

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

**A neutrofil granulociták szuperoxid-anion termelése
egészséges és preeclampsziás terhességben**

Dr. Lampé Rudolf



Témavezetők:

Prof. Dr. Póka Róbert

Dr. Szűcs Sándor

DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2011

Tartalomjegyzék

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4
2. BEVEZETÉS	6
2.1. A terhesség immunológiája	6
2.1.1. A placenta szerepe	6
2.1.2. A terhesség és a fehérvérsejtek	8
2.1.3. A neutrofil granulociták és a NADPH oxidáz	10
2.2. A preeclampsia	11
2.2.1. A preeclampsia epidemiológiája és rizikófaktorai	12
2.2.2. A preeclampsia osztályozása, diagnózisa	12
2.2.3. A preeclampsia pathogenezise	13
2.2.3.1. A placentáció preeclampsziában	14
2.2.3.2. A szisztémás endothel diszfunkció preeclampsziában	15
2.2.3.3. A preeclampsia és az oxidatív stressz	16
3. CÉLKITŰZÉSEK	18
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	19
4.1. A vizsgálati alanyok	19
4.2. A kísérletek során felhasznált kémiai anyagok	19

4.3. A granulociták szeparációja perifériás vérből	20
4.4. A szuperoxid-anion termelés mérése	20
4.5. A plazmaminták hatásának mérése a nem terhesek, egészséges terhesek és preeclampsias terhesek neutrofil granulocitáinak szuperoxid-anion termelésére	21
4.6. Statisztikai analízis	22
5. EREDMÉNYEK	23
5.1. A neutrofil granulociták szuperoxid-anion termelése	24
5.2. A plazmaminták hatása a granulociták szuperoxid-anion termelésére	26
6. MEGBESZÉLÉS	36
7. ÖSSZEFOGLALÁS	42
SUMMARY	44
8. IRODALOMJEGYZÉK	46
9. ÁBRAJEGYZÉK	53
10. TÁRGYSZAVAK – KEYWORDS	55
11. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS	56
12. KÖZLEMÉNYEK	57
13. FÜGGELÉK	63

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AFP	alfa fetoprotein
BMI	testtömegindex
CD	differenciálódási antigén
DAG	diacilglicerol
DNS	dezoxiribonukleinsav
DUOX	dual oxidáz
EDTA	etiléndiamintetraacetát
EGF	epidermális növekedési faktor
ENT	egészséges nem terhes
ET	egészséges terhes
FMLP	n-formil-metionil-leucil-fenilalanin
GDP	guanozin-difoszfát
GM-CSF	granulocita makrofág kolónia-stimuláló faktor
g	gramm
gp	glikoprotein
GTP	guanozin-trifoszfát
H ⁺	hidrogén kation
hCG	humán chorion gonadotropin
HEPES	4-(2-hidroxietyl)-1-piperazinetánszulfon
Hgmm	higanymilliméter
HLA	humán leukocita antigén
hPL	humán placentáris laktogén
IL	interleukin
INF	interferon
IUGR	méhen belüli retardáció
IVF	in vitro fertilizáció
kDA	kilodalton

LDL	alacsony sűrűségű lipoprotein
LH	luteinizáló hormon
LPS	lipopoliszacharid
MAPK	mitogén-aktivált protein kináz
MHC	fő hisztokompatibilitási antigén
ml	milliliter
MMP	mátrix-metalloproteináz
NADPH	nikotinamid-adenin-dinukleotid
NF- κ B	sejtmag faktor κ B
NK sejtek	természetes ölüsejtek
NOX	nitrogén oxid
O ₂ ⁻	szuperoxid-anion
PDBu	forbol-dibutirát
PIGF	foszfatidilinozitol-glikán F protein
PKC	protein kináz-C
PT	preeclamsiás terhes
SD	standard deviáció
sEng	szolubilis endoglin
sFlt	szolubilis fms-szerű tirozin kináz
SOD	szuperoxid-dizmutáz
Tc limfocita	citotoxikus T limfociták
TGF	transzformáló növekedési faktor
Th sejtek	T segítő sejtek
TNF	tumor nekrozis faktor
Treg	regulatórikus T sejtek
VEGF	vaszkuláris endotheliális növekedési faktor

2. BEVEZETÉS

2.1. A terhesség immunológiája

A terhesség során kialakuló immunológiai tolerancia a magzattal szemben egy rendkívül bonyolult és összetett folyamat, mely napjainkban is a kutatások egyik kiemelkedő jelentőségű tárgyát képezi. Jelen értekezés megértéséhez szükségeszerű ezen folyamatok nagyvonalakban történő vázolóása.

2.1.1. A placenta szerepe

A klasszikus MHC I-gének (lókuszai: HLA-A, -B, -C) a szervezet minden magvas sejtjének felszínén megtalálhatóak, polimorfak és az MHC I glikoproteinek szintéziséért felelősek. A T_c limfociták aktiválódásának feltétele az I. osztályú polimorf HLA-antigének jelenléte, míg az NK sejtek aktiválódása éppen ezen antigének hiányán alapul. A trofoblaszt sejtek nem expresszálják sem a HLA-A-t, sem a HLA-B-t. A nem polimorf, ún. nem klasszikus MHC I gének (lókuszai: HLA-E, -F, -G) termékeinek pontos funkciója még nem ismert. Ezen csoportból a trofoblasztok felszínén megjelenő HLA-G-nek van a terhesség szempontjából jelentősége. A HLA-G jelen tudásunk szerint a timuszon és a citotrofoblaszton kívül más sejten nem jelenik meg. Szemben a HLA-A és -B allélok számos variánsával, a HLA-G-nek csak nagyon kevés formája ismert. Ebből arra következtetnek, hogy az apai eredetű HLA-G az anyaiával azonos, vagy döntő mértékben hasonló. Bár egyre több a bizonyíték, hogy a HLA-G nélkülözhetetlen az NK sejt mediálta immunválasz ellen, a T sejtekkel kapcsolatos funkciója még kérdéses. Feltételezik, hogy interakcióba lépnek a CD4-

és CD8-pozitív T sejtekkel és csökkentik azok működését (Gobin és mtsai, 2002; Bainbridge, 2000), azaz a terhesség mediálta anyai immunszuppresszióban fontos szerepet játszhatnak.

A placenta által termelt szteroid és fehérje hormonokról kimutatták immunszuppresszív hatásukat. A humán choriogonadotropin (hCG) immunszuppresszív hatását vizsgáló kísérletekben bebizonyították, hogy annak intraperitoneális adagolásával a bőr allograftok túlélése megnyújtható (Pearse és mtsa, 1967; Kaye és mtsai, 1971). A hCG okozta szupprimált limfocita funkcióról is ismertek adatok (Kondoh, 1976; Watson és mtsa, 1990). Mindemellett ezek ellenkezőjére, azaz, hogy a hCG-nek nincs leukocitákat gátló hatása, is van kísérletes példa (Caldwell és mtsai, 1975; Maes és mtsa, 1977). Napjainkban egyre elfogadottabb az a feltételezés, miszerint a hCG-nek szisztémás immunszupprimáló hatása nincs, de a terhesség fenntartásában fontos immunregulátor funkcióval rendelkezik (Beer és mtsa, 1982).

A progeszteron, amit a trofoblaszt és/vagy az ovárium corpus luteuma termel, számos egyéb funkcióján kívül szintén szerepet játszhat az anyai immunszuppresszióban, főként a dentritikus sejtek és a T sejtek funkcióinak módosításán keresztül (Seegerer és mtsai, 2009; Shojaeian és mtsai, 2007).

A humán placentáris laktogén (hPL) egy placenta által termelt polipeptid hormon, melynek struktúrája és funkciója az emberi növekedési hormonéhoz hasonló (Josimovich és mtsai, 1963). Az immunfunkciót befolyásoló hatása kérdéses. A limfociták működését gátló és a Th2 citokinek termelését stimuláló hatását is leírták (Hammarström és mtsai, 1979; Schafer és mtsai, 1992), de ismertek adatok arról is, hogy nincs limfocita működést befolyásoló hatása (Stimson, 1980).

Bár az alfa-foetoproteint (AFP) nem a placenta sejtjei, hanem a magzat (a szikhólyag és a máj) termeli, tárgyalása mégis itt indokolt. Immunszuppresszív hatását valószínűsítik, a T

sejt válasz csökkentésén keresztül (Littman és mtsai, 1977; Sheppard és mtsai, 1977). Kísérletes adatok ismertek, miszerint az AFP gátolja az elsődleges antitest választ, az antitest indukálta memória T sejtek proliferációját, de ha kevert limfocita kultúrát kezelnek AFP-vel, azok működését az nem csökkenti (Isakov és mtsai, 1979). Pontos hatásmechanizmusa nem ismert.

2.1.2. A terhesség és a fehérvérsejtek

Terhesség során az anyai immunrendszer első megfigyelhető változása a fehérvérsejtszám növekedése (Kuhnert és mtsai, 1998). Az immunválasz megváltozásának klinikai bizonyítékai a rheumatoid arthritisben és lupus erythematosusban szenvedő terhesek esetében figyelhetők meg. Rheumatoid arthritisben szenvedők terhessége során gyakran a kórkép remissziója következik be, míg lupus erythematosusosok terhességében többnyire annak fellángolása (Ostensen és mtsai, 1983; Varner, 1991).

A T limfociták közül terhességben elsősorban a Th sejtek szerepe jelentős. Eltolódás mutatható ki a Th sejtek funkcionálisan eltérő populációinak arányában. A Th1 sejtek a sejtes immunitásban vesznek részt úgy, hogy Th1 típusú citokinek (IL-2, TNF β és INF γ) termelésével aktiválják az immunrendszert, így a terhesség fenntartása szempontjából ártalmasak. A Th2 sejtek a humorális immunválaszt segítő IL-4, IL-5, IL-6 és IL-13 termelésükkel szabályozó funkciót töltenek be, segítik a trofoblaszt inváziót és az implantációt. Ebből az is következik, hogy a Th1 és Th2 sejtek a rájuk jellemző citokin termelésével egymás funkcióját gátolják. Egészséges terhesség során a protektív hatású Th2 sejtek arányának a túlsúlya jellemző (Saito és mtsai, 2007; Vizi és mtsai, 2001). A Th1/Th2 rendszer nem magyarázza hiánytalanul, hogy az anyai immunrendszer miért nem lép fel a magzattal szemben. Egy újabb felfedezés, a Th1/Th2/Th17 és regulatórikus T (Treg) sejtek

komplex működése már elfogadhatóbb magyarázattal szolgál. A Th17 sejtek az IL-17-es proinflammatorikus citokint termelik, ami a gyulladásos folyamatok indukálásában játszik szerepet. Ezzel szemben a Treg sejtek működése az immunregulációhoz és az immunológiai tolerancia indukálásához köthető. Az implantációhoz a gyulladás nélkülözhetetlen, azonban a túl nagyfokú gyulladás az embrió elpusztulásához vezet. A Treg sejtek valószínűleg ezt a túlzott gyulladást akadályozzák meg az implantáció időszakában. Ezen túl a decíduális Treg sejtek a HLA-C indukálta, T sejt mediálta immunmechanizmust, mely káros az embrió szempontjából, gátolni tudják. A felsorolt sejtek által kialakított érzékeny egyensúly bármelyik tagjának aránytalan növekedése vagy csökkenése az egyensúly megbomlásához vezet, aminek következménye a terhesség megszűnése illetve különböző terhességi kórképek kialakulása lehet (Saito, 2010).

Kevés adat áll rendelkezésre az NK sejtek terhességben betöltött szerepéről. Ezek olyan csontvelő eredetű sejtek, melyek előzetes szenzitizáció nélkül képesek azon célsejtek elpusztítására, melyeken nem található MHC I. osztályú antigén. Egészséges terheseknél a perifériás NK sejtek száma és INF- γ termelésük a nem terhesekéhez viszonyítva csökken (Veenstra van Nieuwenhoven és mtsai, 2002). Az NK sejtek magas száma embriotoxikus hatású, bizonyítékul szolgál erre egy vizsgálat, aminek eredménye az volt, hogy IVF-val fogant terhesség esetén nem született élő újszülött, ha a perifériás vérben a leukociták közül az NK sejtek aránya a 18%-ot meghaladja (Beer és mtsai, 2006). A közelmúlt egyik érdekes felfedezése, hogy az első trimeszterben az NK sejtek a limfociták közül a méh mukózarétegeiben 70-80%-ot érnek el, majd a terhesség végére számuk a terhesség előtti szintre csökken. Ezen decíduális NK sejtek módosult fenotípussal, funkcióval és receptor profillal rendelkeznek, szerepük valószínűleg esszenciális a terhesség korai szakaszában. Emellett a normális lefolyású terhességet alacsony perifériás NK aktivitás jellemzi. Ezen csökkenés elmaradása a terhesség megszakadását okozhatja (Carlino és mtsai, 2008).

A dentritikus sejtek a legpotensebb antigénprezentáló sejtek (Steinman, 1991). Legalább három populációja ismert, melyeknek komplex funkciójuk lehet a terhesség fenntartásában, ám egységes álláspont nem ismert, intenzív kutatások folynak a témában (Bizargity és mtsai, 2009).

2.1.3. A neutrofil granulociták és a NADPH oxidáz

A neutrofil polimorfonukleáris granulociták (más néven polimorfonukleáris leukociták) gyors motilitású fagociták, melyek az öröklött immunrendszer első vonalbeli sejtjei. Elsődleges szerepük a mikroorganizmusok elleni védekezés. Az opszonizálódott mikroorganizmust specifikus receptorokkal megkötik, fagocitálják, majd a mieloperoxidáz által képzett hidrogénperoxid segítségével eradikálják (Klebanoff, 2005). A védekezés egy másik fontos eszköze a NADPH oxidáz által termelt szuperoxid-anion (O_2^-). A neutrofil granulociták a NADPH oxidáz különböző típusai közül a NOX2-t expresszáló fagociták prototípusai. Az aktív enzimkomplex a citoplazmatikus NADPH-ról elektront transzportál az oxigén molekulára, kialakítva a O_2^- -t a következő módon: $2 O_2 + NADPH \rightarrow 2 O_2^- + NADP^+ + H^+$ (Saez és mtsai, 2009).

Ismert, hogy a szervezetben a redox homeosztázis egy igen érzékeny, számos élettani folyamatot befolyásoló egyensúly, aminek egyik alkotóeleme az oxidáns-antioxidáns egyensúly. Az oxidánsok egyik legjelentősebb képviselője a O_2^- (Dröge, 2002). Az egyik legelfogadottabb definíció szerint az antioxidánsok olyan anyagok, melyek viszonylag kis koncentrációban képesek kompetitív módon kötődni az oxidáló molekulákhoz, ezzel szignifikánsan csökkenteni vagy gátolni azok oxidációs képességét (Halliwell és mtsai, 1989). Az emberi szervezetben ezek a szuperoxid-dizmutáz (SOD) enzimek, a glutation peroxidáz, a kataláz; vagy a nem enzimatis formák, úgymint a C-vitamin és az E-vitamin. A O_2^- -nak

fontos szerepe van élettani funkciók szabályozásában is (a légzés kontrollálása, az eritropoetin termelés, és simaizom relaxáció), valamint jelentős jelátviteli molekula például az EGF receptor, az NF- κ B vagy a MAPK útvonalak esetében (Dröge, 2002).

2.2. A preeclampsia

A preeclampsia egy terhesség-specifikus megbetegedés, aminek vezető tünete a terhesség 20. hete után újonnan kialakuló magas vérnyomás és proteinuria. Bár a betegség pontos etiológiája ismeretlen, a placenta hipoperfúziója és a diffúz endothelsejt károsodás központi szerepet tölt be. A preeclampsianak enyhe és súlyos formái lehetnek, elhanyagolt esetben pedig vese- és májelégtelenséghez, disszeminált intravaszkuláris koagulációhoz és központi idegrendszeri tünetekhez vezethet (Sibai és mtsai, 2005). Mivel a kórkép definitív terápiája a magzat világra segítése, a preeclampsia magas anyai és magzati morbiditással és mortalitással jár. Az Egyesült Államokban a koraszülések 15%-áért és az anyai halálozás 17,6%-áért felelős. Világszerte a preeclampsia és az eclampsia (azaz a preeclampsias terheseknél kialakuló görcsrohamok, melyeknek más kiváltó oka nem ismert) évente az anyai halálozások körülbelül 14%-áért felelős, ami 50000-75000 nőt érint (Goldenberg és mtsai, 1998; Berg és mtsai, 2003).

