1957)
- fetuïne (Pedersen, 1944; Mawas e.a., 1969)
- embryo-specific-alfaglobulin (Tatarinov, 1964)
- F-protéïne (Galdo e.a., 1959)
- alfa₁-fetoprotéïne (Muralt e.a., 1961)
- alfa_F-globulin (Abelev e.a., 1967)
- fetal-alfa-globulin (Houstek e.a., 1968)
- postalbumine (Andreoli e.a., 1962)
- alfa-fetoproteïn (Gitlin en Boesman, 1966)

De naam alfa-foetoproteïne (AFP) heeft inmiddels algemeen ingang gevonden.

3.2. Structuur van AFP

AFP is een alfa-globuline; bij papierelectroforese bevindt de band zich tussen albumine en alfa-1-globuline (Bergstrand en Czar, 1956). Het molecuulgewicht wordt opgegeven als 64.600 (Nishi, 1970), 70.000 (Gitlin e.a., 1966; Ruoslahti e.a., 1971a) en 74.000 (Alpert e.a., 1971). De aminozuursamenstelling is nagegaan door Nishi (1970) en door Ruoslahti e.a. (1971a); de observaties van beide onderzoekers stemmen vrijwel met elkaar overeen. Van het glycoproteïne bestaat 97 % uit aminozuren en 3 % uit koolhydraten (Nishi, 1970).

3.3. Biosynthese van AFP

Door middel van in-vitro incubatie van embryonale weefsels met ^{14}C -gemerkte aminozuren werd aangetoond, dat de foetale lever AFP produceert (Gitlin e.a., 1967b; van Furth e.a., 1969; Kekomäki e.a., 1971). Dit werd door immunofluorescentiestudies bevestigd (Lindner e.a., 1968; Engelhardt e.a., 1971; Smith e.a., 1971a) en tevens werd hiermee aangetoond dat de produktie plaatsvindt in de cellen van het leverparenchym. Niet alle hepatocyten blijken actief te zijn voor wat betreft de AFP-produktie; Smith e.a. (1971a) vonden dat bij een foetus van 28 weken slechts 20 % van de hepatocyten AFP bevatte. De dooierzak, die bij het menselijke embryo nauwelijks tot ontwikkeling komt en al atretisch is tegen het einde van het eerste trimester van de zwangerschap, blijkt eveneens AFP te produceren (Gitlin e.a., 1970; 1972). Ook is er een geringe produktie van AFP in de foetale tractus gastrointestinalis, zowel in de maag als in de dunne darm (Gitlin, 1971; Gitlin e.a., 1972). In incubatieproeven met huid, skeletspieren, hersenweefsel, hart, long, nier, navelstreng, milt, thymus, pancreas, amnion en chorion werd geen AFP-produktie gezien (Gitlin e.a., 1967b, 1972; van Furth e.a., 1969). Wel zagen van Furth e.a. (1969) bij onderzoek van placentaweefsel geringe AFP-produktie bij 1 van 7 placentas en Gitlin e.a. (1972) bij 1 van 14 placentas.

3.4. Metabolisme van AFP

Over de produktiesnelheid en het metabolisme van AFP is weinig bekend. Smith e.a. (1971b) vonden, dat AFP in de foetale liquor cerebrospinalis in dezelfde concentratie aanwezig is als in het serum. Bij alle onderzochte foeten en neonaten met ascites -de oorzaak waarvan niet wordt vermeld- werd AFP in het ascitesvocht aangetroffen, eveneens in dezelfde concentratie als in het serum. Tevens toonden zij AFP aan in gal en faeces van alle onderzochte foeten en neonaten. Gitlin e.a. (1966) vonden AFP in urine van embryonen van 11 tot 13 weken oud. Ook Seppälä e.a. (1967) stelden vast dat AFP bij foeten van verschillende leeftijd en bij pasgeborenen via de urine wordt uitgescheiden.

De verdere beschikbare gegevens betreffen de concentratie van AFP in serum van foeten in diverse stadia van de zwangerschap, in navelstrengbloed, in bloed van neonaten en van volwassenen.

Reeds Bergstrand e.a. (1957) en Halbrecht e.a. (1958) merkten op, dat sera van jonge foeten veel meer AFP bevatten dan sera van oudere foeten. Tatarinov (1965, 1966) zag vanaf ongeveer de 14e zwangerschapsweek afnemende concentraties naarmate de zwangerschap verder was gevorderd. Gitlin e.a. (1966) onderzochten de AFP-concentratie in bloed van 36 embryonen en foeten. Bij 7 weken zwangerschapsduur werd een lage concentratie gevonden, terwijl bij 13 weken de concentratie hoog was, ongeveer 10 g/l. Daarna nam de concentratie vrij snel af, zodat bij 18-22 weken de bloedspiegel nog slechts een derde was van het maximum bij 13 weken en \bar{a} terme nog slechts 1 \bar{a} 2 %, dat wil zeggen ongeveer 0.1 g/l. Deze curve suggereert dus een verloop met een top bij ongeveer 13 weken, gevolgd door een vrijwel lineaire daling tot 36 weken. Hoewel na de 36e week de spreiding van de waarden zeer groot is, lijkt er dan een nog sterkere daling op te treden. Een dergelijk verloop werd later ook gevonden door van Furth e.a. (1969). Hoewel de maximale serumconcentratie wordt gevonden bij een zwangerschapsduur van ongeveer 13 weken, blijkt de totale hoeveelheid circulerend AFP, gebaseerd op het gewicht van de foetus, gedurende de periode van 13-22 weken toe te nemen (Gitlin e.a., 1966). Daarbij moet dan wel worden aangenomen dat het plasmavolume bij de foetus steeds evenredig is aan het lichaamsgewicht en tevens dat het katabolisme en de intra- extravasculaire verdeling constant blijft. Volgens deze berekening blijft de totale hoeveelheid circulerend AFP van 22-32 weken constant, om dan na de 32e week snel af te nemen. Gitlin e.a. (1966) concluderen uit deze gegevens dat de productiesnelheid van AFP van de 13e tot 22e week toeneemt, hoewel niet evenredig aan de gewichtstoename, waardoor de serumconcentraties lager worden. Daarna blijft de produktiesnelheid een tijdlang constant en de groei van de foetus veroorzaakt een verdere daling van de serumconcentraties. Na de 32e week neemt de produktie af; de oorzaak van het feit dat de hepatocyten dan kennelijk het vermogen verliezen om AFP te vormen is niet bekend (Abelev, 1971).

Bij de neonatus is een verdere daling van de AFP-concentratie te zien. Deze daling is meer uitgesproken dan tijdens het intrauterine leven, ongeacht het feit of het kind praematuur of \bar{a} terme is geboren (Gitlin e.a., 1966; Lardinois e.a., 1972; Hyvarinen e.a., 1973). De halfwaardetijd van AFP bij de pasgeborene is in de eerste week 5 \bar{a} 7 dagen (Gitlin e.a., 1966; Lardinois e.a., 1972; Nørgaard-Pedersen, .

1973b); na de eerste week is de halfwaardetijd ongeveer 3 dagen (Gitlin e.a., 1966). De individuele variatie in het verdwijningspatroon is echter zeer groot (Karlsson e.a., 1972; Nørgaard-Pedersen, 1973b). Na enkele weken zijn nog slechts zeer geringe hoeveelheden AFP in het bloed van het kind aan te tonen en bereikt de concentratie het niveau, dat ook bij volwassenen te vinden is (enkele microgr/l). Gedurende het gehele verdere leven blijft de AFP-concentratie onder normale omstandigheden op dit zeer lage niveau (Ruoslahti e.a., 1971b, 1972a; Seppälä e.a., 1972a; Masseyef e.a., 1974).

3.5. Biologische werking van AFP

Resultaten van enkele dierproeven suggereren dat AFP van invloed zou kunnen zijn op de foetale ontwikkeling. Smith (1972) bracht antiserum tegen AFP van de kip in in de dooierzak van bevruchte kippeieren en antiserum tegen AFP van de rat intraperitoneaal bij zwangere ratten. Van de kuikens ging 40 % dood; 50 % ontwikkelde diverse congenitale afwijkingen zoals rachischizis partialis en omphalocèle; slechts 10 % van de kuikens was normaal. Van de ratten aborteerde 20 %; 10 % van de levend geboren ratten had een meningomyelocèle; 70 % van de dieren was normaal. Alle controledieren (kuikens en ratten) waren normaal.

Slade (1973) gaf een intraveneuze injectie van anti-AFP aan zwangere konijnen, die 24 uur later werden gedood. Meer dan 50 % van de foeten bleek dood te zijn, terwijl alle foeten van een controlegroep nog in leven waren.

Uit het bovenstaande kan worden afgeleid dat de biologische functie van AFP nog verre van duidelijk is.

3.6. AFP-concentratie in serum buiten de zwangerschap

Na de foetale en neonatale periode is de AFP-concentratie in het serum zeer laag, minder dan 25 microgr/l (Ruoslahti e.a., 1971c, 1972b) of zelfs minder dan 10 microgr/l (Masseyeff e.a., 1974). Verhoogde AFP-waarden worden aangetroffen bij embryonale tumoren (overzicht bij Abelev, 1971), bij primair levercarcinoom (Tatarinov, 1964, 1965, 1966; Abelev e.a., 1967; Uriel e.a., 1967; Houstek e.a., 1968; Foli e.a., 1969; Masopust e.a., 1968; Hull e.a., 1970; Haber e.a., 1972), bij virus- en serumhepatitis, bij levercirrhose en bij levermetastasen (Akeyama e.a., 1972; Ruoslahti e.a., 1972b; Delmont e.a., 1974; Zeltzer e.a., 1974).

3.7. AFP-concentraties tijdens de zwangerschap

Alfa-foetoproteïne concentraties zijn bepaald in serum van zwangeren, in navelstrengbloed en in vruchtwater. Een aantal in de literatuur gepubliceerde resultaten zullen in de volgende paragrafen worden besproken.

3.7.1. AFP-concentraties in het serum van zwangeren

Met behulp van gevoelige radio-immunologische methoden is aangetoond dat bij zwangeren in het serum hogere AFP-concentraties voorkomen dan bij niet-zwangeren. De AFP-concentratie in de normale zwangerschap is echter nooit zo hoog dat AFP met immunodiffusietechnieken kan worden aangetoond (zie 3.7.1.1.). De verhoging van de AFP-concentratie in de graviditeit wordt vrijwel zeker veroorzaakt door de foetus, hoewel de mogelijkheid dat de zwangere vrouw zelf onder invloed van placentaire of foetale produkten meer AFP produceert dan buiten de graviditeit niet met zekerheid kan worden uitgesloten (Seppälä e.a., 1973a, 1973c; Herbinet e.a., 1974). Foetale AFP zou de moederlijke circulatie rechtstreeks via de placenta kunnen bereiken of misschien ook via het vruchtwater en passage door het amniochorion. De hierbij betrokken mechanismen zijn niet bekend (Herbinet e.a., 1974).

3.7.1.1. de ongestoorde zwangerschap

Publicaties die een overzicht geven van de AFP concentraties in de ongestoorde zwangerschap zijn samengevat in tabel 3.1. Het betreft uitsluitend transversale studies. In deze tabel wordt overeenkomstig het gestelde in hoofdstuk 2.9.1. aangegeven de wijze van patiëntselectie, de omschrijving van het begrip normale zwangerschap en het aantal monsters in relatie tot het aantal patiënten. Het blijkt, dat geen enkele studie voldoet aan de eisen die aan een goede transversale studie mogen worden gesteld. De drie studies waarin enige informatie wordt verstrekt betreffende de patiëntselectie zullen later nader worden besproken. Er is slechts één longitudinaal onderzoek verricht (Herbinet e.a., 1974). Het betreft hier 9 patiënten, maar helaas wordt geen aandacht besteed aan de selectiekriteria en aan de omschrijving van het begrip normale zwangerschap. Op grond van de literatuurgegevens kan dus geen betrouwbare uitspraak worden gedaan over het verloop van de AFP-concentratie in de normale zwangerschap. De indruk die uit de diverse publicaties wordt verkregen

Tabel 3.1.: Overzicht van transversale studies betreffende AFP-concentraties in serum van zwangeren met een ongestoorde zwangerschap

<u>Auteurs</u>	<u>A. Onderzoeken, waarvan de resultaten nader worden besproken</u>			
	aselecte verzameling	kriteria normale zwangerschap	aantal patiënten	aantal monsters
Seppälä e.a. (1973b, 1973c)	+	-	204	?
Kunz e.a. (1975)	-	+	?	260
Rodeck e.a. (1976)	-	+	480	543
<u>B. Onderzoeken, waarvan de resultaten buiten beschouwing worden gelaten</u>				
Seppälä e.a. (1972b)	-	-	?	79
Seppälä e.a. (1972c)	-	-	82	140
Ishiguro e.a. (1973), Ishiguro (1975)	-	-	130	130
Brock e.a. (1974)	-	-	?	299
Nørgaard-Pedersen e.a. (1974)	-	-	144	168
Brettes e.a. (1974)	-	-	386	721
Herbinet e.a. (1974)	-	-	82	150
Melcher (1975)	-	-	?	512
Monk (1976)	-	-	?	825
Conradt (1976)	-	-	?	183

+ : vermelding van duidelijke criteria

- : geen criteria vermeld

is dat de AFP-concentratie vanaf het begin van de zwangerschap tot ongeveer de 28e week geleidelijk stijgt, waarna de concentratie ongeveer gelijk blijft tot een zwangerschapsduur van omstreeks 35 weken om daarna af te nemen. De hoogst gemeten waarde binnen deze als normaal beschouwde groep zwangeren bedroeg 640 microgram per liter (Melchert, 1975). Met immunodiffusiemethoden is AFP in deze lage concentratie niet aantoonbaar.

3.7.1.2. de_gestoorde_zwangerschap

Onder bepaalde omstandigheden, waarop later nader zal worden ingegaan, worden in het serum van zwangeren hogere AFP-waarden gevonden dan normaal. Afgezien van moederlijke leveraandoeningen kan deze verhoging worden toegeschreven aan een toegenomen foetale produktie of aan een toegenomen transplacentaire of transmembraneuze passage (Seppälä e.a., 1973c; Herbinet e.a., 1974). Een geringe foetomaternale transfusie zal een merkbare stijging van de AFP-concentratie in het moederlijke serum veroorzaken, gezien de hoge concentratie van AFP in het foetale serum (Herbinet e.a., 1974; zie hoofdstuk 3.7.2.). Seppälä e.a. (1972c) en Nørgaard-Pedersen e.a. (1974) zagen dat bij beëindiging van de zwangerschap in het eerste trimester door middel van zuigcurettagage vrijwel steeds een duidelijke stijging van de AFP-concentratie bij de zwangere optrad, waarschijnlijk ten gevolge van foetomaternale transfusie. Bij beëindiging van de zwangerschap in het tweede trimester door middel van intraamniotische toediening van een hypertone zoutoplossing (Nørgaard-Pedersen e.a., 1974) of door extraamniotische toediening van prostaglandine $F_2\alpha$ (Seppälä e.a., 1972c) trad, voorafgaande aan de dood van de foetus, een stijging van de AFP-concentratie bij de zwangere op. Het pathogenetische mechanisme hiervan is nog onduidelijk, hoewel een vermeerderde doorlaatbaarheid van placenta en/of vliezen een rol zou kunnen spelen.

Bestudering van de literatuurgegevens betreffende de AFP-concentraties tijdens pathologisch verlopende zwangerschappen kan eigenlijk geen bruikbare gegevens opleveren, aangezien goed onderzoek naar het verloop van de AFP-waarden in de normale zwangerschap ontbreekt. De resultaten gepubliceerd door Seppälä e.a. (1973b, 1973c); Kunz e.a. (1975) en Rodeck e.a. (1976) zullen bij de bespreking van de resultaten van het eigen onderzoek worden behandeld, daar deze auteurs over een "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurve beschikken.

3.7.2. AFP-concentraties in het navelstrengbloed

Met eenvoudige immunodiffusiemethoden kan AFP altijd in navelstrengbloed worden aangetoond (Foy e.a., 1970; Nørgaard-Pedersen, 1973a, 1973b). De concentratie is afhankelijk van de zwangerschapsduur en daalt vanaf ongeveer 0.6 gr/l bij 30 weken lineair tot ongeveer 0.1 gr/l bij 40 weken (Nørgaard-Pedersen, 1973a, 1973b; Bergstrand e.a., 1972; Karlsson e.a., 1972; Lardinois e.a., 1972; Hyvarinen e.a., 1973; Edeling e.a., 1977). Tussen de AFP-concentraties in navelstrengbloed van jongens en van meisjes werden geen significante verschillen gevonden (Bergstrand e.a., 1972; Karlsson e.a., 1972; Lardinois e.a., 1972). Er is geen verschil tussen de AFP-concentratie in navelstrengbloed bij kinderen met een normaal geboortegewicht en bij dysmaturen van dezelfde zwangerschapsduur. Hierdoor kan bepaling van de AFP-concentratie in navelstrengbloed van nut zijn bij het retrospectief verifiëren van de zwangerschapsduur (Nørgaard-Pedersen, 1973a, 1973b). Door de grote spreiding van de AFP-waarden in het navelstrengbloed is de betekenis hiervan echter beperkt (Edeling e.a., 1977).

3.7.3. AFP-concentraties in het vruchtwater

Vrijwel alle auteurs die mededeling doen over AFP-concentraties in vruchtwater hebben gebruik gemaakt van immunodiffusietechnieken. Hiermee kan de AFP-concentratie tot de 22e zwangerschapsweek nauwkeurig worden bepaald. De AFP-waarden in het vruchtwater dalen van ongeveer 50 mgr/liter bij een zwangerschapsduur van 6-9 weken tot ongeveer 14 mgr/l bij een zwangerschapsduur van 19-21 weken (Kleijer e.a., 1974). Na deze periode moet een meer gevoelig radioimmunologische bepalingsmethode worden gebruikt.

Contaminatie met foetaal bloed is een belangrijke foutenbron, gezien de hoge concentratie van AFP in foetaal serum; contaminatie met moederlijk bloed zal van minder betekenis zijn (Harris e.a., 1974).

Brock en Sutcliffe (1972) vonden bij anencephalie en open spina bifida een (sterk) verhoogde AFP-concentratie in het vruchtwater. Dit is nadien door vele onderzoekers bevestigd.

Een overzicht van de literatuur op het gebied van prenatale detectie van sluitingsdefecten van de neurale buis wordt gegeven door Jahodova (1975) en Habib (1977). Recent zijn goede argumenten aangedragen om

ter opsporing van deze defecten als screeningstest de AFP-concentratie te bepalen in het serum van zwangeren in de 16e - 18e week. Bij verhoogde concentraties bestaat er een indicatie tot vruchtwateronderzoek (U.K. Collaborative Study, 1977).

Hoofdstuk 4.

Opzet en uitvoering van het eigen onderzoek.

Bij het onderzoek werden alle zwangeren betrokken die in een tijdsverloop van bijna twee jaar voor prenatale zorg werden ingeschreven op de Obstetrische Polikliniek van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt of werden opgenomen op de afdeling Pathologische Obstetrie van dit ziekenhuis, mits zij voldeden aan hierna te noemen criteria. Het onderzoek werd prospectief opgezet en gedeeltelijk transversaal, gedeeltelijk longitudinaal uitgevoerd. De serummonsters van alle zwangeren werden ingevroren en aan het einde van de verzamelperiode in achtereenvolgende series verwerkt. De uitslag van de bepalingen heeft dus geen invloed kunnen uitoefenen op het klinische beleid.

4.1. Criteria voor de selectie van de zwangeren

Voor elke bij het onderzoek betrokken zwangere gold dat de zwangerschapsduur zeker moest zijn. De zwangerschapsduur werd zeker geacht op grond van de volgende gegevens:

- eerste dag van de laatste menstruatie bekend en zeker
- regelmatige cyclus
- het gebruik van orale anticonceptiva gestaakt tenminste drie maanden voor de laatste menstruatie
- hoogte van de fundus uteri in de 16e-18e week passend bij de duur van de amenorrhoe.

Zonder kennis van de resultaten van de HPL- en AFP-bepalingen in het serum werden de zwangeren in 4 groepen ingedeeld.

Groep 1: ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus.

Alle zwangeren in deze groep voldeden voor wat betreft het verloop van de zwangerschap en de toestand van de neonatus aan de volgende criteria:

a zwangerschap

- zekere zwangerschapsduur (zie algemene criteria). De zwangerschapsduur zal steeds worden vermeld als de klassewaarde over een periode van 1 week. Tot de 40e week wordt bijvoorbeeld gerekend de periode van de 27e tot en met de 28e dag.

- een fysiologisch verlopen zwangerschap, zonder positieve of negatieve dyscongruentie, hypertensie, een stoornis in de glucosetolerantie of andere stoornissen (zie groep 3)
- partus na de 36e week

b neonatus

- één levend, gezond kind zonder congenitale afwijkingen en met een geboortegewicht > 10e percentiel en < 90e percentiel van de normale gewichtscurve en met een Apgarscore na 1 en 5 minuten \geq 7. Als in het vervolg wordt gesproken over percentielen van de normale gewichtscurve worden uitsluitend bedoeld de percentielen van de gewichtscurven van Kloosterman (1970).

Een beoordeling van de conditie van de foetus durante partu werd niet in het onderzoek opgenomen. Een objectieve beoordeling is alleen mogelijk indien de baring wordt gevolgd met behulp van cardiokografie en foetale bloedgasanalyse. Ten tijde van het onderzoek vond dit niet als routine bij alle zwangeren plaats. Evenmin is het voorkomen van meconium in het vruchtwater bij het onderzoek betrokken, omdat de afwezigheid hiervan niet in alle baringsverslagen expliciet werd vermeld.

Groep 2: ongestoorde zwangerschap met niet-optimale neonatus.

In deze groep voldeden alle zwangeren aan de bij groep 1 genoemde criteria voor een ongestoorde zwangerschap, doch niet aan de criteria voor een optimale neonatus.

In deze groep is de volgende onderverdeling gemaakt:

2.a. gewicht kind < 10e percentiel

2.b. gewicht kind > 90e percentiel

2.c. Apgarscore < 7

2.d. congenitale afwijkingen

Groep 3: gestoorde zwangerschap.

Alle zwangeren bij wie de zwangerschap niet fysiologisch verliep zijn in deze groep opgenomen, waarbij de volgende onderverdeling werd gemaakt:

3.a. *hypertensie en toxicose.* Tot deze groep werden alle zwangeren gerekend met een in zittende houding gemeten diastolische bloeddruk

van 90 mmHg of hoger, tenminste tweemaal gemeten met een tijdsinterval van 24 uur. Als diastolische bloeddruk werd aangehouden het punt waarop de vaattonen duidelijk zachter werden. Indien deze bloeddrukverhoging reeds in het begin van de zwangerschap bestond werd dit -preexistente- hypertensie genoemd. Indien de bloeddruk aan het begin van de zwangerschap normaal was, doch in de loop van de zwangerschap steeg tot 90 mmHg of hoger, werd gesproken van toxicose. Een ander criterium voor toxicose, proteinurie, kwam in dit onderzoek niet geïsoleerd voor. Met het geïsoleerd voorkomen van oedeem werd geen rekening gehouden.

3.b. stoornis in de glucosetolerantie. Voor de beoordeling van de orale glucosetolerantie na belasting met 50 gram glucose werden de criteria aangehouden die door van Riet e.a. (1974) zijn opgesteld. Een G.T.T. werd afwijkend genoemd op grond van de aanwezigheid van één of meer van de volgende criteria:

- nuchtere bloedsuikerwaarde hoger dan 5.6 mmol/l
- maximale bloedsuikerwaarde hoger dan 8.9 mmol/l
- na het maximum geen daling tot onder 6.7 mmol/l na 2 uur, of tot onder 5.6 mmol/l na 3 uur.

Drie groepen zwangeren met een gestoorde G.T.T. werden onderscheiden:

- 1 een gestoorde G.T.T. uitsluitend tijdens de zwangerschap, waarbij een behandeling ingesteld werd met een dieet
- 2 een gestoorde G.T.T. uitsluitend tijdens de zwangerschap, waarbij een behandeling ingesteld werd met een dieet en met insuline
- 3 een gestoorde G.T.T. in en buiten de zwangerschap. Tijdens de zwangerschap vond in deze gevallen altijd behandeling met dieet en insuline plaats.

3.c. actief Rhesusantagonisme. Van actief Rhesusantagonisme werd gesproken indien in het serum van Rhesus-negatieve zwangeren Rhesus-antistoffen werden aangetoond en/of de directe Coombs reactie in het navelstrengbloed positief was.

3.d. placenta praevia en solutio placentae.

3.e. diverse stoornissen in de zwangerschap. Tot deze groep werden de zwangeren gerekend waarbij, ondanks het feit dat zij niet tot de subgroepen 3.a. tot en met 3.d. konden worden gerekend, toch niet kon worden gesproken van een fysiologisch verloop van de zwangerschap.

Groep 4: meerlingzwangerschappen.

Alle zwangeren die meer dan één kind ter wereld brachten werden tot deze groep gerekend, ongeacht het al dan niet fysiologische verloop van de zwangerschap.

4.2. Numerieke samenstelling van de onderzochte groepen

In totaal voldeden 534 zwangeren aan de criteria voor opneming in het onderzoek. Van hen werden tijdens de zwangerschap één of meer bloedmonsters afgenomen. Bij 5 zwangeren rees gedurende de zwangerschap twijfel over de zekerheid van de zwangerschapsduur ondanks het feit dat zij aanvankelijk voldeden aan de selectiecriteria. Deze 5 zwangeren zijn achteraf niet in het onderzoek opgenomen. Drie zwangeren zijn elders bevallen, waarbij onvoldoende gegevens werden verkregen voor verdere bewerking. Bij 1 zwangere werd het bloed durante partu afgenomen. Deze 4 zwangeren zijn eveneens niet in het onderzoek betrokken.

Tabel 4.1.: In het onderzoek opgenomen zwangeren (HPL-bepaling)

	aantal zwangeren	aantal monsters
<u>groep 1</u> ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus	335	538
<u>groep 2</u> ongestoorde zwangerschap met niet-optimale neonatus		
a. kind < 10e percentiel	38	90
b. kind > 90e percentiel	26	41
c. apgarscore < 7	37	69
d. congenitale afwijkingen	5	8
<u>groep 3</u> gestoorde zwangerschap		
a. hypertensie en toxicose	39*	122*
b. stoornis in de glucosetolerantie	28*	163*
c. actief Rhesusantagonisme	3	10
d. placenta praevia/solutio placenta	4	25
e. diverse stoornissen	4	70
<u>groep 4</u> meerlingzwangerschap	12	65
totaal:	525	1165

* bij 6 zwangeren (36 monsters) was sprake zowel van een hypertensie, resp. toxicose als van een stoornis in de glucosetolerantie

Tabel 4.2.: In het onderzoek opgenomen zwangeren (AFP-bepaling)

	aantal zwangeren	aantal monsters
<u>groep 1</u> ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus	331	532
<u>groep 2</u> ongestoorde zwangerschap met niet-optimale neonatus		
a. kind < 10e percentiel	38	89
b. kind > 90e percentiel	26	41
c. apgarscore < 7	37	69
d. congenitale afwijkingen	5	8
<u>groep 3</u> gestoorde zwangerschap		
a. hypertensie en toxicose	39*	122*
b. stoornis in de glucose- tolerantie	28*	163*
c. actief Rhesusantagonisme	3	10
d. placenta praevia/solutio placentae	4	25
e. diverse stoornissen	4	68
<u>groep 4</u> meerlingzwangerschap	12	65
totaal:	521	1156

* bij 6 zwangeren (36 monsters) was sprake zowel van een hypertensie, resp. toxicose als van een stoornis in de glucosetolerantie

Uiteindelijk waren dus 525 zwangeren (1165 bloedmonsters) bij het onderzoek betrokken. De numerieke samenstelling van de onderzochte groepen zwangeren en de daarin afgenomen serummonsters is weergegeven in tabel 4.1. (HPL-bepaling) en in tabel 4.2. (AFP-bepaling).

De verschillen tussen de in de beide tabellen opgegeven aantallen worden veroorzaakt doordat na de HPL-bepaling van 9 sera onvoldoende materiaal was overgebleven voor de AFP-bepaling.

4.3. Het placentaonderzoek

Van alle zwangeren die bij het onderzoek waren betrokken werden de placentas zowel macroscopisch als microscopisch onderzocht. Het gewicht van de placentas werd direct post partum bepaald, na verwijdering van de navelstreng en de vliezen en na uitlekken van zoveel mogelijk bloed met behulp van een speciaal daarvoor geconstrueerde opstelling. Vervolgens werden de placentas gedurende tenminste 2 weken gefixeerd in 4 % gebufferde formaldehyde. De macroscopische beoordeling van alle placentas werd uitgevoerd door de auteur volgens

de methode aangegeven door Wallenburg (1971). Microscopisch onderzoek van een coupe uit een centraal en een lateraal macroscopisch normaal gebied, alsook uit macroscopisch niet met zekerheid te identificeren lesies, vond plaats op de afdeling Pathologische Anatomie I (Hoofd: Prof.Dr. G. Wielenga).

Voor ons onderzoek werden uitsluitend de resultaten verwerkt die betrekking hadden op infarcering. De uitgebreidheid van alle echte placentainfarkten (Wallenburg, 1971, 1973) werd geschat op basis van de verhouding van het gewicht van het geïnfarceerde weefsel ten opzichte van het totale netto placentagewicht en uitgedrukt als percentage van het nettogewicht.

Hoofdstuk 5.

De radioimmunologische bepaling van HPL.

Bloed werd verkregen via venapunctie. Van alle bloedmonsters werd het serum bewaard bij -20°C . Voor de bepaling van het HPL kan zowel serum als plasma worden gebruikt zonder dat dit invloed heeft op de uitslagen (Spellacy e.a., 1966; Lindberg e.a., 1972). De immunologische activiteit van HPL in totaal bloed, plasma en serum blijft gedurende tenminste twee dagen behouden wanneer het wordt bewaard bij een temperatuur tot 25°C (Spellacy e.a., 1966; Letchworth e.a., 1971a; Genazzani e.a., 1972; Lindberg e.a., 1972; van Kreef, 1974). Volgens Letchworth e.a. (1971a) heeft invriezen van serum tot -20°C of -70°C gedurende 6 maanden of langer geen invloed op de HPL-concentratie; deze auteurs vermelden bovendien dat driemaal ontdooien en opnieuw invriezen geen invloed heeft op de HPL-concentratie. Pas na de vierde maal ontdooien zagen zij een daling van de HPL-concentratie optreden.

5.1. Het principe van de bepaling van HPL

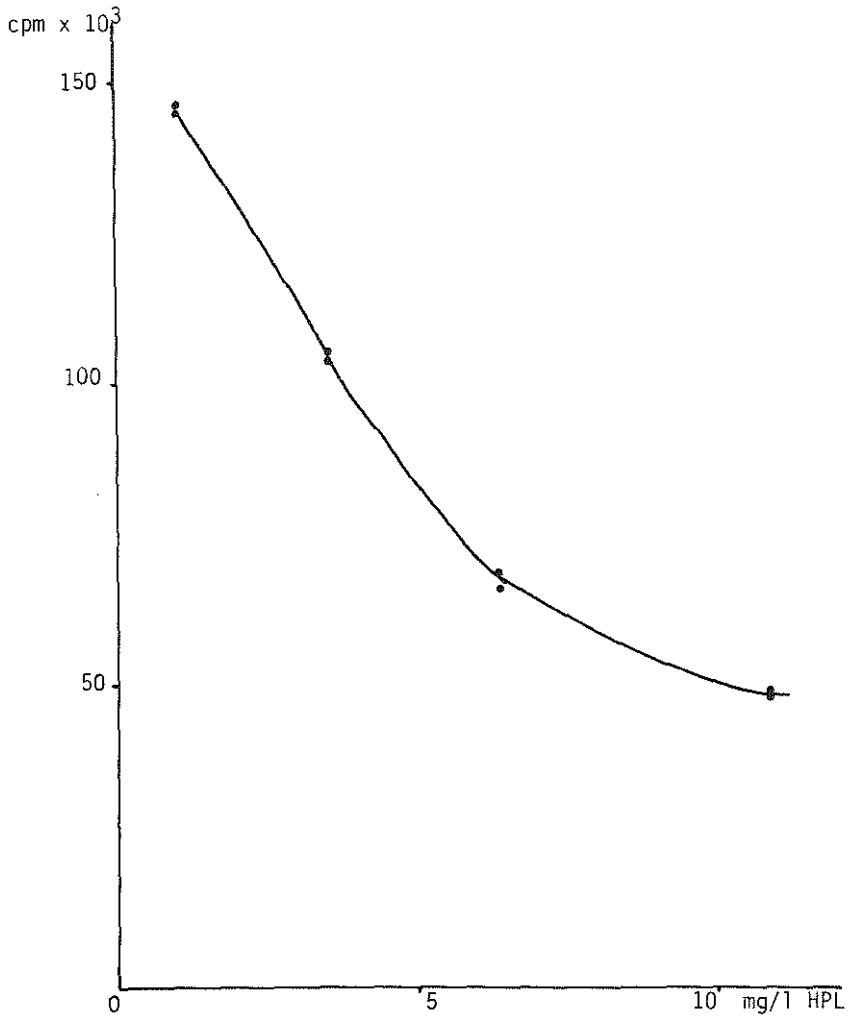
Er is geen bioassay voor HPL ontwikkeld; de kwantitatieve bepaling wordt via immunologische methoden uitgevoerd. De eerste bepalingmethode, een radioimmunologische, werd gepubliceerd door Kaplan en Grumbach (1965a). Sindsdien zijn vele radioimmunologische bepalingmethoden ontwikkeld (overzichten bij Genazzani e.a., 1971; 1972). Andere immunologische technieken die zijn toegepast voor de bepaling van HPL zijn: complementbinding (Varma e.a., 1970), heagglutinatieremming (Gusdon, 1969 en Gaede e.a., 1974a), immunoelektroforese (Gaede e.a., 1974b; Nørgaard-Pedersen e.a., 1974) en immunodiffusie (Spellacy e.a., 1974a). De meeste onderzoekers maken echter gebruik van een radioimmunologische bepalingmethode. Daarom zal het principe van deze bepalingmethode kort worden besproken.