A betegség jelentősége miatt számos próbálkozás történt a megelőzés és előjelzés terén (úgy mint alacsony dózisú aszpirin, kalcium szuplementáció, C- és E-vitamin bevitel), ám ezek kiábrándító eredményekkel zárultak (Caritis és mtsai, 1998; Poston és mtsai, 2008). Különösen érdekes ez azért, mivel a próbálkozások a preeclampsia pathogenezisében feltételezetten kulcsszerepet játszó folyamatok alapján történtek.

2.2.1. A preeclampsia epidemiológiája és rizikófaktorai

Az Egyesült Államokban az egészséges, korábban nem szült terhes nők körében a preeclampsia incidenciája 2-6% (Sibai, 2003). A kórkép enyhe formában jelenik meg az esetek 75%-ában, míg súlyos formában az esetek 25%-ában. Az összes preeclampsias eset 10%-a alakul ki a 34. terhességi hét előtt. A magnézium profilaxis hiányában 200 preeclampsias közül egynél súlyosbodik a kórkép annyira, hogy eclampsia alakul ki (Sibai, 2004; Livingston és mtsai, 2003). Azon nőknél, akiknél az előzményben preeclampsia, többes terhesség, krónikus magasvérnyomás vagy vesebetegség szerepel nagyobb a preeclampsia kialakulásának valószínűsége. Ezen kívül az obezitás, a diabétesz, a trombofilia, a 40 év feletti életkor is a rizikófaktorok közé sorolhatók (Sibai, 2004). A családi anamnézis kapcsán a kardiovaszkuláris megbetegedések érdemelnek kiemelt figyelmet (Rigó és mtsai, 2006)

2.2.2. A preeclampsia osztályozása

A terhesség során előforduló magasvérnyomást 4 csoportba osztjuk (NHBPEP, 2000), melyek közül az egyik a preeclampsia: korábban normális vérnyomású nőnél a 20. terhességi hét után kialakuló magasvérnyomás és proteinuria (24 óra alatt több, mint 0,3 g fehérje ürítése).

Az enyhe preeclampsia diagnózisa akkor állítható fel, ha a terhes vérnyomása nagyobb, mint 140/90 Hgmm, egy nap minimum kétszer mérve, legalább hat óra különbséggel, egy hetes perióduson belül. A proteinuria definíció szerint a nagyobb, vagy egyenlő, mint 1+ fehérje random módon végzett gyorseszttel, vagy a 24 óra alatt gyűjtött vizeletben az ürített fehérje mennyisége nagyobb, mint 300 mg. Az ödéma és hiperreflexia napjainkban nem tartozik a preeclampsia diagnosztikus kritériumai közé. Hasonlóan az ACOG 2001-es ajánlása

szerint már nem tartozik a hipertenzió korábban elfogadott kritériumai közé a korábban mért vérnyomásokhoz képest 30 Hgmm-es szisztolés, és/vagy 15 Hgmm-es diasztolés vérnyomás emelkedés (ACOG, 2001).

A súlyos preeclampsia diagnózisa a preeclampsia fent ismertetett kritériumainak teljesülése mellett legalább egynek a kialakulása a következők közül:

- A szisztolés vérnyomás 160 Hgmm, vagy nagyobb, vagy a diasztolés vérnyomás 110 Hgmm, vagy nagyobb, egy nap legalább kétszer mérve, minimum 6 óra különbséggel.
- A proteinuria több mint 5 g 24 óra alatt.
- Tüdőödéma
- Oliguria (<400 ml vizelet 24 óra alatt).
- Perzisztáló fejfájás
- Epigasztriális fájdalom és/vagy romló májfunkció
- Trombocitopénia
- Ultrahang vizsgálattal igazolt méhen belüli növekedésbeli elmaradás (IUGR)

A preeclampsia klinikai manifesztációi változatosak lehetnek. A gesztációs hipertenzió diagnózisa például csak retrospektíve állítható fel, ám kezelést a legtöbb esetben igényel, ami általában úgy történik, mintha a páciens preeclampsias lenne. Ha egy terhesnek vese vagy kardiovaszkuláris megbetegedése van, a preeclampsia diagnózisa ugyancsak nehezített.

2.2.3. A preeclampsia pathogenezeise

Az általánosan elfogadott konszenzus a preeclampsia pathogenezisét illetően az, hogy egy endotelsejt rendellenesség, ami az enyhétől a súlyosig terjedő mikroangiopátiához vezet a célszervekben, azaz az agyban, a vesékben, a májban és a placentában (Lain és mtsa, 2002).

Bár a hipertenzió tűnik a leggyakoribb tünetnek, az nem tekinthető az elsődleges pathogenetikai folyamatnak. Nem ritka, hogy más szervek is érintetté válnak mielőtt a magasvérnyomás manifesztálódik. A kórkép tüneteinek kialakulása előtt a preeclampsias terhesekben az endothelsejt károsodás keringő markereinek emelkedett szintje mutatható ki. Ezen markerek az endotelin, a celluláris fibronektin, a plazminogén aktivátor inhibitor-1, és a megváltozott prosztaciklin/tromboxán arány (Mutter és mtsai, 2008).

Ismertek adatok a preeclampsia genetikai hátteréről is, melyek közül a legintenzívebben kutatottak a hiperkoagulációt okozók. A protein C, protein S és antitrombin deficienciák rizikó faktorként szerepelhetnek (Cooper, 1994), csakúgy, mint az V-ös faktor Leiden mutációja, melyről hazai kutatócsoportok is kimutatták, hogy hozzájárulhat a preeclampsia kialakulásához (Nagy és mtsai, 1998; Rigó és mtsai, 2000)

Napjainkban tehát a preeclampsia pathogenezisének hátterében elsősorban az oxidatív stresszt, immunológiai, humorális és metabolikus rendellenességeket feltételezik, melyek mindegyike endothelsejt károsodáshoz, következményes célszerv-károsodáshoz vezethet. Az alábbiakban a három legfontosabb folyamatot részletezzük.

2.2.3.1. A placentáció preeclampsziában

A preeclampsziában megfigyelhető rendellenes placentáció annak az eredménye, hogy a trofoblasztok képtelenek betörni a deciduális erekbe. Egészséges terhességben citotrofoblasztok egy csoportja, az ún. invazív citotrofoblasztok, az anyai deciduális spirális artériák tunica media rétegébe törnek és annak endotheliumával lépnek kapcsolatba. A folyamatot pszeudovaszkuarizációnak nevezzük (Zhou és mtsai, 1997). Ezen változások eredményeként az említett erek kis muskuláris arteriolákból nagy kapacitású, alacsony ellenállású erekké alakulnak át. Ez biztosítja a magzat számára szükséges, megnövekedett

véráramlást. Nagy valószínűséggel a folyamat az első trimeszterben kezdődik és a terhesség 20. hetére be is fejeződik. Preeclampszában a decíduális arteriolák inváziója inkomplett, így az arteriolák többsége intakt és vazokonstriktóra képes marad. Egészséges terhességben a trofoblaszt differenciálódása számos molekula (pl. citokinek, mátrix metalloproteinázok, adhéziós molekulák, HLA-G) expresszióját magában foglalja. Preeclampszában az invazív citotrofoblasztok nem tudják expresszálni a MMP-9-et és a HLA-G-t. A pszeudovaszkularizáció és a trofoblasztok anyai erekbe történő betörésének részleges elmaradása háttérében immunológiai és genetikai faktorok hatását valószínűsítik, elsődleges oka azonban nem ismert (Lim és mtsai, 1997).

2.2.3.2. A szisztémás endothel diszfunkció preeclampszában

Az endothelsejtek az erek belfelszínét borító sejtek, melyek az erek permeabilitását, tónusát és a véralvadási kaszkádot szabályozzák. A preeclampszában megfigyelhető endothelsejt diszfunkcióért többek közt a placenta által termelt proangiogén (VEGF és PlGF) és antiangiogén (sFlt-1 és sEng) faktorok egyensúlyának megbomlása tehető felelőssé, de szerepet játszanak még a tumor nekrozis faktorok (TNF), az interleukin (IL) molekulák, egyes lipid molekulák és a reaktív oxigén intermedierek is (Germain és mtsai, 2007).

Az angiogenezis zavartalan folyamata kritikus a sikeres placentáció szempontjából. Mind a VEGF, mind a PlGF elősegíti az angiogenezist. Mindkét említett növekedési faktort döntően a placenta termeli és terhesség során mindkettő szintje emelkedik, a PlGF esetében ez a növekedés nagyságrendekkel nagyobb, mint a VEGF esetében. Azon terheseknél, akiknél a preeclampszia később kialakult, az egészséges terhesekhez viszonyítva mindkét faktor szintje már a második trimeszter elején csökkent (Levine és mtsai, 2004). A T és NK sejtek

intracelluláris VEGF expressziója is szignifikánsan csökken preeclampszában, ami hozzájárulhat a generalizált endothelsejt diszfunkcióhoz (Molvarec és mtsai, 2010a).

Az sFlt-1 egy szolubilis izoformája a Flt-1-nek, ami egy transzmembrán receptora a VEGF-nek. A sFlt-1 a vérben keringő VEGF-t és PlGF-t köti meg, így ezen faktorok nem tudnak a transzmembrán receptorukhoz kötődni. Így az sFlt-1-nek antiangiogén hatása van. Mindezekon túl a VEGF és a PlGF fontos szerepet tölt be az endothelsejtek homeosztázisában. Ezt jól példázza, hogy a szelektíven glomeruláris VEGF gén tekintetében knockout patkányok életképtelenek, míg a heterozigóták glomeruláris endotheliosissal születnek (preeclampszára is jellemző kórkép). Ismert, hogy preeclampszában a szérum sFlt-1 szintje emelkedett, míg a PlGF szintje csökkent (Molvarec és mtsai, 2010b). Állatkísérletek bizonyítják, hogy a terhesség korai szakaszában az sFlt-1 emelkedett szintje a preeclampszia rizikófaktorának tekinthető (Maynard és mtsai, 2003).

A sEng egy szolubilis izoformája a TGF-beta co-receptorának, így megköti a keringésben lévő TGF-betát, ezzel annak vérszintjét csökkenti. Mivel a TGF-beta egy proangiogén molekula, a sEng közvetetten antiangiogén hatású. A preeclampszia klinikai tünetei előtt kimutatható az anyai vérből és szintje a preeclampszia súlyosságával korrelál, majd szülés után csökken. Állatkísérletes modellen bizonyították, hogy sEng adásával hipertenziót lehet kiváltani (Levine és mtsai, 2006).

2.2.3.3. A preeclampszia és az oxidatív stressz

A reaktív oxigéngyökök elsődleges támadási pontjai sejtmembránok és lipoproteinek. A többszörösen telítetlen zsírsavak és a koleszterin károsításával reaktív elsődleges termékek keletkeznek, amiket lipid hidroperoxidoknak nevezünk, a folyamatot pedig lipidperoxidációnak hívjuk (Hubel, 1999). A lipid hidroperoxidok a szervezet fiziológiás

működéséhez szükségesek, ám kontrollálatlan termelődésük a sejtek diszfunkciójához és károsodásához vezethet. A preeclampsia esetében széleskörűen vizsgált jelenség a lipidperoxidáció. Kísérletes körülmények között lipidperoxidációval a preeclampszában is megfigyelhető endothelsejt károsodást, illetve annak következményeit figyelték meg. A legfontosabbakat megemlítve: hidrogén-peroxid intrarenális injektálásával állatkísérletben reverzibilis proteinuria jött létre (Yoshioka és mtsai, 1991). Az artériákban létrejövő endothelsejt függő vazodilatáció károsodását lehet kimutatni in vitro, melynek oka a lipidperoxidáció során keletkező oxidált-LDL megnövekedett mennyisége (Galle és mtsai, 1994). Eclampszához hasonló görcsrohamokat és intravaszkuláris trombózist sikerült kiváltani terhes kísérleti állatokban E-vitamin szegény és lipid-peroxidokat tartalmazó diétával (Stamler, 1959).

A granulociták termelte O_2^- -nal kapcsolatban a rendelkezésre álló szakirodalom számos ellentmondást tartalmaz. Az bizonyos, hogy az aktivált neutrofilek által termelt O_2^- a sejtmembrán lipidperoxidációját okozza, ami megnövekedett vaszkuláris permeabilitással és reaktivitással jár (Harlan, 1987). Az ellentmondásokat szemléltetve megemlítjük, hogy egy munkacsoport vizsgálatai szerint n-formyl-metionyl-leucyl-fenilalanin (FMLP) stimulációval harmadik trimeszterben lévő egészséges terheseknél szignifikánsan magasabb neutrofil szabadgyök termelést mért a nem terhes kontrollokkal összehasonlítva (Selvaraj és mtsai, 1982), míg egy másik munkacsoport hasonló kísérletben a terheseknél mért szignifikánsan alacsonyabb O_2^- termelést a nem terhesekhez képest (Crouch és mtsai, 1995). Sacks és mtsai. normál terhességben és preeclampszában is magasabb O_2^- termelést mértek FMLP stimuláció hatására a nem terhesek értékeihez képest (Sacks és mtsai, 1998), míg Crocker és mtsai. egészséges terhességben a nem terhesekhez és preeclampsziás terhesekhez képest csökkent a O_2^- termelést mértek (Crocker és mtsai, 1999).

3. CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során az alábbi problémák megoldását és kérdések megválaszolását tűztük ki célul:

I. Egészséges terhesek és preeclampsziás terhesek vérmintáiból szeparált perifériás neutrofil granulociták O_2^- termelésének megfigyelése, tisztázása:

1. Hogyan változik meg a granulociták O_2^- termelése egészséges terhességben és preeclampsziában a nem terhes kontrollok eredményéhez viszonyítva PDBu és FMLP stimuláció hatására?

II. Egészséges terhesek és preeclampsziás terhesek vérében a granulocita-funkciót befolyásoló plazmafaktorok jelenlétének vagy hiányának igazolása:

1. Milyen hatással van az egészséges nem terhes, egészséges terhes és preeclampsziás nők vérplazmája az egészséges terhesekből, egészséges nem terhesekből és preeclampsziás terhesekből izolált granulociták O_2^- termelésére?
2. A fenti változások hogyan alakulnak inaktivált és nem inaktivált vérplazma alkalmazása esetén?
3. Befolyásolja-e a granulociták O_2^- termelését az idegen immunológiai környezet, tehát a nem saját, de ugyanazon vizsgálati csoportból származó vérplazma?

4. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

4.1. A vizsgálati alanyok

Tájékozott beleegyezést követően, terhességük harmadik trimeszterében járó 31 egészséges terhes és 39 preeclamsziás nő perifériás vérmintáit gyűjtöttük össze. A vérvételek a 26-38. terhességi héten történtek. Kontrollként 35 hasonló életkorú, egészséges nem terhes nő vérmintáit használtuk. Az egészséges terhes nők életkora 23-34 év volt, átlagosan $31,1 \pm 4,3$ év, a preeclamsziás terheseké 22-34 év, átlagosan $31,3 \pm 3,9$ év, az egészséges nem terheseké 25-33 év, átlagosan $31,6 \pm 2,8$ év. A preeclamsziát a terhesség 20. hete után kialakuló magasvérnyomás ($\geq 140/90$ Hgmm két különböző mérés eredményeként, legalább 6 óra különbséggel) és proteinuria (24 órás vizeletgyűjtésből a fehérje mennyisége több mint 300 mg/nap) együttes fennállása esetén diagnosztizáltuk. A preeclamsziások a kórkép súlyosságát illetően az enyhe (140/90 Hgmm – 149/99 Hgmm) és közepesen súlyos (150/100 Hgmm – 159/109 Hgmm) csoportból kerültek ki, a súlyos preeclamsziásokat nem válogattuk be. Minden vérvétel a gyógyszeres kezelés előtt történt, a beválogatott egyének nem szedtek rendszeresen gyógyszert, nem szenvedtek cukorbetegségben, vagy egyéb belgyógyászati megbetegedésben, előzményükben nem volt nagyobb sebészeti beavatkozás.