Een radioimmunologische bepaling, vaak aangeduid als radio-immunoassay (RIA), berust op competitieve binding van het te bepalen hormoon (antigeen) en een toegevoegde hoeveelheid van hetzelfde, doch radioactief gemerkte hormoon aan een specifiek antiserum. Zonder de aanwezigheid van het te bepalen hormoon wordt een bepaald percentage van het radioactief gemerkte hormoon na een zekere incu-

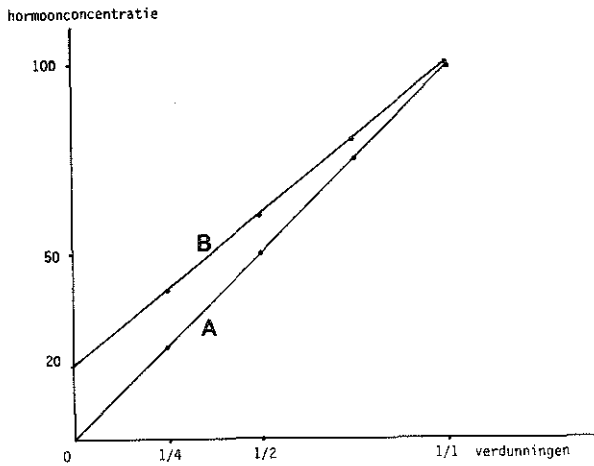
batieperiode gebonden aan het antiserum. Na scheiding van de aan antiserum gebonden fraktie en de vrije fraktie met behulp van immunologische of chemische methoden kan de hoeveelheid aan antiserum gebonden radioactiviteit worden gemeten. Toevoeging van niet-gemerkt hormoon leidt tot een vermindering van de hoeveelheid radioactiviteit in de aan antiserum gebonden fraktie; het antiserum bindt zich in principe zonder onderscheid aan gemerkt en ongemerkt hormoon. De verhouding tussen het ongebonden en het gebonden gemerkte hormoon is afhankelijk van de concentratie van de aanwezige hoeveelheid ongemerkt te bepalen hormoon. Door toevoegen van bekende hoeveelheden ongemerkt hormoon kan een standaardcurve worden geconstrueerd met behulp waarvan de hormoonspiegels in onbekende sera kunnen worden berekend. Een voorbeeld van een aldus geconstrueerde standaardcurve wordt gegeven in figuur 5.1.

Aan een betrouwbare radio-immuno-assay worden de volgende eisen gesteld:

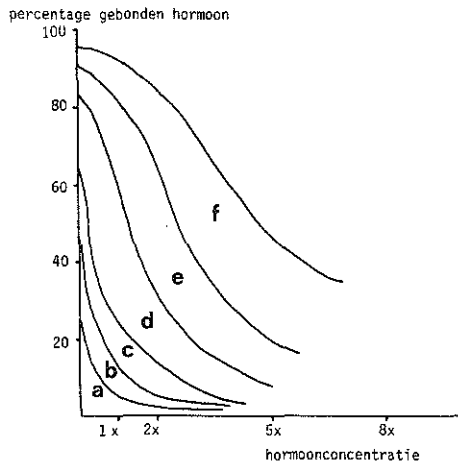
- de bepaling dient *specifiek* te zijn; het antiserum mag zich alleen binden met het betreffende hormoon zonder onderscheid te maken tussen het standaardhormoon en het niet gemerkte te bepalen hormoon. De specificiteit kan worden nagegaan door van het te bepalen serummonster een verdunningsreeks te maken met antigeenvrij serum. De hormoonconcentratie moet met de verdunning lineair dalen; de rechte lijn door de gevonden punten moet uiteindelijk door 0 gaan (figuur 5.2.).
- de bepaling dient voldoende *gevoelig* te zijn, geringe concentratieverschillen moeten nog kunnen worden aangetoond. Dit wordt bereikt indien de standaardcurve een steil verloop heeft en de metingen worden verricht in het steile deel van de curve. Hierbij is de concentratie van het antiserum van belang, zoals is af te lezen uit figuur 5.3.
- de bepaling dient voldoende *precies* te zijn, dat wil zeggen er dient een voldoende mate van onderlinge overeenstemming te zijn tussen de meetuitkomsten. De precisie wordt getest aan de inter-respectievelijk intra-assay variatie.
- de bepaling dient voldoende *nauwkeurig* te zijn. Onder de nauwkeurigheid (accuracy) van een meetmethode verstaat men de mate, waarin een gezochte waarde door de meetuitkomsten wordt benaderd.



Figuur 5.1. Voorbeeld van een standaardcurve geconstrueerd door toevoegen van bekende hoeveelheden ongemerkt HPL.



Figuur 5.2. Voorbeeld van specificiteitstest.
 A - test specifiek voor het te bepalen hormoon
 B - test niet specifiek voor het te bepalen hormoon:
 andere stof(fen) word(t)en meebepaald.



Figuur 5.3. Groep van theoretische curven, die weergeven het percentage gebonden gemerkt hormoon uitgezet tegen de hormoonconcentratie bij verschillende antiserum verdunningen. De concentratie van het antiserum neemt af van a naar f. De antiserumconcentratie, waarbij de curve in het te bepalen bereik het steilste verloop heeft levert de meest gevoelige bepaling op (naar Yalow e.a., 1970).

Voor de meeste radio-immuno-assays voor de bepaling van HPL waren wegens de lange incubatietijd enkele dagen nodig (overzicht bij Letchworth e.a., 1971a), zodat werd gezocht naar snellere bepalingmethoden. Letchworth e.a. (1971a) ontwikkelden een RIA, waarbij de tijdsduur voor één bepaling niet langer was dan één uur; zij gebruikten hoog geconcentreerd antiserum en brachten een scheiding van de vrije en de gebonden fraktie tot stand met een chemische methode (ethanolprecipitatie).

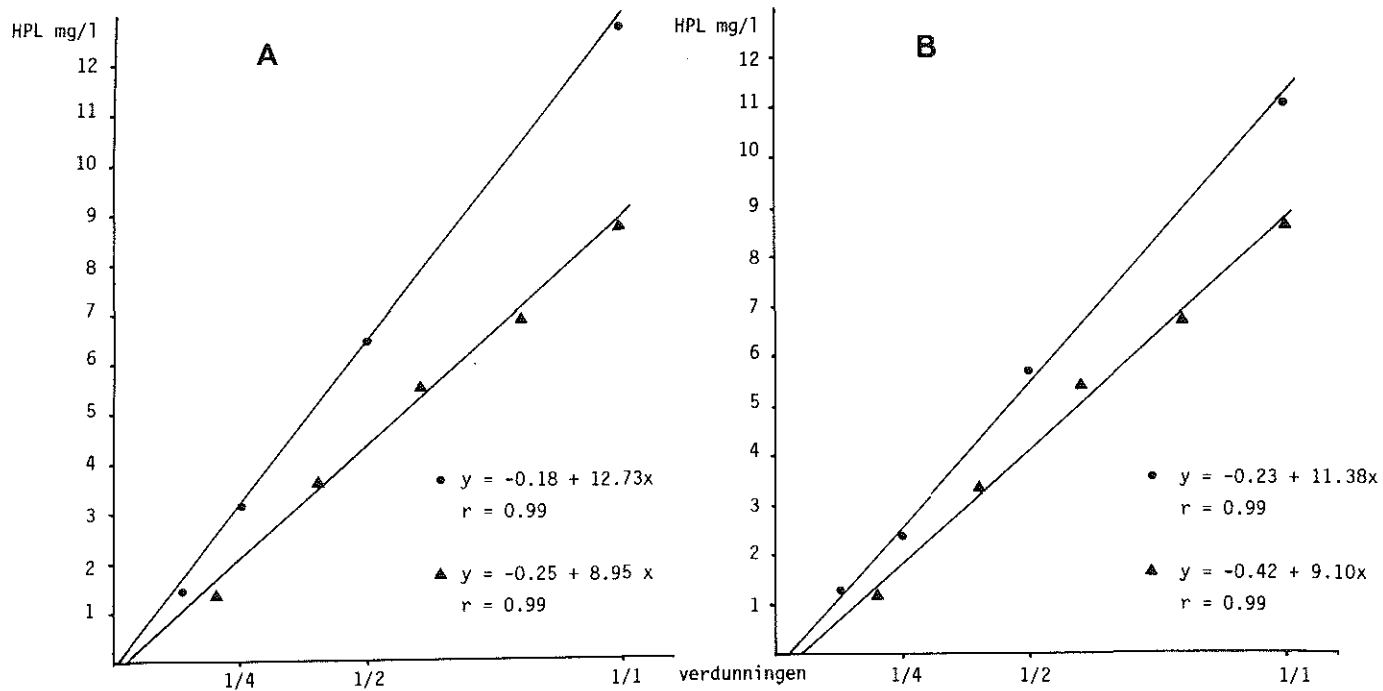
Sinds enige tijd zijn diverse snelle radio-immuno-assays en een wat langer durende immunodiffusiemethode als complete pakketten (kits) in de handel. Voor de bepalingen in dit onderzoek werd gebruik gemaakt van de HPL-immunoassay-kit van The Radiochemical Centre, Amersham, Buckinghamshire, England. De keuze viel op deze kit, omdat de reproduceerbaarheid in onze handen beter bleek te zijn dan die bij een andere door ons onderzochte commerciële kit*.

5.2. Werkprocedure en eigenschappen van de gebruikte bepalingmethode

Voor de bepaling van HPL met behulp van de Radiochemical Centre HPL-immunoassay-kit werd nauwkeurig het voorschrift gevolgd van de fabrikant, zonder enige modificatie. Alle bepalingen werden na beëindiging van de verzamelperiode achter elkaar verricht door één persoon op de afdeling Nucleaire Geneeskunde van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt (Hoofd: Dr. G.Hennemann). De berekeningen zijn uitgevoerd met behulp van het door de fabrikant ter beschikking gestelde computerprogramma. Het principe hiervan is beschreven door Harding e.a. (1973).

De *specificiteit* van de gebruikte kit werd nagegaan door van enkele onbekende sera verdunningsreeksen te maken met HPL-vrij serum (figuur 5.4.). In alle gevallen bleek de HPL-concentratie lineair met de verdunning te dalen, terwijl de met behulp van de methode van de kleinste kwadraten berekende best passende rechte lijn door de gevonden punten uiteindelijk nagenoeg door 0 ging. Dit betekent dat de gebruikte bepalingmethode voldoende specifiek is voor HPL: er bevinden zich in serum geen stoffen waaraan het antiserum eveneens wordt gebonden.

* Phadebas^R - HCS - test, Pharmacia AB, Uppsala, Zweden.



Figuur 5.4. Specificiteit van de HPL bepaling.

A - sera verdund met HPL-vrij serum uit de kit.

B - sera verdund met serum van een niet-zwangere.

Hierbij dient het volgende te worden opgemerkt:

- a HPL is niet zuiver verkrijgbaar. De meest gezuiverde preparaten bevatten $\pm 98\%$ HPL. Er is geen internationale HPL-standaard. De standaarden die door de diverse onderzoekers worden gebruikt lopen in immunologische potentie nogal uiteen, zodat de verkregen resultaten veelal niet vergelijkbaar zijn. Een vergelijking van verschillende standaarden is gepubliceerd door Kaplan e.a. (1965a), Grumbach e.a. (1968) en Beck e.a. (1967).
- b Ieder antiserum tegen HPL vertoont een kruisreactie met groeihormoon. De groeihormoonconcentratie blijft gedurende de gehele zwangerschap konstant en is minder dan 10 microgram per liter (Yen e.a., 1967). In deze concentratie stoort het aanwezige groeihormoon de HPL-bepaling niet (Grumbach e.a., 1964; Grant e.a., 1971).

De *gevoeligheid* van de gebruikte kit is af te lezen uit het verloop van de standaardcurve. In figuur 5.1. is een der geconstrueerde standaardcurven gegeven. De curve loopt in het traject van 1.0 tot 10 mg/l voldoende steil om kleine concentratieverschillen te kunnen aantonen.

Tabel 5.1.: De Intra-assay variatie van de HPL bepaling

Batchnummer	aantal bepalingen	\bar{X} (mg/l)	S
114	10	2.40	0.33
	8	6.59	0.19
115	10	2.27	0.28
	6	7.36	0.41
116	10	2.40	0.15
	10	7.93	0.26
118	10	2.39	0.20
	10	7.49	0.45

\bar{X} = rekenkundig gemiddelde

S = standaard afwijking

Tabel 5.2.: De Inter-assay variatie van de HPL bepaling.

aantal bepalingen	\bar{x} (mg/l)	S
11	7.16	0.58
12	2.39	0.35
22	3.73	0.42

De *precisie* van de gebruikte kit werd getoetst aan de intra-assay variatie en de inter-assay variatie. De intra-assay variatie werd bepaald door bij iedere gebruikte batch 6 - 10 bepalingen in eenzelfde serummonster te verrichten. Bij iedere batch werden twee monsters op deze wijze onderzocht, één met een lage en één met een hoge concentratie HPL. De resultaten zijn vermeld in tabel 5.1. De inter-assay variatie werd bepaald door iedere keer dat gebruik werd gemaakt van nieuwe reagentia (22 x) de HPL-concentratie in een poolserum te bepalen. In twee andere poolsera werd de HPL-concentratie 11 resp. 12 maal bepaald. De resultaten zijn vermeld in tabel 5.2. Uit de tabellen is duidelijk dat de precisie bij lage HPL-concentraties acceptabel is en bij hogere concentraties goed mag worden genoemd.

Bepaling van de *naauwkeurigheid* van de methode is eigenlijk niet mogelijk wegens het ontbreken van een zuivere standaard. Een indruk werd verkregen door over een totaal van 28 bepalingen de uit de standaarden gevonden HPL-waarden te vergelijken met de door de fabrikant opgegeven waarden. De resultaten zijn vermeld in tabel 5.3. De gevonden en de opgegeven waarden komen goed overeen.

5.3. Dagritme en dagschommelingen van HPL

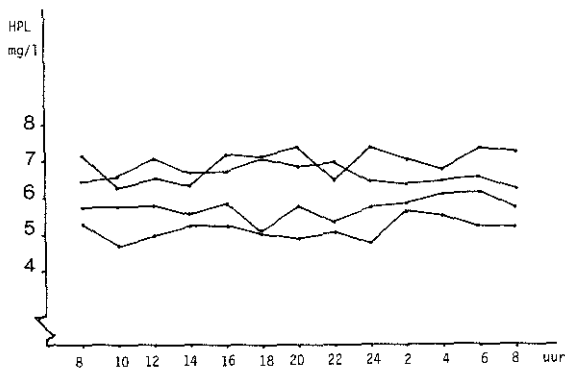
Om na te gaan of er in het verloop van 24 uur systematische veranderingen optreden in de HPL-concentratie, zodat hiermee rekening zou moeten worden gehouden bij het bepalen van het tijdstip van het afnemen van het bloed, werd bij 4 zwangeren gedurende een etmaal om

Tabel 5.3.: De "nauwkeurigheid" van de HPL-bepaling

opgegeven gehalte (mg/l)	aantal bepalingen	gevonden gehalte \bar{X} (mg/l)	S
1.01	28	1.011	0.006
3.5	28	3.490	0.022
6.45	28	6.532	0.144
10.8	28	10.635	0.332

de twee uur de HPL-concentratie in het serum bepaald. De resultaten zijn grafisch weergegeven in figuur 5.5.

Er blijken geen systematische verschillen in de zin van een dagritme te worden gevonden. Wel zijn er schommelingen in de serumconcentratie die echter grotendeels binnen de variatie van de bepalingmethode vallen. Deze bevindingen komen overeen met gegevens uit de literatuur (hoofdstuk 2.6.). Op grond hiervan werd het bloed voor de HPL-bepaling op willekeurige tijdstippen afgenomen.



Figuur 5.5.: De HPL-concentratie bij 4 zwangeren over 24 uur bepaald.

Hoofdstuk 6.

Resultaten van de HPL bepaling in de ongestoorde en in de gestoorde zwangerschap.

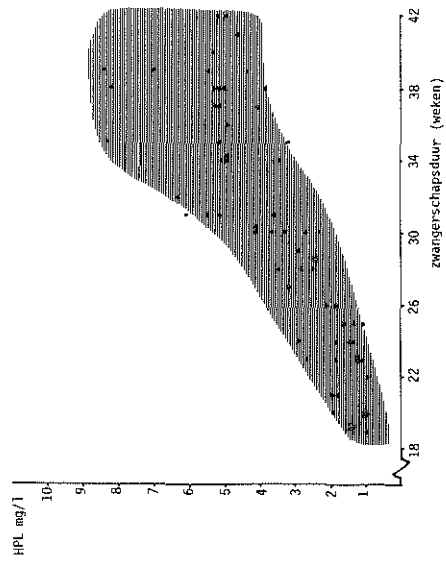
In dit hoofdstuk worden de resultaten besproken van het onderzoek naar de betekenis van de HPL-concentratie in het serum van vrouwen met een volgens de in hoofdstuk 4.1. beschreven criteria ongestoorde of gestoorde zwangerschap. Bij deze bespreking zal de in hoofdstuk 4.1. gegeven indeling in groepen worden aangehouden.

6.1. De ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus

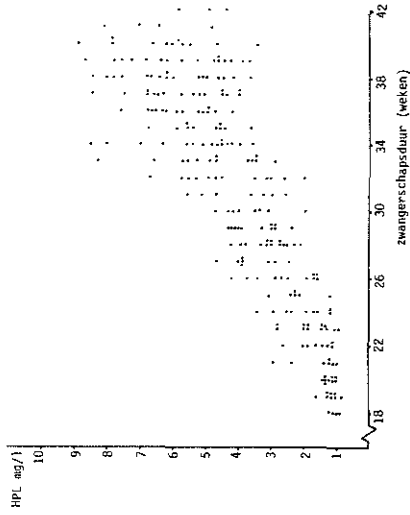
In totaal voldeden 335 zwangeren aan de aan een ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus gestelde eisen (hoofdstuk 4.1.). Van 265 zwangeren werd tijdens de zwangerschap slechts eenmaal bloed afgenomen voor bepaling van de HPL-concentratie, zodat deze groep kan worden gebruikt voor een transversaal onderzoek. Van elk van de overige 70 zwangeren werden meerdere, variërend van 2 tot 13, bloedmonsters afgenomen. Vóór het bekend worden van de uitslagen werd van 46 zwangeren uit deze groep, bij wie 2 of 3 bepalingen waren verricht, aselekt één bloedmonster toegevoegd aan het transversale onderzoek. Op deze wijze kwamen 311 monsters van 311 zwangeren met een zwangerschapsduur van 18 tot 42 weken ter beschikking voor het transversale deel van het onderzoek. De 159 monsters van de overige 24 zwangeren werden verwerkt in een longitudinale studie.

6.1.1. de transversale HPL-referentiecurve

De HPL-concentraties, bepaald in de 311 monsters van het transversale onderzoek werden gerangschikt volgens zwangerschapsweek. Bij 60 van de 311 zwangeren bleek de placenta één of meer infarcten te bevatten. In alle gevallen bedroeg de infarcering minder dan 5 %. In figuur 6.1.a. zijn de HPL-waarden van de 251 zwangeren zonder placentainfarcering weergegeven. De omtrek van deze puntenwolk is door een vloeiende lijn aangegeven en in het aldus ontstane vlak zijn in figuur 6.1.b. de waarden aangegeven van de 60 zwangeren met placentainfarcering. De verdeling van deze 60 punten laat zien dat er geen verschil bestaat tussen HPL-concentraties bij zwangeren met en zwangeren zonder placenta infarcering in de ongestoorde zwangerschap. Daarom



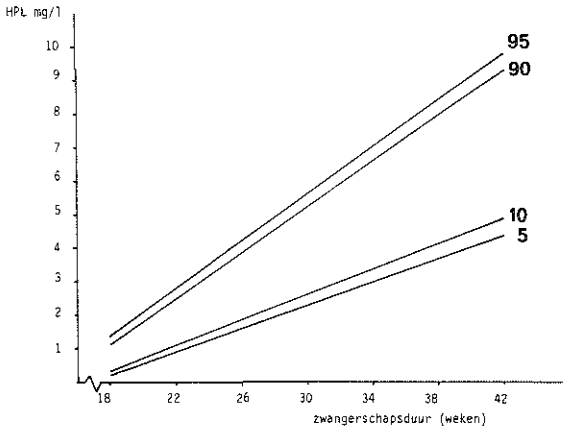
Figuur 6.1.b. HPL concentraties in serum van 60 zwangeren met ongestoorde zwangerschap, optimale neonatus en placenta infarctering. Het grijze vlak geeft de ombrek aan van de puntemolok van figuur 6.1.a.



Figuur 6.1.a. HPL concentraties in serum van 251 zwangeren met een ongestoorde zwangerschap, optimale neonatus en geen placenta infarcten (transversaal onderzoek).

zijn bij het samenstellen van de referentiecijve alle 311 waarden betrokken.

Uit deze waarden werden 5e, 10e, 90e en 95e percentiellijnen berekend volgens de methode aangegeven door Hogg (1975). Deze percentiellijnen zijn weergegeven in figuur 6.2.



Figuur 6.2. Referentiecijve van de HPL-concentratie in de ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus. De percentiellijnen zijn berekend uit 311 monsters van 311 zwangeren.

Bespreking. De referentiecijve toont een geleidelijke stijging van de HPL-concentratie met het toenemen van de zwangerschapsduur. De HPL-waarden vertonen, vooral in het laatste trimester van de zwangerschap, een grote spreiding. Deze spreiding zal een gevolg zijn van biologische variatie en van variatie in de bepalingssuitkomsten. Gezien de vooral bij hogere concentraties goede precisie van de bepalingsmethode (zie hoofdstuk 5.2.) mag de spreiding in deze referentiecijve grotendeels worden toegeschreven aan biologische variatie.

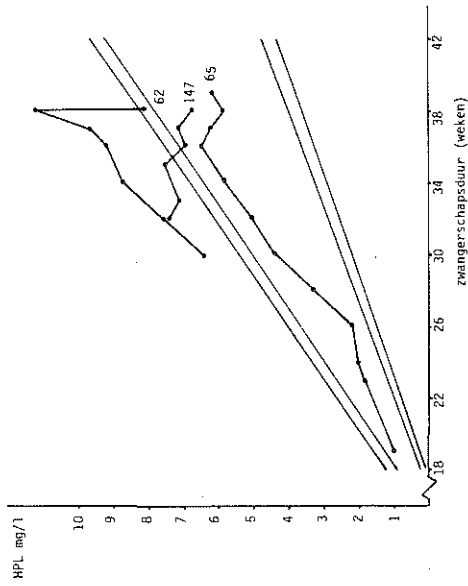
Het is opvallend dat het verloop van onze referentiecijve afwijkt van het verloop van alle in de literatuur beschreven en "onder voorbehoud bruikbare" referentiecijven (zie hoofdstuk 2.9.1., tabel 2.2.a.). In al deze curven wordt het volgende verloop gezien: een langzame stijging van de HPL-concentratie tot ongeveer de 30e zwangerschapsweek, gevolgd door een sterkere stijging in de daarop volgende weken, totdat vanaf de 36e week een plateau wordt bereikt.

Een dergelijk verloop wordt in onze referentiecurve niet waargenomen. Voor dit verschil kunnen enkele mogelijke oorzaken worden aangegeven. In de eerste plaats voldoet geen van de in de literatuur vermelde referentiecurven aan de basale criteria, die voor de opstelling van een dergelijke curve dienen te worden gehanteerd (zie hoofdstuk 2.9.1.). In de tweede plaats wordt bij vrijwel alle studies de referentiecurve berekend volgens de methode van het gemiddelde ± 1 S.D. (resp. ± 2 S.D.). Gezien de vaak zeer kleine aantallen, waarbij het twijfelachtig is of er sprake is van een, althans bij benadering, normale verdeling, mag worden betwijfeld of deze methode kan worden gebruikt (Rümke en Bezemer, 1972). Alleen Ylikorkala (1973) berekent percentiellijnen, maar hij vermeldt niet op welke wijze deze lijnen zijn berekend. Tevens wordt in de literatuur vrijwel nooit de precisie van de gebruikte bepalingmethode opgegeven. Onze bevinding dat infarcering van de placenta in de ongestoorde zwangerschap niet samengaat met een duidelijke verlaging van de HPL-concentratie in moederlijk serum komt niet overeen met de resultaten van experimenteel onderzoek bij de zwangere Rhesusaap (Wallenburg en Hutchinson, 1972). In dit dierexperimentele model leidde 5-10 % infarcering tot een significante daling van de HPL-concentratie. Hierbij valt aan te tekenen dat in ons materiaal de infarcering in alle gevallen minder dan 5 % van de placenta betrof.

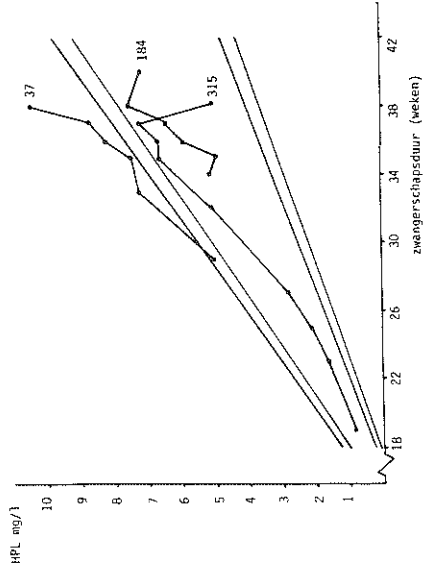
6.1.2. de longitudinale HPL-curven

In 159 sera afkomstig van 24 zwangeren werd de HPL-concentratie bepaald ter bestudering van het individuele longitudinale verloop van de HPL-concentratie in de ongestoorde zwangerschap. De 24 curven zijn weergegeven in figuur 6.3. tot en met 6.8.

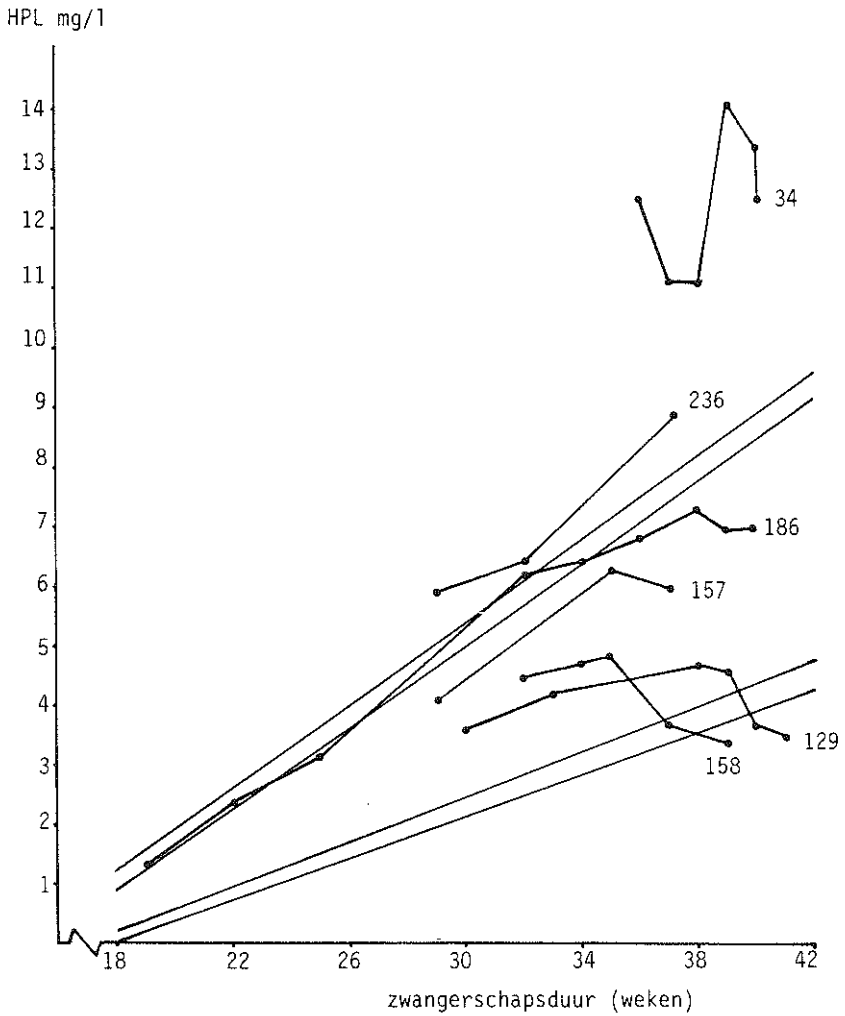
Bespreking. Het niveau van de meeste curven verloopt tussen de 5e en 95e percentiel van de transversale referentiecurve. Eén curve (zwangere 34) ligt ver boven de 95e percentiellijn. Als enige bijzonderheid kan worden opgemerkt dat het placentagewicht van deze zwangere lag tussen de 90e en 95e percentiel van de placentagewichtentabel van Kloosterman (1970). Dit was eveneens het geval bij zwangere 258, bij wie de curve juist boven de 95e percentiellijn verloopt en bij zwangere 47, bij wie de curve tussen de 10e en 90e percentiel ligt. De placentagewichten van de overige zwangeren lagen tussen de 10e en 90e percentiel.



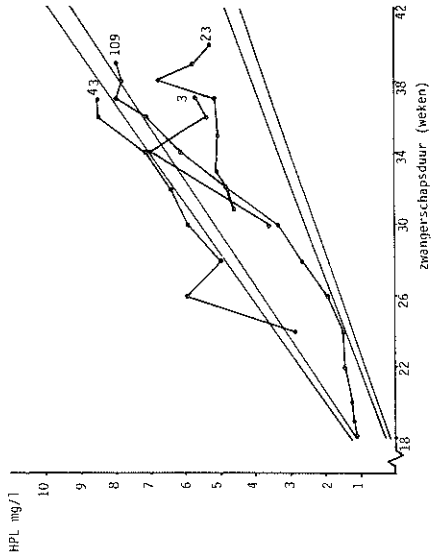
Figuur 6.4. HPL concentraties in de ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus. Geergegeven is het longitudinale verloop bij 3 zwangeren.



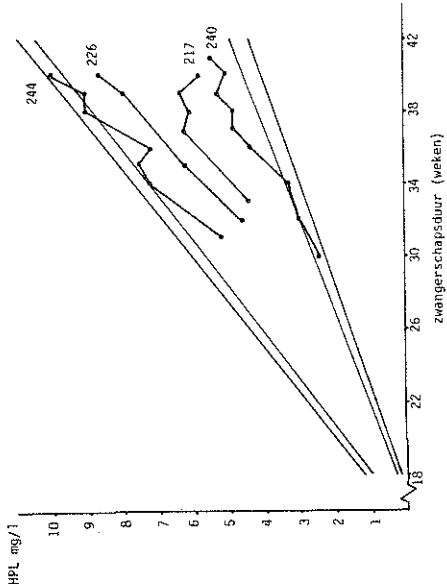
Figuur 6.3. HPL concentraties in de ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus. Geergegeven is het longitudinale verloop bij 3 zwangeren. Zwangere 315 had een placentale met infarcering (< 5%).



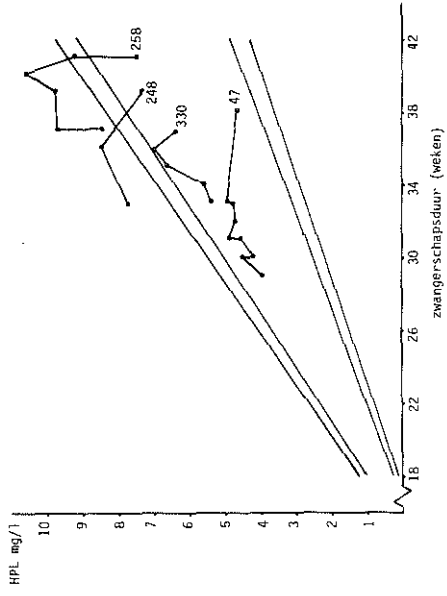
Figuur 6.6. HPL concentraties in de ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus. Weergegeven is het longitudinale verloop bij 6 zwangeren.



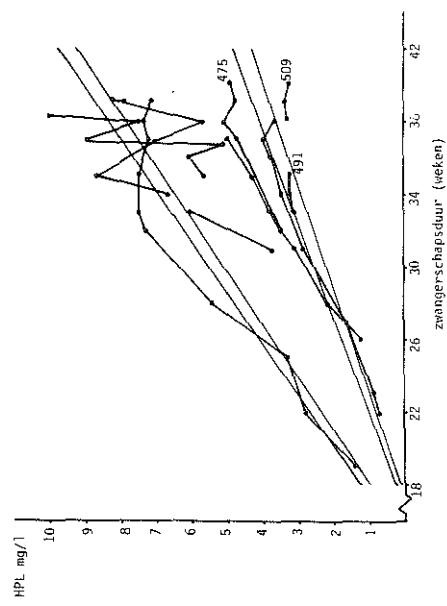
Figuur 6.5. HPL concentraties in de ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus. Meergegeven is het longitudinale verloop bij 4 zwangeren.



Figuur 6.7. HPL concentraties in de ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus. Meergegeven is het longitudinale verloop bij 4 zwangeren.



Figuur 6.8. HPL concentraties in de ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus. Weergegeven is het longitudinale verloop bij 4 zwangeren.



Figuur 6.9. HPL concentraties in de ongestoorde zwangerschap met geboortegewicht neonatus < 10e percentiel. Weergegeven is het longitudinale verloop bij 9 zwangeren.

Hoewel de meeste curven een overwegend stijgend verloop vertonen, wijken diverse curven hiervan toch wel af, zonder dat hierin een bepaald patroon is te herkennen. Tevens blijken in vele curven aanzienlijke schommelingen op te treden. Deze schommelingen zijn groter dan kan worden verklaard door de assay-variatie. Omdat de HPL-concentratie niet onderhevig is aan een dag-nacht ritme en niet wordt beïnvloed door invloeden van buitenaf (zie hoofdstuk 2.5.), moeten deze schommelingen waarschijnlijk worden gezien als een uiting van biologische variatie.

Het verloop van de individuele curven in deze longitudinale studie komt overeen met dat in de vier in de literatuur vermelde longitudinale tastudies, die voor verder analyse in aanmerking kwamen (hoofdstuk 2.9.1., tabel 2.3.a). Ook in deze curven werden aanzienlijke schommelingen gezien; vooral tegen het einde van de zwangerschap bleek zowel een stijgend, een gelijkblijvend alsook een dalend verloop voor te komen.

6.2. De ongestoorde zwangerschap met niet-optimale neonatus

6.2.1. geboortegewicht < 10e percentiel

Bij 38 zwangeren werd als enige afwijking van het normale beloop van de zwangerschap geconstateerd dat het geboortegewicht van het kind onder de 10e percentiel van de intrauteriene groeicurve lag. Bij deze zwangeren werden in totaal 90 HPL-bepalingen verricht. Bij 15 zwangeren werden 2 of meer bepalingen uitgevoerd, zodat van deze zwangeren een longitudinaal verloop kan worden aangegeven. Bij de overige 23 zwangeren werd slechts één bepaling verricht. De resultaten zijn weergegeven in figuur 6.9 en 6.10.