4.2. A kísérletek során felhasznált kémiai anyagok

Ficoll sejtszeparációs médium, szuperoxid dizmutáz (marha eritrocitákból, 4500 U/mg fehérje), ferricitokróm c (marha szívből), phorbol-12,13-dibutyrate, n-formyl-methionyl-phenylalanine, Hank's puffer, EDTA, tripánkék.

4.3. A granulociták szeparációja perifériás vérből

A perifériás vér levétele EDTA (Becton-Dickinson, Cedex, Franciaország) tartalmú, vákuum elven működő, zárt vérvételi csövekbe történt (Becton-Dickinson, Cedex, France) mindhárom vizsgálati csoport esetében. A vérmintákat egyenként Ficoll oldatra (1,077 g/ml) rétegeztük, 1g-vel centrifugáltuk 40-60 percig szobahőmérsékleten. Az így különválasztott plazmában és fehérvérsejtekben gazdag felülúszót leszívtuk és a Ficoll gradiens (1,119 g/ml és 1,077 g/ml) tetejére rétegeztük, majd 350 g-n, 20 °C-on 30 percig centrifugáltuk. A két eltérő sűrűségű Ficoll réteg közé kivált neutrofil granulocitákat összegyűjtöttük és 7,4-es pH-ra beállított Hank's pufferben egymás után kétszer mostuk 20 °C-on (English és mtsa, 1974). A sejtek életképességét tripánkék kizárásos teszttel ellenőriztük, ami 98%-os volt. A granulocita szuszpenzió tisztasága mikroszkópos vizsgálat alapján 94-98%-os volt. A vörösvértetek hipotóniás lízisére nem volt szükség, tekintettel az eritrocita kontamináció hiányára.

4.4. A szuperoxid-anion termelés mérése

A O_2^- termelésért felelős NADPH-oxidáz stimulálása mind az intracelluláris PK-C útvonalon, mind a formil-peptid receptor útvonalon keresztül történt a PDBu illetve az FMLP segítségével. A O_2^- termelést a ferricitokró-m-c megkötésének szuperoxid-dizmutázzal gátolható csökkenéseként mértük (Babior és mtsai, 1975). A granulocitákat (3×10^5) Hank's oldatban (pH 7,4) inkubáltuk phorbol-12,13-dibutyráttal (PDBu) és FMLP-vel 15 percig 37°C-on. A minták végső térfogata 0,5 ml, a PDBu és FMLP koncentrációja 100-100 nmol/l, a ferricitokró-m-c koncentrációja pedig 50 μ mol/l volt. A megkötődés változását 550 nm-en mértük kettős sugarú Shimadzu UV-160A spektrofotométerrel (Shimadzu Seisakusho Ltd,

Kyoto, Japan) 25°C-on. Az oldatba kiválasztott O_2^- mennyiségét a redukált ferricitokró-m-c moláris extinkciós koefficiense ($2,1 \times 10^4 M^{-1} cm^{-1}$) alapján számítottuk ki (Pick és mtsa, 1981).

4.5. A plazmaminták hatásának mérése a nem terhesek, egészséges terhesek és preeclampsias terhesek neutrofil granulocitáinak szuperoxid-anion termelésére

A plazmafrakciókat az egészséges nem terhesek, egészséges terhesek és preeclampsias terhesek perifériás vérmintáiból nyertük azok 20 °C-on 10 percig 800 g-n történő centrifugálása után, majd minden egyes plazmamintát két egyenlő részre osztottuk. Plazmakísérleteink során 6 egészséges terhes, 6 nem terhes és 6 preeclampsias nő plazmamintáit izoláltuk, illetve ugyanezen vizsgálati alanyok granulocitáit szeparáltuk. A plazmaminták egyik részét 30 perc alatt 56 °C-os vízfürdőben inaktiváltuk, a komplementrendszer feltételezett granulocita funkciót befolyásoló hatásának kizárása céljából (Rossi, 1986). A plazmaminták másik részét nem inaktiváltuk. A vizsgált személyektől nyert plazmamintákat nem kevertük össze, azokat felhasználásig -86 °C-on tároltuk. Minden plazmakísérletet inaktivált és nem inaktivált plazmával végeztünk el. Az egészséges nem terhes nők granulocitáit (3×10^6) egészséges terhesek és preeclampsias terhesek plazmamintáiban (1,5 ml) inkubáltuk. Ennek analógiájára az egészséges terhesek granulocitáit egészséges nem terhes nők és preeclampsias terhesek inaktivált és nem inaktivált plazmamintáival kezeltük, illetve a preeclampsias terhesek granulocitáit egészséges nem terhesek és egészséges terhesek plazmamintáiban inkubáltuk. Annak érdekében, hogy megfigyeljük az „idegen plazma” immunmediálta hatását a granulociták O_2^- termelésére, az egészséges nem terhesek, egészséges terhesek és preeclampsias terhesek véréből nyert sejteket (3×10^6) saját plazmájukkal (1,5 ml) (autológ) és saját csoportjából származó, de másik egyén plazmájával (1,5 ml) (heterológ) kezeltük. A granulociták inaktivált és nem

inaktivált plazmában történő inkubációja 37 °C-on 60 percig tartott, majd Hank's oldatban mostuk és a fent leírt módon mértük a O_2^- termelésüket.

4.6. Statisztikai analízis

A minta eloszlását a Kolmogorov-Smirnov teszttel ellenőriztük, melynek során az normál eloszlásúnak bizonyult. A vizsgált populáció klinikai paramétereinek, az egészséges nem terhesekből, egészséges terhesekből és preeclamsiás terhesekből származó granulociták O_2^- termelésének, csakúgy, mint az előzetesen plazmamintában inkubált neutrofilek O_2^- termelésének különbségeit egyszempontú varianciaanalízissel (ANOVA) illetve Newman-Keuls post-hoc teszttel vizsgáltuk. Szignifikánsnak a $p < 0,05$ különbséget tekintettük.

5. EREDMÉNYEK

Az I. táblázat az egészséges nem terhesek, egészséges terhesek és preeclampsziás terhesek klinikai tulajdonságait mutatja. Az általunk vizsgált betegeknek is megfigyelhetők a szakirodalomból ismert, preeclampsziában bekövetkező változások. Eredményeinkből látható, hogy a preeclampsziás terhesek körében a szüléskori magasabb testtömeg-index és alacsonyabb gesztációs kor, az alacsonyabb újszülött-súly illetve a magasabb szisztolés és diasztolés vérnyomás valamint proteinuria szignifikáns változást mutat az egészséges terhesek eredményeihez képest.

	nem terhesek (n=35)	egészséges terhesek (n=31)	preeclampsziás terhesek (n=39)	p érték
életkor	30,8 ± 2,2	31,0 ± 4,5	30,7 ± 4,4	>0,05
gesztációs kor a vérvételkor (hét)	NÉ	31,5 ± 3,3	31,4 ± 3,7	>0,05
gesztációs kor a szüléskor (hét)	NÉ	39,4 ± 1,7	37,6 ± 2,6	<0,05*
terhesség előtti BMI (kg/m²)	NÉ	24,3 ± 1,4	24,6 ± 1,6	>0,05
BMI a szüléskor (kg/m²)	NÉ	27,6 ± 4,1	30,6 ± 4,6	<0,05*
paritás^a	0 (0-1)	0 (0-2)	0 (0-1)	>0,05
szisztolés vérnyomás vérvételkor (Hgmm)	122 ± 5,5	120 ± 6,6	157 ± 9,8	<0,05*
diasztolés vérnyomás vérvételkor (Hgmm)	78 ± 4,5	77 ± 6,2	103 ± 4,2	<0,05*
újszülött súlya (gramm)	NÉ	3578 ± 526,5	3030 ± 710,1	<0,05*
proteinuria a vérvételkor (gyorsteszt)	0 (0-0)	0 (0-0)	3 (1-3)	<0,05*

I. táblázat. A vizsgálatokban résztvevők klinikai tulajdonságai. ^a Az értékek átlagot jelölnek (tartomány). BMI: testtömeg-index (kg/m²). NÉ: nem értelmezhető. * szignifikáns eltérés az egészséges terhesek és preeclampsziás terhesek között.

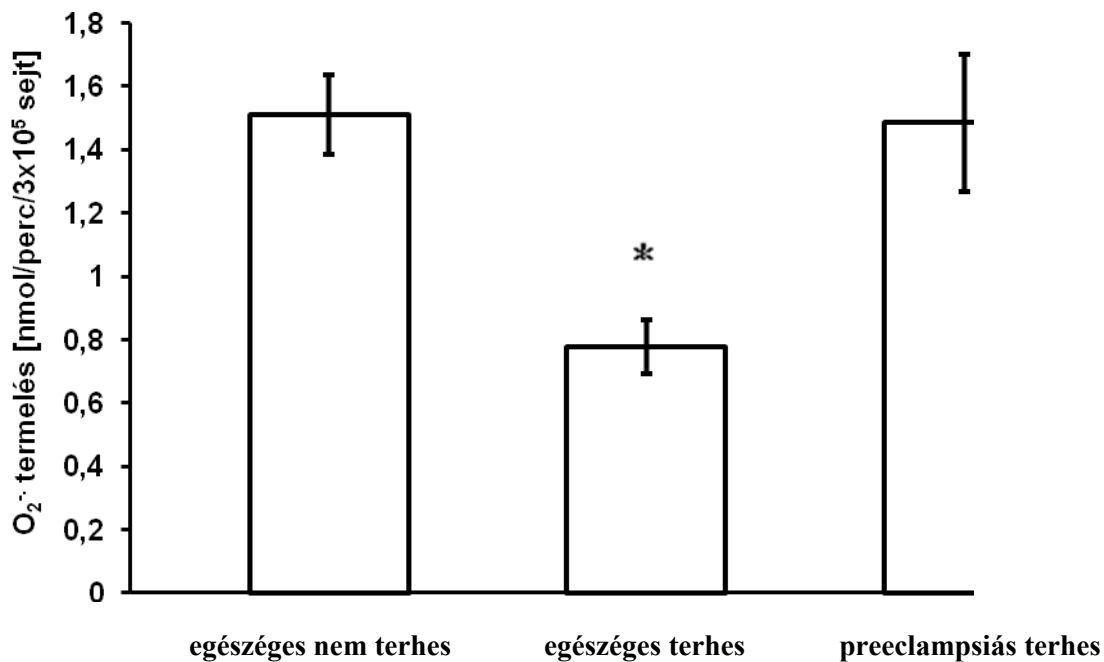
5.1. A neutrofil granulociták szuperoxid-anion termelése

Az egészséges nem terhesek, egészséges terhesek és preeclampsias terhesek granulocitáinak PDBu és FMLP stimulált O_2^- termelése az 1A és 1B ábrán látható. A II. táblázat a konkrét mérési eredményeket mutatja.

	PDBu-stimuláció	FMLP-stimuláció
ENT	1,512 ± 0,125	1,176 ± 0,103
ET	0,779 ± 0,085	0,473 ± 0,153
PT	1,486 ± 0,217	1,190 ± 0,240

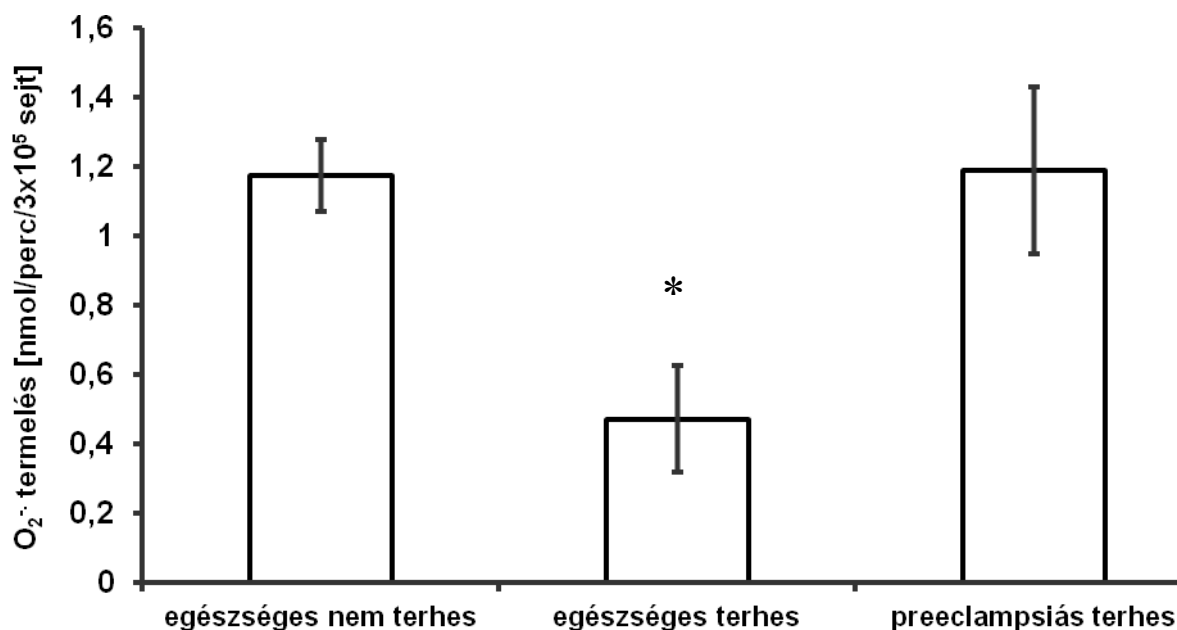
II. táblázat. Az egészséges nem terhesek (ENT), egészséges terhesek (ET) és preeclampsias terhesek (PT) granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése ± szórás (nmol/perc/ 3×10^5 sejt) PDBu és FMLP stimuláció hatására. Ezen eredményeinket grafikusán az 1A és 1B ábrán mutatjuk be.

Az 1A ábrán láthatjuk, hogy az egészséges terhes nőkből származó granulociták átlagos O_2^- termelése a nem terhesek és preeclampsias terhesek hasonló eredményéhez képest szignifikánsan csökkent PDBu stimuláció hatására. Nem volt szignifikáns különbség a nem terhes kontrollok és a preeclampsias terhesek granulocitáinak O_2^- termelésében. A preeclampsiasok granulocitái szignifikánsan nagyobb mennyiségben termelték a O_2^- -t, mint az egészséges terheseké.



1A ábra. Egészséges nem terhes (n=35), egészséges terhes (n=31) és preeclampsziás terhes (n=39) nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése PDBu stimuláció hatására. A szuperoxid-anion termelést a szövegben leírtak szerint mértük. Az átlagértékeket (\pm SD) tüntettük fel. * $p < 0,001$ egészséges terhes és egészséges nem terhes, valamint preeclampsziás nők eredményei között.

Az 1B ábra a vizsgált csoportokban FMLP stimuláció hatására mutatja a neutrofilek O_2^- termelését. Az egészséges terhesek átlagos O_2^- termelése szignifikánsan csökkent összehasonlítva a nem terhesek és preeclampsziás terhesek eredményeivel. Nem volt szignifikáns különbség a nem terhesekből és preeclampsziás terhesekből származó granulociták átlagos O_2^- termelése között. A preeclampsziás terhesekből származó granulociták O_2^- termelése szignifikáns növekedést mutatott az egészséges terhesek hasonló eredményével összehasonlítva.



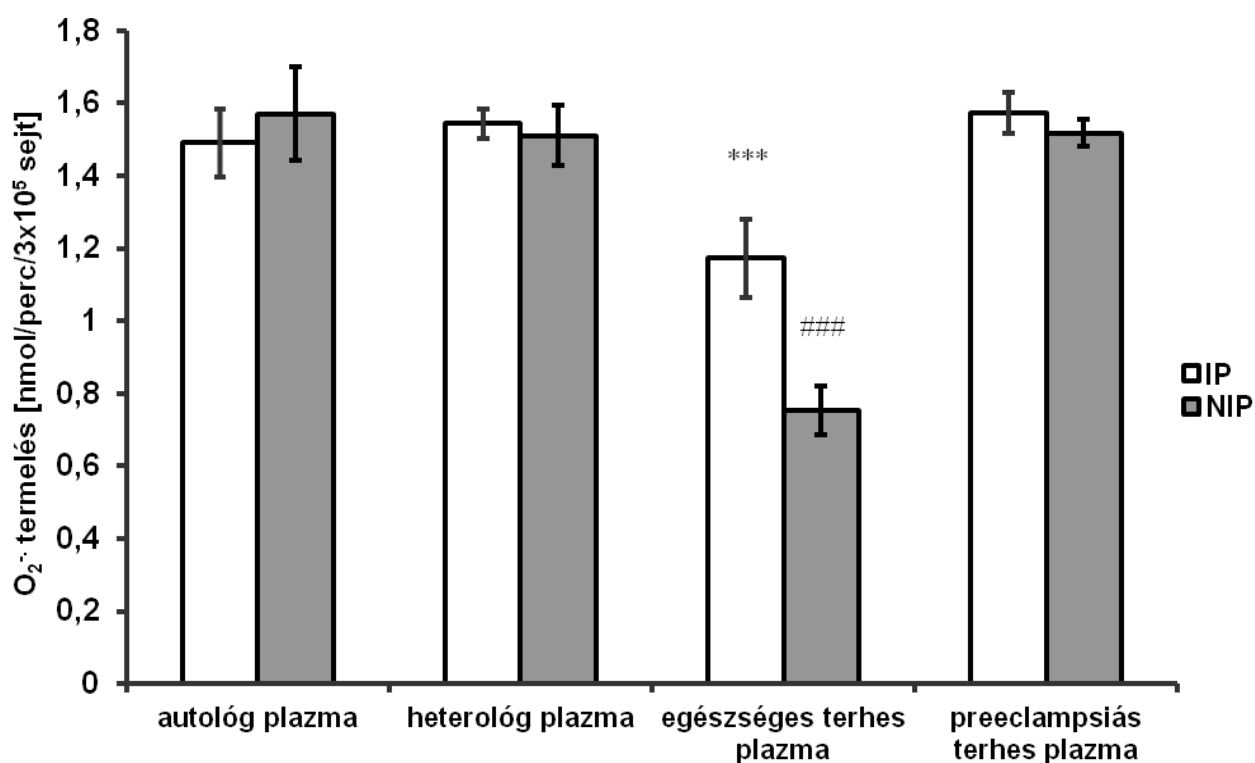
1B ábra. Egészséges nem terhes (n=35), egészséges terhes (n=31) és preeclampsziás terhes (n=39) nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése FMLP stimuláció hatására. A szuperoxid-anion termelést a szövegben leírtak szerint mértük. Az átlagértékeket (\pm SD) tüntettük fel. * $p < 0,001$ egészséges terhes és egészséges nem terhes valamint preeclampsziás nők eredményei között.

5.2. A plazmaminták hatása a granulociták szuperoxid-anion termelésére

A 2A és 2B ábra az egészséges terhesek és preeclampsziás terhesek plazmájának hatását mutatja az egészséges nem terhes nők granulocitáinak O_2^- termelésére. A számszerű eredmények a III. és IV. táblázatban találhatóak. A 2A ábrán látható, hogy az egészséges terhesből származó inaktivált (IP) és nem inaktivált (NIP) vérplazma szignifikánsan (mindkét esetben $p < 0,001$) gátolja a nem terhesek granulocitáinak PDBu-indukálta O_2^- termelését, összehasonlítva azzal a O_2^- termeléssel, amikor a vizsgált sejteket az egészséges nem terhes nők inaktivált és nem inaktivált, autológ és heterológ plazmájában vagy a preeclampsziás terhes nők plazmájában inkubáljuk. Nem volt szignifikáns különbség a PDBu stimulált, nem terhes kontrollok granulocitáinak O_2^- termelésében, ha azokat autológ és nem terhes heterológ, vagy preeclampsziás terhes plazmájában inkubáltuk.

	IP	NIP
autológ ENT plazma	1,490 ± 0,093	1,571 ± 0,128
heterológ ENT plazma	1,543 ± 0,041	1,511 ± 0,082
ET plazma	1,173 ± 0,108	0,753 ± 0,067
PT plazma	1,572 ± 0,056	1,518 ± 0,037

III. táblázat. Egészséges nem terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése ± szórás (nmol/perc/3x10⁵ sejt) különböző inaktivált (IP) és nem inaktivált (NIP) plazmamintákkal történt kezelés után PDBu indukció hatására. ENT: egészséges nem terhes, ET: egészséges terhes, PT: preeclampsziás terhes. Ezen eredményeinket grafikusan a 2A ábrán mutatjuk be.

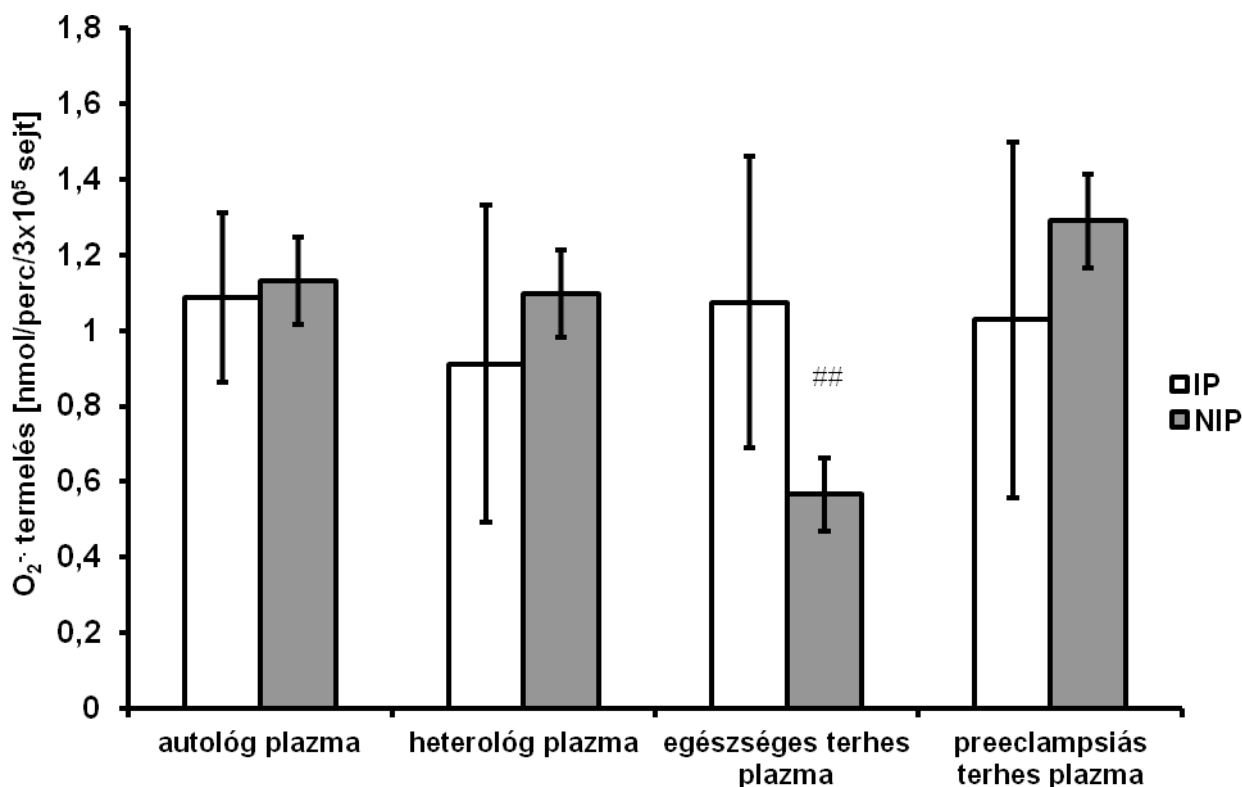


2A ábra. Plazmaminták hatása a nem terhes nők granulocitáinak PDBu indukálta átlagos szuperoxid-anion termelésére. A granulocitákat egészséges terhes, preeclampsziás terhes, valamint autológ és heterológ nem terhes nőkből izolált inaktivált (IP) és nem inaktivált (NIP) plazmamintákban inkubáltuk. A szuperoxid-anion termelést a szövegben leírtak szerint mértük. Az átlagértékeket (±SD) 6 egymástól független mérés alapján számoltuk ki. A granulocitákat és a plazmamintákat csoportonként 6 nő perifériás vérmintáiból izoláltuk. A szignifikanciaszint jelöléseinek magyarázatai: ***p<0,001 autológ IP és egészséges terhes IP eredményei között. ###p<0,001 autológ NIP és egészséges terhes NIP között.

A 2B ábrán az látható, ha a nem terhesek granulocitáit inaktivált heterológ plazmamintában, egészséges terhes vagy preeclampsias terhes inaktivált plazmájában inkubáljuk, az FMLP stimulálta O_2^- termelés mértékében nincs szignifikáns különbség a csoportok között. A nem inaktivált minták esetében az egészséges terhes plazmája szignifikánsan ($p < 0,01$) gátolja a nem terhesek granulocitáinak O_2^- termelését, nem terhesek autológ és heterológ valamint preeclampsias terhesek plazmájának hatásával összehasonlítva.

	IP	NIP
autológ ENT plazma	1,088 ± 0,224	1,132 ± 0,115
heterológ ENT plazma	0,912 ± 0,420	1,098 ± 0,115
ET plazma	1,075 ± 0,385	0,567 ± 0,097
PT plazma	1,029 ± 0,471	1,290 ± 0,125

IV. táblázat. Egészséges nem terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése ± szórás (nmol/perc/ 3×10^5 sejt) különböző inaktivált (IP) és nem inaktivált plazmamintákkal (NIP) történt kezelés után FMLP indukció hatására. ENT: egészséges nem terhes, ET: egészséges terhes, PT: preeclampsias terhes. Ezen eredményeinket grafikusán a 2B ábrán mutatjuk be.

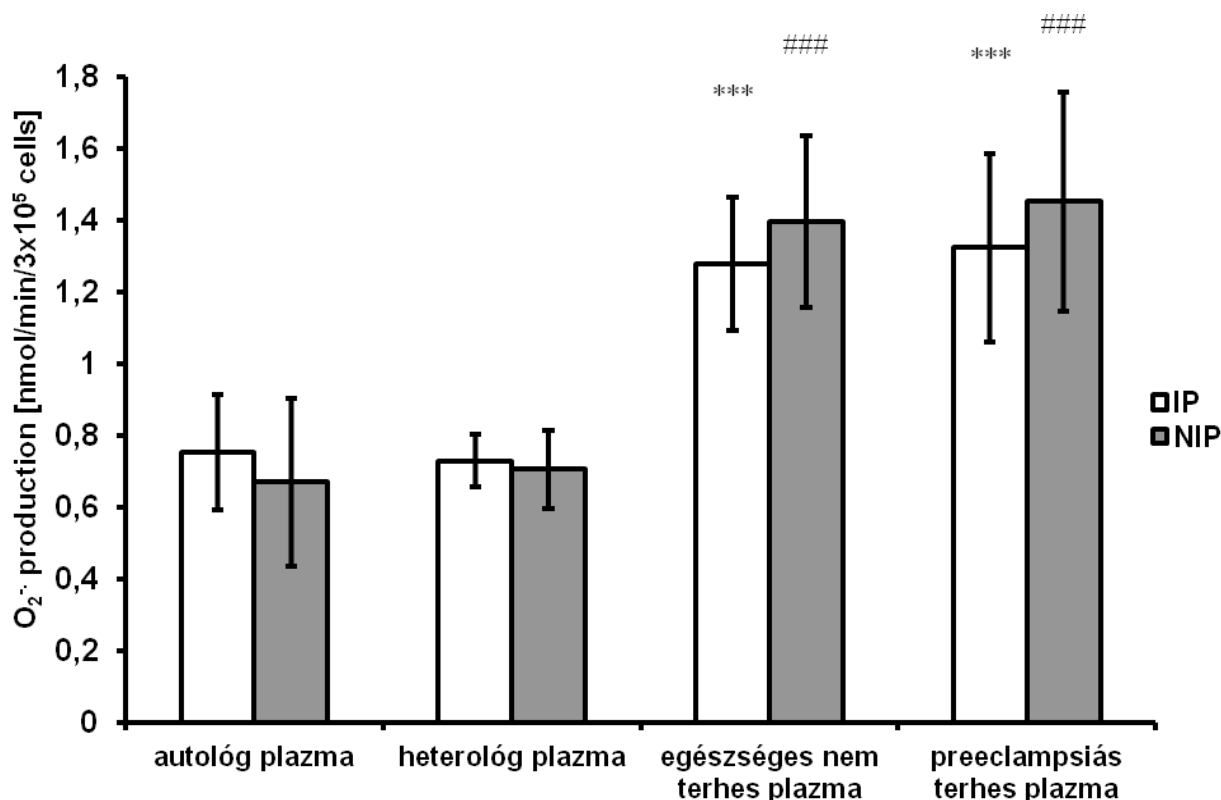


2B ábra. Plazmaminták hatása a nem terhes nők granulocitáinak FMLP indukálta átlagos szuperoxid-anion termelésére. A granulocitákat egészséges terhes, preeclampsziás terhes, valamint autológ és heterológ nem terhes nőkből izolált inaktivált (IP) és nem inaktivált plazmamintákban inkubáltuk. A szuperoxid-anion termelést a szövegben leírtak szerint mértük. Az átlagértékeket (\pm SD) 6 egymástól független mérés alapján számoltuk ki. A granulocitákat és a plazmamintákat csoportonként 6 nő perifériás vérmintáiból izoláltuk. A szignifikanciaszint jelöléseinek magyarázatai: ^{##}p<0,01 autológ NIP és egészséges terhes NIP között.

A 3A és 3B ábrán az egészséges terhesek granulocitáival végzett reciprok plazmakísérletek eredményei láthatók. A számszerű eredményeket a V. és VI. táblázat mutatja. A 3A ábrán látható, hogy az egészséges nem terhes és preeclampsziás terhes nők inaktivált és nem inaktivált vérplazmája is szignifikánsan (mindkét esetben p<0,001) növeli az egészséges terhesek véréből izolált granulocitáinak PDBu stimulált O₂⁻ termelését, összehasonlítva azzal az esettel, ha a fent említett sejteket saját autológ és heterológ inaktivált és nem inaktivált plazmával kezeljük. Nem volt szignifikáns különbség az autológ és heterológ plazmakísérletek eredményeit tekintve.

	IP	NIP
autológ ET	0,753 ± 0,161	0,669 ± 0,235
heterológ ET	0,729 ± 0,073	0,705 ± 0,110
ENT	1,227 ± 0,186	1,396 ± 0,241
PT	1,323 ± 0,262	1,452 ± 0,305

V. táblázat. Egészséges terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése ± szórás (nmol/perc/3x10⁵ sejt) különböző inaktivált (IP) és nem inaktivált plazmamintákkal (NIP) történt kezelés után PDBu indukció hatására. ENT: egészséges nem terhes, ET: egészséges terhes, PT: preeclampsziás terhes. Ezen eredményeinket grafikusán a 3A ábrán mutatjuk be.