De HPL-concentraties liggen ook in deze groep grotendeels tussen de 5e en 95e percentiel van de transversale referentiecurve. De geboortegewichten van de kinderen van zwangeren 475 en 491 lagen onder de 2,3e percentiellijn, die van zwangere 494 tussen de 2.3e en 5e percentiel. De geboortegewichten van de kinderen van de overige zwangeren, waarvan meer dan één bepaling werd verricht, lagen alle tussen de 5e en 10e percentiel.

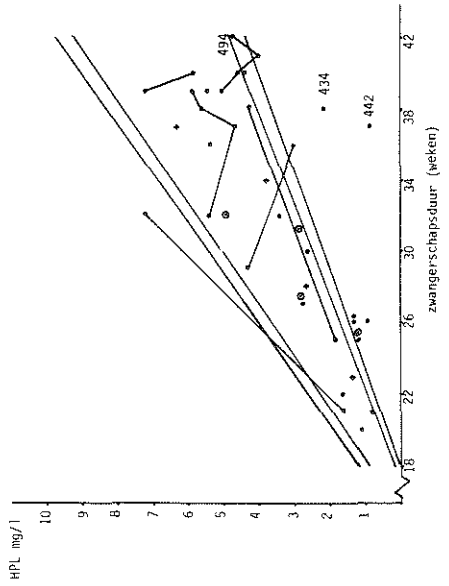
In verband met de lage HPL-concentraties van de zwangeren 434, 442 en 509 zijn de belangrijkste gegevens van deze zwangerschappen weergegeven in tabel 6.1.

Tabel 6.1.: Klinische gegevens van enkele zwangeren met HPL-concentraties onder de 5e resp. boven de 95e percentiel van de referentiecurve (zie fig. 6.9, 6.10 en 6.11).

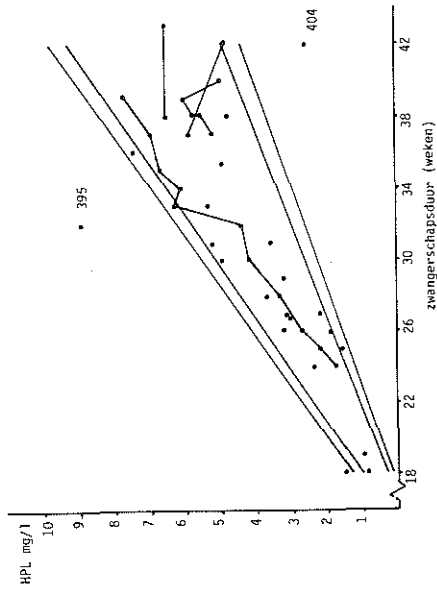
	<u>geboortegewicht < 10e percentiel</u>			<u>geboortegewicht > 90e percentiel</u>	
gravida	434	442	509	395	404
graviditeit	I	III	II	IV	I
pariteit	0	I	I	III	0
zwangerschapsverloop	ongestoord	ongestoord	ongestoord	ongestoord	ongestoord
week van de partus	41	40	41	38	42
<u>neonatus</u>					
geslacht	zoon	dochter	dochter	dochter	zoon
gewicht	2970	2780	2890	3790	4210
percentiel	5-10	5-10	5-10	90-95	90-95
<u>placenta</u>					
gewicht	430	420	410	470	370
percentiel	10-25	10-25	5-10	25-50	2.3-5
infarcering	geen	< 5 %	geen	geen	geen

Bespreking. De meeste HPL-concentraties in deze groep liggen tussen de 5e en 95e percentiel van de referentiecurve. De beschikbare gegevens van de zwangeren met duidelijk lage HPL-concentraties verschillen niet van die van de zwangeren met normale HPL-concentraties. Opvallend is dat de HPL-concentraties in serum van zwangeren met kinderen met een ernstige groeivertraging (< 2.3e percentiel) eveneens tussen de 5e en 95e percentiellijnen van de referentiecurve liggen, echter wel in het onderste gebied. Het verloop van de curven is niet te onderscheiden van dat in de longitudinale studie in de ongestoorde zwangerschap met kinderen met een normaal geboortegewicht (zie 6.1.2.).

De weinige literatuurgegevens over HPL-concentraties in overigens ongestoorde zwangerschappen waaruit kinderen met een te laag geboortegewicht werden geboren zijn besproken in hoofdstuk 2.9.2.4. Alle auteurs vermelden lage HPL-concentraties, doch uit geen van deze on-



Figuur 6.10. HPL concentraties in de ongestoorde zwangerschap met geboortegewicht neonatus < 10e percentiel.
 ○ < 2.3e percentiel ◻ 5-10e percentiel
 + 2.3-5e percentiel



Figuur 6.11. HPL concentraties in de ongestoorde zwangerschap met geboortegewicht neonatus > 90e percentiel.

derzoeken kunnen betrouwbare gegevens worden verwacht. Uit de resultaten van het eigen onderzoek is af te leiden, dat bij een ongestoord verlopende zwangerschap waarbij het geboortegewicht van het kind ligt onder de 10e percentiel van de intrauteriene groeicurve, de HPL-concentraties in het algemeen niet te onderscheiden zijn van die in de normale zwangerschap waarbij het geboortegewicht van het kind ligt tussen de 10e en de 90e percentiel.

6.2.2. geboortegewicht > 90e percentiel

Bij 26 zwangeren werd na een ongestoord verloop van de zwangerschap geconstateerd dat het geboortegewicht van het kind boven de 90e percentiel van de intrauteriene groeicurve lag. Bij 4 zwangeren werden 2 of meer bepalingen verricht, zodat het longitudinale beloop van de HPL-concentratie kon worden onderzocht. Bij de overige 22 zwangeren werd slechts één bepaling uitgevoerd. In totaal werden 41 HPL bepalingen verricht. De resultaten zijn weergegeven in figuur 6.11. Alle HPL-concentraties blijken tussen de 5e en 95e percentiel-lijn van de transversale referentiecurve te liggen op twee na; van deze twee zwangeren (395 en 404) zijn de belangrijkste gegevens samengevat in tabel 6.1.

Bespreking. Bij zwangere 395 kan geen duidelijke verklaring voor de hoge HPL-concentratie worden gevonden, het placentagewicht is normaal. Bij patiënte 404 valt op dat het placentagewicht zelfs relatief laag is (Placenta-index 0.09). De functie van deze placenta lijkt toch wel voldoende te zijn geweest gezien het hoge geboortegewicht van het kind. Het is daarom nauwelijks aan te nemen dat de gevonden lage HPL-concentratie in dit geval een slechte functionele toestand van de placenta reflecteert.

De hoogte van de HPL-concentratie in de zwangerschap bij grote kinderen (> 90e percentiel) vertoont dus in ons materiaal geen samenhang met het hoge geboortegewicht.

Literatuurgegevens hierover zijn schaars. Genazzani e.a. (1971, 1972) vermelden 5, resp. 9 patiënten waarbij het kind à terme meer woog dan 4000 gram bij een vermoedelijk ongestoorde zwangerschap. In alle gevallen lagen de HPL-concentraties bij deze zwangeren boven het gemiddelde. Verdere gegevens ontbreken. Op basis van de gegevens

uit het eigen onderzoek kan worden gesteld dat bij een ongestoord verlopende zwangerschap, waarbij het geboortegewicht van het kind ligt boven de 90e percentiellijn van de intrauteriene groeicurve, de HPL-concentraties niet kunnen worden onderscheiden van die in de ongestoorde zwangerschap, waarbij het geboortegewicht van het kind ligt tussen de 10e en 90e percentiel.

6.2.3. Apgarscore na 1 minuut < 7

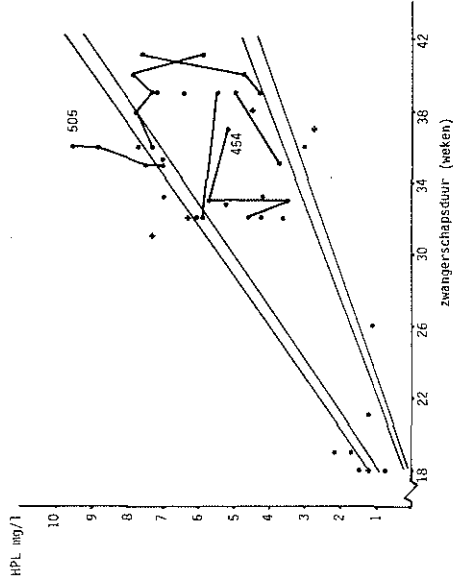
In de door ons onderzochte groep zwangeren bevonden zich 37 zwangeren bij wie de zwangerschap ongestoord was verlopen, doch de neonatus na 1 minuut een Apgarscore < 7 had. Bij deze zwangeren werden in totaal 69 HPL-bepalingen verricht.

De groep kan worden verdeeld in twee subgroepen:

- a geboortegewicht kind tussen 10e en 90e percentiel (28 zwangeren
42 HPL-bepalingen)
- b geboortegewicht kind < 10e percentiel (9 patiënten, 27 HPL-bepalingen)

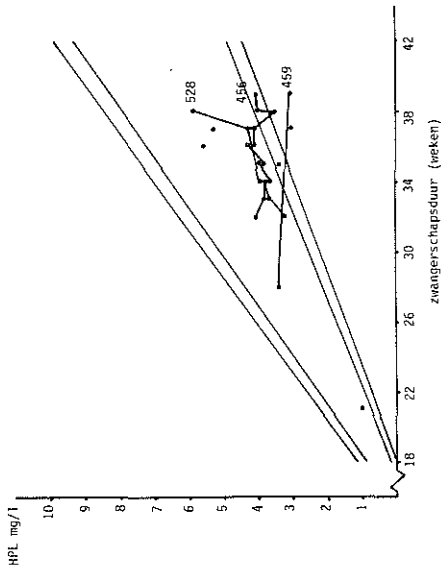
De resultaten zijn weergegeven in de figuren 6.12 en 6.13.

Bespreking. Gegevens over de toestand van de foetus durante partu ontbreken in dit onderzoek, aangezien ten tijde van het onderzoek geen systematische foetale bewaking door middel van cardiotokografie en microbloedonderzoek plaatsvond. De toestand van de neonatus werd weergegeven door het opnemen van de Apgarscore resp. 1 en 5 minuten post partum. In deze score komt voornamelijk het al dan niet optimaal functioneren van de ademhaling naar voren. Vele factoren kunnen hierop van invloed zijn. Zo kan het gebruik van sedativa en analgetica durante partu invloed uitoefenen op het ademhalingscentrum van de neonatus. Cerebrale beschadiging door hypoxie ante partum of durante partu kan eveneens van invloed zijn op de Apgarscore. Slechts bij een gedeelte van de zwangeren zal een placentaire oorzaak voor een neonatale depressie bestaan. Indien de HPL-bepaling van waarde is bij het opsporen van een bedreigde groep zwangeren met een verhoogd risico op neonatale ademhalingsproblemen, zal alleen de groep waarbij een placentaire oorzaak bestaat kunnen worden opgespoord. Gezien de vele factoren die op de Apgarscore invloed hebben is het niet waarschijnlijk dat er een relatie zal worden gevonden tussen de



Figuur 6.12. HPL concentraties in de ongestoorde zwangerschap en neonatus met Appgarscore na 1 minuut < 7. Geboortegewicht > 10e percentiel.

+ Appgarscore 1, 2 of 3; • Appgarscore 5 of 6
(zwangere 454 Appgarscore 4, zwangere 505 Appgarscore 2).



Figuur 6.13. HPL concentraties in de ongestoorde zwangerschap en neonatus met Appgarscore na 1 minuut < 7. Geboortegewicht < 10e percentiel.

(zwangere 456: gewicht neonatus 5-10e Percentiel, Appgarscore 5.
zwangere 459: gewicht neonatus < 2.3e Percentiel, Appgarscore 4.
zwangere 528: gewicht neonatus < 2.3e Percentiel, Appgarscore 2).

HPL-concentraties en de Apgarscore. Bij beschouwing van de figuren 6.12 en 6.13 blijkt dit ook niet het geval te zijn. Bij zwangere 454 was er sprake van een bevalling in stuitligging, bij zwangere 505 was er nauwelijks enige pauze tussen de weeën tijdens de uitdrijvingsperiode. Het is mogelijk dat deze omstandigheden verantwoordelijk kunnen worden gesteld voor de lage Apgarscore. Ook in deze figuren valt op dat bij een te laag geboortegewicht normale HPL-concentraties worden gevonden.

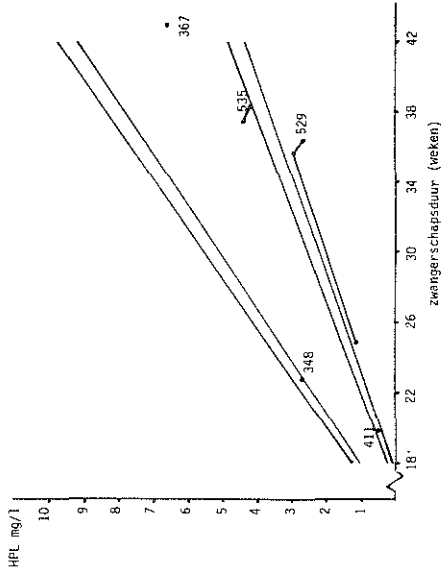
De literatuurgegevens betreffende HPL-concentraties en foetale nood werden besproken in hoofdstuk 2.9.3. Daar werd ook reeds ingegaan op de beperkingen van deze gegevens.

6.2.4. congenitale afwijkingen van het kind

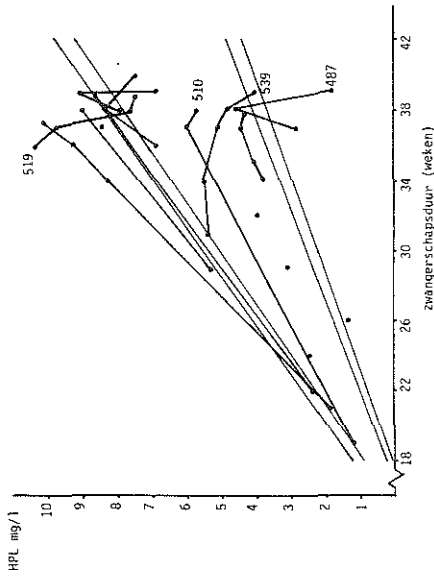
Bij het onderzoek waren 5 zwangeren betrokken bij wie de neonatus congenitale afwijkingen bleek te hebben. Bij de kinderen van de patiënten 348, 367 en 535 bleek een anencephalie te bestaan, het kind van patiënte 411 had een spina bifida aperta. De neonatus van patiënte 529 bleek een syndroom van Potter te hebben. De resultaten van de HPL-bepalingen bij deze zwangeren zijn weergegeven in figuur 6.14. Zij liggen nagenoeg binnen de grenzen van de referentiecurve, zoals ook te verwachten is daar de placenta bij deze aandoeningen normaal is.

6.2.5. Samenvatting

De HPL-concentraties in de ongestoorde zwangerschap met een geboortegewicht van het kind onder de 10e of boven de 90e percentiel blijken niet te kunnen worden onderscheiden van die bij zwangeren met kinderen met een normaal geboortegewicht. Evenmin kon een verband tussen HPL-concentraties en Apgarscore worden aangetoond. In ons onderzoek werd niet nagegaan of er verband bestaat tussen de HPL-concentraties en tekenen van foetale nood durante partu, zich uitend in afwijkingen in het foetale hartritme en acidose. Het lijkt echter onwaarschijnlijk dat er een verband tussen beide bestaat, daar hartritmestoornissen durante partu vaak samengaan met lage Apgarscores en ook bij ernstig gedeprimeerde kinderen normale HPL-concentraties werden gevonden. Ook wanneer alleen de groep zwangeren met kinderen met een te laag geboortegewicht wordt bekeken, blijkt er geen verband te



Figuur 6.14. HPL concentraties in de ongestoorde Zwangerschap en neonatus met aangeboren afwijkingen.



Figuur 6.15. HPL concentraties in de door toxicose gestoorde zwangerschap met geboortegewicht neonatus tussen 10e en 90e percentiel.

bestaan tussen de HPL-concentraties en de Apgarscore.

Op basis van de literatuurgegevens en van het eigen onderzoek kan worden gesteld, dat de HPL-bepaling in een klinisch ongestoord verlopende zwangerschap niet kan worden gebruikt als screeningstest voor stoornissen in de foetale groei en de te verwachten neonatale conditie.

6.3. De gestoorde zwangerschap.

6.3.1. hypertensie en toxicose

Voor een omschrijving van de begrippen hypertensie en toxicose wordt verwezen naar hoofdstuk 4.1. In deze groep kwamen 8 zwangeren voor met preexistente hypertensie en 31 zwangeren met toxicose. Bij 7 van de 8 patiënten met preexistente hypertensie en bij 17 van de 31 zwangeren met toxicose werd de HPL-concentratie meerdere malen bepaald. In totaal werden 112 HPL-bepalingen verricht. De resultaten zijn samengevat in de figuren 6.15, 6.16 en 6.17.

De zwangeren, van wie de HPL-concentraties zijn weergegeven in figuur 6.15, bevielen allen van een kind met een geboortegewicht tussen de 10e en 90e percentiel van de intrauteriene groeicurve. Behalve dat al deze zwangeren in de loop van de zwangerschap een toxicose ontwikkelden zijn van deze zwangerschappen geen bijzonderheden te vermelden. De placentae van de patiënten 510, 519 en 539 vertoonden infarcering (< 5 %). De gegevens van patiënte 487, bij wie de curve deels onder de 5e percentiellijn van de referentiecure ligt, zijn opgenomen in tabel 6.2. a.

De zwangeren, van wie de HPL-concentraties zijn weergegeven in figuur 6.16, bevielen allen van een kind met een geboortegewicht onder de 10e percentiel. De placentas van de patiënten 389, 492 en 512 vertoonden geringe infarcering (< 5 %); de placenta van patiënte 546 was voor 50 % geïnfarceerd. De gegevens van de patiënten bij wie meerdere HPL-bepalingen zijn verricht zijn eveneens samengevat in tabel 6.2. a.

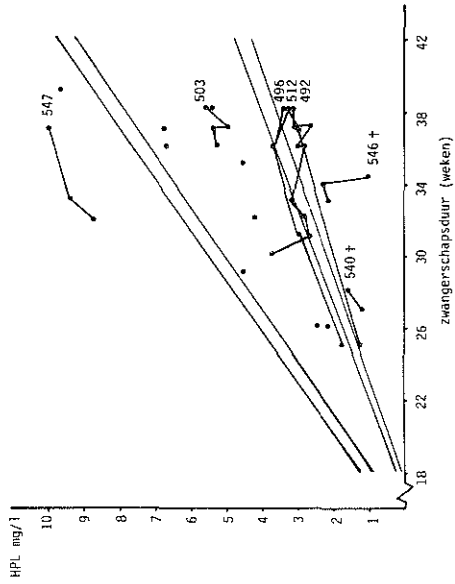
Alle zwangeren, van wie de HPL-concentraties zijn weergegeven in figuur 6.17, hadden een preexistente hypertensie. De placentas van de patiënten 484, 506 en 550 vertoonden infarcering (< 5 %). De gegevens van alle zwangeren uit deze groep zijn samengevat in tabel 6.2. b.

Tabel 6.2.a. Klinische gegevens van enkele zwangeren met toxicose (zie fig. 6.15 en 6.16).

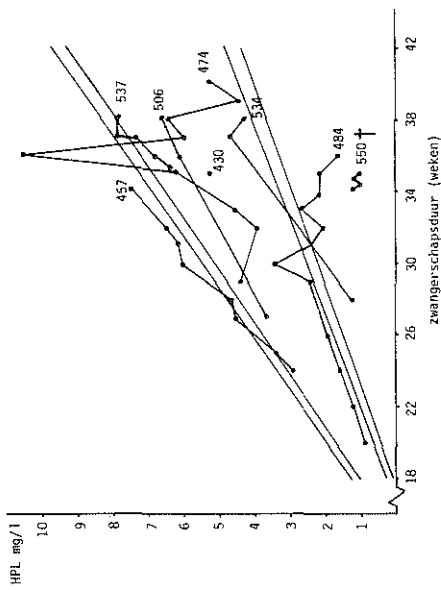
pat. no.	gravida	para	bloeddruk begin zwangerschap	bloeddruk einde zwangerschap	week van partus	neonatus				placenta			bijzonderheden
						geslacht	gewicht	percentiel	Apgarscore na 1 min.	gewicht	percentiel	infarcering	
487	IV	III	120/80	155/100	40	jongen	3110	10-25	10	400	5-10	geen	geen
492	I	0	120/75	140/110	38	meisje	2015	< 2.3	10	300	2.3-5	< 5 %	geen
496	I	0	110/75	135/105	38	jongen	2140	2.3-5	9	240	< 2.3	geen	geen
503	I	0	135/70	165/100	37	jongen	2780	5-10	9	400	10-25	geen	geen
512	I	0	120/70	200/130	38	jongen	1750	< 2.3	2	200	< 2.3	< 5 %	praeeciampsie
540	I	0	120/75	180/110	28	meisje	720	5-10	0	220	25-50	geen	intra-uteriene vruchtdood
546	I	0	100/60	160/110	34	meisje	1000	< 2.3	0	260	5-10	50 %	praeeciampsie, intra-uteriene vruchtdood
547	I	0	120/70	135/95	39	meisje	2420	2.3-5	10	465	25-50	geen	GTT gestoord, top 12 mmol/l

Tabel 6.2.b. Klinische gegevens van enkele zwangeren met preexistente hypertensie (zie fig. 6.17).

430	II	I	150/90	150/110	37	jongen	2260	5-10	9	370	10-25	geen	geen
457	I	0	140/90	150/90	35	meisje	2425	50-75	10	480	50-75	geen	geen
474	III	I	160/90	160/90	40	meisje	3375	25-50	9	400	5-10	geen	GTT gestoord, nuchter: 7,1; top: 10,1; 2 uur: 9,3 mmol/l
484	IV	III	130/90	130/105	36	jongen	1610	< 2.3	8	280	2.3-5	< 5 %	GTT gestoord, 2 uur: 6,9 mmol/l
506	I	0	140/90	160/110	39	jongen	2500	2.3-5	2	390	10	< 5 %	GTT gestoord, top: 10,5 mmol/l
534	II	I	150/95	145/90	38	meisje	2550	5-10	10	370	10	geen	GTT gestoord, top: 11,0 2 uur: 9,1 mmol/l
537	III	II	160/105	150/110	38	meisje	2590	10-25	9	500	50	geen	geen
550	I	0	140/90	160/110	35	meisje	960	< 2.3	0	260	2.3-5	geen	kind durante partu overleden



Figuur 6.16. HPL concentraties in de door toxische gestoorde zwangerschap met geboortegewicht neonatus < 10e percentiel.
† : intra-uteriene vrucht dood.



Figuur 6.17. HPL concentraties in de door preexistente hypertensie gestoorde zwangerschap.
† : intra-uteriene vrucht dood.

Bespreking. De HPL-concentraties bij zwangeren met toxicose of pre-existente hypertensie en een neonataal gewicht tussen de 10e en de 90e percentiel van de intrauteriene groeicurve, zijn niet te onderscheiden van die in de normale zwangerschap met een normaal geboortegewicht. Vrijwel alle punten liggen boven de 10e percentiellijn van de referentiecure en ook het verloop van de individuele curven is niet afwijkend van dat van de longitudinale curven in de ongestoorde zwangerschap. De HPL-concentraties bij zwangeren met kinderen met een uitgesproken laag geboortegewicht (< 2.3e percentiel) liggen lager dan die bij de overige zwangeren met hypertensie en toxicose. Deze curven liggen gedeeltelijk onder de 5e percentiellijn van de referentiecure, het verloop van de curven is vlak. Een dergelijk verloop wordt echter ook in de ongestoorde zwangerschap met een normaal geboortegewicht van het kind regelmatig gezien en laat dus geen conclusies toe.

Wanneer de HPL-concentraties in overigens ongestoorde zwangerschappen met foetale groeivertraging (figuren 6.9, 6.10 en 6.13) worden vergeleken met die bij zwangerschappen met hypertensie en toxicose en foetale groeivertraging (figuren 6.16 en 6.17) blijken in de laatste groep lagere HPL-concentraties te worden gevonden. De laagste HPL-waarden werden gezien in de drie gevallen van intrauteriene vruchtdood (zwangeren 540, 546 en 550). De laatste HPL-bepaling vond plaats kort voor de vruchtdood. Dit is af te lezen uit tabel 6.2. en de figuren 6.16. en 6.17. In al deze gevallen was aan de hand van klinisch- en ultrageluidonderzoek reeds bekend, dat er sprake was van een in ernstige mate achterblijven van de foetale groei.

In de literatuur zijn slechts weinig studies over HPL-concentraties bij hypertensie en toxicose die voor verdere bespreking in aanmerking komen (zie hoofdstuk 2.9.2.1.). Letchworth e.a. (1972b) vermelden dat de HPLconcentraties bij zwangeren met toxicose gemiddeld lager zijn dan bij zwangeren met een ongestoorde graviditeit; verdere gegevens ontbreken. De groep van Spellacy (Spellacy e.a., 1970, 1971b, 1974b en Teoh e.a., 1971) ziet met hun bepalingmethode bij normale zwangerschappen na de 30e zwangerschapsweek slechts 1 à 1½ % der HPL-waarden beneden 4 mg/l. Het gebied onder deze grenswaarde wordt door hen omschreven als de "fetal-danger zone" (F-D zone). Bij zwangeren met hypertensie liggen veel meer HPL-waarden in de F-D zone dan bij zwangeren met een ongestoorde graviditeit. De frekwen-

tie van voorkomen van lagere HPL-spiegels bij deze groep zwangeren valt echter niet uit hun gegevens af te leiden omdat de percentages die in de diverse studies worden genoemd sterk uiteenlopen, zeer waarschijnlijk doordat de samenstelling van de diverse populaties verschillend is. Zij geven geen informatie over de geboortegewichten van de kinderen. Wel vermelden zij dat voorafgaande aan een intra-uteriene vruchtdood vaak lage HPL-concentraties worden gezien. In een andere studie van deze groep (Spellacy e.a., 1975) wordt de samenhang tussen het voorkomen van lage HPL-concentraties en intra-uteriene vruchtdood besproken. Op de beperkingen van die studie is reeds ingegaan in hoofdstuk 2.9.2.5.

Ylikorkala (1973) besteedt veel aandacht aan het verloop van de individuele curven bij zwangeren met hypertensie en toxicose. Hij verzuimt echter na te gaan of een door hem pathologisch geïdentificeerd verloop ook voorkomt in normaal verlopende zwangerschappen. Tevens vermeldt hij dat bij ongeveer een derde van de zwangeren met hypertensie en toxicose HPL-concentraties worden gezien beneden de 2.5e percentiellijn van zijn referentiecurve. Bij HPL-concentraties onder deze percentiellijn ziet hij bij 2/3 van de zwangeren foetale groeivertraging en/of hartritmestoornissen durante partu en/of een slechte Apgarscore. Hij geeft echter niet aan op welke wijze het al dan niet aanwezig zijn van hartritmestoornissen is vastgesteld. Ook worden de diverse stoornissen niet afzonderlijk in het onderzoek vermeld, zodat niet is na te gaan in hoeverre er een relatie bestaat tussen de HPL-concentraties en elk van de gehanteerde kinderlijke parameters. Bij zwangeren, bij wie HPL-concentraties worden gevonden tussen de 2.5e en 97.5e percentiellijnen van de referentiecurve ziet hij in 25 % van de gevallen foetale groeivertraging en/of hartritmestoornissen durante partu en/of een slechte Apgarscore. Uit de studie van Ylikorkala (1973) kan alleen de conclusie worden getrokken dat er aanwijzingen bestaan dat lage HPL-concentraties in verband kunnen worden gebracht met foetale groeivertraging en/of hartritmestoornissen durante partu en/of een slechte Apgarscore, doch dat het vinden van normale HPL-concentraties het optreden van genoemde stoornissen zeker niet uitsluit.

Kelly e.a. (1975) geven de resultaten van hun onderzoek bij 300 zwangeren met toxicose. Bij ongeveer 35 % van de zwangeren bij wie foetale hartritmestoornissen durante partu of een slechte Apgarscore

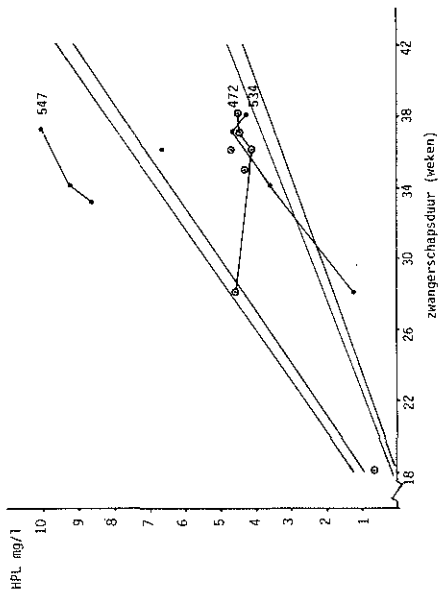
werd gevonden, werden tijdens de zwangerschap één of meermalen HPL-concentraties gevonden beneden het gemiddelde -2 SD van hun referentiecurve. Dit was slechts bij $7\frac{1}{2}$ % van de overige zwangeren met toxicose het geval. Ook in deze studie is niet ingegaan op de wijze waarop de foetale bewaking durante partu plaatsvond. Op de bezwaren hiertegen werd reeds ingegaan in hoofdstuk 2.9.3. Bij 19 zwangerschappen was sprake van foetale groeivertraging met een geboortegewicht onder de 10e percentiel van de intrauteriene groeicurve. Bij 15 hiervan werden één of meermalen HPL-concentraties gevonden beneden het gemiddelde -2 SD van de referentiecurve.

Op basis van de gegevens uit de literatuur en uit het eigen onderzoek kan de conclusie worden getrokken, dat de HPL-concentraties bij zwangeren met hypertensie en toxicose, bij wie het geboortegewicht van het kind ligt tussen de 10e en 90e percentiel van de intrauteriene groeicurve niet te onderscheiden zijn van de HPL-concentraties in de ongestoord verlopende zwangerschap. Wanneer het geboortegewicht van het kind ligt onder de 2.3e percentiel liggen de HPL-concentraties in de laatste weken van de zwangerschap in de lage regionen van de referentiecurve. In die ernstige gevallen is de groeiachterstand van de foetus door middel van eenvoudig klinisch onderzoek, eventueel aangevuld met echoscopie, gemakkelijk te herkennen. Dit was ook in het eigen onderzoek zonder uitzondering het geval. De HPL-bepaling moet dus bij zwangeren met hypertensie en toxicose van weinig of geen praktische waarde worden geacht. Het is opmerkelijk dat vrijwel alle kinderen uit deze groep met een laag geboortegewicht ter wereld kwamen met goede Apgarscores, ondanks soms lage HPL-concentraties en een vlak verloop van de HPL-curve.

6.3.2. stoornis in de glucosetolerantie

Bij het onderzoek zijn 28 zwangeren betrokken bij wie een stoornis in de glucosetolerantie bestond. Voor de hiervoor gehanteerde criteria wordt verwezen naar hoofdstuk 4.1.

De resultaten van de HPL bepaling bij 10 zwangeren met een uitsluitend tijdens de zwangerschap gestoorde G.T.T., behandeld met diëet (groep 1) die een kind ter wereld brachten met een geboortegewicht tussen de 10e en 90e percentiel, zijn weergegeven in figuur 6.18. Bij 5 van deze zwangeren werden meerdere bepalingen verricht. De zwangeren 474



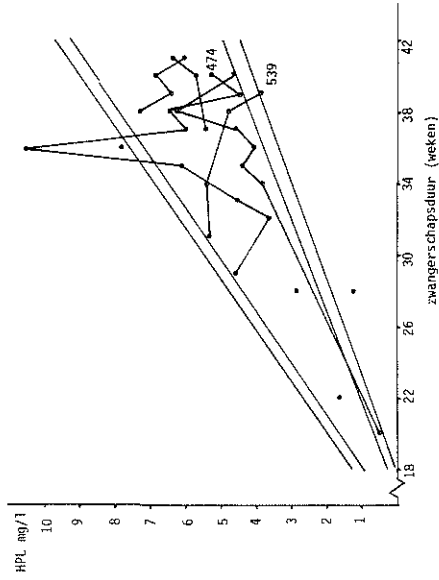
Figuur 6.19. HPL concentraties bij zwangeren met een gestoorde G.T.T. zonder insulinetherapie (groep 1).

● neonatus < 10e percentiel

⊙ neonatus > 90e percentiel

(zwangere 539: praëxistente hypertensie (ook fig. 6.17)

zwangere 547: toxicose (ook fig. 6.16).



Figuur 6.18. HPL concentraties bij zwangeren met een gestoorde G.T.T. zonder insulinetherapie (groep 1) en geboortegewicht neonatus tussen 10e en 90e percentiel

(zwangere 474: tevens praëxistente hypertensie.

zwangere 539: tevens toxicose).

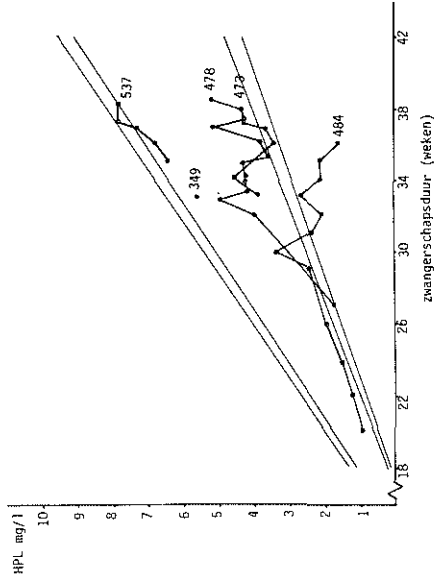
en 539 hadden tevens een preexistente hypertensie, respectievelijk een toxicose. (zie ook fig. 6.17. resp. 6.15).

In figuur 6.19. zijn de resultaten samengevat van 8 zwangeren met een gestoorde G.T.T. (groep 1), waaruit een kind met een geboortegewicht onder de 10e of boven de 90e percentiel werd geboren. Ook in deze groep bevinden zich twee zwangeren met een preexistente hypertensie (534), respectievelijk een toxicose (547) (zie ook figuur 6.17. resp. 6.16). De resultaten van de zwangeren met preexistente hypertensie of toxicose zijn ook betrokken bij de bespreking in hoofdstuk 6.3.1.