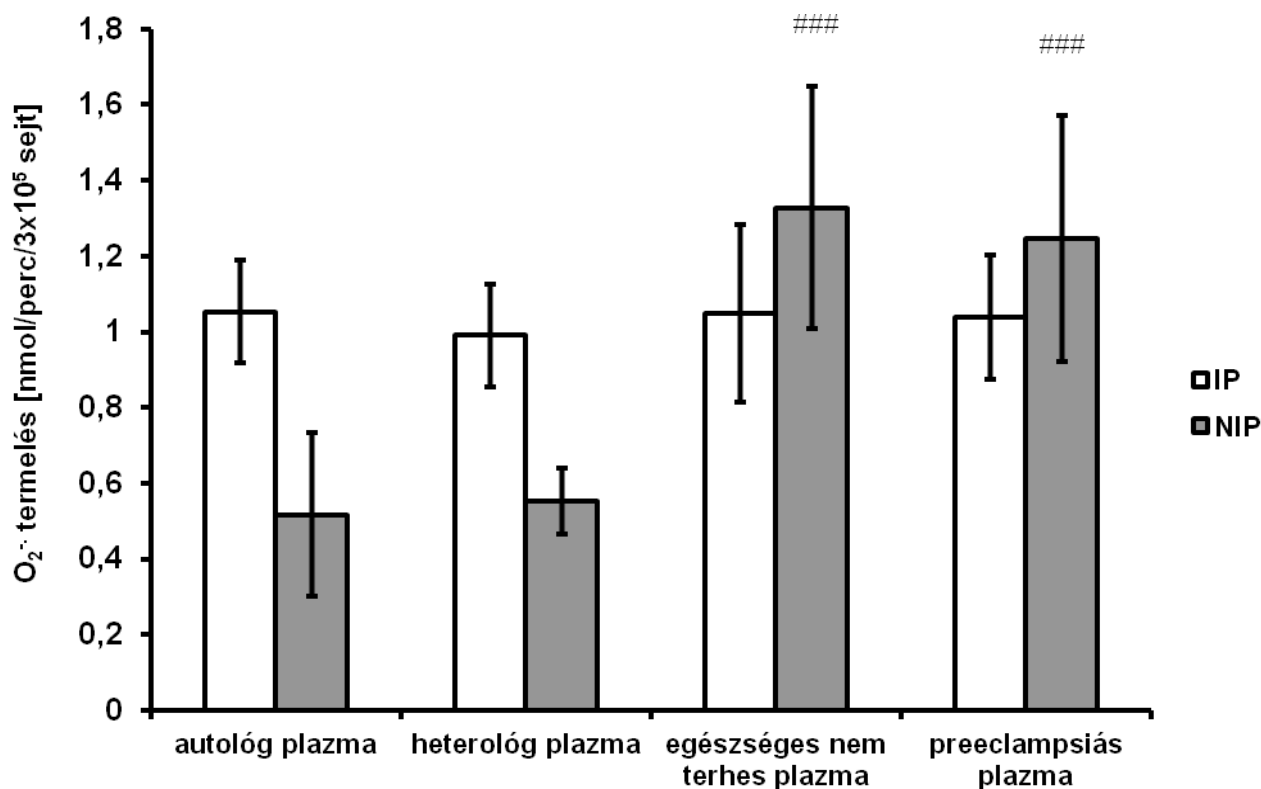


3A ábra. Plazmaminták hatása az egészséges terhes nők granulocitáinak PDBu indukálta átlagos szuperoxid-anion termelésére. A granulocitákat nem terhes, preeclampsziás terhes, valamint autológ és heterológ egészséges terhes nőkből izolált inaktivált (IP) és nem inaktivált (NIP) plazmamintákban inkubáltuk. A szuperoxid-anion termelést a szövegben leírtak szerint mértük. Az átlagértékeket (±SD) 6 egymástól független mérés alapján számoltuk ki. A granulocitákat és a plazmamintákat csoportonként 6 nő perifériás vérmintáiból izoláltuk. A szignifikanciaszint jelöléseinek magyarázatai: ***p<0,001 autológ IP és egészséges terhes IP eredményei között. ###p<0,001 autológ NIP és egészséges terhes NIP között.

A 3B ábra azt mutatja, hogy az egészséges nem terhes és preeclampsziás terhes nők inaktivált vérplazmája, csakúgy, mint a heterológ egészséges terhes vérplazmája nem befolyásolja szignifikánsan az egészséges terhes nők véréből nyert neutrofil granulociták FMLP stimulálta O_2^- termelését az autológ inaktivált értékhez képest. Amennyiben az említett sejteket nem terhes és preeclampsziás terhes nők nem inaktivált vérplazmájával kezeljük, azok FMLP stimulált O_2^- termelése szignifikánsan (mindkét esetben $p < 0,001$) nő a nem inaktivált autológ és heterológ plazmákkal történő kezelés utáni eredményekkel összehasonlítva.

	IP	NIP
autológ ET	1,053 ± 0,136	0,517 ± 0,217
heterológ ET	0,990 ± 0,137	0,552 ± 0,087
ENT	1,048 ± 0,234	1,327 ± 0,320
PT	1,039 ± 0,163	1,246 ± 0,325

VI. táblázat Egészséges terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése ± szórás (nmol/perc/ 3×10^5 sejt) különböző inaktivált és nem inaktivált plazmamintákkal történt kezelés után FMLP indukció hatására. ENT: egészséges nem terhes, ET: egészséges terhes, PT: preeclampsziás terhes. Ezen eredményeinket grafikusán a 3B ábrán mutatjuk be.

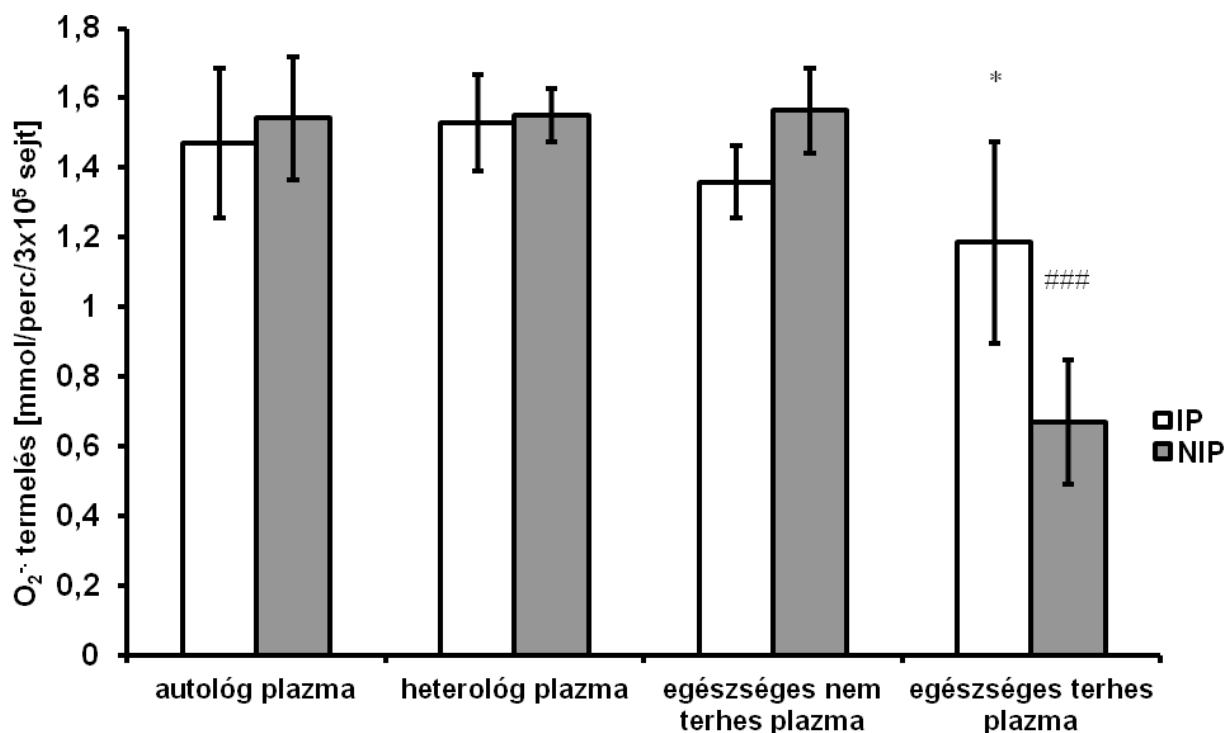


3B ábra. Plazmaminták hatása az egészséges terhes nők granulocitáinak FMLP indukálta átlagos szuperoxid-anion termelésére. A granulocitákat nem terhes, preeclampsziás terhes, valamint autológ és heterológ egészséges terhes nőkből izolált inaktivált (IP) és nem inaktivált (NIP) plazmamintákban inkubáltuk. A szuperoxid-anion termelést a szövegben leírtak szerint mértük. Az átlagértékeket (\pm SD) 6 egymástól független mérés alapján számoltuk ki. A granulocitákat és a plazmamintákat csoportonként 6 nő perifériás vérmintáiból izoláltuk. A szignifikanciaszint jelöléseinek magyarázatai: ^{###}p<0,001 autológ NIP és egészséges terhes NIP között.

A 4A és 4B ábrán preeclampsziás terhes nőkből izolált neutrofil granulociták O_2^- termelését láthatjuk a különböző plazmaminták hatására. Számszerű eredményeinket a VII. és a VIII. táblázat mutatja. Ahogy azt a 4A ábra is mutatja, ha egészséges terhes nők inaktivált és nem inaktivált plazmamintáival kezeljük a preeclampsziás terhesek granulocitáit, a PDBu indukálta O_2^- termelésük szignifikánsan (IP: p<0,05; NIP: p<0,001) csökken, összehasonlítva a preeclampsziások autológ és heterológ és nem terhesek inaktivált és nem inaktivált plazmájában történő inkubáció után mért eredményekkel. Nem volt szignifikáns eltérés a preeclampsziás terhesek granulocitáinak PDBu indukálta O_2^- termelésében autológ, heterológ és nem terhes inaktivált és nem inaktivált plazmamintákban történt kezelése után.

	IP	NIP
autológ PT	1,471 ± 0,216	1,542 ± 0,176
heterológ PT	1,529 ± 0,138	1,551 ± 0,075
ENT	1,359 ± 0,103	1,564 ± 0,123
ET	1,185 ± 0,290	0,669 ± 0,177

VII. táblázat. Preeclampsias terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése ± szórás (nmol/perc/3x10⁵ sejt) különböző inaktivált (IP) és nem inaktivált plazmamintákkal (NIP) történt kezelés után PDBu indukció hatására, ENT: egészséges nem terhes, ET: egészséges terhes. PT: preeclampsias terhes. Ezen eredményeinket grafikusán a 4A ábrán mutatjuk be.

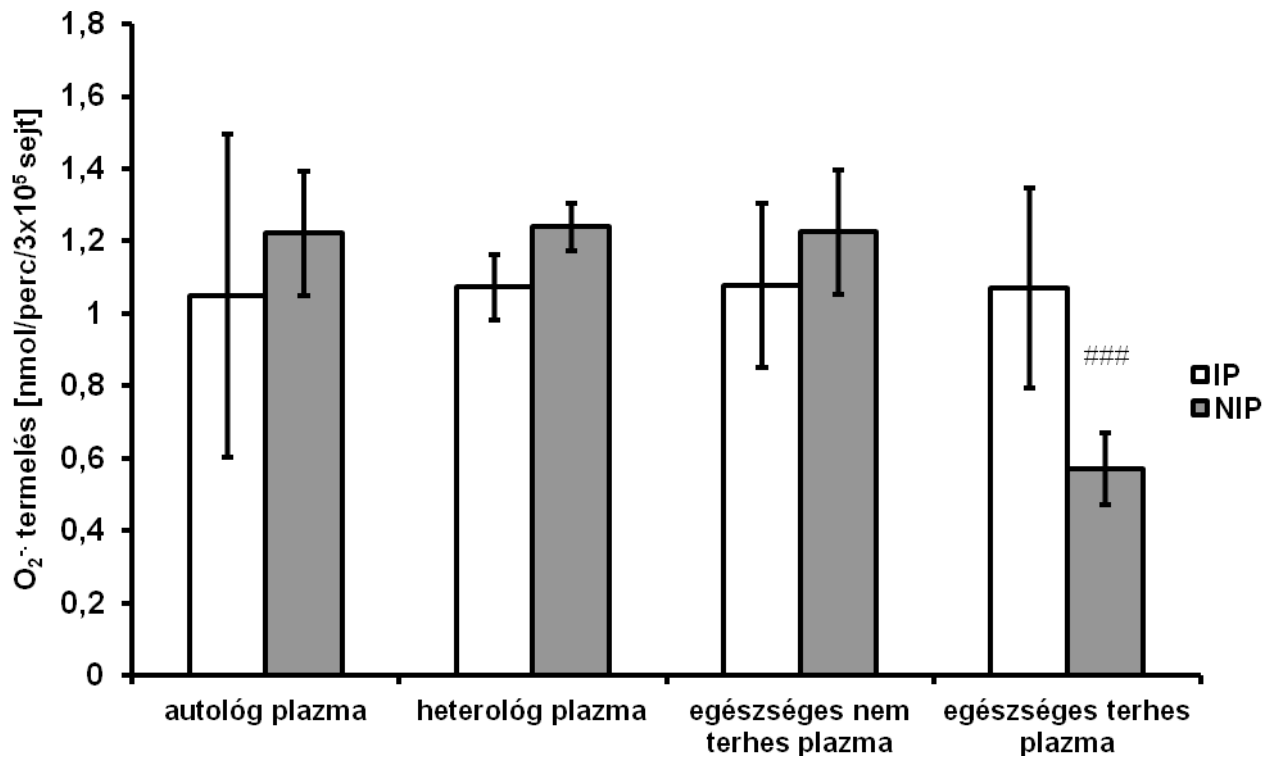


4A ábra. Plazmaminták hatása a preeclampsias terhes nők granulocitáinak átlagos PDBu indukálta szuperoxid-anion termelésére. A granulocitákat nem terhes, egészséges terhes, valamint autológ és heterológ preeclampsias terhes nőkből izolált inaktivált (IP) és nem inaktivált (NIP) plazmamintákban inkubáltuk. A szuperoxid-anion termelést a szövegben leírtak szerint mértük. Az átlagértékeket (±SD) 6 egymástól független mérés alapján számoltuk ki. A granulocitákat és a plazmamintákat csoportonként 6 nő perifériás vérmintáiból izoláltuk. A szignifikanciaszint jelöléseinek magyarázatai: *p<0,05 autológ IP és egészséges terhes IP eredményei között. ###p<0,001 autológ NIP és egészséges terhes NIP között.

A 4B ábrán látható, hogy a preeclampsziás terhesekből származó granulociták átlagos O_2^- termelése FMLP stimuláció hatására szignifikánsan nem különbözik, ha azokat egészséges terhes, nem terhes és preeclampsziás terhes autológ és heterológ inaktivált plazmájában inkubáljuk. Ha a preeclampsziás nők granulocitáit egészséges terhes nem inaktivált plazmájával kezeljük, úgy a sejtek átlagos FMLP indukált O_2^- termelése szignifikánsan ($p < 0,001$) csökken összehasonlítva az egészséges nem terhesek és preeclampsziás terhesek autológ és heterológ nem inaktivált plazmájával történt kezelés utáni eredményekkel.

	IP	NIP
autológ PT	1,050 ± 0,445	1,222 ± 0,171
heterológ PT	1,073 ± 0,090	1,240 ± 0,066
ENT	1,078 ± 0,227	1,226 ± 0,172
ET	1,071 ± 0,276	0,572 ± 0,098

VIII. táblázat. Preeclampsziás terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése ± szórás (nmol/perc/ 3×10^5 sejt) különböző inaktivált (IP) és nem inaktivált plazmamintákkal (NIP) történt kezelés után FMLP indukció hatására. ENT: egészséges nem terhes, ET: egészséges terhes, PT: preeclampsziás terhes. Ezen eredményeinket grafikusán a 4B ábrán mutatjuk be.



4B ábra. Plazmaminták hatása a preeclampsziás terhes nők granulocitáinak átlagos FMLP indukálta szuperoxid-anion termelésére. A granulocitákat inaktivált nem terhes, egészséges terhes, valamint autológ és heterológ preeclampsziás terhes nőkből izolált inaktivált (IP) és nem inaktivált (NIP) plazmamintákban inkubáltuk. A szuperoxid-anion termelést a szövegben leírtak szerint mértük. Az átlagértékeket (\pm SD) 6 egymástól független mérés alapján számoltuk ki. A granulocitákat és a plazmamintákat csoportonként 6 nő perifériás vérmintáiból izoláltuk. A szignifikanciaszint jelöléseinek magyarázatai: ^{###}p<0,001 autológ NIP és egészséges terhes NIP között.