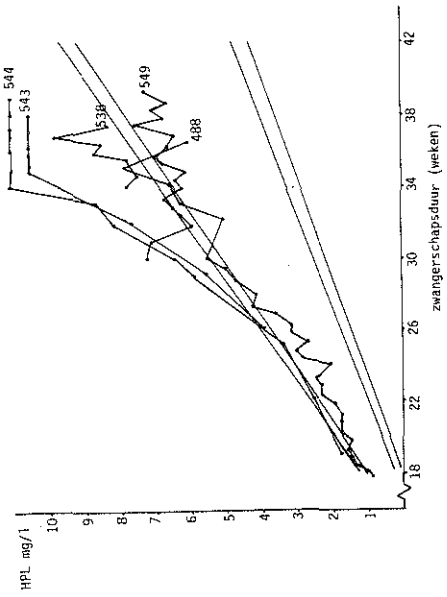
De 5 zwangeren, van wie de HPL-concentraties zijn weergegeven in figuur 6.20 vormen groep 2, behandeld met insuline. Enkele klinische gegevens van de 4 zwangeren, bij wie meerdere HPL-bepalingen werden verricht, zijn weergegeven in tabel 6.3.

Tabel 6.3.: Klinische gegevens van enkele zwangeren met een uitsluitend tijdens de zwangerschap gestoorde G.T.T., behandeld met insuline (zie figuur 6.20 en 8.17.).

gravida	473	478	484	537
graviditeit	VI	I	IV	III
pariteit	III	0	III	II
G.T.T. bij een amenorrhoe van:	15 weken	26 weken	28 weken	26 weken
nuchtere waarde	6.0	4.5	4.1	4.9
maximaal	10.2	8.9	7.5	11.0
2 uurs waarde	8.8	7.9	6.9	9.1
week van de partus	37	38	36	38
kind:				
geslacht	zoon	dochter	zoon	dochter
gewicht	4570	2500	1610	2590
percentiel	>97.7	5-10	<2.3	10-25
placenta:				
gewicht	480	300	280	500
percentiel	25-50	2.3-5	2.3-5	50
infarcering	geen	geen	< 5 %	geen
bijzonderheden:	geen	geen	preexistente hypertensie	preexistente hypertensie



Figuur 6.20. HPL concentraties bij zwangeren met een gestoorde G.T.T. met insulinetherapie (groep 2).



Figuur 6.21. HPL concentraties bij zwangeren met een gestoorde G.T.T. (groep 3)
 (zwangere 543: 10.5 betekent > 10
 zwangere 544: 11.0 betekent > 10).

In figuur 6.21. zijn tenslotte de HPL-concentraties weergegeven van 5 zwangeren, die reeds voor de zwangerschap een gestoorde G.T.T. hadden (groep 3). Bij deze 5 zwangeren werden in totaal 80 HPL-bepalingen verricht. Gegevens van deze zwangeren zijn samengevat in tabel 6.4.

Tabel 6.4.: Klinische gegevens van 5 zwangeren met reeds vóór de zwangerschap een gestoorde G.T.T. (zie fig. 6.21. en 8.18).

gravida	488	538	543	544	549
graviditeit	II	III	II	IX	VIII
pariteit	0	II	I	VIII	VII
therapie vóór graviditeit	insuline	orale antidiabetica	orale antidiabetica	orale antidiabetica	orale antidiabetica
complicaties	moeilijk instelbaar	geen	hydramnion	moeilijk instelbaar; hydramnion	moeilijk instelbaar
week van de partus	36	37	38	39	39
kind:					
geslacht	zoon	zoon	dochter	dochter	dochter
gewicht	2260	3765	4020	4050	4290
percentiel	10-25	90-75	95-97.7	95-97.7	>97.7
placenta:					
gewicht	470	690	785	720	560
percentiel	50	90-95	>97.7	95-97.7	50-75
infarcering	< 5%	geen	< 5%	geen	geen
bijzonderheden	geen	geen	geen	geen	geen

Bespreking. In ons onderzoek zijn de HPL-concentraties bij zwangeren met een stoornis in de koolhydraatstofwisseling, bij wie de G.T.T. buiten de zwangerschap ongestoord was, niet te onderscheiden van die in de ongestoorde zwangerschap. Alleen bij patiënte 484 was er een afwijkend verlopende curve; deze patiënte had echter een preexistente hypertensie en het geboortegewicht van de neonatus lag onder de 2.3e

percentiel van de intrauteriene groeicurve. Op de betekenis hiervan werd reeds in het vorige hoofdstuk ingegaan.

Bij de 5 patiënten die reeds vóór de zwangerschap bekend waren met diabetes mellitus wordt een ander patroon gezien: bij al deze zwangeren is sprake van hoge tot zeer hoge HPL-concentraties. Vooral de beide zwangeren bij wie hydramnion ontstond hadden hoge HPL-concentraties.

In de literatuur zijn slechts weinig studies over HPL-concentraties bij stoornissen in de koolhydraatstofwisseling die voor verdere bespreking in aanmerking komen (zie hoofdstuk 2.9.2.2.). Spellacy e.a. (1971b) en Teoh e.a. (1971) vermelden 5, respectievelijk 6 patiënten met intrauteriene vruchtdood (vermoedelijk betreft het in beide onderzoeken dezelfde patiënten). Slechts bij 2 patiënten werden HPL-concentraties gezien in de "fetal-danger zone", dat wil zeggen lager dan 4 mg/l na de 30e week. Bij deze zwangeren bestond tevens een hypertensie. Helaas ontbreken verdere gegevens over deze patiënten. Ursell e.a. (1973) zien bij hun patiënten met diabetes mellitus gemiddeld hoge HPL-concentraties. Indien er tevens sprake is van een laag geboortegewicht (< 25e percentiel) of hartritmestoornissen durante partu bleken de HPL-concentraties gemiddeld lager te zijn dan de gemiddelde waarde van hun referentiecure. Individuele waarden worden door deze auteurs niet opgegeven. Ylikorkala (1973) vond bij zwangeren met diabetes mellitus, bij wie tevens een foetale groeivertraging en/of hartritmestoornissen en/of een slechte Apgarscore voorkwamen, steeds pathologisch lage HPL-concentraties. Hij vond deze lage concentraties echter ook vrij vaak bij zwangeren met diabetes mellitus en een "normale foetoplacentaire functie". Op de beperkingen van deze studie van Ylikorkala (1973) is reeds in het voorgaande hoofdstuk gewezen. Cohen e.a. (1973) benaderen het probleem op een andere wijze. Zij verdelen hun materiaal in drie groepen:

- groep 1: diabetes zonder complicaties (9 patiënten)
- groep 2: diabetes gecompliceerd door hypertensie (7 patiënten)
- groep 3: diabetes gecompliceerd door hypoglycemie en/of diabetisch coma (vaak met hydramnion) (8 patiënten).

Bij de 7 patiënten bij wie tevens hypertensie optrad werden vaak HPL-concentraties beneden de ondergrens van de referentiecure gezien. Bij de enige intrauteriene vruchtdood in deze groep lagen de HPL-waarden ver beneden deze ondergrens. Bij de 8 patiënten bij wie

de diabetes mellitus niet of slecht was geregeld, lagen de HPL-concentraties bijna steeds boven de bovengrens van de referentiecurve. Viermaal werd hierbij een gezond kind geboren, tweemaal trad een intrauteriene vruchtdood op en tweemaal overleed het kind kort na de geboorte.

Uit de eerste vier hier besproken studies zijn weinig conclusies te trekken. De resultaten van Cohen e.a. (1973) sluiten goed aan bij de resultaten van het eigen onderzoek, met het verschil dat bij diabetes mellitus én hypertensie in het eigen onderzoek geen duidelijk lagere HPL-concentraties werden gevonden, behalve bij het eveneens bestaan van zeer ernstige groeivertraging. Dit komt overeen met onze bevindingen bij zwangeren met hypertensie en/of toxicose (hoofdstuk 6.3.1.). Bij zwangeren, bij wie de diabetes mellitus moeilijk was te regelen lagen de HPL-concentraties hoog, zowel in het onderzoek van Cohen e.a. (1973) als in het eigen onderzoek. Vooral wanneer tevens hydramnion aanwezig is liggen de concentraties zeer hoog. Het behoeft echter geen betoog dat voor het vaststellen van deze stoornis in de zwangerschap de HPL-bepaling geen aanvulling betekent.

Wij menen te mogen concluderen dat, ook voor zwangeren met diabetes mellitus, de HPL-bepaling geen waardevolle aanvulling is van de diagnostische mogelijkheden bij de bewaking van de zwangerschap.

6.3.3. actief Rhesusantagonisme

Bij 3 zwangeren was sprake van een actief Rhesusantagonisme. Bij één van hen konden 8 HPL bepalingen worden verricht, bij ieder van de overige 2 zwangeren werd slechts één bepaling uitgevoerd. De resultaten zijn weergegeven in figuur 6.22. De betreffende zwangerschappen zullen kort worden besproken.

Patiënte 416. Gravida V, para II, G.T.T. normaal. Reeds bij een amenorrhoe van 18 weken werden Rhesusantistoffen aangetoond. Het bestaan van hydrops foetalis werd duidelijk in de 28e zwangerschapsweek; in dezelfde week trad intrauteriene vruchtdood op. De baring werd ingeleid met oxytocine. In stuitligging werd een levenloos meisje geboren van 1460 gram met uitgesproken hydrops foetalis. De placenta woog 960 gram en was sterk oedeemateus.

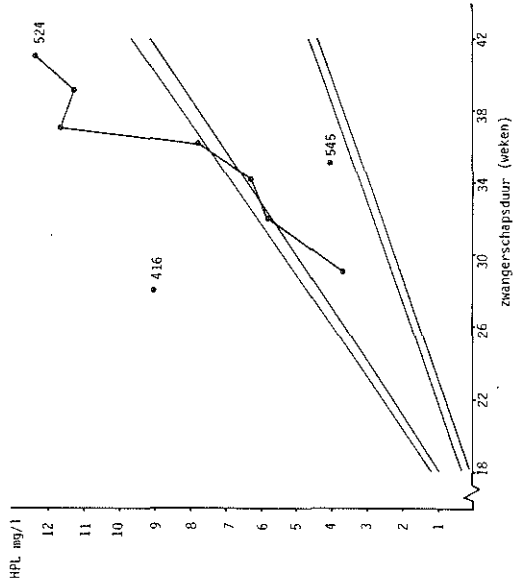
Patiënte 524. Gravida III, para II, G.T.T. normaal. In de 28e zwangerschapsweek werden Rhesusantistoffen aangetoond. Herhaald onderzoek van door middel van amniocentese verkregen vruchtwater toonde geen verhoging van de concentratie bilirubine pigment. In de 41e zwangerschapsweek beviel patiënte spontaan in A.a.v. van een meisje van 3855 gram (50e-75e percentiel), Apgarscore na 1 minuut 9, Rhesusfactor positief; directe Coombsreactie positief. Wisseltransfusie was niet nodig. De placenta woog 590 gram (50-75e percentiel) en toonde macroscopisch en microscopisch geen afwijkingen.

Patiënte 545. Gravida III, para II, Rhesusantistoffen in de 28e zwangerschapsweek positief. Bij herhaald vruchtwateronderzoek werd een stijgende concentratie bilirubine pigment aangetoond. De baring werd daarom in de 35e zwangerschapsweek met oxytocine ingeleid; wegens "fetal distress" werd vervolgens een Sectio Caesarea verricht. Hierbij werd een jongen geboren van 2380 gram (25-50e percentiel), Apgarscore na 1 minuut 3, na 5 minuten 9. Drie wisseltransfusies waren noodzakelijk. De placenta woog 500 gram en toonde bij macroscopisch en microscopisch onderzoek een bij de zwangerschapsduur passend beeld.

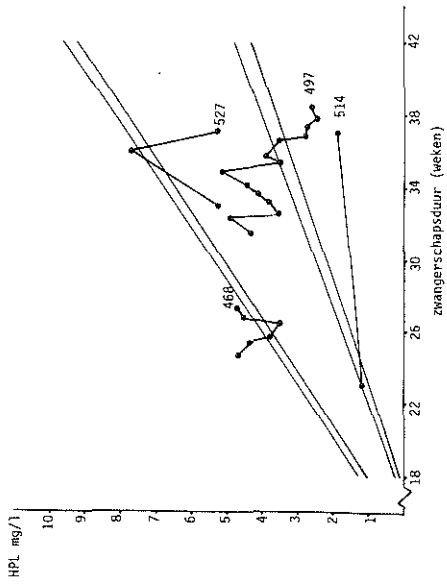
Bespreking. Het geringe aantal zwangeren in het eigen onderzoek laat geen conclusies toe betreffende de waarde van de HPL-bepaling bij het actieve Rhesusantagonisme. Zoals reeds werd besproken in hoofdstuk 2.9.2.3. worden volgens verschillende onderzoekers bij zeer ernstig actief Rhesusantagonisme hoge HPL-concentraties gevonden. Bij onze patiënte 416 was dit, kort voor de intrauteriene vruchtdood, inderdaad het geval. Ook bij patiënte 524 werden echter hoge HPL-waarden gevonden, hoewel hier zeker geen sprake was van een ernstig antagonisme.

6.3.4. placenta praevia en solutio placentae

HPL-concentraties werden bepaald bij 3 zwangeren met vaginaal bloedverlies ten gevolge van placentae praevia en bij één patiënte bij wie een solutio placentae optrad. Bij deze patiënten werden in totaal 25 HPL-bepalingen verricht; de resultaten zijn weergegeven in figuur 6.23.



Figuur 6.22. HPL concentraties bij zwangeren met actief Rhesus-antagonisme.



Figuur 6.23. HPL concentraties bij zwangeren met solutio placentae (468) of placenta praevia.

Patiënte 468. Gravida III, para I, dreigende partus immaturus in de 24e zwangerschapsweek. Tot de 27e week kon de weeënactiviteit worden onderdrukt met per intraveneuze infusie toegediende betamimetica. De bloeddruk bleef steeds normaal. In de 27e zwangerschapsweek beviel patiënte van een jongen van 1290 gram (75-90e percentiel), Apgarscore na 1 minuut 8, na 5 minuten 3. Het kind overleed na enkele uren. De placenta woog 350 gram (75-90e percentiel) en toonde een retroplacentair haematoom over ongeveer 1/3 van het oppervlak. De diagnose werd gesteld op een partiële solutio placentae

Patiënte 497. Gravida II, para I, aanvankelijk volledig ongestoorde zwangerschap. In de 27e zwangerschapsweek trad pijnloos vaginaal bloedverlies op. Echoscopisch onderzoek toonde een placenta praevia lateralis aan; wegens voortdurend bloedverlies werd in de 30e week een Shirodkarcerclage verricht; hierna trad geen bloedverlies meer op. In de daarop volgende weken werd duidelijk dat de foetus onvoldoende groeide. Patiënte beviel in de 39e zwangerschapsweek per primaire sectio caesarea van een jongen van 2210 gram (< 2.3e percentiel), Apgarscore na 1 minuut 4. De diagnose placenta praevia lateralis werd tijdens de sectio bevestigd. De placenta bevatte een oud infarct en woog 350 gram (2.3-5e percentiel).

Patiënte 514. Gravida II, para 0, geen hypertensie. In de 34e zwangerschapsweek werd zij opgenomen wegens pijnloos bloedverlies per vaginam. Echoscopisch onderzoek toonde een placenta praevia lateralis aan; tevens bleek er een duidelijke foetale groeiachterstand te zijn. In de 37e zwangerschapsweek werd per primaire sectio caesarea een jongen geboren van 2100 gram (< 2.3e percentiel), Apgarscore na 1 minuut 1, na 15 minuten 7. De placenta bevatte enkele kleine, oude randinfarcten, gewicht 350 gram (10-25e percentiel).

Patiënte 527. Gravida I, para 0, geringe hypertensie tegen het einde van de zwangerschap. In de 37e zwangerschapsweek trad plotseling pijnloos bloedverlies per vaginam op, waarvoor een

sectio caesarea noodzakelijk werd geacht. Daarbij werd een placenta praevia totalis aangetroffen. Er werd een meisje geboren van 2490 gram (10-25e percentiel), Apgarscore na 1 minuut 6. De placenta toonde geen afwijkingen en woog 350 gram (10-25e percentiel).

Bespreking. Twee van de hier besproken patiënten met placenta praevia tonen een duidelijk abnormaal verlopende HPL-curve en, kort ante partum, concentraties onder de 5e percentiel van de referentiecure. In beide gevallen was er sprake van een zekere duur van de amenorrhoe en ernstige foetale groeivertraging (geboortegewicht < 2.3e percentiel). Bij de patiënte met de solutio placentae, eveneens met een zekere zwangerschapsduur, werden hoge HPL-waarden gevonden; in dit geval was de foetus zwaar (75-90e percentiel).

In de literatuur kunnen slechts weinig gegevens worden gevonden. Spencer (1971) en Ylikorkala (1973) vermelden bij een solutio placentae HPL-concentraties binnen de grenzen van hun referentiecure. Ook bij placenta praevia worden HPL-concentraties gezien, niet afwijkend van die in de normale zwangerschap (Genazzani e.a., 1971; Spencer, 1971; Ylikorkala, 1973); de geboortegewichten van de kinderen waren in deze gevallen echter normaal. Bij onze twee gevallen van placenta praevia met lage HPL waarden was reeds bekend dat hierbij tevens sprake was van een in ernstige mate achtergebleven foetale groei.

Uit ons onderzoek komen dus geen aanwijzingen naar voren dat de HPL-bepaling een waardevolle parameter zou kunnen zijn voor de bewaking van een zwangerschap met placenta praevia.

6.3.5. diverse stoornissen in de zwangerschap

Van 2 zwangeren werd tijdens de zwangerschap een groot aantal bloedmonsters verzameld voor HPL-bepaling in verband met het bestaan van een bijzondere aandoening, waarbij werd verwacht dat zich een stoornis in de ontwikkeling van de placenta zou kunnen voordoen. Bij patiënte 485 was dit een coarctatio aortae, bij patiënte 521 bestonden pyelonefritische schrompelnieren. In beide gevallen verliep de zwangerschap klinisch zonder problemen en werd een kind met een normaal geboortegewicht geboren.

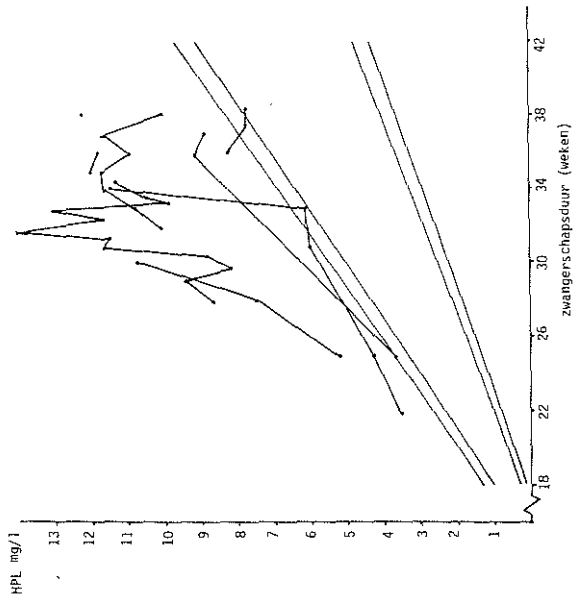
Bij 2 andere patiënten (469 en 481) werd in de loop van de zwangerschap een foetale groeivertraging geconstateerd, onder meer op grond van een bij echoscopische meting te kleine distantia biparietalis van het foetale caput. Deze zwangeren werden behandeld met bedrust. Uit herhaalde echoscopische metingen van de distantia biparietalis bleek dat er "inhaalgroei" optrad; in beide gevallen werd uiteindelijk een kind geboren met een normaal geboortegewicht. De resultaten van de in totaal 70 HPL-bepalingen bij deze vier zwangeren zijn weergegeven in figuur 6.24. Voor de hoge HPL-concentraties bij patiënte 521 kan geen verklaring worden gevonden. Zowel het niveau als het verloop van de HPL curven bij de overige drie zwangeren zijn niet te onderscheiden van die in de ongestoorde graviditeit.

6.3.6. samenvatting

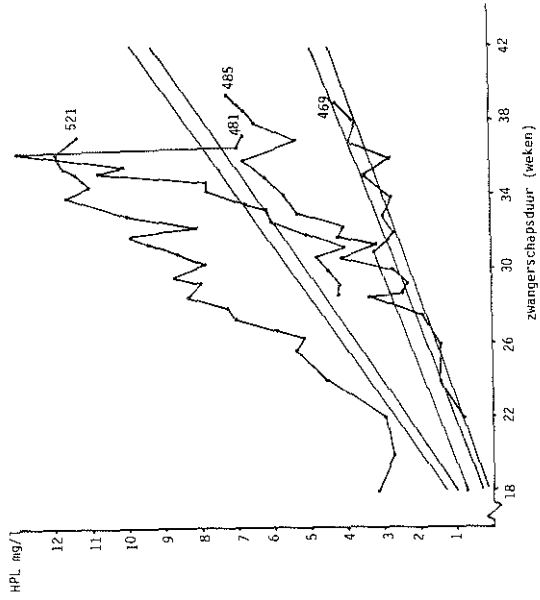
De waarden van de HPL-bepaling voor de bewaking van de gestoorde zwangerschap blijkt gering te zijn.

De HPL-concentraties bij zwangeren met toxicose of preexistente hypertensie en een neonataal gewicht tussen de 10e en de 90e percentiel van de intra-uteriene groeicurve, zijn niet te onderscheiden van die in de ongestoorde zwangerschap met een normaal geboortegewicht. De HPL-concentraties bij kinderen met een uitgesproken laag geboortegewicht (< 2.3e percentiel) liggen lager dan die bij de overige zwangeren met hypertensie en toxicose. Deze curven liggen gedeeltelijk onder de 5e percentiellijn van de referentiecure, het verloop van de curve is vlak. Een dergelijk verloop wordt echter ook in de ongestoorde zwangerschap met een normaal geboortegewicht van het kind gezien en laat dus geen conclusies toe.

Bij zwangerschappen met een stoornis in de glucosetolerantie worden zeer hoge HPL-concentraties gezien wanneer de zwangerschap wordt gecompliceerd door hydramnion. Bij alle andere zwangeren met een stoornis in de glucosetolerantie zijn de HPL-concentraties niet te onderscheiden van die in de ongestoorde zwangerschap. Ook bij actief Rhesus-antagonisme, placenta praevia en solutio placentae blijkt de HPL-bepaling geen waardevolle bijdrage te leveren aan de bewaking van de zwangerschap.



Figuur 6.25. HPL concentraties bij zwangeren met een tweelingzwangerschap.



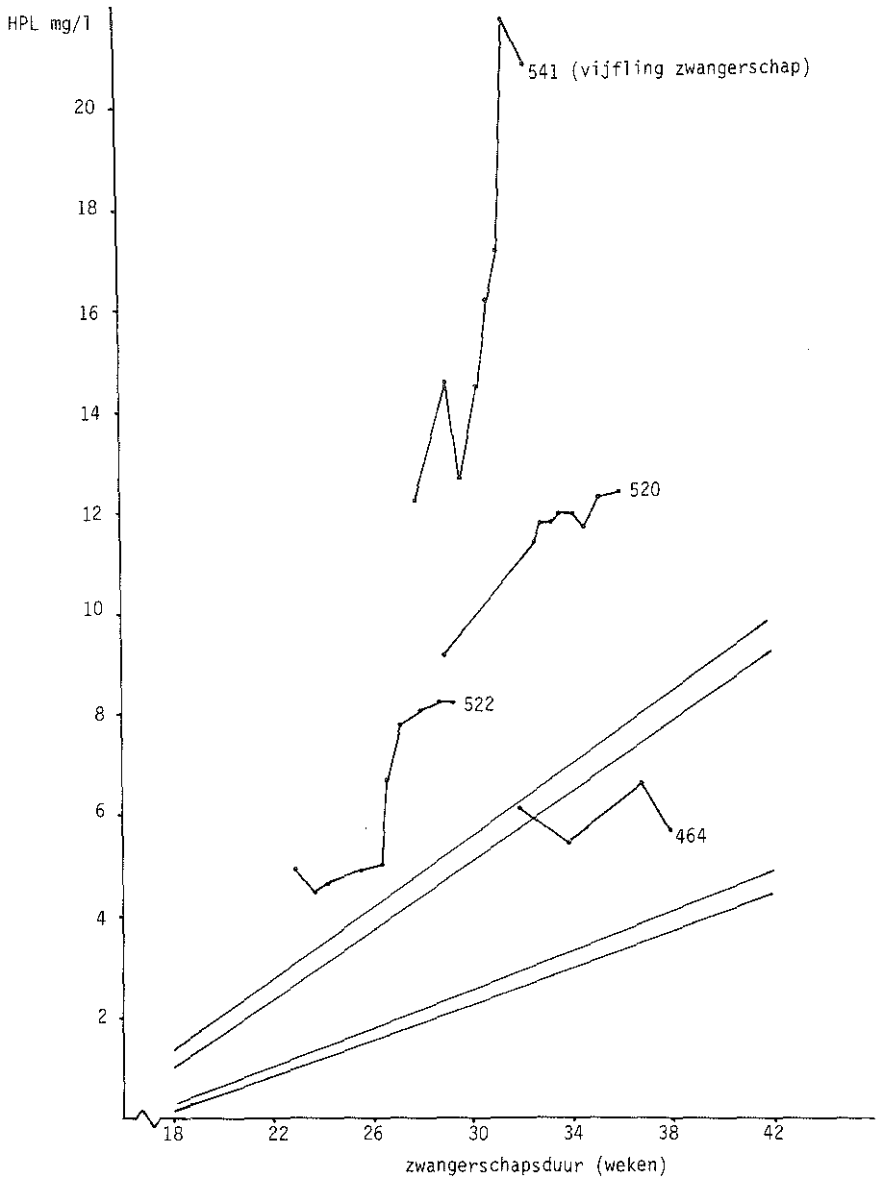
Figuur 6.24. HPL concentraties bij zwangeren met diverse stoornissen in de zwangerschap.
 469-481: groei vertraging met inhaalgroei
 485: coarctatio aortae
 521: pyelonephritische schrompelinieren.

6.4. Meerlingzwangerschappen.

Bij het onderzoek zijn 11 zwangeren met een tweelingzwangerschap en 1 patiënte met een vijflingzwangerschap betrokken. Bij deze zwangeren werden in totaal 65 HPL-bepalingen verricht. In alle gevallen werden levende kinderen zonder congenitale afwijkingen geboren. Het geboortegewicht van de kinderen is niet in de beschouwing betrokken, omdat geen betrouwbare percentiellijnen van geboortegewichten bij "normale" meerlingzwangerschappen ter beschikking staan. Het nettogewicht van de placenta -of van de placentas samen- lag in alle gevallen boven de 90e percentiel van het placentagewicht van eenlingzwangerschappen met dezelfde zwangerschapsduur. In 10 gevallen lag het placentagewicht zelfs hoger dan de 97.7e percentiel. Bij de 8 patiënten waarvan de resultaten zijn weergegeven in figuur 6.25. verliep de meerlingzwangerschap klinisch ongestoord. Van de 4 zwangeren waarvan de resultaten zijn weergegeven in figuur 6.26. dienen een aantal bijzonderheden te worden vermeld. Bij patiënte 464 was tevens sprake van een hypertensie; patiënte 520 had een stoornis in de koolhydraatstofwisseling waarvoor geen insulinetherapie noodzakelijk werd geacht; patiënte 522 had een preexistente hypertensie.

Bij patiënte 541 was sprake van een vijflingzwangerschap. Zij beviel ruim 30 weken na de conceptiedatum van vijf gezonde kinderen van, respectievelijk, 1400, 1450, 1500, 1660 en 1340 gram. De placenta was pentaamniaal en pentachoriaal en had een brutogewicht van 1790 gram. De sera van deze zwangere werden verdund met HPL-vrij serum zodat ook deze hoge HPL-concentraties betrouwbaar konden worden bepaald.

Bespreking. Bij vrijwel alle zwangeren in deze groep lagen de HPL-concentraties boven de 95e percentiel van de referentiecurve, in het geval van de vijflingzwangerschap zelfs zeer ver daarboven. Deze resultaten stemmen goed overeen met de gegevens uit de literatuur (Saxena e.a., 1969; Spencer, 1971, Genazzani e.a., 1971 en Ylikorkala, 1973). Ook de auteurs waarbij een "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurve ontbreekt vermelden vaak hoge tot zeer hoge HPL-concentraties (Josimovich e.a., 1970; Genazzani e.a., 1972; Ward e.a., 1973; Garoff e.a., 1973). Bij de enige in de literatuur vermelde vijflingzwangerschap was de HPL-concentratie eveneens zeer hoog (Josimovich e.a., 1970).



Figuur 6.26. HPL concentraties bij zwangeren met een meerling-zwangerschap.

Hoofdstuk 7.

De radioimmunologische bepaling van AFP.

Bloed werd afgenomen via venapunctie. Van alle bloedmonsters werd het serum bewaard bij -20°C . Langdurig bewaren bij deze lage temperatuur heeft geen invloed op de AFP-concentratie (Brock e.a., 1974). Alle sera waren in verband met het HPL-onderzoek tenminste eenmaal ontdooid en daarna opnieuw ingevroren. Er zijn in de literatuur geen gegevens te vinden betreffende eventuele verandering in de AFP-concentratie ten gevolge van herhaaldelijk invriezen en ontdooiden van het serum. Om deze reden werd een poolserum herhaaldelijk ontdooid en opnieuw ingevroren. Na iedere maal ontdooiden werd het AFP-gehalte in het serum bepaald. De laatste maal is het monster vóór de bepaling 72 uur ontdooid geweest. De resultaten zijn weergegeven in tabel 7.1. Herhaaldelijk ontdooiden en invriezen blijkt geen invloed te hebben op het AFP-gehalte.

Tabel 7.1.: Invloed van meerdere keren ontdooiden op het AFP-gehalte van een poolserum.

aantal malen ontdooid	AFP-concentratie (microgram/l)
1	36
2	38
3	37
4	33
5	38 $\bar{X} = 36.9$
6	37 $S = 1.9$
7	38 variatiecoëfficiënt: 0.05

7.1. Het principe van de bepaling van AFP

Aanvankelijk bestonden er slechts kwalitatieve bepalingsmethoden, gebaseerd op diverse elektroforesetechnieken (overzicht bij Abelev, 1971). Tatarinov (1965, 1966) beschreef een semikwantitatieve immunoelektroforese methode. Nadat er methoden waren ontwikkeld om zeer gezuiverd AFP te verkrijgen (Nishi, 1970; Ruoslahti e.a., 1971a; Nørgaard-Pedersen, 1972) werd toepassing van kwantitatieve immunologische technieken mogelijk.

Met immuno-elektroforese en immunodiffusie kunnen AFP-concentraties boven 1 mgr/l worden gemeten. Met radioimmunologische technieken kunnen concentraties worden gemeten vanaf 0.5 - 5 microgram/l (Ruoslahti e.a., 1971b; Purves e.a., 1972; Ishiguro e.a., 1973; Hirai e.a., 1973; Iio e.a., 1973; Masseyeff e.a., 1974). Zonder gebruik van radioisotopen kunnen concentraties van 50 microgram/l worden gemeten met een immunoenzymatische bepalingmethode (Alpert, 1974).

Voor de bepalingen in dit onderzoek werd gebruik gemaakt van de Alfa-feto-riakit van de firma Abbott N.V. Het principe van de radio-immunoassay is beschreven in hoofdstuk 5.1. De scheiding van de vrije en de gebonden fractie vindt bij de Alfa-feto-riakit plaats met behulp van een tweede antigeen-antilichaam reactie (double antibody method).

7.2. Werkprocedure en eigenschappen van de gebruikte bepalingmethode

Voor de bepaling van AFP met behulp van de Alfa-feto-riakit werd nauwkeurig het voorschrift gevolgd van de fabrikant, zonder enige modifikatie. Alle bepalingen werden achter elkaar verricht door één persoon op de afdeling Nucleaire Geneeskunde van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt. De berekeningen werden uitgevoerd met een computer volgens de rekenmethode van Rodbart.

De *specificiteit* van de gebruikte kit werd nagegaan door van een van de standaarden en van navelstrengbloed verdunningsreeksen te maken met AFP-vrij serum. De AFP-concentratie bleek lineair te dalen met de verdunning, terwijl de met behulp van de methode van de kleinste kwadraten berekende rechte door de punten uiteindelijk nagenoeg door 0 ging. Dit betekent dat de gebruikte bepalingmethode specifiek is voor AFP. Uit de literatuur blijkt dat er geen kruisreacties met AFP bekend zijn (Masseyeff e.a., 1974).

De *gevoeligheid* van de gebruikte kit werd afgelezen uit het verloop van de standaardcurve. Met de gebruikte methode zijn AFP-concentraties aantoonbaar tussen 2 en 320 microgram per liter. Indien hogere concentraties AFP in het te onderzoeken monster aanwezig zijn, moet het monster worden verdund met AFP-vrij serum.

De *precisie* van de gebruikte kit werd getoetst aan de intra-assay variatie en de inter-assay variatie. De intra-assay variatie werd bepaald door van drie monsters binnen één meetsessie in veelvoud het

AFP-gehalte vast te stellen. De resultaten zijn vermeld in tabel 7.2.

Tabel 7.2.: De intra-assay variatie van de AFP bepaling.

aantal bepalingen	\bar{X} ($\mu\text{g/l}$)	S
10	224.38	6.13
8	71.99	2.44
8	8.22	0.63

De inter-assay variatie werd bepaald door, steeds wanneer gebruik werd gemaakt van nieuwe reagentia (14 x), de AFP-concentratie te bepalen in drie poolsera. De resultaten zijn vermeld in tabel 7.3.

Tabel 7.3.: De inter-assay variatie van de AFP bepaling.

aantal bepalingen	\bar{X} ($\mu\text{g/l}$)	S
14	347.42	25.72
14	105.21	8.75
14	18.14	2.07

De precisie van de bepaling mag, zeker wanneer het om hogere concentraties gaat, goed worden genoemd. Evenals bij de HPL bepaling werd ook hier een indruk verkregen van de *naauwkeurigheid* van de methode door de uit de standaarden gevonden AFP-waarden te vergelijken met de door de fabrikant opgegeven waarden. De resultaten zijn vermeld in tabel 7.4. De gevonden en de opgegeven waarden komen goed overeen. De "International Agency for Research on Cancer" van de W.H.O. beschikt over een voorlopig referentiepreparaat (72/225). De activiteit van dit preparaat is gesteld op 50 internationale micro-eenheden AFP per milliliter. Aan het einde van ons onderzoek kregen wij de beschikking over een geringe hoeveelheid van deze referentiestandaard. Met behulp van de gebruikte kit werd in een monster van het

Tabel 7.4.: De "nauwkeurigheid" van de AFP bepaling.

opgegeven gehalte ($\mu\text{gr/l}$)	aantal bepalingen	gevonden gehalte \bar{X} ($\mu\text{gr/l}$)	S
3.95	13	3.50	0.38
7.80	13	6.98	0.94
15.23	14	15.14	1.43
29.09	14	31.53	1.80
45.71	14	52.76	2.35
106.00	14	117.67	5.96
320.00	14	321.43	15.74

het referentiepreparaat zesmaal het AFP-gehalte bepaald. De resultaten zijn weergegeven in tabel 7.5. Het 95 % betrouwbaarheidsinterval van de gemiddelde gevonden concentratie als benadering van de meetverwachting μ is $53.4 < \mu < 63.9$. De bepaling blijkt dus systematisch te hoog uit te vallen ten opzichte van de gezochte waarde.