6. MEGBESZÉLÉS

A neutrofil granulociták oxidatív anyagcseréjét vizsgáló tanulmányok egészséges és preeclamsiás terhesek esetében számos ellentmondást tartalmaznak. Egyes szerzők kimutatták, hogy a granulociták stimulált O_2^- termelése között nem terhesek és egészséges terhesek esetében nincs különbség (Tsukimori és mtsai, 1993, 2005, 2007, 2008). Ugyanakkor arról is vannak adatok, hogy egészséges terhességben csökkent a granulociták O_2^- termelése a nem terhesek hasonló eredményéhez viszonyítva (Miller és mtsai, 1986; Crouch és mtsai, 1995; Kindzelskii és mtsai, 2002 és 2004). Ezen ellentmondásos adatok miatt vizsgáltuk a granulociták termelte szabadgyökök szerepét, és ezért mértük a neutrofilek O_2^- termelését nem terhes nőkben, egészséges terhesekben és preeclamsiás terhesekben.

Eredményeink azt mutatták, hogy a granulociták egyik legfontosabb funkciója, nevezetesen a reaktív oxigén intermedierek termelése a nem terhes kontrollokhoz képest csökken egészséges terhességben mind a PDBu, mind az FMLP indukálta, a O_2^- termelést kiváltó útvonalon keresztül. Ez része lehet a sejt-mediálta immunitás általános szuppressziójának, ami egészséges terhességben ismerten bekövetkezik (Terness és mtsai, 2007). A O_2^- termelés csökkenése egészséges terhességben egy védelmi mechanizmus része lehet, amely védelmi mechanizmus a magzati és anyai sejteket védi az oxidatív stressz okozta ártalmaktól. Hasonló csökkenést a O_2^- produkcióban nem figyeltünk meg preeclamsiás terhesek esetében, így arra következtethetünk, hogy preeclamsiás terhesek esetében az anyai immunrendszer károsodott és a granulocita funkció csökkenésének elmaradása szerepet játszhat a preeclamsiások endothelsejt károsodásának kiváltásában.

Egészséges terhességben a csökkent O_2^- termelésen kívül más granulocita-funkció is csökken, nevezetesen a kemotaxis, a kitapadás, az ún. „killing” funkció és a fagocitózis

(Krause és mtsai, 1986; Bjorksten és mtsai, 1978; El-Maallem és mtsai, 1980; Persellin és mtsa, 1979). Ezen túl epidemiológiai tanulmányokból ismert a bakteriális és virális infekciók incidenciájának emelkedése terhes nőknél (Brabin, 1980; Jamieson és mtsai, 2006.). Az epidemiológiai adatokkal összhangban vannak az általunk ismertetett eredmények, tekintettel arra, hogy a neutrofilek termelte reaktív oxigén intermedierek elsődleges szerepet játszanak a patogén mikroorganizmusok eradikálásában (Witko-Sarsat és mtsai, 2000). Mindezekén túl vannak adatok arra vonatkozóan, hogy az egészséges terhes nők vérplazmája a nem terhesek kontrollként használt granulocitáinak fagocitózist és „ölő” funkcióját is gátolja (Persellin és mtsa, 1978 és 1979). Ezzel összhangban mi is kimutattuk a szupprimáló hatását az egészséges terhesek inaktivált és nem inaktivált plazmájának a nem terhesek és preeclampsias terhesek granulocitáinak PDBu stimulálta O_2^- termelésére. Ezzel szemben FMLP stimuláció hatására hasonló, O_2^- termelésbeli csökkenés nem következett be, amikor az egészséges terhesek inaktivált plazmájában inkubáltuk a preeclampsias vagy nem terhes nőkből származó granulocitákat. Ebből arra következtetünk, hogy a FMLP indukálta O_2^- termelés gátlásáért felelős plazmafaktor hőérzékeny és az inaktiválás során denaturálódik. Ezen következtetés ellenőrzésére a nem terhesek és preeclampsias terhesek granulocitáit egészséges terhes nem inaktivált vérplazmájával is kezeltük. Az így született eredmények azt mutatták, hogy az egészséges terhes nem inaktivált vérplazmája már képes arra, hogy a nem terhes és preeclampsias terhes nők granulocitáinak FMLP indukálta O_2^- termelését csökkentse. A kapott eredményekben nagy valószínűséggel nem játszik szerepet az idegen plazma, azaz az idegen immunológiai környezet, hiszen nem volt szignifikáns különbség sem a PDBu, sem a FMLP stimulálta O_2^- termelésben, amikor a nem terhesek és preeclampsias terhesek granulocitáit autológ és heterológ plazmamintákkal kezeltük. Vizsgálataink azt is kimutatták, hogy a preeclampsias nők vérplazmája nem növeli a nem terhes nők granulocitáinak O_2^- termelését sem PDBu, sem FMLP stimuláció hatására.

Fontosnak tartjuk megemlíteni, hogy a mi eredményeink ellentétesek Tsukimori és mtsainak hasonló eredményeivel, akik azt találták, hogy a preeclampsias nők vérplazmája képes a nem terhes nők granulocitáinak O_2^- termelését növelni FMLP stimuláció mellett (Tsukimori és mtsai, 1993 és 2007). Úgy gondoljuk, hogy ezen ellentmondás részben a vizsgált populáció különbözőségén alapszik. Míg az említett szerzőcsoport vizsgálati alanyai súlyos preeclampsiasban szenvedtek, addig az általunk vizsgáltak az enyhe és közepesúlyos preeclampsias terhesek közül kerültek ki. Ez arra enged következtetni, hogy a preeclampsias nők plazmaösszetétele és azon keringő plazmafaktorok koncentrációja, amik a granulociták reaktív oxigén intermedierek termeléséért felelősek, a megbetegedés különböző stádiumaiban változik. Feltételezésünk szerint a gátló faktor egészséges terhességben és preeclampsias terhességben is az anyai vérkeringésbe kerül, míg a neutrofileket aktiváló faktor a preeclampsia progressziója során keletkezik. Ezen hatások egymást ellensúlyozzák, így a szupprimáló vagy stimuláló hatás a faktorok relatív koncentrációjától függ. Enyhe és közepesúlyos esetekben az aktiváló faktor valószínűleg nem éri el azt a koncentrációt, hogy a gátló faktor hatását ellensúlyozza. Így alakulhat ki az, hogy a granulociták O_2^- termelése enyhe és közepesúlyos esetekben szignifikánsan nem különbözik a nem terhesek hasonló értékéhez. Súlyos preeclampsia esetén a stimuláló faktor koncentrációja valószínűleg már elég ahhoz, hogy a O_2^- termelést fokozza, így mérhető az egészséges terheseknél és nem terheseknél nagyobb mennyiségben.

Annak érdekében, hogy bebizonyítsuk, hogy a O_2^- termelés csökkenését az egészséges terhesek vérplazmája okozza, egészséges terhesek granulocitáit inkubáltuk nem terhesek és preeclampsias terhesek plazmájában. Ezen kísérleteink eredményei azt mutatták, hogy az egészséges terhesek granulocitáinak csökkent O_2^- termelését fokozza a nem terhes és preeclampsias terhes plazma. PDBu-val történő stimuláció esetén mind az inaktivált, mind a nem inaktivált plazmaminták képesek voltak a O_2^- termelés fokozására. Az FMPL indukció

hatására, amennyiben az egészséges terhesek granulocitáit a nem terhesek és a preeclampsziás terhesek nem inaktivált plazmamintáival kezeltük, úgy a O_2^- termelés emelkedett az autológ és heterológ nem inaktivált plazmával való kezeléshez hasonlítva, míg ez utóbbi két plazma hatása között nem volt szignifikáns eltérés. Azonban FMLP stimuláció hatására, ha az egészséges terhesek granulocitáit inaktivált autológ és heterológ plazmamintákkal kezeljük, akkor nem kapunk szignifikáns eltérést azzal összehasonlítva, mikor ezeket a sejteket nem terhesek és preeclampsziás terhesek inaktivált plazmaival kezeltük. Ezen eredmények arra utalnak, hogy az egészséges terhesekben az FMLP indukálta O_2^- termelés gátlásáért felelős plazmafaktor inaktiválódott a hőkezelés hatására, így a O_2^- termelést nem volt képes csökkenteni.

A szakirodalomban fellelhető ellentmondásos adatok háttérében, melyek a terhességben és a preeclampsziában bekövetkező granulocita működést vizsgálják, feltételezzük, hogy technikai okok is állhatnak. Nevezetesen az alkalmazott puffer, melyben a granulociták a szeparációs, stimulációs és mérési folyamatok során inkubálódnak döntően befolyásolhatja ezen sejtek működését. Számos szerző a jól ismert HEPES puffert használja, melynek 60 percnél tovább történő alkalmazása a neutrofilek számára afiziológias körülményeket teremtve módosítja azok működését. Az említett afiziológias körülmények alatt elsősorban a lúgos irányba eltolódott pH-t, illetve különböző toxikus és farmakológiai hatásokat értünk. Ezen kívül a HEPES puffer interakcióba lép és modifikálja egyes ioncsatornák, így a kalcium csatorna működését, melynek viszont esszenciális szerepe van a O_2^- termelés szabályozásában (Hanrachen, 1990; Lopez-Colome és mtsai, 1981; Törnquist és mtsai, 1995). Egyes szerzők a HEPES puffert kifejezetten károsnak nevezik, ha olyan kísérletek esetén használjuk, melyekben reaktív oxigéngyökökkel kapcsolatos megfigyeléseket végzünk (Kirsch és mtsai, 1998). Az általunk használt, egyszerű összetételű puffer használatának a granulocita funkciót módosító voltáról jelenleg nincs adat.

Mindeddig nem volt tudományos eredmény arról, hogy az egészséges terhesek vérében keringő plazmafaktor gátolni képes a nem terhes és preeclampsias terhes nők granulocitáinak O_2^- termelését. Eredményeinkből arra lehet következtetni, hogy a kérdéses faktor a PKC aktivációját illetve a citoszolból a sejtmembránba történő transzlokációját zavarja meg. Kísérletes adatok bebizonyították, hogy a terhesség és a preeclampsia során a komplement rendszer aktiválódik (Derzsy és mtsai, 2010), de azon eredményünk kapcsán, hogy inaktivált és nem inaktivált plazmamintákkal is hasonló eredményeket kaptunk PDBu stimuláció esetén, valószínűtlennek tűnik, hogy a hőre inaktiválódó komplement rendszer szerepet játszana a granulocita funkció módosulásában terhesség, illetve preeclampsia esetében. Ismert, hogy a NADPH oxidáz citoszolban elhelyezkedő komponenseinek sejtmembránba történő transzlokációja és aktivációja szükséges ahhoz, hogy az így összeállt enzimrendszer O_2^- -t termeljen (Nauseef és mtsai, 1991). Azon indukáló szerek, amiket kísérleteinkben használtunk, a PKC-t aktiválják különböző útvonalakon keresztül. Az FMLP formil peptid receptoraihoz kapcsolódása után a foszfatidil-inozitol-4,5-biszfoszfát hidrolízisét indukálva inozitol-1,4,5-trifoszfát és diacilglicerol (DAG) képződéshez vezet, ami a PKC-t aktiválja (Panaro és mtsai, 2006). A PDBu-nak nincs sejtfelszíni receptora, hanem átjutva a sejtmembránon a DAG hatásmechanizmusát utánozva direkt módon aktiválja a PKC-t (Goel és mtsai, 2007). Azt feltételezzük, hogy a nem inaktivált plazmafaktorok a formil-peptid receptorokkal lépnek interakcióba és azok ligand kötő kapacitását csökkentik, ami ahhoz vezet, hogy ezen receptorok kevésbé lesznek képesek a O_2^- termeléshez vezető útvonal aktiválására. Hőkezelés hatására ez a plazmafaktor olyan konformációbeli átalakuláson mehet keresztül, hogy elveszíti a képességét arra, hogy a receptor mediálta útvonalat befolyásolni tudja. A PDBu esetében a hőkezelés hatására bekövetkező, PKC útvonalon ható plazmafaktor konformációváltozása nem befolyásolja a O_2^- termelés csökkentését. Egy lehetséges magyarázata a PDBu-stimulálta O_2^- termelés egészséges terhesekben bekövetkező

csökkenésének az, hogy mind az inaktivált, mind a nem inaktivált plazmafaktorok képesek gátolni a PKC aktivációját vagy annak transzlokációját a sejtmembránba.

Új eredményeinket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy egészséges terhességben a neutrofil granulociták O_2^- termelése csökken nem terhesek hasonló eredményeihez képest, ami a hemiallograft magzat érdekében egy protektív mechanizmus lehet. Az említett csökkenés nem következik be preeclampsias terhességben, amit valószínűleg az immunreguláció károsodása okoz. Preeclampsias terhességben a O_2^- termelés csökkenésének elmaradása endothel károsodáshoz vezethet. Az egészséges terhességben megfigyelhető O_2^- termelés csökkenését a vérplazmában keringő, egyelőre ismeretlen, anyai vagy magzati sejtek által termelt, granulocita-funkciót csökkentő faktor okozhatja, mely faktor hiányzik a preeclampsias terhességben. Eredményeink tehát nem támasztják alá a korábban preeclampsiasban megfigyelt, O_2^- termelést stimuláló plazmafaktor létezését. A plazmakísérleteink kapcsán megállapíthatjuk, hogy valószínűtlen a komplement rendszer granulociták O_2^- termelését befolyásoló hatása.

Az említett plazmafaktor azonosítása, illetve koraterhességben a O_2^- termelés csökkenés elmaradásának kimutatása kiegészítő vizsgálatok esetén alkalmas lehet a preeclampsia előrejelzésére, ezzel a terhesgondozás költséghatékonyabbá tételére egy magas rizikójú csoport kiszűrésével, esetleg farmakológiai prevencióban történő előrelépésre.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Egészséges és preeclampsias terheségben a neutrofil granulociták reaktív oxigéngyökök termeléséről szóló, szakirodalomban található adatok ellentmondásosak. Célunk volt a granulociták által termelt O_2^- -nak a preeclampsia etiológiájában betöltött szerepét tovább vizsgálni, ezért forbol-dibutiráttal és n-formil-metionil-leucil-fenilalaninnal stimuláltuk az egészséges nem terhesekből, egészséges terhesekből és preeclampsias terhesekből származó granulocitákat. Vizsgáltuk továbbá a nem terhes, egészséges terhes és preeclampsias terhes hő által inaktivált és nem inaktivált vérplazmájának hatását a három vizsgálati csoportból származó granulociták O_2^- termelésére. A O_2^- termelődését a ferricitokrómmal redukciójaként mértük spektrofotometriás módszerrel. Mind a forbol-dibutirát, mind az n-formil-metionil-leucil-fenilalanin indukálta O_2^- termelés szignifikánsan csökkent egészséges terhesekből származó granulociták esetében. A nem terhesekből és preeclampsias terhesekből származó granulociták forbol-dibutirát stimulálta O_2^- termelődését az egészséges terhesektől nyert inaktivált és nem inaktivált vérplazma is gátolta. Az n-formil-metionil-leucil-fenilalaninnal stimulált nem terhesek és preeclampsias terhesek granulocitáinak O_2^- termelését csak az egészséges terhesek nem inaktivált vérplazmája tudta gátolni. Az egészséges terhesek granulocitáinak forbol-dibutirát stimulálta O_2^- termelését szignifikánsan növelte mind a nem terhesek, mind a preeclampsias terhesek plazmája inaktivált és nem inaktivált formában is. Az egészséges terhesek neutrofiljeinek n-formil-metionil-leucil-fenilalaninnal indukált O_2^- termelése szignifikánsan növekedett a nem terhesek és preeclampsiasok nem inaktivált plazmáinak hatására. Feltételezzük, hogy az egészséges terheségben megfigyelhető csökkent O_2^- termelés anyai immunosuppresszív faktoroknak köszönhető. Ezen faktorok hiánya valószínűsíthető preeclampsiasban, így magyarázható az egészséges terheségben bekövetkező O_2^- termelődés csökkenésének elmaradása, ami a preeclampsiasban megfigyelhető

endothelsejt károsodásért is felelős lehet. A preeclampsia pathogenezisében feltételezzük az elégtelen anyai immunszuppressziót.

Összefoglalva megállapításainkat, a neutrofilek O_2^- produkciója egészséges terhességben valószínűleg immunszuppresszív faktorok hatására lecsökken, ami egy védekező funkció lehet, melynek célja a magzati- és anyai sejtek védelme a granulociták mediálta oxidatív stressz károsító hatásaitól. A preeclampszában megfigyelhető endothelsejt károsodásért a O_2^- termelés elégtelen csökkenése is felelőssé tehető, így a neutrofil granulociták nagy valószínűséggel fontos szerepet játszanak a preeclampsia pathogenezisében.

SUMMARY

Data on respiratory burst activity of granulocytes from healthy and preeclamptic pregnant women have remained contradictory. To further investigate a possible role of reactive oxygen species in the etiology of preeclampsia we measured the phorbol-12.13-dibutirate- and n-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine induced superoxide-anion generation by granulocytes from non-pregnant, healthy and preeclamptic pregnant women. We also examined the reciprocal effects of heat-inactivated and not-inactivated non-pregnant, normal and preeclamptic pregnant plasma on superoxide production by neutrophils from non-pregnant, healthy and preeclamptic pregnant subjects. Superoxide generation was measured by ferricytochrome c reduction. Both the phorbol-12.13-dibutirate- and N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine-induced superoxide production was significantly decreased in normal pregnancy compared with non-pregnant and preeclamptic pregnant women. The phorbol-12.13-dibutirate-induced superoxide generation by non-pregnant and preeclamptic neutrophils was significantly inhibited by heat-inactivated and not-inactivated healthy pregnant plasma. The N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine-stimulated superoxide production by non-pregnant and preeclamptic granulocytes was suppressed only by not-inactivated healthy pregnant plasma. The phorbol-12.13-dibutirate-induced superoxide generation of healthy pregnant neutrophils was significantly increased by inactivated and not-inactivated non-pregnant and preeclamptic plasma. The N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine-stimulated superoxide production by healthy pregnant granulocytes was significantly enhanced following treatment of the cells with not-inactivated non-pregnant and preeclamptic pregnant plasma. The deficient superoxide generation in normal pregnancy may be caused by maternal immunosuppressive factors. The failure of reduction in superoxide production in preeclampsia may be partly responsible for endothelial dysfunction. Apart from oxidative stress, a possible

role of inefficient maternal immunosuppression should also be considered in the pathogenesis of preeclampsia.

In conclusion, O_2^- production by neutrophils is decreased in normal pregnancy which may be due to a defense mechanism to protect the maternal and fetal cells against the neutrophil-mediated oxidative damage. The deficient O_2^- generation in normal pregnancy may be caused by maternal immunosuppressive circulatory factors. The failure of reduction in O_2^- production in preeclamptic pregnant women may be partly responsible for endothelial injury. Therefore, besides the proposed hypothesis of neutrophil-mediated oxidative stress a possible role of inefficient maternal immunosuppression should also be considered in the pathogenesis of preeclampsia.

7. IRODALOMJEGYZÉK

- ACOG (2001)** Committee on Practice Bulletins-Obstetrics. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol* 98: 159-167.
- Babior BM, Curnutte JT, Kipnes RS (1975)** Biological defense mechanisms. Evidence for the participation of superoxide in bacterial killing by xanthine oxidase. *J Lab Clin Med* 85: 235-244.
- Bainbridge DR (2000)** Evolution of mammalian pregnancy in the presence of the maternal immune system. *Rev Reprod* 5: 67-74.
- Beer AE, Kwak JY, Ruiz JE (1996)** Immunophenotypic profiles of peripheral blood lymphocytes in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple failed in vitro fertilization cycles *Am J Reprod Immunol* 35: 376-382.
- Beer AE, Sio JO (1982)** Placenta as an immunological barrier. *Biol Reprod* 26: 15-27.
- Berg CJ, Chang J, Callaghan WM, Whitehead SJ (2003)** Pregnancy-Related Mortality in the United States, 1991–1997. *Obstet Gynecol* 101: 287-296.
- Bizargity P, Bonney EA (2009)** Dendritic cells: a family portrait at mid-gestation. *Immunology* 126: 565-578.
- Bjorksten B, Sonderstrom T, Damber MG, Von Schoultz B, Stigbrand T (1978)** Polymorphonuclear leukocyte function during pregnancy. *Scand J Immunol* 8: 257-262.
- Brabin BJ (1985)** Epidemiology of infection in pregnancy. *Rev Infect Dis* 7: 579-603.
- Caldwell JL, Stites DP, Fudenberg HH (1975)** Human chorionic gonadotropin: effects of crude and purified preparations on lymphocyte responses to phytohemagglutinin and allogeneic stimulation. *J Immunol* 115: 1249-1253.
- Caritis S, Sibai B, Hauth J, Lindheimer MD, Klebanoff M, Thom E, VanDorsten P, Landon M, Paul R, Miodovnik M, Meis P, Thurnau G (1998)** Low-dose aspirin to prevent preeclampsia in women at high risk. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *N Engl J Med* 338: 701-705.
- Carlino C, Stabile H, Morrone S, Bulla R, Soriani A, Agostinis C, Bossi F, Mocci C, Sarazani F, Tedesco F, Santoni A, Gismondi A (2008)** Recruitment of circulating NK cells through decidual tissues: a possible mechanism controlling NK cell accumulation in the uterus during early pregnancy. *Blood* 111: 3108-3115.
- Cooper DN. (1994)** The molecular genetics of familial venous thrombosis. *Baillieres Clin Haematol* 7: 637-674.
- Crocker IP, Wellings RP, Fletcher J, Baker PN (1999)** Neutrophil function in women with pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 106: 822-828.

- Crouch SPM, Crocker IP, Fletcher J (1995)** The effect of pregnancy on polymorphonuclear leukocyte function. *J Immunol* 155: 5436-5443.
- Derzsy Z, Prohászka Z, Rigó J Jr, Füst G, Molvarec A. (2010)** Activation of the complement system in normal pregnancy and preeclampsia. *Mol Immunol* 47: 1500-1506.
- Dröge W (2002)** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47-95.
- El-Maallem H, Fletcher J (1980)** Impaired neutrophil function and myeloperoxidase deficiency in pregnancy. *Br J Haematol* 44: 375-381.
- English D, Andersen BR (1974)** Single-step separation of red blood cells. Granulocytes and mononuclear leukocytes on discontinuous density gradients of Ficoll-Hypaque. *J Immunol Methods* 5: 249-252.
- Galle J, Ochsen M, Schollmeyer P, Wanner C (1994)** Oxidized lipoproteins inhibit endothelium-dependent vasodilation. *Hypertension* 23: 556-564.
- Germain SJ, Sacks GP, Sooranna SR, Sargent IL, Redman CW (2007)** Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles. *J Immunol* 178: 5949-5956.
- Gobin SJ, Biesta P, de Steenwinkel JE, Datema G, van den Elsen PJ (2002)** HLA-G transactivation by cAMP-response element-binding protein (CREB). An alternative transactivation pathway to the conserved major histocompatibility complex (MHC) class I regulatory routes. *J Biol Chem* 277: 39525-39531.
- Goel G, Makkar HPS, Francis G, Becker K (2007)** Phorbol esters: structure, biological activity, and toxicity in animals. *Int J Toxicol* 26: 279-288.
- Goldenberg RL, Rouse DJ (1998)** Prevention of premature birth. *N Engl J Med* 339: 313-320.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1989)** Free radicals in biology and Medicine (2nd ed.). Oxford, UK. Clarendon.
- Hammarström L, Fuchs T, Smith CI (1979)** The immunodepressive effect of human glucoproteins and their possible role in the nonrejection process during pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 58: 417-422.
- Hanrahen JW, Tabcharani JA (1990)** Inhibition of an outwardly rectifying anion channel by HEPES and related buffers. *J Membrane Biol* 116: 65-77.
- Harlan JM (1987)** Neutrophil-mediated vascular injury. *Acta Med Scand Suppl* 715: 123-129.
- Hubel CA (1999)** Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proc Soc Exp Biol Med* 222: 222-235.

- Isakov N, Yankelevich B, Segal S, Feldman M (1979)** Differential immunogenic expression of an H-2-linked histocompatibility antigen on different tissues. Differences in survival between heart, thyroid, and skin allografts. *Transplantation* 28: 31-35.
- Jamieson DJ, Theiler RN, Rasmussen SA (2006)** Emerging infections and pregnancy. *Emerg Infect Dis* 12: 1638-1643.
- Josimovich JB, Atwood BL, Goss DA (1963)** Luteotrophic, immunologic and electrophoretic properties of human placental lactogen. *Endocrinology* 73: 410-420.
- Kaye MD, Jones WR, Ing RM, Markham R (1971)** Effect of human chorionic gonadotropin on intrauterine skin allograft survival in rats. *Am J Obstet Gynecol* 110: 640-643.
- Kindzelskii AL, Huang JB, Chaiworapongsa T, Fahmy RM, Kim YM, Romero R, Petty HR (2002)** Pregnancy alters glucose-6-phosphate dehydrogenase trafficking, cell metabolism, and oxidant release of maternal neutrophils. *J Clin Invest* 110: 1801-1811.
- Kindzelskii AL, Ueki T, Michibata H, Chaiworapongsa T, Fahmy RM, Romero R, Petty HR (2004)** 6-phosphogluconate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase form a supramolecular complex in human neutrophils that undergoes retrograde trafficking during pregnancy. *J Immunol* 172: 6373-6381.
- Kirsch M, Lomonosova EE, Korth HG, Sustmann R, de Groot H (1998)** Hydrogen peroxide formation by reaction of peroxyxynitrite with HEPES and related tertiary amines. Implications for a general mechanism. *J Biol Chem* 273:12716- 12724.
- Klebanoff SJ (2005)** Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 77: 598-625.
- Kondoh Y (1976)** Immunosuppressive effect of HCG and HPL in pregnancy. *Acta Obstet Gynaecol Jpn* 23: 115-122.
- Krause PJ, Ingardia CJ, Pontius LT, Malech HL, Lobello TM, Maderazo EG (1987)** Host defense during pregnancy: neutrophil chemotaxis and adherence. *Am J Obstet Gynecol* 157: 274-280.
- Kuhnert M, Strohmeier R, Stegmuller M, Halberstadt E (1998)** Changes in lymphocyte subsets during normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 76: 147-151.
- Lain KY, Roberts JM (2002)** Contemporary concepts of the pathogenesis and management of preeclampsia. *JAMA* 287: 3183-3186.
- Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, Karumanchi SA; CPEP Study Group (2006)** Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 355: 992-1005.
- Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA (2004)** Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 350: 672-683.

- Lim KH, Zhou Y, Janatpour M, McMaster M, Bass K, Chun SH, Fisher SJ (1997)** Human cytotrophoblast differentiation/invasion is abnormal in pre-eclampsia. *Am J Pathol* 151: 1809-1818.
- Littman BH, Alpert E, Rocklin RE (1977)** The effect of purified afetoprotein on in vitro assays of cell-mediated immunity. *Cell Immunol* 30:35.
- Livingston JC, Livingston LW, Ramsey R, Mabie BC, Sibai BM (2003)** Magnesium sulfate in women with mild preeclampsia: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 101: 217-220.
- Lopez-Colome AM, Pasantés-Morales H (1981)** Effect of taurine on ⁴⁵Ca transport in frog retinal rod outer segments. *Exp Eye Res* 32: 771–780.
- Maes RF, Claverie N (1977)** The effect of preparations of human chorionic gonadotropin on lymphocyte stimulation and immune response. *Immunology* 33: 351-360.
- Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA (2003)** Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 111: 649-658.
- Miller C, Russell AS (1986)** Polymorphonuclear leukocyte response to stimulation in vitro during pregnancy. *Inflammation* 10: 215-222.
- Molvarec A, Ito M, Shima T, Yoneda S, Toldi G, Stenczer B, Vásárhelyi B, Rigó J Jr, Saito S (2010a)** Decreased proportion of peripheral blood vascular endothelial growth factor-expressing T and natural killer cells in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 203: 567.e1-8.
- Molvarec A, Szarka A, Walentin S, Szucs E, Nagy B, Rigó J Jr (2010b)** Circulating angiogenic factors determined by electrochemiluminescence immunoassay in relation to the clinical features and laboratory parameters in women with pre-eclampsia. *Hypertens Res* 33: 892-898.
- Mutter WP, Karumanchi SA (2008)** Molecular mechanisms of preeclampsia. *Microvasc Res* 75: 1-8.
- Nagy B, Tóth T, Rigó J Jr, Karádi I, Romics L, Papp Z (1998)** Detection of factor V Leiden mutation in severe pre-eclamptic Hungarian women. *Clin Genet* 53:478-481.
- Nauseef WM, Volpp BD, McCormick S, Leidal KG, Clark RA (1991)** Assembly of the neutrophil respiratory burst oxidase. *J Biol Chem* 266: 5911-5917.
- Ostensen M, Aune B, Husby G (1983)** Effect of pregnancy and hormonal changes on the activity of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 12: 69-72.
- Panaro MA, Acquafredda A, Sisto M, Lisi S, Maffione AB, Mitolo V (2006)** Biological role of the N-formyl peptide receptors. *Immunopharm Immunot* 28: 103-127.
- Pearse WH, Kaiman H (1967)** Human chorionic gonadotropin and skin homograft survival. *Am J Obstet Gynecol* 198: 572-574.

- Persellin RH, Thoi LL (1979)** Human polymorphonuclear leukocyte phagocytosis in pregnancy: development of inhibition during gestation and recovery in the post partum period. *Am J Obstet Gynecol* 134: 250-255.
- Pick E, Keisari Y (1981)** Superoxide anion and hydrogen peroxide production by chemically elicited peritoneal macrophages--induction by multiple nonon-pregnanthagocytic stimuli. *Cell Immunol* 59: 301-318.
- Poston L, Briley AL, Seed PT, Kelly FJ, Shennan AH; Vitamins in Pre-eclampsia (VIP) Trial Consortium (2006)** Vitamin C and vitamin E in pregnant women at risk for pre-eclampsia (VIP trial): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 367: 1145-1154.
- Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy (2000)** *Am J Obstet Gynecol* 183: S1-S22.
- Rigó J Jr, Nagy B, Fintor L, Tanyi J, Beke A, Karádi I, Papp Z (2000)** Maternal and neonatal outcome of preeclamptic pregnancies: the potential roles of factor V Leiden mutation and 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase. *Hypertens Pregnancy* 19: 163-172.
- Rigó J Jr, Boze T, Derzsy Z, Derzbach L, Treszl A, Lázár L, Sobel G, Vásárhelyi B (2006)** Family history of early-onset cardiovascular disorders is associated with a higher risk of severe preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 128: 148-151.
- Rossi F (1986)** The O₂--forming NADPH oxidase of the phagocytes: nature, mechanisms of activation and function. *Biochim Biophys Acta* 853: 65-68.
- Sacks GP, Studena K, Sargent K, Redman CW (1998)** Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 179: 80-86.
- Saez F, Motta C, Boucher D, Grizard G (2000)** Prostaglandins inhibit the NADPH oxidase activity of human neutrophils. *Mol Hum Reprod* 6: 883-891.
- Saito S, Shiozaki A, Sasaki Y, Nakashima A, Shima T, Ito M (2007)** Regulatory T cells and regulatory natural killer (NK) cells play important roles in fetomaternal tolerance. *Semin Immunopathol* 29: 115-122.
- Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M (2010)** Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 63: 601-610.
- Schäfer A, Pauli G, Friedmann W, Dudenhausen JW (1992)** Human chorionic gonadotropin (hCG) and placental lactogen (hPL) inhibit interleukin-2 (IL-2) and increase interleukin-1 beta (IL-1 beta), -6 (IL-6) and tumor necrosis factor (TNF-alpha) expression in monocyte cell cultures. *J Perinat Med* 20: 233-240.
- Segerer SE, Müller N, van den Brandt J, Kapp M, Dietl J, Reichardt HM, Rieger L, Kämmerer U (2009)** Impact of female sex hormones on the maturation and function of human dendritic cells. *Am J Reprod Immunol* 62: 165-173.
- Selvaraj RJ, Sbarra AJ, Thomas GB, Cetrulo CL, Mitchell GW Jr (1982)** A microtechnique for studying chemiluminescence response of phagocytes using whole