Tabel 7.5.: Bepaling van het AFP-gehalte in WHO referentiepreparaat 72/225* met de alfa-feto-riakit.

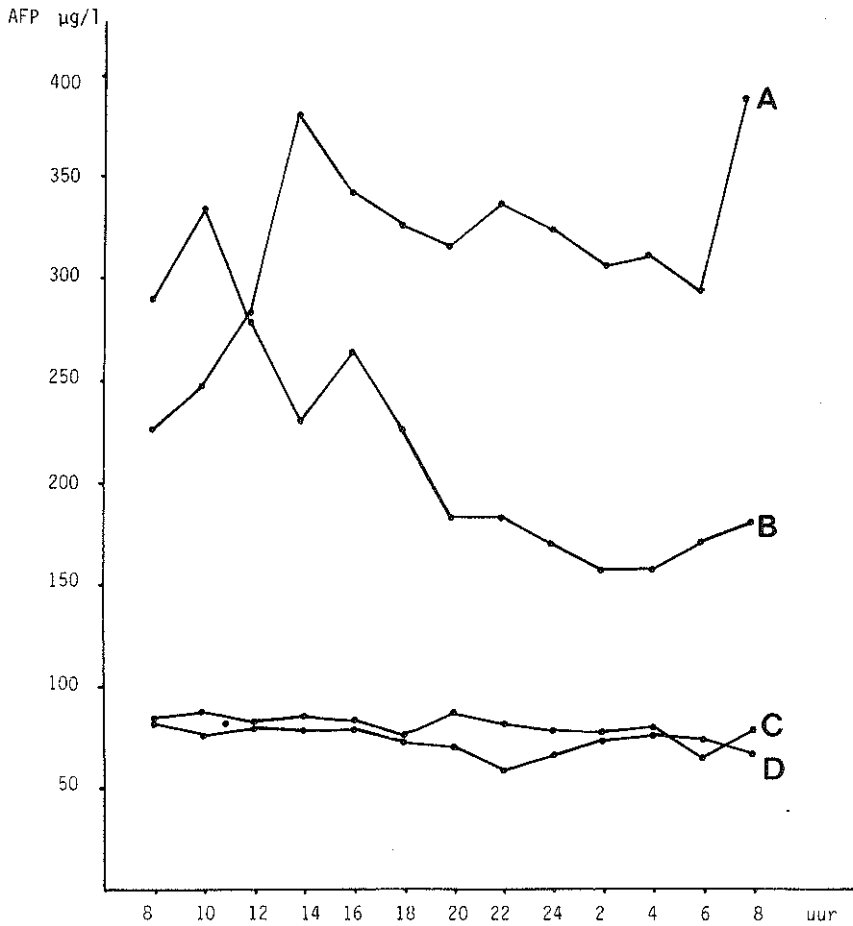
resultaten: 53.8 microgr/ml

57.6	"	"	
59.7	"	"	
60.3	"	"	$\bar{X} = 58.8 \mu\text{g/l}$
61.8	"	"	$S = 4.9$
59.9	"	"	variatiecoëfficiënt = 0.08

* standaard gesteld op 50 internationale microeenheden per ml.

7.3. Dagritme en dagschommelingen van AFP.

Bij 4 zwangeren werd gedurende 24 uur om de twee uur bloed afgenomen, waarin het AFP-gehalte werd bepaald. De resultaten zijn grafisch weergegeven in figuur 7.1. Twee van de vier zwangeren tonen grote variaties in AFP-concentratie in de loop van de dag. Deze varia-



Figuur 7.1. AFP-concentratie in serum bij 4 zwangeren over 24 uur bepaald.

ties zijn groter dan zou kunnen worden verwacht op grond van de intra-assay variatie. De laagste waarde over 24 uur bij patiënte A en B is respectievelijk 72 % en 55 % van de hoogste waarde. Er lijkt geen bepaalde trend in de concentratieveranderingen te bestaan. Bij de beoordeling van de resultaten van het onderzoek zal met dit gegeven rekening moeten worden gehouden.

HOOFDSTUK 8.

RESULTATEN VAN DE AFP-BEPALING IN DE ONGESTOORDE EN IN DE GESTOORDE ZWANGERSCHAP.

Zoals reeds is uiteengezet in hoofdstuk 4 waren bij het onderzoek naar de betekenis van de AFP-concentratie in het serum van zwangeren met een ongestoorde of een gestoorde zwangerschap dezelfde zwangeren betrokken als bij het HPL-onderzoek. Van vier zwangeren was niet voldoende serum voor de AFP-bepaling beschikbaar, zodat het onderzoek uiteindelijk in totaal 521 zwangeren omvatte. In tabel 4.2. is de verdeling van de zwangeren in 4 groepen weergegeven. Bij de bespreking van de resultaten in de volgende paragrafen zal deze verdeling worden aangehouden.

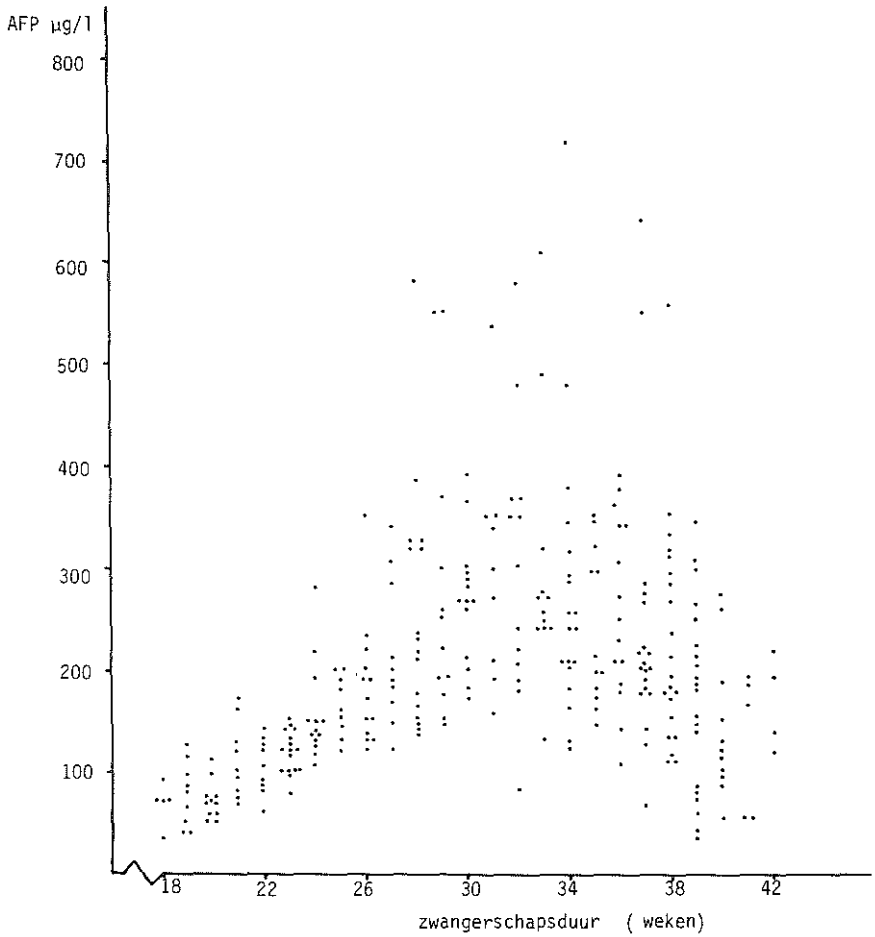
8.1. De ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus

Voor de omschrijving van het begrip ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus wordt verwezen naar hoofdstuk 4. Binnen het onderzoek voldeden 331 zwangeren hieraan. Op dezelfde wijze als beschreven in hoofdstuk 6.1. voor de HPL-bepaling kwamen 307 serummonsters van 307 zwangeren in aanmerking voor het transversale deel van het onderzoek. De 159 serummonsters van de overige 24 zwangeren werden verwerkt in de longitudinale studie.

8.1.1. de transversale AFP-referentiecurve

De AFP-concentraties in de 307 serummonsters werden gerangschikt naar zwangerschapsweek (figuur 8.1.). Bij 59 van de 307 zwangeren bleek de placenta één of meer infarcten te bevatten. In alle gevallen bedroeg de infarcering minder dan 5 %. Bij uitzetten van de AFP-concentraties van deze 59 zwangeren in de puntenwolk van de waarden van 248 zwangeren zonder infarcering van de placenta bleek geen duidelijk verschil aanwezig te zijn. Daarom zijn de waarden van de 59 zwangeren met placentainfarcten opgenomen in de normale referentiecurve.

Anders dan voor de HPL-referentiecurve werden voor de AFP-referentiecurve geen percentiellijnen berekend. Dit leek weinig zinvol omdat bij het grafisch uitzetten van de AFP-concentraties in pathologische zwangerschappen in de referentiecurve bleek dat, zoals



Figuur 8.1. AFP concentraties in serum van 307 zwangeren met een ongestoorde zwangerschap en optimale neonatus (transversaal onderzoek).

later zal worden besproken (hoofdstuk 8.2.), de AFP-concentraties vrijwel altijd geheel binnen de puntenwolk van de referentiecurve vielen.

Om een goede visuele beoordeling mogelijk te maken zal in het vervolg de referentiecurve worden aangeduid door middel van een grijs vlak, begrensd door de vloeiende lijnen die de laagste en de hoogste AFP-waarden per zwangerschapsweek verbinden.

Bespreking. De referentiecurve toont een stijgende trend van de AFP-concentratie met het toenemen van de zwangerschapsduur. De hoogste waarden worden bereikt bij een zwangerschapsduur van 32-34 weken; hierna daalt de curve weer geleidelijk. Met het toenemen van de zwangerschapsduur wordt ook de spreiding van de waarden groter, om vervolgens vanaf 38 weken weer iets af te nemen. In dertien sera werd een AFP-concentratie aangetoond van meer dan 450 microgram per liter. Visueel lijken deze waarden buiten het patroon van de curve te vallen. Uitvoerige retrospectieve analyse van de gegevens van deze 13 zwangeren leverde echter geen bijzonderheden op, op grond waarvan deze groep van de overige zwangeren zou kunnen worden afgezonderd. Mogelijk zou bij deze zwangeren sprake geweest kunnen zijn van een -geringe- foetomaternale transfusie; er is echter geen onderzoek gedaan naar de aanwezigheid van foetale erythrocyten in het moederlijk bloed.

Mede omdat ook in de longitudinale curven een aantal van deze hoge waarden bleek voor te komen (hoofdstuk 8.1.2.) zijn zij toch in de referentiecurve opgenomen.

De weinige literatuurgegevens die voor bestudering in aanmerking komen (hoofdstuk 3.7.1.1.) stemmen in grote trekken met onze resultaten overeen. Zowel Seppälä e.a. (1973b en 1973c) als Kunz e.a. (1975) hebben de grenzen van hun referentiecurve berekend, respectievelijk als 2.5e en 97.5e percentiel en als gemiddelde ± 2 SD. Zij geven geen individuele waarden, zodat niet kan worden nagegaan of bij hen eveneens sprake was van een aantal uitschieters, zoals in ons onderzoek. Rodeck e.a. (1976) geven zowel de individuele concentraties als de daaruit na logaritmische transformatie berekende 5e en 95e percentiel. Het verloop van hun curve komt overeen met dat van de onze. De spreiding is vooral na de 28e week zeer groot.

Omdat in het onderzoek van Rodeck e.a. (1976) gebruik wordt gemaakt van een andere bepalingsmethode, terwijl bovendien hun referentiepreparaat een ander is dan in ons onderzoek, zijn de resultaten kwantitatief niet vergelijkbaar. De verdeling binnen de curve is meer homogeen dan in ons materiaal; duidelijke uitschieters worden niet gezien.

8.1.2. de longitudinale AFP-curven

In 159 sera van 24 zwangeren werd de AFP-concentratie bepaald ter bestudering van het individuele longitudinale verloop van de AFP-concentratie in de ongestoorde zwangerschap. De 24 curven zijn weergegeven in de figuren 8.2. tot en met 8.5.

Bespreking. De curven liggen alle binnen de puntenwolk van de referentiecurve verkregen uit het transversale onderzoek. Ook in dit longitudinale onderzoek worden regelmatig hoge AFP-waarden gezien. Diverse curven tonen sterke schommelingen. Gezien de grote variaties die in de loop van de dag blijken te kunnen optreden (hoofdstuk 7.3.) was dit ook te verwachten. Het algemene patroon komt overeen met dat van de referentiecurve: een stijging tot ongeveer 32-34 weken met daarna een daling.

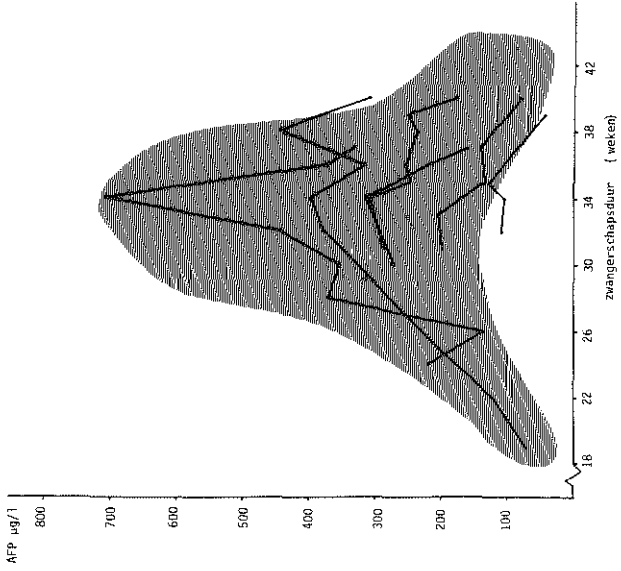
In de literatuur worden geen gegevens betreffende het longitudinale verloop van de AFP-concentratie in de normale zwangerschap aange troffen (hoofdstuk 3.7.1.1.).

8.2. De ongestoorde zwangerschap met niet-optimale neonatus

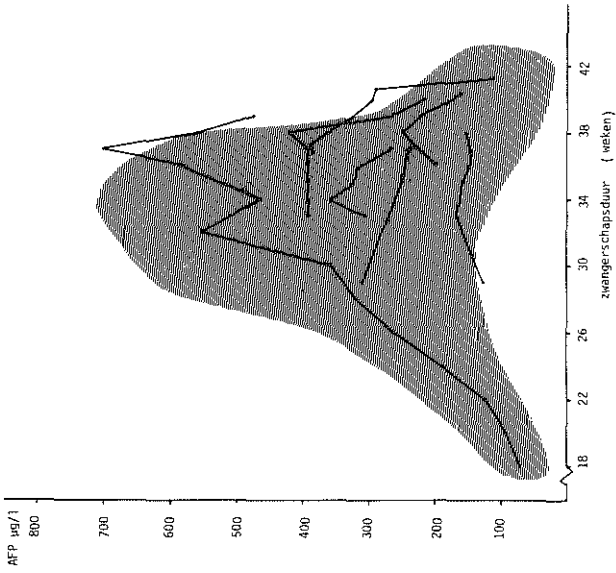
8.2.1. geboortegewicht < 10e percentiel

De resultaten van de AFP-bepalingen bij de 38 zwangeren, bij wie als enige afwijking van het normale verloop van de zwangerschap werd geconstateerd dat het geboortegewicht van het kind onder de 10e percentiel van de intrauteriene groeicurve lag, zijn weergegeven in de figuren 8.6. en 8.7.

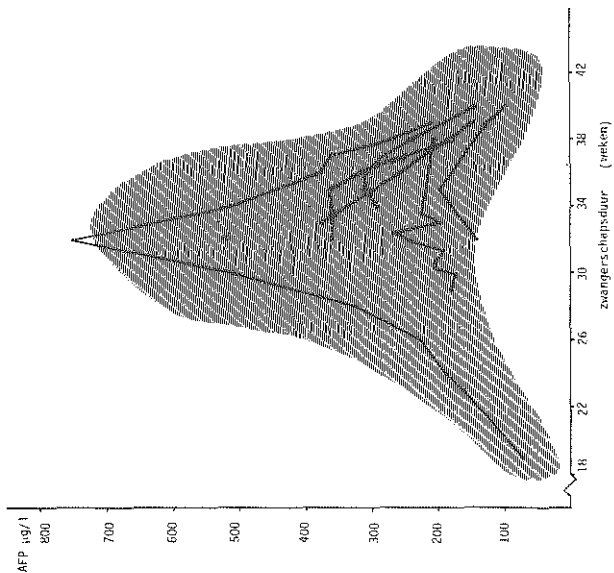
Bespreking. Alle AFP-concentraties vallen binnen de puntenwolk van de referentiecurve. Rodeck e.a. (1976) vermelden eveneens dat bij zwangeren met kinderen met een te laag geboortegewicht normale AFP-concentraties worden gevonden. In hun onderzoek wordt echter geen



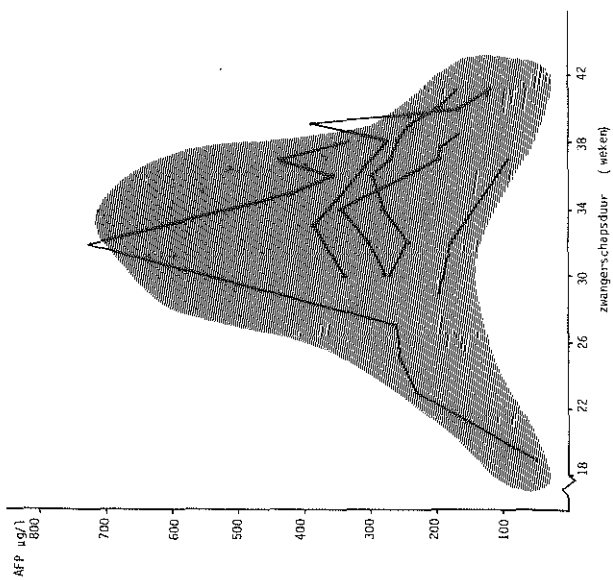
Figuur 8.2. AFP concentraties in de ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus. Binnen de omtrek van de puntenwolk van figuur 8.1. is het longitudinale verloop bij 6 zwangeren weergegeven.



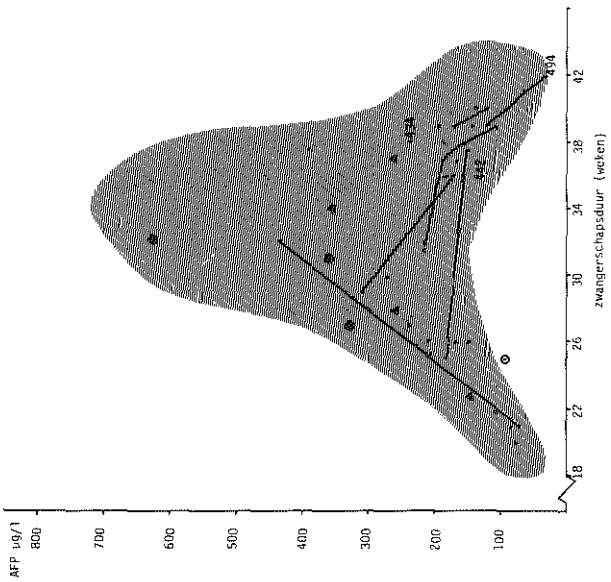
Figuur 8.3. AFP concentraties in de ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus. Weergegeven is het longitudinale verloop bij 7 zwangeren.



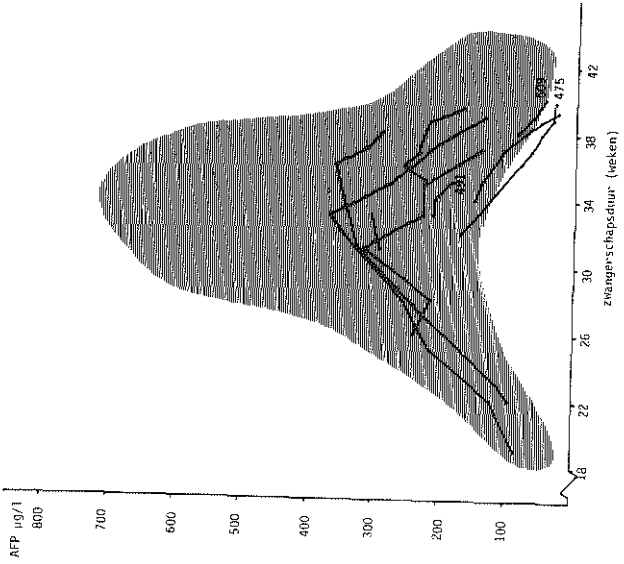
Figuur 8.4. AFP concentraties in de ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus. Ieergegeven is het longitudinale verloop bij 6 zwangeren.



Figuur 8.5. AFP concentraties in de ongestoorde zwangerschap met optimale neonatus. Ieergegeven is het longitudinale verloop bij 5 zwangeren.



Figuur 8.7. AFP concentraties in de opgestoorde zwangerschap met
geboortegewicht neonatus < 10e percentiel.
 ▲ < 2,3 percentiel
 ● 2,3 - 5 percentiel
 * 5 - 10 percentiel



Figuur 8.6. AFP concentraties in de ongestoorde zwangerschap met
geboortegewicht neonatus < 10e percentiel. Heergegeven
is het longitudinale verloop bij 9 zwangeren.

onderscheid gemaakt tussen een te gering geboortegewicht na een ongestoorde en na een gestoorde zwangerschap.

8.2.2. geboortegewicht > 90e percentiel

De resultaten van de AFP-bepalingen bij zwangeren met als enige bijzonderheid een geboortegewicht van het kind boven de 90e percentiel van de intrauteriene groeicurve, zijn weergegeven in figuur 8.8.

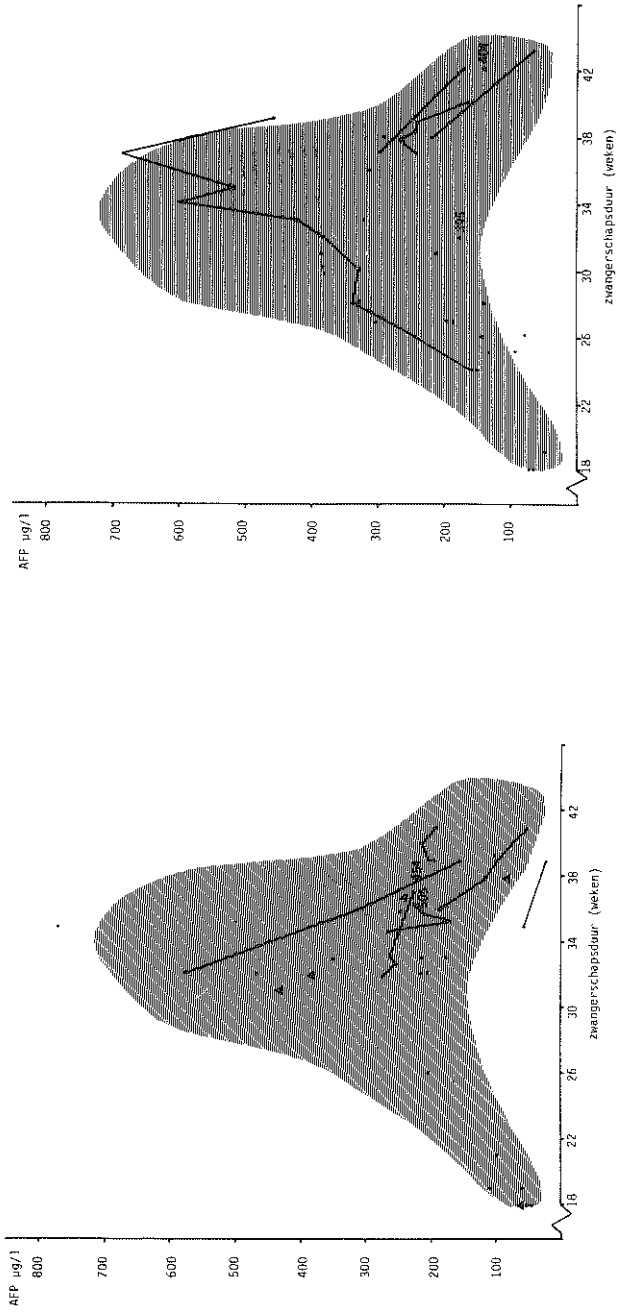
Bespreking. Vrijwel alle AFP-concentraties vallen binnen de puntenwolk van de referentiecurve. Literatuurgegevens ontbreken, zodat vergelijking niet mogelijk is.

8.2.3. Apgarscore na 1 minuut < 7

Bij 37 zwangeren verliep de zwangerschap ongestoord, doch had de neonatus een Apgarscore < 7 na 1 minuut. De AFP-concentraties zijn weergegeven in de figuren 8.9. en 8.10.

Bespreking. Vrijwel alle gevonden waarden vallen binnen de puntenwolk van de referentiecurve. In de literatuur kunnen over de AFP-concentraties in geval van een lage Apgarscore na een ongestoorde zwangerschap geen gegevens worden gevonden. Wel is door Seppälä e.a. (1973b, 1973c) en door Rodeck e.a. (1976) gezocht naar een relatie tussen de conditie van de foetus durante partu ("fetal distress") en ogenblikkelijk post partum en de AFP-concentratie. Het betreft hier waarschijnlijk alleen de toestand van kinderen na een gestoorde zwangerschap. De publicatie van Rodeck e.a. (1976) heeft betrekking op 37 gevallen van fetal distress. Deze auteurs vinden vrijwel uitsluitend normale AFP-concentraties bij foetale nood. Het is niet duidelijk hoe lang voor de geboorte de AFP-concentraties werden bepaald.

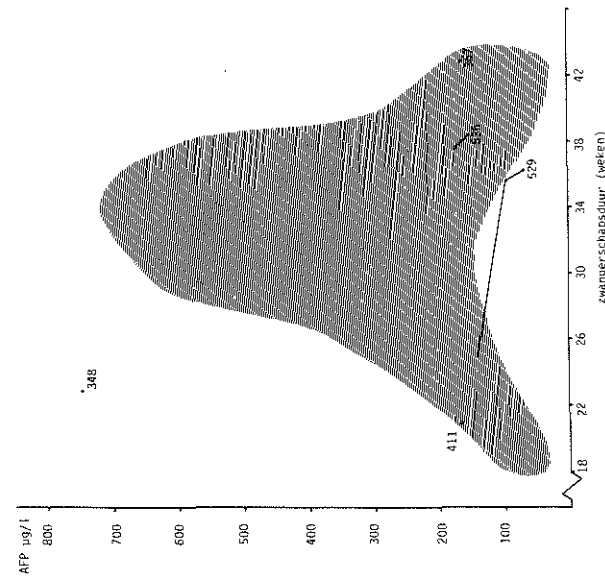
Seppälä e.a. (1973b, 1973c) vermelden verhoogde AFP-concentraties, voorafgaande aan tekenen van foetale nood en intrauteriene vruchtdood. Hun patiëntengroep is echter klein en ook hier is de relatie tussen het moment van bepaling van de AFP-concentratie en het optreden van foetale nood niet duidelijk.



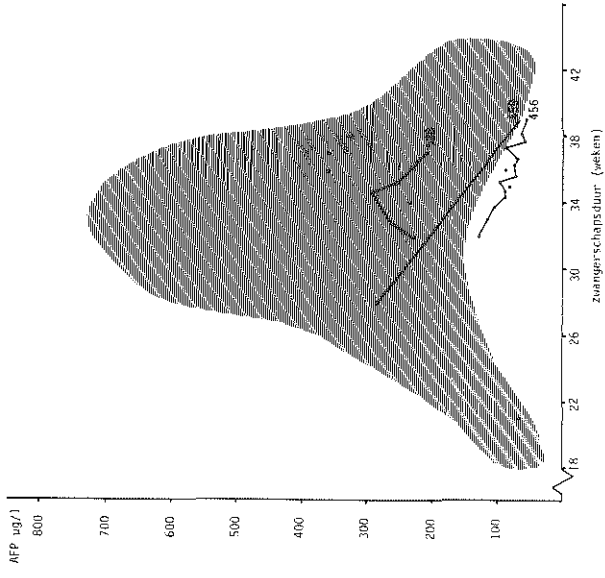
Figuur 8.8. AFP concentraties in de ongestoorde zwangerschap en neonatus met Apgarscore na 1 minuut \leq 7. Geboortengewicht \geq 10e percentiel.

Figuur 8.9. AFP concentraties in de ongestoorde zwangerschap en neonatus met Apgarscore na 1 minuut \leq 7. Geboortengewicht \geq 10e percentiel.

- ▲ Apgarscore 1, 2 of 3.
- Apgarscore 4 of 5.
- Zwangere 454 Apgarscore 4.
- Zwangere 505 Apgarscore 2.



Figuur 8.11. AFP concentraties in de ongestoorde zwangerschap en neonatus met Apgarscore na 1 minuut < 7.



Figuur 8.10. AFP concentraties in de ongestoorde zwangerschap en neonatus met Apgarscore na 1 minuut < 7.

Gebourfegewicht < 10e percentiel.
 (zwangers 456: gewicht neonatus 5-10e percentiel, Apgarscore 5.
 zwangers 459: gewicht neonatus < 2.3e percentiel, Apgarscore 4.
 zwangers 528: gewicht neonatus < 2.3e percentiel, Apgarscore 2).

8.2.4. congenitale afwijkingen van het kind

De resultaten van de AFP-bepaling bij de 5 zwangeren bij wie de neonatus congenitale afwijkingen bleek te hebben, zijn weergegeven in figuur 8.11.

Bespreking. Opvallend is de zeer hoge AFP-concentratie bij zwangere 348, die een kind met anencephalie ter wereld bracht. Bij de zwangeren 367 en 535 bleek het kind dezelfde aandoening te hebben. Hier zijn de AFP-concentraties echter niet hoog. Bij anencephalie komen ook volgens de literatuur zowel verhoogde als normale AFP-concentraties in serum voor (overzicht bij Habib, 1977). Vroeg in de zwangerschap worden vaker verhoogde concentraties gezien dan later in de graviditeit.

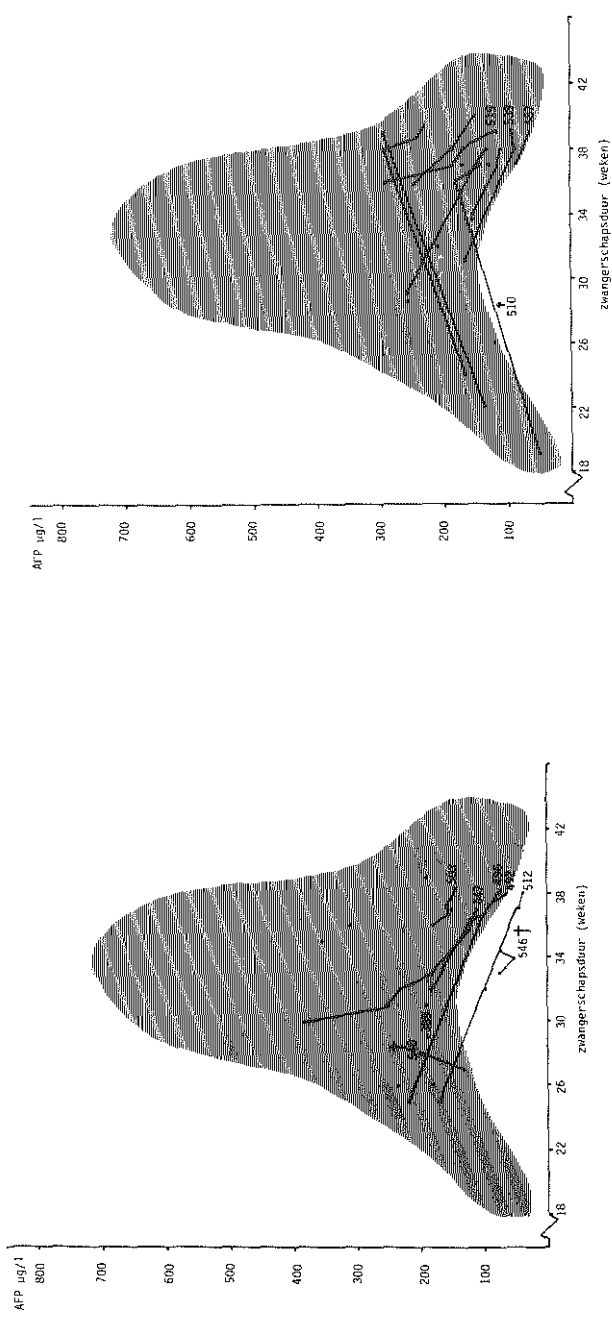
8.3. De gestoorde zwangerschap

8.3.1. hypertensie en toxicose

De resultaten van de AFP-bepaling bij de 39 zwangeren, bij wie de zwangerschap werd gecompliceerd door hypertensie en/of toxicose, zijn weergegeven in de figuren 8.12., 8.13. en 8.14.

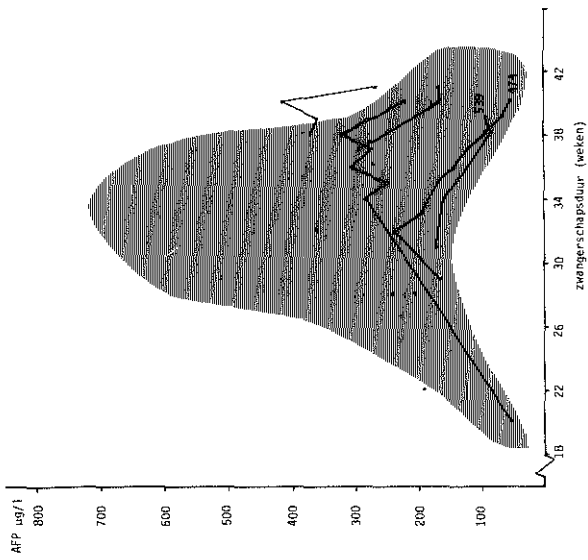
Bespreking. Vrijwel alle waarden vallen binnen de puntenwolk van de referentiecure, hoewel het merendeel zich wel in de onderste regionen van de curve bevindt. Dit laatste lijkt vooral het geval te zijn wanneer er tevens sprake is van te geringe foetale groei. De AFP-concentraties bij de 3 zwangeren, bij wie het kind intrauterien overleed, liggen normaal (zwangere 540) of zeer laag (zwangeren 546 en 550).

Ook in de literatuur worden bij hypertensie en toxicose vrijwel uitsluitend normale AFP-concentraties gevonden (Seppälä e.a., 1973c; Kunz e.a., 1975 en Rodeck e.a., 1976). Uit deze publicaties blijkt niet dat vooral bij hypertensie en toxicose met kinderen met een laag geboortegewicht lage AFP-concentraties zouden worden aangetroffen. Seppälä e.a. (1973c) vinden bij intrauteriene vruchtdood zowel normale als verhoogde AFP-concentraties. Rodeck e.a. (1976) zien bij intrauteriene vruchtdood zowel normale als zeer lage AFP-concentraties, zoals ook in ons onderzoek het geval is.

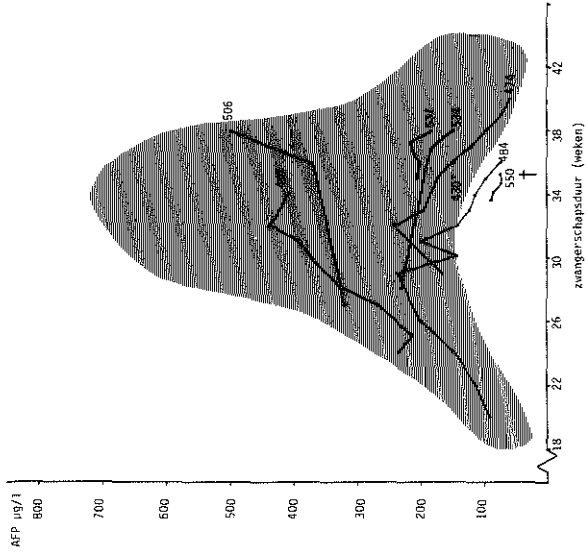


Figuur 8.12. AFP concentraties in de door toxische gestoorde zwangerschap, met geboortegewicht neonatus tussen 10e en 90e percentiel.

Figuur 8.13. AFP concentraties in de door toxische gestoorde zwangerschap, met geboortegewicht neonatus < 10e percentiel.
†: intra-uteriene vrucht dood.



Figuur 8.15. AFP concentraties bij zwangere met een gestoorde GIT zonder insulinothérapie (groep 1) en geboortegewicht neonatus tussen 10e en 90e percentiel.
 Zwangere 47A: levens preëxistente hypertensie.
 Zwangere 539: levens toxische.



Figuur 8.14. AFP concentraties in de door preëxistente hypertensie gestoorde zwangerschap.
 †: intra-uteriene vruchtdood.

8.3.2. stoornis in de glucosetolerantie

De resultaten van de AFP-bepaling bij 28 zwangeren met een stoornis in de glucosetolerantie zijn weergegeven in de figuren 8.15. tot en met 8.18.

Bespreking. Vrijwel alle waarden vallen binnen de puntenwolk van de referentiecijve. De resultaten van Seppälä e.a. (1973c) komen met de onze overeen. Verdere literatuurgegevens ontbreken.

8.3.3. actief Rhesusantagonisme

De resultaten van de AFP-bepaling bij het drietal zwangeren met een actief Rhesusantagonisme zijn weergegeven in figuur 8.19. Zij vallen allen binnen de puntenwolk van de referentiecijve. Voor verdere gegevens betreffende deze zwangerschappen wordt verwezen naar hoofdstuk 6.3.3.

Bespreking. Kunz e.a. (1975) vonden bij 18 onderzochte zwangeren met actief Rhesusantagonisme naast normale ook vaak verhoogde AFP-concentraties. Zij konden geen relatie aantonen tussen de hoogte van de AFP-concentratie en de ernst van de rhesus-ziekte bij het kind.

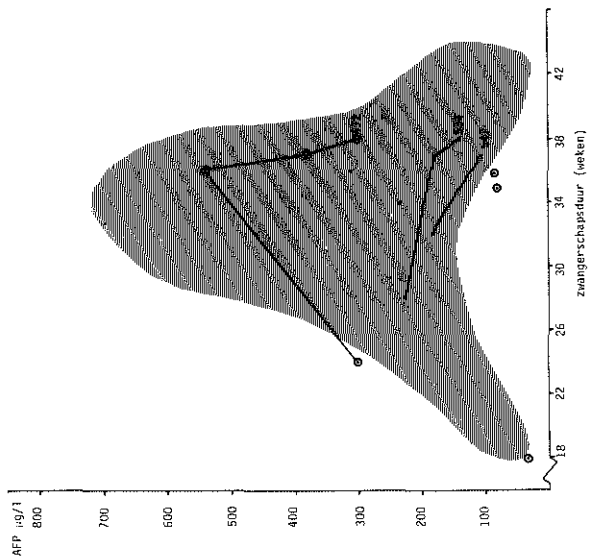
8.3.4. placenta praevia en solutio placentae

De AFP-concentraties van de 3 zwangeren met vaginaal bloedverlies ten gevolge van placenta praevia en van de zwangere bij wie een solutio placentae optrad zijn weergegeven in figuur 8.20. De klinische gegevens werden reeds vermeld in hoofdstuk 6.3.4. Op één na liggen de resultaten binnen de puntenwolk van de referentiecijve.

Bespreking. In de literatuur werden geen vermeldingen van de AFP-concentratie bij placenta praevia gevonden. Rodeck e.a. (1976) geven de resultaten van de AFP-bepaling bij 3 zwangeren met een solutio placentae. Bij 2 zwangeren lagen de AFP-concentraties in het normale gebied, bij één zwangere waren zij laag.

8.3.5. diverse stoornissen in de zwangerschap

De resultaten van de AFP-bepaling bij deze groep zwangeren zijn weergegeven in figuur 8.21. Op de aard van de stoornis werd reeds



Figuur 8.16. AFP concentraties bij zwangere met een gestoorde GI

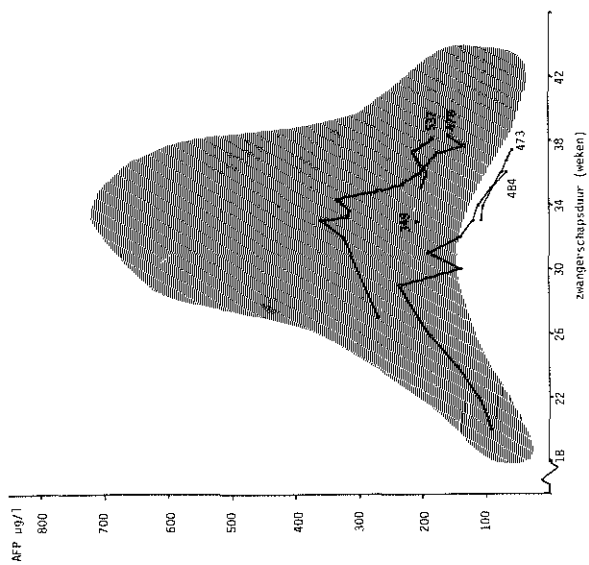
zonder insulinothérapie (groep 1).

• neonatus < 10e percentiel.

○ neonatus > 90e percentiel.

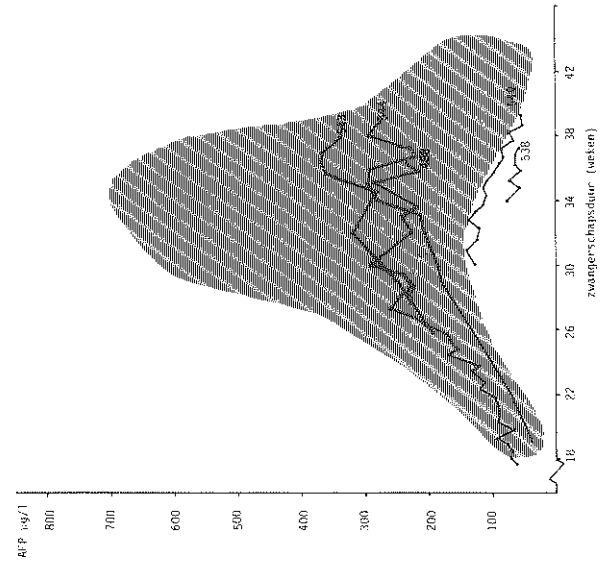
Zwangere 534: persistente hypertensie (ook fig. 6.14.).

Zwangere 547: toxikose (ook fig. 8.13.).

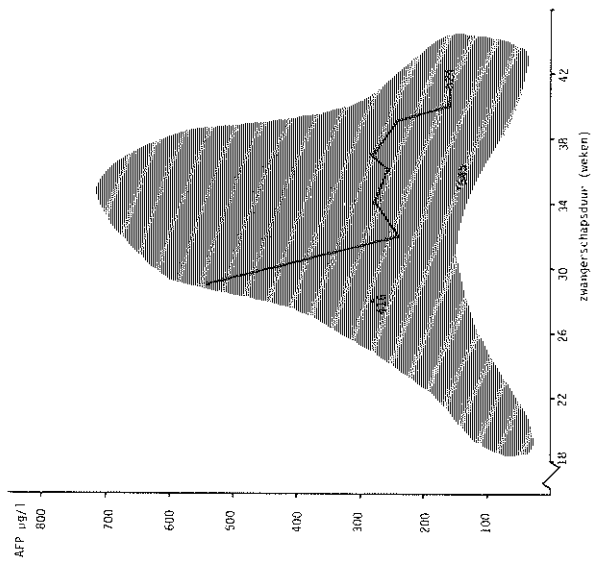


Figuur 8.17. AFP concentraties bij zwangere met een gestoorde GI

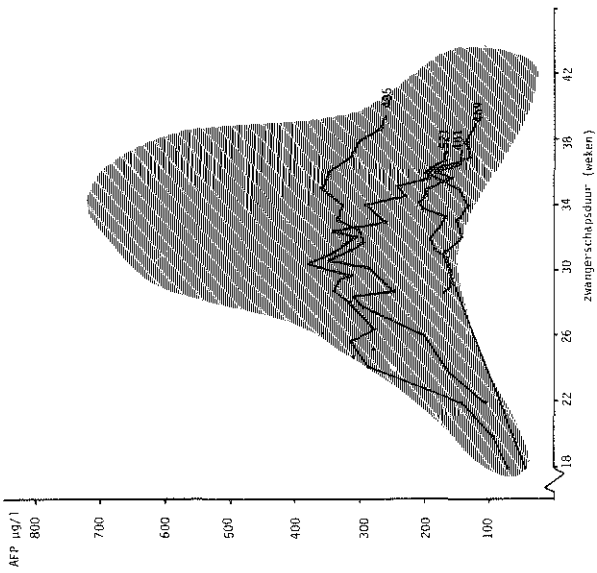
met insulinothérapie (groep 2).



Figuur B.18. AFP concentraties bij zwangeren met een gestoorde GTT (groep 5).



Figuur B.19. AFP concentraties bij zwangeren met actief Rhesus-antagonisme.

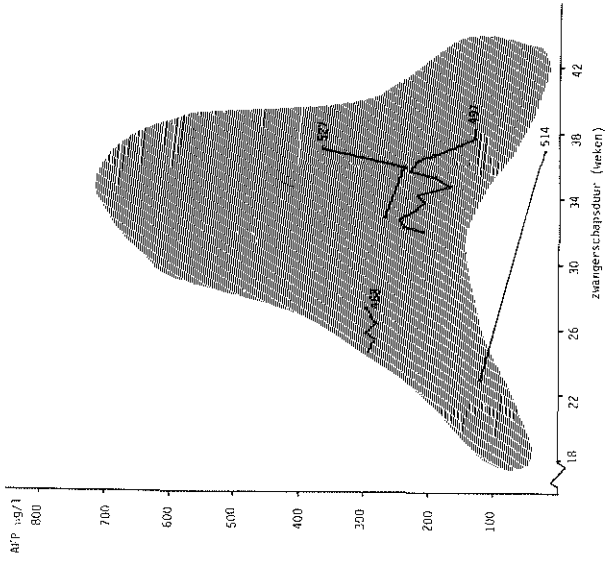


Figuur 8.21. AFP concentraties bij zwangere met diverse stoornissen in de zwangerschap.

469 - 481: groeivertraging met hibaalgrwel.

485 : coarctatio aortae.

521 : pylonephritische scleromphalieren.



Figuur 8.20. AFP concentraties bij zwangere met solutio placentae (468) of placenta praevia.

ingegaan in hoofdstuk 6.3.5. De AFP-concentraties vallen alle binnen de puntenwolk van de referentiecurve.

8.4. Meerlingzwangerschappen.

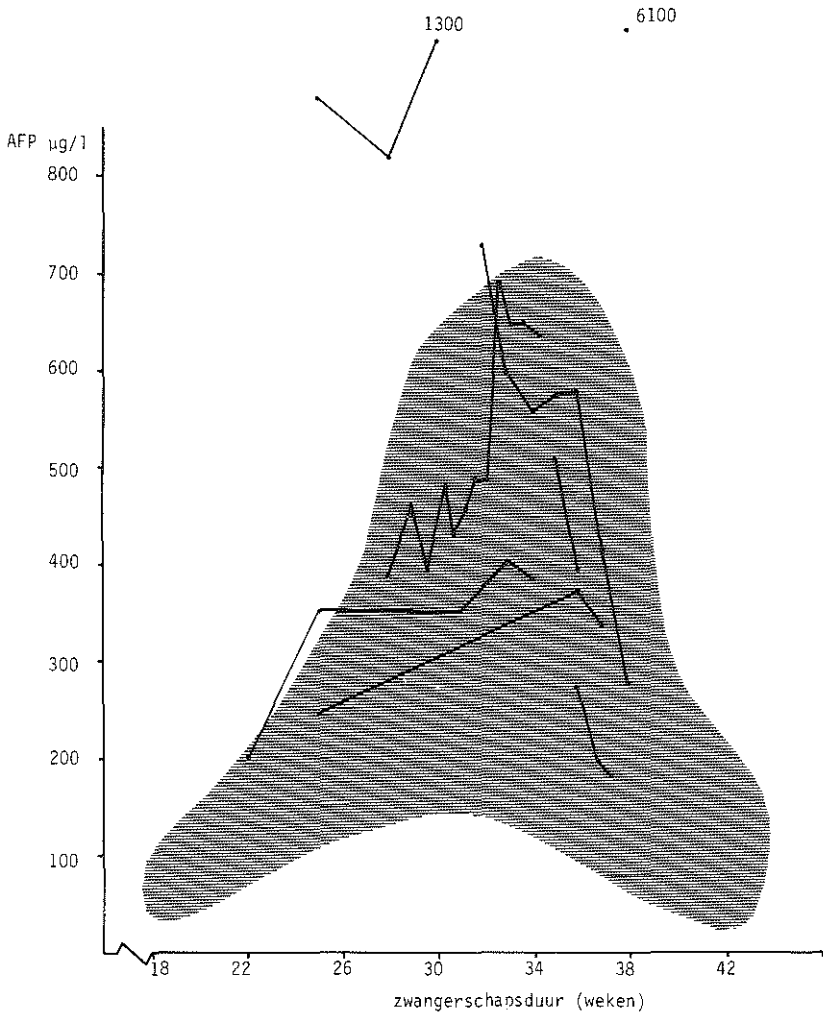
De resultaten van de AFP-bepaling bij 11 zwangeren met een tweelingzwangerschap en 1 zwangere met een vijfelingzwangerschap zijn weergegeven in de figuren 8.22. en 8.23.

Bij 3 zwangeren, waaronder die met de vijfeling, liggen de AFP-concentraties ver boven de puntenwolk van de referentiecurve. De overige uitslagen vallen binnen de puntenwolk. Rodeck e.a. (1976) vermelden normale AFP-concentraties bij tweelingzwangerschappen. Verdere literatuurgegevens ontbreken.

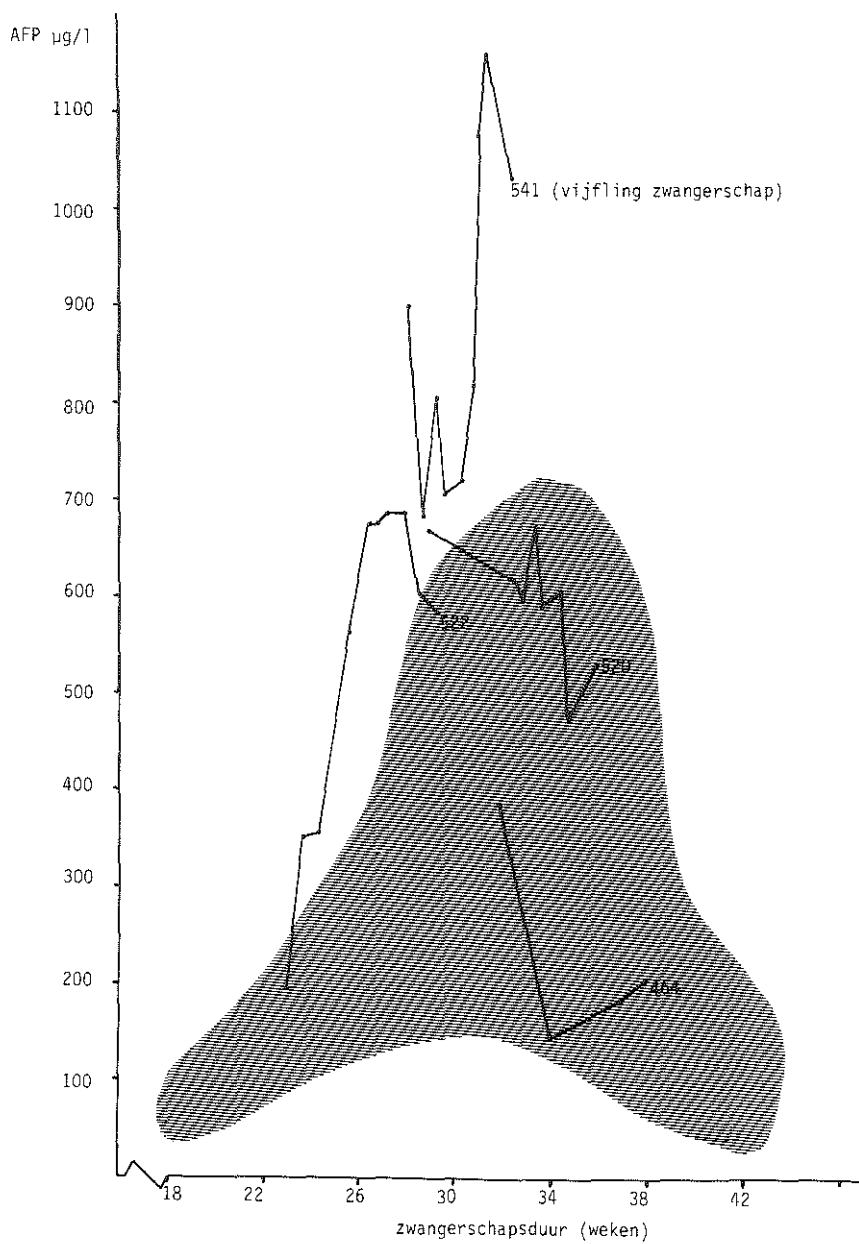
8.5. Samenvatting.

In het totale materiaal werden bij 4 zwangeren duidelijk verhoogde AFP-concentraties gevonden. Dit betreft zwangere 438 (figuur 8.11.) met een anencephaal kind, en 3 zwangeren met een meerlingzwangerschap (figuur 8.22. en 8.23.). Bij alle overige zwangeren lagen de AFP-concentraties binnen de puntenwolk van de referentiecurve. Bij de groep zwangeren met toxicose en kinderen met een te laag geboortegewicht (figuur 8.13.) kan over het algemeen worden gesproken van een verlaagde AFPconcentratie.

Onze resultaten kunnen slechts in beperkte mate worden vergeleken met die in de literatuur, omdat bij de meeste onderzoekers een "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurve ontbreekt. Seppälä e.a. (1973b, 1973c) beschrijven verhoogde AFP-concentraties wanneer er sprake was van ernstige foetoplacentaire dysfunctie, blijkend uit een abnormale foetale hartactie, foetale acidose, meconiumhoudend vruchtwater, groeivertraging of intrauteriene vruchtdood. Op grond hiervan achten zij AFP-bepaling in moederlijk serum van belang voor het opsporen van risicozwangerschappen. Kunz e.a. (1975) en Rodeck e.a. (1976) zijn een geheel andere mening toegedaan. Zij zien in hun materiaal in gestoorde zwangerschappen vrijwel geen AFP-waarden die vallen buiten de grenzen van hun referentiecurve. Deze auteurs achten dan ook de AFP-bepaling van weinig nut voor de bewaking van de zwangerschap.



Figuur 8.22. AFP concentraties bij zwangeren met een tweelingzwangerschap.



Figuur 8.23. AFP concentratie bij zwangeren met een meerling-zwangerschap.

De resultaten van het eigen onderzoek ondersteunen deze laatste mening. Met name in de groep zwangeren met foetale groeivertraging en bij het optreden van intrauteriene vruchtdood kunnen normale of zeer lage AFP-concentraties worden gevonden.

HOOFDSTUK 9.

SLOTBESCHOUWING EN CONCLUSIES.

9.1. Algemeen

In hoofdstuk 1 werd een aantal voorwaarden genoemd, waaraan voor het samenstellen van een referentiecurve van normale waarden van een variabele in de zwangerschap dient te worden voldaan. Uit het besprokene in hoofdstuk 2.9.1. en 3.7.1.1. blijkt dat, voor wat betreft de bepaling van de HPL- en de AFP-concentraties in serum van zwangeren met een ongestoorde zwangerschap, geen enkel in de literatuur gepubliceerd onderzoek aan deze fundamentele methodologische criteria voldoet.

Ook aan de basale methodologische eis dat, bij onderzoek naar de betekenis van waarden van een variabele in pathologische situaties, een nauwkeurige definitie van de te onderzoeken pathologische populatie en een beschrijving van de wijze waarop de steekproef is genomen moet worden gegeven, blijkt in de meeste literatuurgegevens betreffende de betekenis van de HPL- en AFP-waarden in de gestoorde zwangerschap te worden voorbijgegaan. Het bovenstaande maakt, samen met de onvermijdelijke verschillen in zuiverheid en precisie van de gebruikte bepalingsmethoden, dat vergelijking van onze resultaten met die uit de literatuur slechts in beperkte mate mogelijk is.

9.2. Het HPL-onderzoek

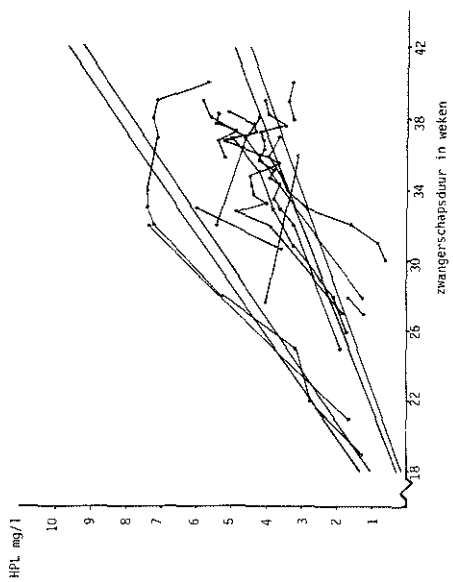
Uit de literatuur komt over het algemeen een grote geestdrift naar voren voor wat betreft de waarde van de HPL-bepaling ter evaluatie van de functie van de placenta en de toestand van de foetus. De resultaten van het eigen onderzoek ondersteunen dit enthousiasme niet. Er zijn slechts enkele groepen zwangeren, waarin de HPL-concentraties regelmatig boven de 95e percentiel of onder de 5e percentiel van de referentiecurve liggen. Hoge waarden (boven de 95e percentiel) worden gezien bij zwangeren met diabetes mellitus, vooral als de graviditeit wordt gecompliceerd door hydramnion, en bij zwangeren met meer dan één kind in utero. In beide situaties zal langs andere weg -eenvoudig lichamelijk onderzoek en echoscopie- de diagnose kunnen worden gesteld; de HPL-bepaling geeft hierbij geen

aanvulling van waarde. Lage HPL-concentraties (onder de 5e percentiel) komen regelmatig voor bij foetale groeivertraging, echter niet zo frequent als de literatuurgegevens doen vermoeden. In de figuren 9.1., 9.2. en 9.3. worden de HPL-curven gegeven van alle zwangeren, bij wie het geboortegewicht van het kind lager was dan de 10e percentiel van de intrauteriene groeicurve. Het blijkt dat slechts de groep, waarin het geboortegewicht van het kind onder de 2.3e percentiel ligt, duidelijk is te onderscheiden van de groep zwangeren met een ongestoorde zwangerschap en een kind met een normaal geboortegewicht. Minder ernstige groeivertraging gaat veelal niet gepaard met lage HPL-concentraties, noch met een afwijkend verloop van de curven. Ook hier geldt dat met eenvoudig obstetrisch onderzoek, eventueel aangevuld met echoscopisch onderzoek, de onvoldoende foetale groei kan worden opgespoord, zodat voor het herkennen van extreme groeivertraging de HPL-bepaling kan worden gemist. Ook tussen het verloop van de HPL-curve en de uiteindelijke toestand van het kind blijkt geen duidelijke correlatie te bestaan. Een dalende trend van de HPL-concentratie, volgens de literatuur een teken van een slechte placentafunctie, wordt ook gezien in ongestoorde zwangerschappen, waaruit een gezond kind met een normaal geboortegewicht wordt geboren.

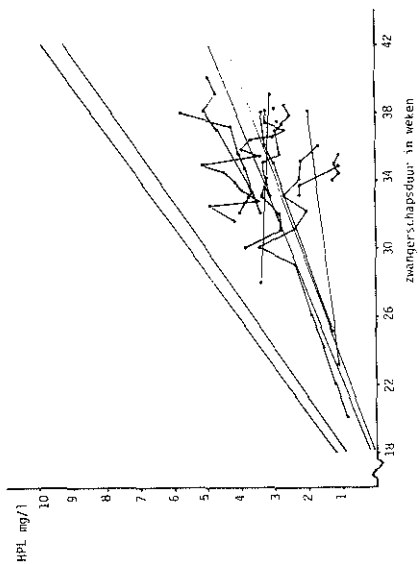
Op grond van de resultaten van ons onderzoek kan worden geconcludeerd, dat de bepaling van de HPL-concentratie in de tweede helft van de zwangerschap geen aantoonbare waarde heeft voor de bewaking van de ongestoorde of de pathologische zwangerschap.

9.3. Het AFP-onderzoek

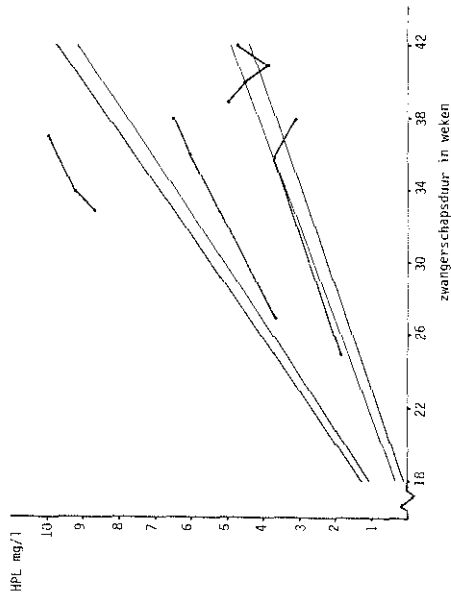
In ons land wordt door enkele commerciële laboratoria reeds enige tijd reclame gemaakt voor bepaling van de AFP-concentratie in moederlijk serum voor detectie van foetale nood. Daarbij wordt vooral verwezen naar de bevindingen van Seppälä e.a. (1973c). Hoge AFP-concentraties in moederlijk serum zouden aanwijzing geven voor het bestaan van een slechte toestand van de foetus. Uit de resultaten van het eigen onderzoek en ook uit die van de onderzoeken van Kunz e.a. (1975) en Rodeck e.a. (1976) blijkt dit verband echter niet. Zelfs bij het optreden van intrauteriene vruchtdood bleek de AFP-concentratie normaal te blijven. In ons onderzoek werden verhoogde AFP-concentraties gevonden in een zwangerschap met een anencefale



Figuur 9.2. HPL concentraties bij een geboortegewicht tussen de 5e en 10e percentiel.



Figuur 9.1. HPL concentraties in serum bij een geboortegewicht > 2,3e percentiel.



Figuur 9.3. HPL-concentraties bij een geboortegewicht tussen 2.3e en 5e percentiel.

foetus en bij enkele meerling-zwangerschappen. Het voorkomen van verhoogde AFP-concentraties in moederlijk serum bij anencefalie is door meerdere auteurs beschreven, doch dit is geen constante bevinding; ook normale AFP-concentraties komen bij deze afwijking voor. Toch blijkt uit een recent verslag van een Britse Collaborative Study (Wald en Cuckle, 1977), dat bepaling van de AFP-concentratie in serum in de 16e-18e week van de zwangerschap zou kunnen dienen als screeningstest voor de detectie van sluitingsdefecten van de neurale buis. Bepaling van de AFP-concentratie in vruchtwater in de eerste helft van de zwangerschap geeft bij anencefalie en open spina bifida altijd verhoogde waarden (zie hoofdstuk 3.7.3.).

Bij de beoordeling van onze resultaten van de AFP-bepaling in moederlijk serum in de tweede helft van de zwangerschap moet rekening worden gehouden met het feit, dat zelfs een geringe foetomaternale transfusie een duidelijke verhoging van de AFP-concentratie zal kunnen geven, gezien de hoge concentratie in foetaal bloed. Tevens blijken er bij sommige zwangeren sterke fluctuaties over de dag voor te komen (zie hoofdstuk 7.3.).

Op grond van de resultaten van het eigen onderzoek blijkt dat ook de AFP-bepaling in de tweede helft van de zwangerschap niet kan worden geacht van waarde te zijn voor de bewaking van de normale of de gestoorde zwangerschap.

SAMENVATTING.

In hoofdstuk 1 wordt het doel van het onderzoek omschreven. Bepaling van de concentratie van allerlei door de foetoplacentaire eenheid geproduceerde hormonen en enzymen in moederlijk bloed en/of de uitscheiding van deze stoffen in de moederlijke urine wordt gebruikt als test voor de toestand en de functie van de foeto-placentaire eenheid. Uit theoretische overwegingen kan worden geconcludeerd, dat de klinische waarde van elk van deze tests empirisch dient te worden vastgesteld.

In de literatuur wordt gesteld, dat verlaagde concentraties van Human Placental Lactogen (HPL) en verhoogde concentraties van Alfa-Foetoproteïne (AFP) in moederlijk plasma of serum zouden wijzen op een minder goede toestand van de foetoplacentaire eenheid. Deze bepalingen zouden daarom klinisch van waarde kunnen zijn voor de "bewaking" van de zwangerschap. Uit een oriënterend literatuuronderzoek bleek ons dat geen van de gepubliceerde onderzoeken voldeed aan een aantal fundamentele methodologische eisen (zie hoofdstuk 2). Daarom moeten de conclusies van deze onderzoeken van een vraagteken worden voorzien.

Om deze reden werd een eigen onderzoek ingesteld met de volgende doelstellingen. 1) Het met behulp van een algemeen toepasbare radio-immunologische methode bepalen van concentraties van HPL en AFP in serum van zwangeren in de tweede helft van de zwangerschap, met een ongestoord verlopende graviditeit en het hieruit samenstellen van referentiecurven. 2) Het in een prospectieve opzet evalueren van de klinische waarde van HPL- en AFP-concentraties in serum van zwangeren met een afwijkend verlopende zwangerschap, als maat voor de toestand en de functie van de foetoplacentaire eenheid. 3) Het toetsen van de literatuurgegevens aan de resultaten van dit onderzoek.

In hoofdstuk 2 worden de beschikbare literatuurgegevens betreffende HPL besproken. Het HPL wordt gevormd in de trofoblast en vrijwel volledig afgestaan aan de moederlijke circulatie. Gezien de grote aanmaak en de korte halfwaardetijd zouden veranderingen in de productie snel kunnen worden aangetoond door het optreden van veranderingen in de HPL-concentratie in moederlijk serum.

Alle publicaties, waarin waarden worden gegeven van HPL-concentraties in moederlijk serum in de tweede helft van de ongestoorde zwangerschap, werden aan een nader onderzoek onderworpen. Met name werd nagegaan of de opzet van het onderzoek zodanig was, dat het een betrouwbaar gebied van "normale" waarden zou kunnen opleveren. Dit kan slechts het geval zijn als tenminste aan de volgende voorwaarden wordt voldaan. 1) Aselecte verzameling van het materiaal, of bij selectie vermelding van de selectiecriteria. 2) Omschrijving van het begrip "normale zwangerschap". 3) Vermelding of het een longitudinaal of een transversaal onderzoek betreft. Voor transversale studies is een vereiste dat slechts één monster per patient bij het onderzoek is betrokken.

Geen enkel onderzoek blijkt aan alle genoemde criteria te voldoen. Om toch later onze resultaten te kunnen vergelijken met althans een aantal literatuurgegevens werden 15 publicaties geselecteerd, die in ieder geval aan één of meer van de genoemde criteria voldeden. Aan de "onder voorbehoud bruikbare" referentiecurven uit deze publicaties zullen de eigen referentiecurve en de resultaten uit pathologisch verlopende zwangerschappen worden getoetst.

In hoofdstuk 3 worden de literatuurgegevens betreffende AFP besproken. Dit alfa-globuline wordt geproduceerd in de foetale lever. In foetaal serum worden hoge AFP-concentraties gevonden. Buiten de zwangerschap wordt onder normale omstandigheden slechts weinig AFP in het serum aangetroffen. In de zwangerschap liggen de concentraties van AFP in serum hoger dan buiten de graviditeit. De hierbij betrokken mechanismen zijn niet bekend.

Er blijkt geen enkel onderzoek te zijn gepubliceerd over AFP-concentraties in de ongestoorde zwangerschap, waaruit een betrouwbare referentiecurve kan worden opgesteld. Op grond van de literatuurgegevens kan geen uitspraak worden gedaan over de waarde van de AFP-bepaling in moederlijk serum voor de bewaking van de zwangerschap.