- blood and its application to the evaluation of phagocytes in pregnancy. *J Reticuloendothel Soc* 31: 3-16.
- Sheppard HW, Sell S, Trefts P, Bahu R (1977)** Effects of a-fetoprotein on murine immune responses. I. Studies on mice. *J Immunol* 119: 91.
- Shojaeian J, Moazzeni SM, Nikoo S, Bozorgmehr M, Nikougoftar M, Zarnani AH (2007)** Immunosuppressive effect of pregnant mouse serum on allostimulatory activity of dendritic cells. *J Reprod Immunol* 75: 23-31.
- Sibai BM (2003)** Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 102: 181-192.
- Sibai BM (2004)** Magnesium sulfate prophylaxis in preeclampsia: Lessons learned from recent trials. *Am J Obstet Gynecol* 190: 1520-1526.
- Sibai B, Dekker G, Kupferminc M (2005)** Pre-eclampsia. *Lancet* 365: 785–799.
- Stamler FW (1959)** Fatal eclamptic disease of pregnant rats fed anti-vitamin E stress diet. *Am J Pathol* 35: 1207–1231.
- Steinman RM (1991)** The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol* 9: 271-296.
- Stimson WH (1980)** Are pregnancy-associated serum proteins responsible for the inhibition of lymphocyte transformation by pregnancy serum? *Clin Exp Immunol* 40: 157-160.
- Terness P, Kallikourdis M, Betz AG, Rabinovich GA, Saito S, Clark DA (2007)** Tolerance signaling molecules and pregnancy: IDO, galectins, and the renaissance of regulatory T cells. *Am J Reprod Immunol* 58: 238-254.
- Törnquist K, Paallysaho J, Heinowen E, Kaila K (1995)** Influence of HEPES- and CO₂/HCO₃-buffer on Ca²⁺ transients induced by TRH and elevated K⁺ in rat pituitary GH4C1 cells. *Mol Cell Endocrinol* 112: 7– 82.
- Tsukimori M, Maeda H, Ishida K, Nagata H, Koyanagi T, Nakano H (1993)** The superoxide generation of neutrophils in normal and preeclamptic pregnancies. *Obstet Gynecol* 81: 536-540.
- Tsukimori K, Fukushima K, Tsushima A, Nakano H (2005)** Generation of reactive oxygen species by neutrophils and endothelial cell injury in normal and preeclamptic pregnancies. *Hypertension* 46: 696-700.
- Tsukimori K, Nakano H, Wake N (2007)** Difference in neutrophil superoxide generation during pregnancy between preeclampsia and essential hypertension. *Hypertension* 49: 1436-1441.
- Tsukimori K, Tsushima A, Fukushima K, Nakano H, Wake N (2008)** Neutrophil-derived reactive oxygen species can modulate neutrophil adhesion to endothelial cells in preeclampsia. *Am J Hypertens* 21: 587-591.
- Varner MW (1991)** Autoimmune disorders and pregnancy. *Semin Perinatol* 15: 238-250.

- Veenstra van Nieuwenhoven AL, Bouman A, Moes H, Heineman MJ, de Leij LF, Santema J, Faas MM (2002)** Cytokine production in natural killer cells and lymphocytes in pregnant women compared with women in the follicular phase of the ovarian cycle. *Fertil Steril* 77: 1032-1037.
- Vizi ES, Szelényi J, Selmeczy ZS, Papp Z, Németh ZH, Haskó G (2001)** Enhanced tumor necrosis factor-alpha-specific and decreased interleukin-10-specific immune responses to LPS during the third trimester of pregnancy in mice. *J Endocrinol* 171: 355-361.
- Watson ED, Zanecosky HG (1990)** Immunosuppressive properties of follicular fluid from preovulatory horse follicles. *J Reprod Fertil* 89: 627-632.
- Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L (2000)** Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest* 80: 617-653.
- Yoshioka T, Ichikawa L, Fogo A (1991)** Reactive oxygen metabolites cause massive, reversible proteinuria and glomerular sieving defect without apparent ultrastructural abnormality. *J Am Soc Nephrol* 2: 902-912.
- Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ (1997)** Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest* 99: 2152-2164.

8. ÁBRAJEGYZÉK

Ábrák:

1A ábra. Egészséges nem terhes, egészséges terhes és preeclampsziás terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése PDBu stimuláció hatására

1B ábra. Egészséges nem terhes, egészséges terhes és preeclampsziás terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése FMLP stimuláció hatására

2A ábra. Plazmaminták hatása a nem terhes nők granulocitáinak PDBu indukálta átlagos szuperoxid-anion termelésére

2B ábra. Plazmaminták hatása a nem terhes nők granulocitáinak FMLP indukálta átlagos szuperoxid-anion termelésére

3A ábra. Plazmaminták hatása az egészséges terhes nők granulocitáinak PDBu indukálta átlagos szuperoxid-anion termelésére

3B ábra. Plazmaminták hatása az egészséges terhes nők granulocitáinak FMLP indukálta átlagos szuperoxid-anion termelésére

4A ábra. Plazmaminták hatása a preeclampsziás terhes nők granulocitáinak átlagos PDBu indukálta szuperoxid-anion termelésére

4B ábra. Plazmaminták hatása a preeclampsziás terhes nők granulocitáinak átlagos FMLP indukálta szuperoxid-anion termelésére

Táblázatok:

I. táblázat. A vizsgálatokban résztvevők klinikai tulajdonságai

II. táblázat. Az egészséges nem terhesek, egészséges terhesek és preeclampsias terhesek granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése PDBu és FMLP stimuláció hatására

III. táblázat. Egészséges nem terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése különböző inaktivált és nem inaktivált plazmamintákkal történt kezelés után PDBu indukció hatására

IV. táblázat. Egészséges nem terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése különböző inaktivált és nem inaktivált plazmamintákkal történt kezelés után FMLP indukció hatására

V. táblázat. Egészséges terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése különböző inaktivált és nem inaktivált plazmamintákkal történt kezelés után PDBu indukció hatására

VI. táblázat Egészséges terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése különböző inaktivált és nem inaktivált plazmamintákkal történt kezelés után FMLP indukció hatására

VII. táblázat. Preeclampsias terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése különböző inaktivált és nem inaktivált plazmamintákkal történt kezelés után PDBu indukció hatására

VIII. táblázat. Preeclampsias terhes nők granulocitáinak átlagos szuperoxid-anion termelése különböző inaktivált és nem inaktivált plazmamintákkal történt kezelés után FMLP indukció hatására

10. TÁRGYSZAVAK - KEYWORDS

Preeclampsia; Terhesség; Oxidatív stressz; Szuperoxid-anion; Neutrofil granulociták;
Plazmafaktorok

Preeclampsia; Pregnancy; Oxidative stress; Superoxide-anion; Neutrophil granulocytes;
Plasmafactors

11. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Ezúton is szeretném megköszönni témavezetőimnek, Dr. Póka Róbert professzornak és Dr. Szűcs Sándornak, hogy éveken át kitartóan, időt nem kímélve kísérték végig munkámat és számos gyakorlati és elméleti tapasztalatot osztottak meg velem.

Köszönettel tartozom Dr. Tóth Zoltán és Dr. Ádány Róza professzoroknak támogatásukért illetve, hogy a munkám elvégzéséhez a szükséges feltételeket biztosították.

Külön köszönetet érdemel Kovácsné Mariann, aki a kísérletek elvégzésében fáradhatatlanul segített, sokszor saját szabadidejét is feláldozva.

Hálával tartozom a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika illetve a Megelőző Orvostani Intézet összes dolgozójának a segítségükért, kiemelten a Terhespathológiai Osztály és a Nőgyógyászati Onkológia Tanszék szülésznőinek, hogy a munkám alapját jelentő vérvételekben mindig lehetett rájuk számítani.

Szívből köszönöm családomnak, szeretteimnek, barátaimnak, akik mindvégig kitartottak mellettem.

12. KÖZLEMÉNYEK

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények, előadások és poszterek:

KÖZLEMÉNYEK:

Lampé R, Ormos M, Szűcs S, Ádány R, Póka R (2008) Granulociták szuperoxid-anion termelésének vizsgálata egészséges és preeclampsziás terhesekben. *Magy Nőorv L* 71: 209-213.

Lampé R, Szűcs S, Ormos M, Ádány R, Póka R (2008) Effect of normal and preeclamptic plasma on superoxide-anion production of neutrophils from healthy non-pregnant women. *J Reprod Immunol* 79: 63-69. [IF: 2,778]

Lampé R, Szűcs S, Ádány R, Póka R (2009) A vérplazma hatása egészséges- és preeclampsziás terhesek granulocytáinak szuperoxid-anion termelésére. *Magy Nőorv L* 72: 245-249.

Lampé R, Szűcs S, Ádány R, Póka R (2011) Granulocyte superoxide anion production and regulation by plasma factors in normal and preeclamptic pregnancy. *J Reprod Immunol* (közlésre elfogadva). [IF: 2,519]

ELŐADÁSOK:

Lampé R, Szűcs S, Ormos M, Ádány R, Póka R (2008) Egészséges és preeclampsziás terhesek plasmáinak hatása a granulocyták szuperoxid-anion termelésére. *Fiatal Nőorvosok IV. Országos Fóruma*, Tapolca.

Lampé R (2009) Egészséges és preeclamsiás terhesek plasmáinak hatása a granulocyták szuperoxid-anion termelésére. *A Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola (KODI) 2009. évi Ph.D. szimpóziuma*, Debrecen.

Lampé R, Szűcs S, Ádány R, Póka R (2009) Inaktivált vérplazma hatása a nem terhes, egészséges- és preeclamsiás terhes nők granulocytáinak szuperoxid-anion termelésére. *Fiatal Nőorvosok V. Kongresszusa*, Balatonfüred.

Lampé R, Szűcs S, Ádány R, Póka R (2010) A neutrophil granulocyták szuperoxid-anion termelése egészséges és preeclamsiás terhességben. *A Magyar Nőorvos Társaság XXIX. Nagygyűlése*, Debrecen.

POSZTER:

Lampé R, Szűcs S, Ormos M, Ádány R, Póka R (2008) Effect of normal and preeclamptic plasma on superoxide-anion production of neutrophils from healthy non-pregnant women. *A DE OEC és a MTA DAB Orvostudományi és Biológiai Szakbizottságának tudományos ülése*, Debrecen.

Az értekezésben felhasznált közlemények impakt faktora: 5,297

Az értekezésben fel nem használt közlemények, előadások, poszterek:

KÖZLEMÉNYEK:

Lampé R, Ormos M, Szűcs S, Ádány R, Szikszay E, Póka R (2007) Superoxide anion production of granulocytes in patients with endometrial cancer at presentation and after treatment. *Eur J Obs Gyn R B* 131: 231-234. [IF: 1,273]

Lampé R, Szűcs S, Ádány R, Póka R (2007) Preeclamptic superoxide anion production: Is there an increase or failure of reduction? *Hypertension* 50: e167. [IF: 7,194]

Csorba R, **Lampé R**, Simó D, Bacskó G, Póka R (2007) A trans-obturator tape műtéttel szerzett tapasztalataink másfél száz eset kapcsán. *Orv Hetil* 148: 1649-1655.

Csorba R, **Lampé R**, Póka R (2009) A fiatalkorúakkal szemben elkövetett szexuális bántalmazás elkülönítő diagnosztikája. *Orv Hetil* 49: 2222-2227.

Csorba R, **Lampé R**, Balla L (2010) A fiatalkorúakkal szemben elkövetett szexuális bántalmazás meghatározása és gyakorisága. *Gyermekgyógyászat* 61: 11-15.

Auriel E, Bornstien NM, Berenyi E, Varkonyi I, Gabor M, Majtenyi K, Szepesi R, Goldberg I, **Lampé R**, Csiba L (2010) Clinical, radiological and pathological correlates of leukoaraiosis. *Acta Neurol Scand* 123: 41-47. [IF: 2,324]

Csorba R, **Lampé R** (2010) Fiatalkorú lányokkal szemben elkövetett szexuális bántalmazás felismerése és kezelése. *Magy Nőorv L* 73: 189-194.

Csorba R, **Lampé R**, Póka R (2010) Surgical repair of blunt force penetrating anogenital trauma in a 18-month-old sexually abused girl. *Eur J Obs Gyn R B* 153: 231. [IF: 1,582]

ELŐADÁSOK:

Daragó P, **Lampé R**, Demeter M, Bacskó Gy (2009) Nőgyógyászati laparoscopia során végzett appendectomia. *Magyar Nőgyógyászok Endoszkópos Társaságának XIII. Kongresszusa*, Debrecen.

Csorba R, **Lampé R**, Bacskó Gy (2009) A trans-obturator tape műtéttel szerzett tapasztalataink. *Fiatal Nőorvosok V. Kongresszusa*, Balatonfüred.

Csorba R, **Lampé R**, Daragó P (2010) A trans-obturator tape műtétek szövődményei. *Fiatal Nőorvosok VI. Kongresszusa*, Várgesztes.

POSZTER:

Daragó P, **Lampé R**, Jenei K, Óvári L, Hernádi Z (2010) Fiatalkorban kialakult ovariális psammocarcinoma ritka esete. *A Magyar Nőorvos Társaság XXIX. Nagygyűlése*, Debrecen.

Csorba R, **Lampé R**, Bacskó Gy, Póka R (2010) Experiences in trans-obturator tape surgery after performing 150 cases. *21st European Congress of Obstetrics and Gynaecology*, Antwerp, Belgium.

Összesített impakt faktor: 17,671

Iktatószám: DEENKÉTK /52/2011.
Tételszám:
Tárgy: Ph.D. publikációs lista

Jelölt: Lampé Rudolf
Neptun kód: CD53Z9
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Lampé, R.**, Szűcs, S., Ádány, R., Póka, R.: Granulocyte superoxide anion production and regulation by plasma factors in normal and preeclamptic pregnancy.
J. Reprod. Immunol. Közlésre elfogadva, 2011.
IF:2.519 (2009)
2. **Lampé R.**, Szűcs S., Ádány R., Póka R.: A vérplazma hatása egészséges- és preeclampsziás terhesek granulocytáinak szuperoxid-anion termelésére.
Magyar Nőorv. L. 72 (5), 245-249, 2009.
3. **Lampé, R.**, Szűcs, S., Ormos, M., Ádány, R., Póka, R.: Effect of normal and preeclamptic plasma on superoxide-anion production of neutrophils from healthy non-pregnant women.
J. Reprod. Immunol. 79 (1), 63-69, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jri.2008.04.001>
IF:2.778
4. **Lampé R.**, Ormos M., Szűcs S., Ádány R., Póka R.: Granulocyták szuperoxid-anion termelésének vizsgálata egészséges és preeclampsziás terhesekben.
Magyar Nőorv. L. 71 (5), 209-213, 2008.



További Közlemények

5. Csorba R., **Lampé R.**, Simó D., Bacskó G., Póka R.: A transobturator tape műtéttel szerzett tapasztalataink másfél száz eset kapcsán.
Orv. Hetil. 148 (35), 1649-1655, 2007.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2007.28147>
6. **Lampé, R.**, Ormos, M., Szűcs, S., Ádány, R., Szikszay, E., Póka, R.: Superoxide anion production of granulocytes in patients with endometrial cancer at presentation and after treatment.
Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 131 (2), 231-234, 2007.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2006.03.018>
IF:1.432
7. **Lampé, R.**, Szűcs, S., Ádány, R., Póka, R.: Preeclamptic superoxide-anion production: Is there an increase or a failure of reduction?
Hypertension. 50 (5), e167, 2007.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.100107>
IF:7.194

A DEENK Kenézy Élettudományi Könyvtár a Jelölt által a Publikációs Adatbázisba feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2011.05.10



13. FÜGGELÉK

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények különnyomatai.