In hoofdstuk 4 wordt de opzet en de uitvoering van het eigen onderzoek beschreven. Allereerst wordt de ongestoorde zwangerschap nauwkeurig gedefinieerd. Er wordt onderscheid gemaakt tussen de ongestoorde zwangerschap met een geboortegewicht van de neonatus tussen

de 10de en 90ste percentiel, en de overigens ongestoorde zwangerschap met een neonatus met een gewicht onder de 10de of boven de 90ste percentiel van de standaard groeicurve. Vervolgens worden de volgende stoornissen in de zwangerschap omschreven: hypertensie/toxicose, stoornis in de glucosetolerantie, actief Rhesusantagonisme, placenta praevia en solutio placentae en een groep diversen. De meerlingzwangerschappen worden apart vermeld. De numerieke samenstelling van deze groepen is gegeven in tabel 4.1. (HPL-onderzoek) en tabel 4.2. (AFP-onderzoek).

De placentas van alle bij het onderzoek betrokken zwangeren zijn post partum macroscopisch en microscopisch volgens een gestandaardiseerde methode onderzocht.

In hoofdstuk 5 wordt het principe van de radioimmunologische bepaling van HPL in serum besproken. Voor ons onderzoek werd de Radiochemical Centre HPL-immunoassay kit gebruikt. De werkprocedure en de eigenschappen van de methode worden uiteengezet. De gebruikte kit blijkt voldoende specifiek te zijn voor HPL; de gevoeligheid is goed in het gebied van 1 tot 10 mg HPL/liter. De nauwkeurigheid kan niet betrouwbaar worden vastgesteld wegens het ontbreken van een zuivere standaard. De precisie, afgemeten aan de inter- en de intra-assay variatie, is bij concentraties rond de 2-3 mg/liter voldoende (variatiecoëfficiënten van 6 tot 14 %) en bij concentraties rond de 6-7 mg/liter goed (variatiecoëfficiënten van 2-8 %).

Bij vier zwangeren konden geen systematische variaties over een periode van 24 uur worden vastgesteld.

In hoofdstuk 6 worden de resultaten van de HPL-bepaling in de ongestoorde en de gestoorde zwangerschap weergegeven en besproken. De HPL-concentraties, gemeten in 311 serummonsters van 311 zwangeren met een volgens de in hoofdstuk 4 besproken criteria ongestoorde zwangerschap, werden gerangschikt naar de zwangerschapsduur, variërend van 18 tot 42 weken. Op deze wijze werd een referentiecurve verkregen, waarvan de 5e, 10e, 90e en 95e percentielgrenzen werden berekend. De referentiecurve vertoont een geleidelijke stijging met het toenemen van de zwangerschapsduur. Vooral in het laatste trimester is de spreiding aanzienlijk.

Bij 24 zwangeren werden meerdere HPL-bepalingen verricht, ter bestudering van het individuele verloop van de HPL-concentratie in de ongestoorde zwangerschap. De meeste curven vertonen een overwegend stijgend verloop, overeenkomend met dat van de transversale referentiecijve. Een aantal curven wijkt hiervan echter af, zonder dat een bepaald patroon is te herkennen; vooral tegen het einde van de zwangerschap wordt zowel een stijgend, een gelijkblijvend als een dalend verloop gezien. Tevens treden in vele individuele curven aanzienlijke schommelingen op. Bij beschouwing van de HPL-concentraties in zwangerschappen met te geringe foetale groei valt op dat hierbij niet zelden lage HPL-concentraties worden gevonden, echter niet in die frequentie die de literatuurgegevens doen verwachten. In zwangerschappen met een stoornis in de glucosetolerantie, waarbij tevens sprake is van een hydramnion, en bij meerlingzwangerschappen worden frequent hoge HPL-concentraties gevonden. Bij geen van de overige onderzochte stoornissen in de zwangerschap en/of van de neonatus kunnen de HPL-concentraties in het moederlijke serum of het verloop van de curven worden onderscheiden van die in de normale zwangerschap.

In hoofdstuk 7 wordt een aantal methoden voor bepaling van AFP in serum kort besproken.

Bij ons onderzoek werd gebruik gemaakt van de commerciële Alfa-fetoria Kit. De met behulp van deze Kit uitgevoerde radioimmunologische bepaling blijkt specifiek te zijn voor AFP. Concentraties tussen 2 en 320 microgram/liter kunnen met voldoende gevoeligheid worden aangetoond. Op grond van intra-assay variatiecoëfficiënten van 2 tot 7 % en inter-assay variatiecoëfficiënten van 7 tot 11 % mag de precisie van de bepaling voldoende worden genoemd, vooral voor hogere concentraties.

Bij vier zwangeren werd het verloop van de AFP-concentratie over 24 uur bepaald. Er blijken vrij grote variaties op te treden, zonder dat daarin een bepaald patroon kan worden herkend.

In hoofdstuk 8 worden de resultaten van de AFP-bepaling in de ongestoorde en de gestoorde zwangerschap weergegeven en besproken. De AFP-concentratie werd bepaald in 307 serummonsters van 307 zwangeren met een ongestoorde zwangerschap, die ook waren betrokken bij

het HPL onderzoek (zie hoofdstuk 6). De waarden werden gerangschikt naar zwangerschapsweek; de aldus verkregen puntenwolk dient als referentie voor de AFP-concentraties in gestoorde zwangerschappen. Met het toenemen van de zwangerschapsduur vertoont de AFP-concentratie in de ongestoorde zwangerschap een stijging tot de 32ste-34ste week; daarna daalt de curve weer geleidelijk.

Bij 24 zwangeren werden meerdere AFP-bepalingen verricht, ter bestudering van het individuele verloop van de AFP-concentratie in de ongestoorde zwangerschap. Het algemene patroon komt overeen met dat van de referentiecure: een stijging tot ongeveer 32-34 weken en daarna een geleidelijke daling. Vele curven tonen grote schommelingen. Bij vrijwel alle onderzochte zwangeren met een gestoorde zwangerschap komen zowel de hoogte als het verloop van de AFP-concentraties overeen met die in de ongestoorde zwangerschap. De uitzonderingen worden gevormd door een zwangere met een anencephale foetus en een drietal meerlingzwangerschappen; in deze gevallen lagen de AFP-concentraties duidelijk boven die in de normale puntenwolk.

In hoofdstuk 9 wordt een aantal samenvattende conclusies getrokken aan de hand van de resultaten, beschreven in de hoofdstukken 6 en 8. In het algemeen kan worden gesteld, dat bepaling van de concentraties van HPL en AFP in moederlijke serum in de tweede helft van de zwangerschap geen inlichtingen verschaft over de toestand en de functie van de foetoplacentaire eenheid, die niet langs andere, meer eenvoudige, weg kunnen worden verkregen.

SUMMARY.

In chapter 1 the objectives of the investigation are defined. Measurement of the levels of various hormones and enzymes, synthesized by the fetal-placental unit, in maternal blood and/or the excretion of these compounds in maternal urine is used in the antenatal assessment of the condition and function of the fetal-placental unit. It can be concluded from theoretical considerations that the clinical value of such tests should be empirically evaluated.

It has been suggested in the literature that reduced concentrations of Human Placental Lactogen (HPL) and raised levels of Alpha-Feto-protein (AFP) in maternal plasma or serum indicate compromised functioning of the fetal-placental unit and, therefore, might be of value in monitoring pregnancy. However, we concluded from a preliminary study of the literature that none of the studies published met a number of fundamental methodological requirements (see chapter 2). Therefore, the conclusions drawn from these studies were considered to be questionable.

For these reasons we designed an investigation with the following objectives. 1) Determination of HPL and AFP levels in serum of pregnant women in the second half of gestation with an uncomplicated pregnancy, by means of a generally applicable radioimmunoassay, and composition of a reference curve. 2) Evaluation in a prospective study of the clinical value of HPL and AFP levels in serum of women with complicated pregnancies as a measure of the condition and the function of the fetal-placental unit. 3) Evaluation of data from the literature against the background of the results of this investigation.

In chapter 2 data available in the literature on HPL in pregnancy are discussed. HPL is synthesized in the trophoblast and almost completely passed into the maternal circulation. Considering the enormous production rate and the short half-life of HPL, it is to be expected that changes in the production rate will be quickly reflected in changes in HPL concentration in maternal serum.

All publications presenting values of HPL levels in maternal serum in the second half of uncomplicated pregnancy were analyzed. We checked in particular whether the methodological design of the study

would allow establishment of a range of reliable "normal" values. Such a design has to meet the following minimal requirements. 1) Random sampling of the material under study or, at least, definition of sampling criteria. 2) Stringent definition of "normality". 3) It should be clear whether it concerns a longitudinal or a cross-sectional study. In cross-sectional designs only a single sample should be taken from each subject.

None of the publications analyzed appeared to satisfy all of these criteria. A total of 15 publications in which at least one or more of the above mentioned requirements were met were selected to be able to compare our results with data from the literature. Our results will be discussed later against the background of the thus obtained "conditionally applicable" reference curves from the literature.

In chapter 3 data from the literature regarding AFP are discussed. This alpha-globuline is synthesized in the fetal liver. High levels of AFP can be demonstrated in fetal serum. Under normal conditions serum levels of AFP are low in the non-pregnant state. During pregnancy the AFP concentration in maternal serum appears to be increased; the mechanisms involved are not understood.

It appears that a reliable reference curve of AFP values in maternal serum during uncomplicated pregnancy cannot be derived from the literature. Therefore, the clinical value of measurement of AFP levels in monitoring pregnancy cannot be assessed on the basis of data from the literature.

In chapter 4 the design and the subjects of the investigation presented in this thesis are described. First, the criteria of normal pregnancy are laid down. A distinction is made between normal pregnancy with a neonatal birthweight between the 10th and the 90th percentile, and uncomplicated pregnancy with a neonatal weight below the 10th or above the 90th percentile of the weight-for-gestation standard. Further, the following complications of pregnancy are defined: hypertension/toxemia, abnormal glucose tolerance, Rh-immunization, placenta praevia and abruptio placentae, and a category of various complications. Multiple pregnancy is regarded as a sepa-

rate entity. The numerical composition of these groups is presented in Table 4.1. (HPL study) and Table 4.2. (AFP study).

Post partum the placentas of all women involved in the study were grossly and histologically examined in a standardized manner.

In chapter 5 the principles of the radioimmunoassay of HPL are discussed. In our investigation the commercially available Radiochemical Centre HPL-immunoassay Kit was used. The procedures and properties of this method are presented. The radioimmunoassay kit appears to be sufficiently specific for HPL; sensitivity is good over a range from 1 to 10 mg per liter. The accuracy of the method cannot be assessed due to lack of a standardized reference preparation. Precision, as judged from the inter- and intra-assay variation is found sufficient at concentrations of 2-3 mg/liter (coefficients of variation between 6 and 14 per cent) and good at concentrations of 6-7 mg/liter (coefficients of variation between 2 and 8 per cent). In four pregnant women no systematic variations could be demonstrated over a 24-hour period.

In chapter 6 the results of measurement of HPL levels in normal and complicated pregnancy are presented and discussed.

The concentrations of HPL as determined in 311 samples from 311 women with an uncomplicated pregnancy according to the criteria laid down in chapter 4, were arranged against the length of gestation, varying between 18 and 42 weeks. Thus a reference curve was obtained, and the 5th, 10th, 90th and 95th percentile limits were calculated. The reference curve shows a gradual rise with increasing gestational age. The HPL values show considerable scatter, in particular in the last trimester.

In each of 24 subjects several HPL determinations were performed to assess the longitudinal trend of individual curves in normal pregnancy. Most curves show a gradual rise with advancing pregnancy, similar to that of the cross-sectional reference curve. A number of curves, however, show a different trend, without any distinct pattern; in particular towards the end of pregnancy rising, falling, as well as flat curves may be found. Many individual curves show considerable variations.

Not seldom low HPL levels are seen to occur in pregnancies with poor

fetal growth. However, this finding appears to be less frequent than has been suggested in the literature.

In pregnant women with an abnormal glucose tolerance and polyhydramnios, as well as in multiple pregnancies high HPL levels are frequently observed. The level and the trend of HPL concentrations in any of the other groups of pathology of pregnancy and/or the neonate that were studied, could not be distinguished from those in normal pregnancy.

In chapter 7 various methods of measurement of AFP levels in serum are briefly discussed.

In our investigation the commercially available Alfa-feto-ria Kit was used. This kit allows specific radioimmunoassay of AFP. The sensitivity of the assay appears to be good over a range from 2 to 320 microgram per liter. Our coefficients of intra-assay variation (2 to 7 per cent) and inter-assay variation (7 to 11 per cent) indicate sufficient precision, in particular at higher concentrations.

The occurrence of significant variations in AFP levels over a 24-hour period is demonstrated in four pregnant subjects; a systematic variation pattern could not be recognized.

In chapter 8 the results of determination of AFP levels in normal and complicated pregnancy are presented and discussed.

The levels of AFP were measured in 307 samples from 307 women with uncomplicated pregnancies. These subjects were also involved in the HPL study (see chapter 6). The values were plotted against the length of gestation; the thus obtained scattergram serves as a reference for the AFP concentrations obtained from complicated pregnancies.

In normal pregnancy AFP levels increase with advancing gestational age until the 32nd-34th week, when they start to fall gradually towards term.

In each of 24 women AFP levels were determined several times in different weeks of gestation to assess the trend of the individual curves in normal pregnancy. The general pattern appears to be in agreement with that obtained from the scattergram: a rise until approximately 32-34 weeks, followed by a gradual fall. Considerable variations are apparent in many curves.

In almost all of the women with a complicated pregnancy the level as well as the trend of the AFP concentrations appear to be similar to those in normal pregnancy. Exceptions are a patient with an anencephalic fetus, and three multiple pregnancies; AFP concentrations appeared to be increased in these cases.

In chapter 9 conclusions drawn from the results presented in chapter 6 and 8 are summarized.

It appears that, generally, measurement of maternal serum levels of HPL and AFP in the second half of pregnancy does not provide any information on the condition and the function of the fetal-placental unit, that cannot be obtained by other and simpler means.

LITERATUURLIJST.

- ABELEV, G.I. (1971): Alpha-fetoprotein in ontogenesis and its association with malignant tumors. *Adv.Cancer Res.* 14: 295-358.
- ABELEV, G.I., ASSECRITOVA, I.V., KRAEVSKY, N.A., PEROVA, S.D. en PERE-VODCHIKOVA, N.I. (1967): Embryonal serum α -globulin in cancer patients: diagnostic value. *Int.J.Cancer* 2: 551-558.
- AJABOR, L.N. en YEN, S.S.C. (1972): Effect of sustained hyperglycemia on the levels of human chorionic somatomammotropin in mid-pregnancy. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 112: 908-911.
- AKEYAMA, T., KOYAMA, T. en KAMADA, T. (1972): Alpha-fetoprotein in acute viral hepatitis. *New Engl.J.Med.* 287: 989.
- ALJOJ, S.M., EDELHOCH, H., HANDWERGER, S. en SHERWOOD, L.M. (1972): Correlations in the structure and function of human placental lactogen and human growth hormone. II. The effects of disulfide bond modification on the confirmation of human placental lactogen. *Endocrinology*, 91: 728-737.
- ALPERT, E. (1974): Alpha-fetoprotein: need for quantitative assays. *New Engl.J.Med.* 290: 568-569.
- ALPERT, E., SCHUR, P., DRYSDALE, J. en ISSELBACHER, K. (1971): Human α -fetoprotein: purification and physical properties. *Fed.Proc.* 30: 246.
- ANDREOLI, M. en ROBBINS, J. (1962): Serum proteins and thyroxine-protein interactions in early human fetuses. *J.clin.Invest.* 41: 1070-1077.
- BARENTSEN, R., van KREEL, B.K., WALLENBURG, H.C.S. en DROGENDIJK, A.C. (1973): Een radioimmunologische bepaling van HPL in het serum van zwangeren. *Proc.14e Fed.Verg.Med.Biol.Veren.* no. 17.
- BECK, J.S. (1970): Time of appearance of human placental lactogen in the embryo. *New Engl.J.Med.* 283: 189-190.
- BECK, J.S., GORDON, R.L., DONALD, D. en MELVIN, J.M.O. (1969): Characterisation of antisera to a growth-hormone-like placental antigen (human placental lactogen). Immunofluorescence studies with these sera on normal and pathological syncytiotrophoblast. *J.Path.* 97: 545-555.
- BECK, P. (1970): Reversal of progesteron-enhanced insulin production by human chorionic somatomammotropin. *Endocrinology*, 87: 311-315.
- BECK, P. (1972): Lactogenic activity of human chorionic somatomammotropin in Rhesus monkeys. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 140: 183-187.
- BECK, P., PARKER, M.L. en DAUGHADAY, W.H. (1965): Radioimmunologic measurement of human placental lactogen in plasma by a double antibody method during normal and diabetic pregnancies. *J.clin. Endocrin.* 25: 1457-1462.
- BECK, P., en DAUGHADAY, W.H. (1967): Human placental lactogen: studies of its acute metabolic effects and disposition in normal man. *J.clin. Invest.* 46: 103-110.
- BERGSTRAND, C.G. en CZAR, B. (1956): Demonstration of a new protein fraction in serum from the human fetus. *Scand.J.clin.Lab.Invest.* 8: 174.
- BERGSTRAND, C.G. en CZAR, B. (1957): Paper electroforetic study of human fetal serumproteins with demonstration of a new protein fraction. *Scand.J.clin.Lab.Invest.* 9: 277-285.

- BERGSTRÄND, C.G., KARLSSON, B.W., LINDBERG, T. en EKELUND, H. (1972): α -foetoprotein, albumin and total protein in serum from preterm and term infants and small for gestational age infants. *Acta paediat.*, Uppsala. 61: 128-132.
- BERLE, P. (1973): Verhalten der mütterlichen Serumspiegel des plazentaren Laktogens bei Plazentarinsuffizienz. *Geburtsh.Frauenheilk.* 33: 455-459.
- BERLE, P. (1974): Patterns of the human chorionic somatomammotrophic (HCS) concentration ratio in maternal serum and amniotic fluid during normal pregnancy. *Acta endocrin.* 76: 364-368.
- BERLE, P., van LEYEN, H. en LINK, A. (1972): Plazentares Laktogen im mütterlichen Blut im Verlauf normaler Schwangerschaft. *Z.Geburtsh. Perinat.* 176: 470-473.
- BERLE, P., RÖSSLER, H. en PLAMBEK, H. (1973): Mütterliche HPL-Serumkonzentration vor, unter und nach der Entbindung unter besonderer Berücksichtigung der Übertragung. *Arch.Gynäk.* 213: 390-398.
- BERLE, P. en SCHULTZE-MOSGAU, H. (1974): Das Verhalten des plazentaren Laktogens im mütterlichen Serum und im Fruchtwasser bei Rh-Inkompatibilität. *Arch.Gynäk.* 216: 281-287.
- BOCK, J.E., GAEDE, P. en TROLLE, D. (1976): Human placental lactogen hormone in serum from pregnant women with Rhesus (anti-D) isoimmunization. *Acta obstet.gynec.scand.* 55: suppl. 53.
- BOIME, I. en BOGUSLAWSKI, S. (1974): The synthesis of human placental lactogen by ribosomes derived from human placenta. *Proc.Nat.Acad. Sci. U.S.A.* 71: 1322-1325.
- BOOG, G., SCHUMACHER, J.C., KIRSTETTER, L. en GANDAR, R. (1974): Diagnosis of intrauterine growth retardation by ultrasonic cephalometry and by plasmatic HCS and urinary estriol curves. 4th Europ.Congr.Perinatal Medicine, Praag, 28-31 August 1974.
- BRETTES, J.P., TOURNÉ, C. en GANDAR, R. (1974): Dosage radio-immunologique de l'alpha-foetoprotéine dans le serum maternel au cours de la grossesse, du travail et du post-partum. *J.Gyn.Obst. Biol.Repr.* 3: 843-853.
- BREUER, C.B. (1969): Stimulation of DNA-synthesis in cartilage of hypophysectomised rats by native and modified placental lactogen and anabolic hormones. *Endocrinology* 85: 989-999.
- BROCK, D.J.H., SUTCLIFFE, R.G. (1972): Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet* II, 197-199.
- BROCK, D.J.H., BOLTON, A.E. en SCRIMGEOUR, J.B. (1974): Prenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly through maternal plasma-alpha-feto-protein measurement. *Lancet* I: 767-769.
- BURT, R.L., LEAKE, N.H. en RHYNE, A.L. (1970): Human placental lactogen and insulin-blood glucose homeostasis. *Obstet.Gynec.* 36: 233-237.
- CATT, K.J., MOFFAT, B., NIALL, H.D. (1967a): Human growth hormone and placental lactogen: structural similarity. *Science* 157: 321.
- CATT, K.J., MOFFAT, B., NIALL, H.D. en PRESTON, B.N. (1967b): Purification and physicochemical properties of human placental lactogen. *Biochem.J.* 102: 27c-29c.
- CHEZ, R.A., JOSIMOVICH, J.B. en SCHULTZ, S.G. (1970): The transfer of human placental lactogen across isolated amnion-chorion. *Gynec.Invest.* 1: 312-318.
- CHRISTENSEN, A., FRØYSHOV, D. en FYLLING, P. (1974a): Hormone and enzyme assays in pregnancy: II. The human chorionic somatomammotropin, progesterone and placental cystine-aminopeptidase in normal pregnancy. *Acta Endocr.* 76: 201-208.

- CHRISTENSEN, A., FRØYSHOV, D. en FYLLING, P. (1974b): The human chorionic somatomammotropin, placental cystine-aminopeptidase, progesterone and the urinary oestrogens in pregnancies complicated with essential hypertension, mild or severe pre-eclampsia. *Acta Endocr.* 76: 344-355.
- COHEN, M., HAOUR, F., DUMONT, M. en BERTRAND, J. (1973): Prognostic value of human chorionic somatomammotropin plasma levels in diabetic patients. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 115: 202-210.
- CONRADT, A., SCHLOTTER, C.M., WEBER, H. en HELLER, S. (1976): Alpha-foeto-protein bei der EPH-Gestose. *Geburtsh.Frauenheilk.* 36: 862-868.
- CROSIGNANI, P.G., NENCIONI, T. en BRAMBATI, B. (1972): Concentration of chorionic gonadotrophin and chorionic somatomammotropin in maternal serum, amniotic fluid and cord blood serum at term. *J. Obstet.Gynaec.brit.CwIth.* 79: 122-126.
- CRYSTLE, C.D., BREUNING, F., DUBIN, N., GRANNIS, G.F., STEVENS, V.C. en TOWNSLEY, J.D. (1974): Blood disappearance rate of certain hormones and enzymes advocated as fetoplacental function test. *Obstet.Gynaec.* 43: 41-45.
- CURRIE, A.R., BECK, J.S., ELLIS, S.T. en READ, C.H. (1966): Immunofluorescent localisation of a growth hormone-like factor in normal and abnormal syncytiotrophoblast. *J.Path.Bact.* 92: 395-399.
- DAYHOFF, M.O. (1972): Atlas of protein sequence and structure 5. National Biomedical Research Foundation, Silver Spring, Maryland.
- DELMONT, J., KERMAREC, J., LAFON, J., BONET, C., CASSUTO, J.P. en MASSEYEF, R. (1974): Radioimmunoassay of α -fetoprotein. II. Studies in patients suffering from hepatic diseases. *Digestion* 10: 29-39.
- DUDENHAUSEN, R. en DUDENHAUSEN, J.W. (1974): Human placental lactogen levels in the serum during early pregnancy. *J.Perinat.Med.* 2: 93-100.
- EDELING, C.J., SCHIØLER, V. en THISTED, J. (1977): Alpha-foetoprotein in cord serum correlated to gestational age. *Acta obstet.gynec. scand.* 56: 15-17.
- EHRHARDT, K. (1936): Über das Laktationshormon des Hypophysenvorderlappens. *Münch.med.Wschr.* 83: 1163-1164.
- ENGELHARDT, N.V., GOUSSEV, A.J., SHIPOVA, L.J. en ABELEV, G.I. (1971): Immunofluorescent study of alpha-foetoprotein in liver and liver tumours. I. Technique of AFP-localization in tissue sections. *Int.J.Cancer* 7: 198-206.
- ENGLAND, P., LORRIMER, D., FERGUSSON, J.C., MOFFAT, A.M. en KELLY, A.M. (1974): Human placental lactogen: the watchdog of fetal distress. *Lancet* I: 5-7.
- FELBER, J.P., ZARAGOZA, N., BENUZZI-BADONI, M. en GENAZZANI, A.R. (1972): The double effect of human chorionic somatomammotropin (HCS) and pregnancy on lipogenesis and on lipolysis in the isolated rat epididymal fat pad and fat pad cells. *Horm.Metab.Res.* 4: 293-296.
- FLORINI, J.R., TONELLI, G., BREUER, C.B., COPPOLA, J., RINGLER, I. en BELL, P.H. (1966): Characterisation and biological effects of purified placental protein (human). *Endocrinology* 79: 692-708.

- FOLI, A.K., SHERLOCK, S. en ANDREOLI, M. (1969): Serum α -fetoprotein in patients with liver diseases. *Lancet* II, 1267-1268.
- FORSYTH, I.A. (1967): Lactogenic and pigeon-crop-stimulating activities of a human placental lactogen preparation. *J.Endocrin.* 37: 35-36.
- FOY, H., KONDI, A., PARKER, A.M., STANLEY, R. en VENNING, C.D. (1970): The α -fetoprotein test in pregnant women, women on oral contraceptives, newborn babies and pyridoxine-deprived baboons. *Lancet* I: 1336-1337.
- FRANTZ, A.G., RABKIN, M.T. en FRIESEN, H. (1965): Human placental lactogen in choriocarcinoma of the male. Measurement by radio-immunoassay. *J.clin.Endocr.* 25: 1136-1137.
- FREDHOLM, B.B. en PERSON, B. (1973): Actions of chorionic somatomammotropin (HCS) in dog subcutaneous adipose tissue in situ. *Horm. Metab.Res.* 5: 347-350.
- FRIESEN, H. (1965a): Purification of a placental factor with immunological and chemical similarity to human growth hormone. *Endocrinology* 76: 369-381.
- FRIESEN, H. (1965b): Further purification and characterisation of a placental protein with immunochemical similarity to human growth hormone. *Nature* 208: 1214-1215.
- FRIESEN, H.G. (1966): Lactation induced by human placental lactogen and cortison acetate in rabbits. *Endocrinology*, 79: 212-215.
- FRIESEN, H.G. (1968): Biosynthesis of placental proteins and placental lactogen. *Endocrinology*, 83: 744-753.
- FRIESEN, H.G., SUWA, S. en PARE, P. (1969): Synthesis and secretion of placental lactogen and other proteins by the placenta. *Recent Progr. Hormone Res.* 25: 161-205.
- FURTH, R. van, ADINOLFI, M. (1969): In vitro synthesis of the foetal α_1 -globulin in man. *Nature* 222: 1296-1299.
- GAEDE, P. en NØRGAARD-PEDERSEN, B. (1974a): A semiquantitative haemagglutination inhibition assay for human placental lactogen (HPL) in the late part of pregnancy. *Acta obstet.gynec.scand. suppl.*29: 43-45.
- GAEDE, P. en NØRGAARD-PEDERSEN, B. (1974b): Serum human placental lactogen hormone concentration in the second half of pregnancy determined by a simple immunoelectrophoretic technique. *Acta endocrin.* 76: 369-376.
- GALDO, A., SASADO, J.P. en TALAVERA, R. (1959): Démonstration dans le sérum du fœtus humain d'une nouvelle fraction protéinique au moyen de l'électrophorèse sur papier. *Arch.franç.Pédiat.* 16: 954-962.
- GAROFF, L. en SEPPÄLÄ, M. (1973): Alpha fetoprotein and human placental lactogen levels in maternal serum in multiple pregnancies. *J.Obstet. Gynaec.brit.Cwlth.* 80: 695-700.
- GASPARD, H. en FRANCHIMONT, P. (1972): Evolution des taux de l'hormone chorionique somatotrope (HCS) au cours des grossesses à haut risque. *Comptes Rendus XXIVe Congrès Féd.Soc.Gynéc.Obsté. de langue Franç.Tunis, 1972.* Ed. Masson et Cie. Paris.
- GASPARD, U., SANDRONT, H. en LUIJCKX, A. (1974): Glucose-insulin interaction and the modulation of human placental lactogen (HPL) secretion during pregnancy. *J.Obstet.Gynaec.brit.Cwlth.* 81: 201-209.
- GEIGER, W. (1973): Radioimmunological determination of human chorionic gonadotropin, human placental lactogen, growth hormone and thyrotropin in the serum of mother and child during the early puerperium. *Horm. Metab.Res.* 5: 342-346.

- GEIGER, W. (1974): Radioimmunologische Bestimmungen von HCG, HCS, STH und TSH. In: Fortschritte der Geburtshilfe und Gynäkologie, Heft 52.
- GEIGER, W., KAISER, R. en FRANCHIMONT, P. (1971): Comparative radio-immunological determination of human chorionic gonadotrophin, human placental lactogen, growth hormone and thyrotrophin in foetal and maternal blood after delivery. Acta Endocrin. 68: 169-182.
- GEIGER, W., WÜRTZ, H. en HÖFINGHOFF, M. (1974): Investigation on the appearance of human chorionic somatomammotropin (HCS) with high molecular weight in serum. Acta endocrin. 184: 115.
- GENAZZANI, A.R., COCOLA, F., CASOLI, M., MELLO, G., SCARSELLI, G., NERI, P. en FIORETTI, P. (1971): Human chorionic somatomammotropin radioimmunoassay in evaluation of placental function. J.Obstet. Gynaec.brit. Cwith. 78: 577-589.
- GENAZZANI, A.R., COCOLA, F., NERI, P. en FIORETTI, P. (1972): Human chorionic somatomammotropin (HCS) plasma levels in normal and pathological pregnancies and their correlation with the placental function. Acta endocrin. suppl. 167.
- GITLIN, D. (1971): Sites of alpha-fetoprotein synthesis. New Engl.J.Med. 25: 1436-1437.
- GITLIN, D. en BOESMAN, M. (1966): Serum α -fetoprotein, albumin and γ G-globulin in the human conceptus. J.clin.Invest. 45: 1826-1838.
- GITLIN, D. en BOESMAN, M. (1967a): Fetus-specific serum proteins in several mammals and their relation to human α -fetoprotein. Comp. Biochem.Physiol. 21: 327-336.
- GITLIN, D. en BOESMAN, M. (1967b): Sites of serum α -fetoprotein in the human and in the rat. J.clin.Invest. 46: 1010-1016.
- GITLIN, D. en PERICELLI, A. (1970): Synthesis of serum albumin, pre-albumin, α -fetoprotein, α_1 -antitrypsin and transferrin by the human yolk sac. Nature 228: 995-997.
- GITLIN, D., PERICELLI, A. en GITLIN, G.M. (1972): Synthesis of α -fetoprotein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human conceptus. Cancer Res. 32: 979-982.
- GITSCH, E., JANISCH, H. en SPONA, J. (1973): Die Bedeutung der hormonalen Überwachung der Schwangerschaft mittels Plazentolaktogen (HPL). Wien. klin.Wschr. 85: 585-588.
- GOLDSTEIN, D.F. (1971): Serum placental lactogen activity in patients with molar pregnancy and trophoblastic tumours. A reliable index of malignancy. Amer.J.Obstet.Gynec. 110: 583-587.
- GRANT, D.B., KAPLAN, S.L. en GRUMBACH, M.M. (1971): Studies of the cross-reaction between human growth hormone and human chorionic somatomammotropin in radioimmunoassay systems. J.clin.Endocrin. 32: 88-93.
- GRUMBACH, M.M. en KAPLAN, S.L. (1964): On the placental origin and purification of chorionic growth-hormone-prolactin and its immunoassay in pregnancy. Trans.N.Y.Acad.Sci. 27: 167-188.
- GRUMBACH, M.M., KAPLAN, S.L., SCIARRA, J.J. en BURR, I.M. (1968): Chorionic growth hormone-prolactin (CGP) secretion, disposition, biologic activity in man, and postulated function as the "growth hormone" of the second half of pregnancy. Ann.N.Y.Acad.Sci. 148: 501-531.
- GUSDON, J.P. (1969): Improved hemagglutination-inhibition assay: Clinical application to measurement of human placental lactogen. Obstet. Gynec. 23: 397-403.

- GUSDON, J.P. en S.S.C. Yen (1967): In vitro biosynthesis of human placental lactogen (HPL) by placental tissue. *Obstet.Gynec.* 30: 635-638.
- HABER, I., PEETERMANS, M. en HUBENS, H. (1972): Alpha-1-foetoproteïne. *T.Gastro-ent.* 15: 389-402.
- HABIB, Z.A. (1977): Maternal serum alfa-feto-protein: its value in antenatal diagnosis of genetic disease and in obstetrical-gynaecological care. *Acta obstet.gynec.scand.* 56, suppl. 61
- HAGER, D., GEORG, R.H., LEITNER, J.W. en BECK, P (1972): Insulin secretion and content in isolated rat pancreatic islets following treatment with gestational hormones. *Endocrinology*, 91: 977-981.
- HALBRECHT, I., KLIBANSKI, C., BRZOZA, H. en LAHAV, M. (1958): Further studies on the various hemoglobins and the serum protein fractions in early embryonic life. *Amer.J.Clin.Path.* 29: 340-344.
- HANDWERGER, S., PANG, E.C., ALOJ, S.M. en SHERWOOD, L.M. (1972): Correlations in the structure and function of human placental lactogen and human growth hormone. I. Modification of the disulfide bonds. *Endocrinology*, 91: 721-727.
- HARDING, B.R., THOMSON, R. en CURTIS, A.R. (1973): A new mathematical model for fitting an HPL radioimmunoassay curve. *J.clin.Path.* 26: 973-976.
- HARRIS, R., JENNISON, R.F., BARSON, A.J., LAURENCE, K.M., RUOSLAHTI, E. en SEPPÄLÄ, M. (1974): Comparison of amniotic fluid and maternal serum alpha-fetoprotein levels in the early antenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly. *Lancet* I: 429-433.
- HERBINET, E., MASSEYEFF, R., KREBS, B., BONET, Cl. en SUREAU, Cl. (1974): Dosage radio-immunologique de l'alpha-foetoprotéine. IV. Applications à l'obstetrique, et début d'étude des incompatibilités Rhésus foeto-maternelles. *J.Gyn.Obst.Biol.Repr.* 3: 855-871.
- HIRAI, H., NISHI, S. en WATABE, H. (1973): Radioimmunoassay of α -fetoprotein. *J.nucl.Med.* 13: 783.
- HOGG, R.V. (1975): Estimates of percentile regression lines using salary data. *J.amer.Statist.Ass.* 70: 56-59.
- HOLMER, A.J.M. (1956): Doelstelling van de verloskunde. In: *Leerboek der Verloskunde*, red. A.J.M. Holmer, van Holkema en Warendorf N.V., Amsterdam, 1.
- HOUSTEK, J., MASOPUST, J., KITHIER, K. en RADL, J. (1968): Hepatocellular carcinoma in association with a specific fetal α_1 -globulin, fetoprotein. *J.Pediat.* 72: 186-193.
- HULL, E.W., CARBONE, P.P., MOERTEL, C.G. en O'CONOR, G.T. (1970): Serum α -fetoprotein in the U.S.A. *Lancet* I: 779-780.
- HYVARINEN, M., ZELTZER, P., OH, W. en STIEHM, E.R. (1973): Influence of gestational age on serum levels of alpha-1-fetoprotein, IgG-globulin and albumin in newborn infants. *J.Pediat.* 82: 430-437.
- IIO, M., YAMADA, H., CHIBA, K., SASAKI, Y. en IUCHI, M. (1973): α -fetoprotein radioimmunoassay as a useful aid for liver scan reading. *J.nucl.Med.* 13: 783-784.
- IKONICOFF, L.K. de en CEDARD, L. (1973): Localization of human chorionic gonadotropic and somatomammotropic hormones by the peroxidase immunohistoenzymologic method in villi and amniotic epithelium of human placentas (from 6 weeks to term). *Amer.J. Obstet.Gynec.* 116: 1124-1132.

- ITO, Y. en HIGASHI, K. (1961): Studies on the prolactin-like substance in human placenta. *Endocr.Japon.* 8: 279-287.
- ISHIGURO, T. (1975): Serum alpha-fetoprotein in hydatiform mole, choriocarcinoma and twin pregnancy. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 121: 539-541.
- ISHIGURO, T. en NISHIMURA, T. (1973): Radioimmunoassay of maternal serum α -fetoprotein associated with pregnancy. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 116: 27-33.
- JAHODOVA, M.G.J. (1975): Klinische aspecten van de prenatale diagnostiek. Proefschrift, Rotterdam.
- JOSIMOVICH, J.B. en McLAREN, J.A. (1962): Presence in the human placenta and term serum of a highly lactogenic substance immunologically related to pituitary growth hormone. *Endocrinology*, 71: 209-220.
- JOSIMOVICH, J.B. en ATWOOD, B.L. (1964): Human placental lactogen (HPL), a trophoblastic hormone synergising with chorionic gonadotropin and potentiating the anabolic effects of pituitary growth hormone. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 88: 867-879.
- JOSIMOVICH, J.B. en BRANDE, B.L. (1964): Chemical properties and biologic effects of human placental lactogen (HPL). *Trans.N.Y.Acad. Sci.* 27: 161-166.
- JOSIMOVICH, J.B. en MINTZ, D.H. (1968): Biological and immunochemical studies on human placental lactogen. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 148: 488-500.
- JOSIMOVICH, J.B., KOSOR, B., BOCELLA, L., MINTZ, D.H. en HUTCHINSON, D.L. (1970): Placental lactogen in maternal serum as an index of fetal health. *Obstet.Gynec.* 36: 244-250.
- KALKHOF, R.K., RICHARDSON, B.L. en BECK, P. (1969): Relative effects of pregnancy, human placental lactogen and prednisolone on carbohydrate tolerance in normal and subclinical diabetic subjects. *Diabetes* 18: 153-163.
- KAPLAN, S.L. en GRUMBACH, M.M. (1964): Studies of a human and simian placental hormone with growth hormone-like and prolactin-like activities. *J.clin.Endocr.Metab.* 24: 80-100.
- KAPLAN, S.L. en GRUMBACH, M.M. (1965a): Immunoassay for human "growth hormone-prolactin" in serum and urine. *Science* 147: 751-753.
- KAPLAN, S.L. en GRUMBACH, M.M. (1965b): Serum chorionic growth hormone-prolactin and serum pituitary growth hormone in mother and fetus at term. *J.clin.Endocrin.* 25: 1370-1374.
- KAPLAN, S.L., GURPIDE, E., SCIARRA, J.J. en GRUMBACH, M.M. (1968): Metabolic clearance rate and production rate of chorionic growth hormone-prolactin in late pregnancy. *J.clin.Endocrin.* 28: 1450-1460.
- KAPLAN, S.L. en GRUMBACH, M.M. (1974): Effects of primate chorionic somatomammotropin on maternal and fetal metabolism. In: Josimovich, J.B., Reynolds, M. en Cobo, E.: Lactogenic hormones, fetal nutrition and lactation. Ed. by John Wiley & Sons, New York, 183-191.
- KARLSSON, B.W., BERGSTRAND, C.G., EKELUND, H. en LINDBERG, T. (1972): Postnatal changes of alpha-fetoprotein, albumin and total protein in human serum. *Acta paediat.*, Uppsala, 61: 133-139.
- KEKOMÄKI, M., SEPPÄLÄ, M., EHNHOLM, C., SCHWARTZ, A.L. en RAIIVIO, K. (1971): Perfusion of isolated human fetal liver: synthesis and release of α -fetoprotein and albumin. *Int.J.Cancer* 8: 250-258.

- KELLER, P.J. (1970): Untersuchungen über HPL in der normalen und der gestörten Schwangerschaft. Schweiz.Z.Gynäk.Geburtsh. 1: 327-330.
- KELLER, P.J., GERBER, C., GREUB, H. en SCHREINER, W.E. (1970a): Studies on the metabolism of human placental lactogen in pregnancy. Horm.Metab. Res. 2: 265-267.
- KELLER, P.J., GREUB, H., GERBER, C. en SCHREUER, W.L. (1970b): Die Proteo-hormone der menschlichen Plazenta. I. Radioimmunologische Bestimmung und Bedeutung des plazentares Laktogens. Schweiz.Z. Gynäk.Geburtsh. 1: 149-161.
- KELLER, P.J., GERBER, C. en SOLTERMANN, R. (1971a): Die Proteohormone des menschlichen Plazenta. III. Die HPL-Aktivität im Schwangerenserum bei Hypertonie, Spätgestose und Präeklampsie. Schweiz.Z. Gynäk.Geburtsh. 2: 109-115.
- KELLER, P.J. en GERBER, C. (1971b): Die hormonale Früherkennung der fetalen Gefährdung in der Schwangerschaft. Geburtsh.Frauenheilk. 31: 973-979.
- KELLER, P.J., BADER, P., SCHMIDT, J., BAERTSCHI, U., GERBER, C. en SOLTERMANN, R. (1971c): Biochemical detection of fetoplacental distress in risk pregnancies. Lancet II: 727-731.
- KELLER, P.J., GERBER, C. en KOPPER, E. (1972a): Die Proteohormone der menschlichen Plazenta. IV. Die HPL-Aktivität im Serum bei Diabetes, Rhesusinkompatibilität, Übertragung, Blasenmola und anderen Schwangerschaftskomplikationen. Schweiz.Z.Gynäk.Geburtsh. 3: 31-38.
- KELLER, P.J., RUPPEN, M., GERBER, C. en SCHMIDT, J. (1972b): Placental function in prostaglandin induced abortion. J.Obstet.Gynaec.brit. Cwlt. 79: 804-806.
- KELLY, A.M., ENGLAND, P., LORIMER, J.D., FERGUSON, J.G. en GOVAN, A.D.T. (1975): An evaluation of human placental lactogen levels in hypertension of pregnancy. Brit.J.Obstet.Gynaec. 82: 272-277.
- KIM, Y.J. en FELIG, P. (1971): Plasma chorionic somatomotropin levels during starvation in mid-pregnancy. J.clin.Endocrin. 32: 864-867.
- KLEYER, W.J., SACHS, E.S., NIERMEYER, M.F. en JAHODOVA, M. (1974): Mogelijkheid van prenatale diagnostiek van anencephalie en spina bifida. Ned.T.Geneesk. 118: 1485-1486.
- KLOOSTERMAN, G.J. (1970): On Intrauterine Growth. Int.J.Gynaec.Obst. 8: 895-912.
- KREEL, B.K. van (1974): Niet gepubliceerde waarnemingen.
- KUNZ, J. en MARONI, E. (1975): Alpha-fetoprotein: Bedeutung in der Überwachung von Risiko-Schwangerschaften. Z.Geburtsh.Perinat. 179: 331-338.
- Lactogenic Hormones (1972): CIBA Foundation, London.
- LARDINOIS, R., ANAGNOSTAKIS, D., ORTIZ, M.A. en DELISLE, M. (1972): Human α_1 -foetoglobulin during the last trimester of gestation. Clin.Chim.Acta 37: 81-90.
- LETCHEWORTH, A.I., BOARDMAN, R., BRISTOW, C., LANDON, J. en CHARD, T. (1971a): A rapid radioimmunoassay for human chorionic somatomammothrophin. J.Obstet.Gynaec.brit.Cwlt. 78: 535-541.

- LETCHWORTH, A.T., BOARDMAN, R., BRISTOW, C., LANDON, J. en CHARD, T. (1971b): A rapid semi-automated method for the measurement of human chorionic somatomammotrophin. The normal range in the third trimester and its relation to fetal weight. *J.Obstet.Gynaec. brit.Cwlth.* 78: 542-548.
- LETCHWORTH, A.T. en CHARD, T. (1972a): Placental lactogen levels as a screening test for fetal distress and neonatal asphyxia. *Lancet* I: 704-706.
- LETCHWORTH, A.T. en CHARD, T. (1972b): Human placental lactogen levels in pre-eclampsia. *J.Obstet.Gynaec.brit.Cwlth.* 79: 680-683.
- LETCHWORTH, A.T., HOWARD, L. en CHARD, T. (1974): Placental lactogen levels during bedrest. *Obstet.Gynec.* 43: 702-703.
- LI, C.H., GRUMBACH, M.M., KAPLAN, S.L., JOSIMOVICH, J.B., FRIESEN, H. en CATT, K.J. (1968): Human chorionic somatomammotropin (HCS), proposed terminology for designation of a placental hormone. *Experientia* 24: 1288.
- LI, C.H., DIXON, J.S. en CHUNG, D. (1971): Primary structure of the human chorionic somatomammotropin (HCS) molecule. *Science* 173: 56-58.
- LI, C.H., DIXON, J.S. en CHUNG, D. (1973): Aminoacid sequence of human chorionic somatomammotropin. *Arch.Biochem.Biophys.* 155: 95-110.
- LINDBERG, B., NILSSON, B.A., ROTH, A. en YLÄNEN, L. (1972): Estimation of human chorionic somatomammotropin (HCS) levels during normal pregnancy using a rapid radioimmunoassay. *Uppsala J.Med.Sci.* 77: 129-132.
- LINDBERG, B.S. en NILSSON, B.A. (1973a): Variations in maternal plasma levels of human placental lactogen (HPL) in normal pregnancy and labour. *J.Obstet.Gynaec.brit.Cwlth.* 80: 619-626.
- LINDBERG, B.S. en NILSSON, B.A. (1973b): Human placental lactogen (HPL) levels in abnormal pregnancies. *J.Obstet.Gynaec.brit.Cwlth.* 80: 1046-1053...
- LINDNER, E. en SEPPÄLÄ, M. (1968): Localization of α -foetoprotein in the human foetus and placenta. *Acta path.microbiol.scand.* 73: 565-571.
- MALAISSÉ, W.J., MALAISSÉ-LAGAE, F., PICARD, C. en FLAMENT-DURAND, J. (1969): Effects of pregnancy and chorionic growth hormone upon insulin secretion. *Endocrinology* 84: 41-44.
- MARTIN, J.M. en FRIESEN, H. (1969): Effect of human placental lactogen on the isolated islets of Langerhans in vitro. *Endocrinology* 84: 619-621.
- MASOPUST, J., KITHIER, K., RÄDL, J., KONTECKY, J. en KOTAL, J. (1968): Occurrence of fetoprotein in patients with neoplasms and non-neoplastic diseases. *Int.J.Cancer* 3: 364-373.
- MASSEYEFF, R., BONET, C., DROUET, J., SUDAKA, P. en LALANNE, C. (1974): Radioimmunoassay of α -fetoprotein. I. Technique and serum levels in the normal adult. *Digestion* 10: 17-28.
- MAWAS, C., KOHEN, M., LEMERLE, J., BUFFE, D., SCHWEISGUTH, O. en BURKIN, P. (1969): Serum α_1 -foetoprotein (fetuïn) in children with malignant ovarian or testicular teratomas. Preliminary results. *Int. J. Cancer* 4: 76-79.

- MELCHERT, F. (1973): Neuer radio-immunologischer Test zur Bestimmung des Human Chorionic-Somatomammotropin (HCS). *Ärztl.Lab.* 19: 161-166.
- MELCHERT, F. (1974): Human Chorionic-Somato-Mammotropin (HCS) in der normalen Frühschwangerschaft und bei drohendem Abort. *Geburtsh. Frauenheilk.* 34: 513-519.
- MELCHERT, F. (1975): Alpha-1-fetoprotein im mütterlichen Serum. *Geburtsh.Frauenheilk.* 35: 173-176.
- MONK, A.M. en GORDIE, D.J. (1976): The significance of raised maternal serum alpha-fetoprotein levels. *Brit.J.Obstet.Gynaec.* 83: 845-852.
- MORRIS, H.H.B., VINIK, A.I. en MULVIHAL, M. (1974): Effects of acute alterations in maternal free fatty acid concentration on human chorionic somatomammotrophin secretion. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 119: 224-229.
- MURAKAWA, S. en RABEN, H.S. (1968): Effect of growth hormone and placental lactogen on DNA synthesis in rat costal cartilage and adipose tissue. *Endocrinology* 83: 645-650.
- MURALT, G. de en ROULET, D.L.A. (1961): Etude immunologique des protéines sériques foetales humaines. *Helv.paediat.Acta* 16: 517-533.
- NIALL, H.D., HOGAN, M.L., SAUER, R., ROSENBLUM, I.Y. en GREENWOOD, F.C. (1971): Sequences of pituitary and placental lactogenic and growth hormones: evolution from a primordial peptide by gene reduplication. *Proc.Nat.Acad.Sci.U.S.A.* 68: 866-869.
- NIALL, H.D., HOGAN, M.L., TROGAER, G.W., SEGRE, G.V., HWANG, P. en FRIESEN, H. (1973): The chemistry of growth hormone and the lactogenic hormones. *Rec.Progr.Horm.Res.* 29: 387-416.
- NIEDER, J. en KAPITZA, W. (1976): Erfahrungen mit der Bestimmung von humanen plazentaren Laktogen (HPL) zur hormonalen Überwachung der Spätschwangerschaft. *Zbl.Gynäk.* 98: 1129-1136.
- NISHI, S. (1970): Isolation and characterization of a human fetal α -globulin from the sera of fetuses and a hepatoma patient. *Cancer Res.* 30: 2507-2513.
- NIVEN, P.A.R., LANDON, J. en CHARD, T. (1972): Placental lactogen levels as guide to outcome of threatened abortion. *Brit.Med.J.* 3: 799-801.
- NIVEN, P.A.R., BUHI, W.C. and SPELLACY, W.N. (1974): The effect of intravenous oestrogen injection on plasma human placental lactogen levels. *J.Obstet.Gynaec.brit.Cwlth.* 81: 466-468.
- NØRGAARD-PEDERSEN, B. (1972): Purification and sensitive immunoelectrophoretical detection and quantitation of human α_1 -foetoprotein. *Clin.chim.Acta* 38: 163-170.
- NØRGAARD-PEDERSEN, B. (1973a): α_1 -fetoprotein. *Scand.J.Immunol.* 2 suppl. 1: 107-110.
- NØRGAARD-PEDERSEN, B. (1973b): α_1 -fetoprotein concentrations in cord serum as a parameter for gestational age. *Acta paediat.scand.* 62: 167-172.
- NØRGAARD-PEDERSEN, B. en GAEDE, P. (1974): Serial maternal serum alpha-1-fetoprotein concentration during induced abortions. *Acta obstet. gynec.scand. suppl.* 29: 37-42.

- PAVLOU, C., CHARD, T. en LETCHWORTH, A.T. (1972): Circulating levels of human chorionic somatomammotrophine in late pregnancy: disappearance from the circulation after delivery, variation during labour and circadian variation. *J.Obstet.Gynaec.brit.CwIth.* 79: 629-634.
- PAVLOU, C., CHARD, T., LANDON, J. en LETCHWORTH, A.T. (1973): Circulating levels of human placental lactogen in late pregnancy: the effect of glucose loading, smoking and exercise. *Europ.J.Obstet. Gynec. Reprod.Biol.* 3: 45-49.
- PEDERSEN, K.O. (1944): Fetuin, a new globulin isolated from serum. *Nature* 154: 575.
- PHAFF, J.M.L. (1975): De verloskundige organisatie in Nederland. *Medisch Contact* 30: 428-430.
- PERSSON, B., LUNELL, N.O., AUBERT, M.L., CARLSTRÖM, K. en FELBER, J.P. (1973): Determination of plasma chorionic somatomammotrophin and urinary oestriol in diabetic pregnancies. *Acta obstet.gynec. scand.* 52: 63-67.
- PURVES, L.R. en GEDDES, E.W. (1972): A more sensitive test for alpha-fetoprotein. *Lancet* I: 47-48.
- RIET, H.G. van, KAL, J. en HASPELS, A.A. (1974): Diabetes en graviditeit. *Ned.T.Geneesk.* 118: 131-138.
- ROCHMAN, H., VARNAVIDES, L.A. en HAWLEY, P.R. (1972): The degradation of human placental lactogen in normal and nephrectomized dogs. *J.Endocrin.* 53: 407-417.
- RODBARD, D., BRIDSON, W. en RAYFORD, P.L. (1969): Rapid calculation of radio immuno assay results. *J.Lab.clin.Med.* 74: 770-781.
- RODECK, C.H., CAMPBELL, S. en BISWAS, S. (1976): Maternal plasma alpha-fetoprotein in normal and complicated pregnancies. *Brit.J. Obstet. Gynaec.* 83: 24-32.
- ROGER, M., ROSSI, M. en SCHOLLER, R. (1974): L'Hormone lactogène placentaire ou somatotrophine chorionique. Methodes de dosage et interprétation des résultats. In: Netter, A., en Gorins, A.: Actualités gynécologiques, cinquième série. Ed. Masson et Cie., Paris, 1974: 77-88.
- RÜMKE, C.L. en BEZEMER, P.D. (1972): Methoden voor de bepaling van normale waarden. *Ned.T.Geneesk.* 116: 1224-1230.
- RUOSLAHTI, E. en SEPPÄLÄ, M. (1971a): Studies of carcino-fetal proteins: physical and chemical properties of human α -fetoprotein. *Int.J. Cancer* 7: 218-225.
- RUOSLAHTI, E. en SEPPÄLÄ, M. (1971b): Studies of carcino-fetal proteins: III. Development of radioimmunoassay for α -fetoprotein. Demonstration of α -fetoprotein in serum of healthy human adults. *Int.J.Cancer* 8: 374-383.
- RUOSLAHTI, E. en SEPPÄLÄ, M. (1972a): α -fetoprotein in normal human serum. *Nature* 235: 161-162.
- RUOSLAHTI, E. en SEPPÄLÄ, M. (1972b): Normal and increased alpha-fetoprotein in neoplastic and nonneoplastic liver disease. *Lancet* II: 278-279.
- SAMAÄN, N., YEN, S.S.C., FRIESEN, H. en PEARSON, O.H. (1966): Serum placental lactogen levels during pregnancy and in trophoblastic disease. *J.clin.Endocrin.* 26: 1303-1308.
- SAMAÄN, N., YEN, S.S.C., GONZALEZ, D. en PEARSON, O.H. (1968): Metabolic effects of placental lactogen (HPL) in serum. *J.clin. Endocrin.* 28: 485-491.

- SAMAÄN, N.A., BRADBURY, J.T. and GOPLERUD, C.P. (1969): Serial hormonal studies in normal and abnormal pregnancy. *Amer.J.Obstet. Gynec.* 104: 781-794.
- SAMAÄN, N.A., GALLAGER, H.S., McROBERTS, W.A. en FARIS, A.M. (1971): Serial estimation of human placental lactogen, estriol and pregnan-ediol in pregnancy correlated with whole organ section of placenta. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 109: 63-73.
- SATO, Y. (1973): In vitro biosynthesis of human placental lactogen (HPL) by chorionic tissue and diagnostic value of HPL in trophoblastic disease. *Endocrin.Japon.* 20: 291-306.
- SAXENA, B.N., REFETTOFF, S., EMERSON, K. en SELENKOW, H.A. (1968a): A rapid radioimmunoassay for human placental lactogen. *Amer. J.Obstet.Gynec.* 101: 874-885.
- SAXENA, B.N., GOLDSTEIN, D.P., EMERSON, K. en SELENKOW, H.A. (1968b): Serum placental lactogen levels in patients with molar pregnancy and trophoblastic tumours. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 102: 115-121.
- SAXENA, B.N., EMERSON, K. en SELENKOW, H.A. (1969): Serum placental lactogen (HPL) levels as an index of placental function. *New Engl.J.Med.* 281: 225-231.
- SCIARRA, J.J., KAPLAN, S.L. en GRUMBACH, M.M. (1963): Localisation of anti-human growth hormone serum within the human placenta: evidence for a human chorionic growth hormone-prolactine. *Nature* 199: 1005-1006.
- SELENKOW, H.A., VARMA, K., YOUNGER, D., WHITE, P. en EMERSON, K. (1971): Patterns of serum immunoreactive human placental lactogen (IR-HPL) and chorionic gonadotropin (IR-HCG) in diabetic pregnancy. *Diabetes* 20: 696-706.
- SEPPÄLÄ, M., TALLBERG, T. en EHNHOLM, C. (1967): Studies on embryo-specific proteins. Physiological characteristics of embryospecific alpha-globulin. *Ann.Med.exp.Fenn* 45: 16-19.
- SEPPÄLÄ, M. en RUOSLAHTI, E. (1970): Serum concentration of human placental lactogen hormone (HPL) in pregnancy complications. *Acta obstet. gynec.scand.* 49: 143-147.
- SEPPÄLÄ, M. en RUOSLAHTI, E. (1972a): α -fetoprotein in normal and pregnancy sera. *Lancet* I: 375-376.
- SEPPÄLÄ, M. en RUOSLAHTI, E. (1972b): Radioimmunoassay of maternal serum alpha-fetoprotein during pregnancy and delivery. *Amer.J. Obstet. Gynec.* 112: 208-212.
- SEPPÄLÄ, M. en RUOSLAHTI, E. (1972c): Alpha-fetoprotein in abortion. *Brit.Med.J.* 4: 769-771.
- SEPPÄLÄ, M. en RUOSLAHTI, E. (1973a): Alpha-fetoprotein in maternal serum: a new marker for detection of fetal distress and intra-uterine death. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 115: 48-52.
- SEPPÄLÄ, M. en RUOSLAHTI, E. (1973b): Alpha-fetoprotein in Rh-immunized pregnancies. *Obstet.Gynec.* 42: 701-705.
- SEPPÄLÄ, M. en RUOSLAHTI, E. (1973c): Alpha-fetoprotein: physiology and pathology during pregnancy and application to antenatal diagnosis. *J.Perinat.Med.* 1: 104-113.
- SHERWOOD, L.M. (1967): Similarities in the chemical structure of human placental lactogen and pituitary growth hormone. *Proc.Nat. Ac.Sci. U.S.A.* 58: 2307-2314.
- SHERWOOD, L.M., HANDWERGER, S., McLAURIN, W.D. en LAUNER, M. (1971): Amino-acid sequence of human placental lactogen. *Nature New Biol.* 233: 59-61.

- SIEBERT, W., MEITINGER, C., VOGT, W. en SANDEL, P. (1974): Serum-HPL bei intrauteriner Wachstumsretardierung während der Spätschwangerschaft. *Geburthsh.Frauenheilk.* 34: 520-524.
- SINGER, W., DESJARDINS, P. en FRIESEN, H.G. (1970): Human placental lactogen: an index of placental function. *Obstet.Gynec.* 36: 222-232.
- SLADE, B. (1973): Antibodies to α -fetoprotein cause foetal mortality in rabbits. *Nature* 246: 493-494.
- SMITH, J.A. (1972): Alpha-fetoprotein: a possible factor necessary for normal development of the embryo. *Lancet* I: 851.
- SMITH, J.A., FRANCIS, T.I., EDINGTON, G.M. en WILLIAMS, A.O. (1971a): Human alpha-fetoprotein in body fluids. *Brit.J.Cancer* 25: 337-342.
- SMITH, J.A., FRANCIS, T.I., EDINGTON, G.M. en WILLIAMS, A.O. (1971b): Immunofluorescent localisation of human alpha-fetoprotein in fetal and neonatal livers and cultures cells from hepatocellular carcinoma. *Brit.J.Cancer* 25: 343-349.
- SPELLACY, W.N., CARLSON, K.L. en BIRK, S.A. (1966): Dynamics of human placental lactogen. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 96: 1164-1173.
- SPELLACY, W.N., TEOH, E.S. en BUHI, W.C. (1970): Human chorionic somatomammotropin (HCS) levels prior to fetal death in high-risk pregnancies. *Obstet.Gynec.* 35: 685-689.
- SPELLACY, W.N., BUHI, W.C., SCHRAM, J.D., BIRK, S.A. en McCREARY, S.A. (1971a): Control of human chorionic somatomammotropin levels during pregnancy. *Obstet.Gynec.* 37: 567-573.
- SPELLACY, W.N., TEOH, E.S., BUHI, W.C., BIRK, S.A. en McCREARY, S.A. (1971b): Value of human chorionic somatomammotropin in managing high-risk pregnancies. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 109: 588-598.
- SPELLACY, W.N., BUHI, W.C. en McCREARY, S.A. (1974a): Measurement of human placental lactogen with a simple immuno-diffusion kit (plac-q-gest^R). *Obstet. Gynec.* 43: 306-309.
- SPELLACY, W.N., BUHI, W.C., BIRK, S.A. en McCREARY, S.A. (1974b): Distribution of human placental lactogen in the last half of normal and complicated pregnancies. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 120: 214-223.
- SPELLACY, W.N., BUHI, W.C. en BIRK, S.A. (1975): The effectiveness of human placental lactogen measurements as an adjunct in decreasing perinatal deaths. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 121: 835-844.
- SPENCER, T.S. (1971): Human chorionic somatomammotropin in the third trimester of pregnancy. *J.Obstet.Gynaec.brit.CwIth.* 78: 232-240.
- SPONA, J. en JANISCH, H. (1971): Serum placental lactogen (HPL) as index of placental function. *Acta endocrin.* 68: 401-412.
- SPONA, J. en JANISCH, H. (1972): Diagnose der Plazentainsuffizienz durch radioimmunologische Untersuchungen des Serum-HCG und Serum-HPL. *Wien.klin.Wschr.* 84: 385-389.
- SPRAGUE, A.D., DUHRING, J.L., MOSER, R.J. en HOLLINGSWORTH, D. (1973): Maternal and fetal levels of HCS in preeclampsia. *Obstet.Gynec.* 41: 770-776.
- STRANGE, R.C. en SWYER, G.I.M. (1974): The effect of human placental lactogen on adipose tissue lipolysis. *J.Endocrin.* 61: 147-152.
- SUWA, S. en FRIESEN, H. (1969a): Biosynthesis of human placental proteins and human placental lactogen (HPL) in vitro. I. Identification of ³H-labeled HPL. *Endocrinology* 85: 1028-1036.
- SUWA, S. en FRIESEN, H. (1969b): Biosynthesis of human placental lactogen (HPL) in vitro. II. Dynamic studies of normal term placentas. *Endocrinology* 85: 1037-1045.

- TATARINOV, Yu.S. (1964): Presence of embryospecific α -globulin in the serum of patients with primary hepatocellular carcinoma. *Vopr.Med. Khim.* 10: 9091.
- TATARINOV, Yu.S. (1965, 1966): Content of embryo-specific α -globulin in fetal and neonatal sera and sera from adult humans with primary carcinoma of the liver. *Vopr.Med.Khim.* 11: 20-22 (1965); *Fed.Proc.* 25: T344-346 (1966).
- TAYLOR, A.L., LIPMAN, R.L., SALAM, A. en MINTZ, D.H. (1972): Hepatic clearance of human growth hormone. *J.clin.Endocrin.* 34: 395-399.
- TEOH, E.S., SPELLACY, W.N. en BUHI, W.C. (1971): Human chorionic somatomammotropin (HCS): a new index of placental function. *J.Obstet. Gynaec.brit.Cwlth.* 78: 673-685.
- TURKINGTON, R.W. (1968): Induction of milk protein synthesis by placental lactogen and prolactin in vitro. *Endocrinology* 82: 575-583.
- TURKINGTON, R.W. en TOPPER, Y.J. (1966): Stimulation of casein synthesis and histological development of mammary gland by human placental lactogen in vitro. *Endocrinology* 79: 175-181.
- TURTLE, J.R. en KIPNIS, D.M. (1967): The lipolytic action of human placental lactogen on isolated fat cells. *Biochim.biophys.Acta* 144: 583-593.
- TYSON, J.E., AUSTIN, K.L. en FARINHOLT, J.W. (1971): Prolonged nutritional deprivation in pregnancy: changes in human chorionic somatomammotropin and growth hormone response. *Amer.J.Obstet. Gynec.* 109: 1080-1082.
- TYSON, J.E., HWANG, P., GUYDA, H. en FRIESEN, H.G. (1972): Studies on prolactin secretion in human pregnancy. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 113: 14-20.
- URIEL, J., NEUCHAU, B. de, STANISLAWSKI-BIRENCWAJG, M., MASSEYEFF, B., LEBLANC, L., QUENUM, C., LOISSILLIER, F en GRABER, P. (1967): Antigenes embryonnaires et cancer du foie chez l'homme: association de la α -fetoprotéine sérique avec l'hépatome primaire. *C.R.Acad.Sci.* 265: 75-78.
- URSELL, W., BRUDENELL, M. en CHARD, T. (1973): Placental lactogen levels in diabetic pregnancy. *Brit.Med.J.* 2: 80-82.
- VARMA, S.K., VARMA, K., SELENKOW, H.A. en EMERSON, K. (1970): Measurement of human placental lactogen by microcomplement fixation. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 107: 472-476.
- VARMA, K., DRISCOLL, S.G., EMERSON, K. en SELENKOW, H.A. (1971): Clinical and pathological evaluation of serum immunoreactive human placental lactogen (IR-HPL) in abnormal pregnancy. *Obstet.Gynec.* 38: 487-499.
- WALD, N.J. en CUCKLE, H. (1977): Maternal serum-alpha-fetoprotein measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. Report of U.K. Collaborative Study on Alpha-fetoprotein in relation to neural-tube defects. *Lancet* I: 1323-1332.
- WALLENBURG, H.C.S. (1971): On the pathology and pathogenesis of placental infarcts. Proefschrift, Vrije Universiteit, Amsterdam.

- WALLENBURG, H.C.S. en HUTCHINSON, D.L. (1972): Hormonal studies in an experimental model of placental infarction in Macaca Mulatta. *Europ.Surg.Res.* 4: 367.
- WALLENBURG, H.C.S., STOLTE, L.A.M. en JANSSENS, J. (1973): The pathogenesis of placental infarction. I. A morphologic study in the human placenta. *Amer.J.Obstet.Gynec.* 116: 835-840.
- WARD, H., ROCHMAN, H., VARNAVIDES, L.A. en WHYLEY, G.A. (1973): Hormone and enzyme levels in normal and complicated pregnancy. *Amer.J. Obstet.Gynec.* 116: 1105-1113.
- WARD, H., LETCHWORTH, A.T., NIVEN, P.A.R. en CHARD, T. (1974): Placental lactogen levels in Rhesus isoimmunization. *Brit.Med.J.* 1: 347-349.
- WEBER, H., HELLER, S., KIDESS, E., KUNZ, S. en TRAUT, H. (1972): Das Verhalten des HPL-Spiegels im Serum und der Östriolausscheidung bei Schwangeren unter der Behandlung der EPH-Gestose mit Heparin und Complamin. *Med.Welt.* 23: 1948-1951.
- WEINTRAUB, B.D. en ROSEN, S.W. (1971): Ectopic production of human chorionic somatomammotropin by nontrophoblastic cancers. *J.clin. Endocrin.* 32: 94-101.
- WIESE, J., MØLSTED-PEDERSEN, L. en LEBECH, P.E. (1974): Human chorionic somatomammotropin in diabetic pregnancies. *Acta endocrin.* 75: suppl. 182: 44-51.
- YATES, M.J. (1973): Fetoplacental function tests. *Lancet* II: 1092.
- YEN, S.S.C., SAMAAN, N. en PEARSON, O.H. (1967): Growth hormone levels in pregnancy. *J.clin.Endocrin.* 27: 1341-1347.
- YLIKORKALA, O. (1973): Maternal serum HPL levels in normal and complicated pregnancy as an index of placental function. *Acta obstet.gynec.scand. suppl.* 26.
- YLIKORKALA, O., HAAPALAHTI, J. en JÄRVINEN, P.A. (1973a): The effect of posture on serum human placental lactogen (HPL) levels in normal and complicated pregnancy. *J.Obstet.Gynaec.brit.Cwlth.* 80: 546-548.
- YLIKORKALA, O. en JOUPPILA, P. (1973b): Human placental lactogen (HPL) in serum in complicated early pregnancy. *J.Obstet.Gynaec. brit.Cwlth.* 80: 1040-1045.
- YLIKORKALA, O., KAUPPILA, A. en TUIMALA, R. (1974): Effect of dexamethasone on serum levels of human placental lactogen during the last trimester of pregnancy. *J.Obstet.Gynaec.brit.Cwlth.* 81: 368-370.
- ZELTZER, P.M., NEERHOUT, R.C., FONKALSRUD, E.W. en STIEHM, E.R. (1974): Differentiation between neonatal hepatitis and biliary atresia by measuring serum-alpha-fetoprotein. *Lancet* I: 373-375.

CURRICULUM VITAE.

De schrijver van dit proefschrift werd op 12 september 1945 te Middelburg geboren. Hij behaalde in 1963 het diploma gymnasium-B aan het Stedelijk Gymnasium te Middelburg. Hierna studeerde hij aan de Medische Faculteit van de Rijksuniversiteit te Utrecht.

Op 14 mei 1971 werd hij bevorderd tot arts. Op 1 juli 1971 begon hij zijn opleiding tot vrouwenarts in de afdeling Obstetrie en Gynaecologie (Hoofd: destijds Prof.Dr.A.L.C.Schmidt; heden Prof.Dr. A.C. Drogendijk Jr.) van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt. In het laatste jaar van zijn opleiding was hij werkzaam in de afdeling Obstetrie en Gynaecologie (opleider: Dr.J.A.M. van Wijck) van het Catharinaziekenhuis te Eindhoven.

Op 1 juli 1976 werd hij als vrouwenarts in het Specialisten Register ingeschreven. Sindsdien is hij als vrouwenarts verbonden aan het St. Willibrordus Ziekenhuis te Deurne.