

A neutrofil granulociták és monociták fagocita funkciójának változásai egészséges és praeclampsziás terhesek plazma mintáival kezelve

Kövér Ágnes dr.¹, Pál László dr.³, Szűcs Sándor dr.³,
Póka Róbert dr.², Lampé Rudolf dr.²

¹Kenézy Gyula Kórház és Rendelőintézet, Szülészeti és Nőgyógyászati Osztály, Debrecen (Igazgató: Bacskó György dr., osztályvezető főorvos)

²Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Debrecen (Igazgató: Póka Róbert dr., egyetemi tanár)

³Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Népegészségügyi Kar, Megelőző Orvostani Intézet, Debrecen (Igazgató: Ádány Róza dr., egyetemi tanár)



Célkitűzés: A humán terhesség egyik legveszélyesebb megbetegedése a praeclampsia. Klinikai manifesztációja a terhesség 20. hete után kialakuló magas vérnyomás és proteinuria, amely kezeletlen esetben többszervi elégtelenséghez is vezethet. A terhesség során a magzattal szemben kialakuló immunológiai tolerancia egy rendkívül összetett folyamat, amely napjainkban a kutatások élvonalában áll. A kórkép patofiziológiája pontosan nem ismert, de számos kísérleti és klinikai vizsgálat feltételezi annak immunológiai eredetét. Munkánk célja volt a fehérvérsejtek fagocita funkciójának jobb megismerése, amelynek érdekében plazmakísérleteket végeztünk annak eldöntésére, hogy az egészséges terhességben és praeclampsziában korábban megfigyelt fagocita funkció változását az anyai vérkeringésben lévő faktorok okozzák-e.

Anyag és módszer: Egészséges terhesek (n=6), praeclampsziás terhesek (n=6) és egészséges nem terhesek (n=6) perifériás vérmintáit gyűjtöttük össze. A granulocitákat és monocitákat Ficoll-sűrűség gradiens segítségével izoláltuk, majd ezt követően a sejtekkel fluoreszcein izotiocianáttal jelölt zimoszán partikulumokat fagocitáltattunk. Egészséges nem terhesből származó monocitákat és granulocitákat inkubáltunk egészséges nem terhes, egészséges terhes és praeclampsziás terhes plazmamintáiban, majd meghatároztuk azok fagocita funkcióját.

Eredmények: Az egészséges nem terhesek neutrofil granulocitáinak és monocitáinak fagocita funkciója csökken egészséges terhesek plazmamintáiban történő inkubálást követően. További fagocita funkció csökkenés látható, ha praeclampsziás terhestől nyert plazmával kezeljük a nem terhesekből származó sejteket.

Következtetés: Egészséges terhességben a neutrofil granulociták és monociták csökkent fagocita funkcióját, illetve praeclampsziás terheseknél a további fagocita funkció csökkenést az anyai keringésben lévő faktorok okozhatják.

Kulcsszavak: terhesség, praeclampsia, fagocita funkció, neutrofil granulocita, monocita

The changes of phagocyte function of granulocytes and monocytes treated with samples of healthy pregnant and praeclamptic plasma

Aim: Preeclampsia is one of the most dangerous pathology of human pregnancy. Clinical manifestations of preeclampsia are hypertension and proteinuria developing after the 20th gestational week of pregnancy. Untreated cases can lead to complications and multi-organ failure. During pregnancy, the immunological tolerance of the developing fetus is a highly complex process which is at the forefront of researches nowadays. The etiology of preeclampsia is unknown, but many

Levelezési cím:

Dr. Kövér Ágnes, Kenézy Gyula Kórház és Rendelőintézet, 4031 Debrecen, Bartók Béla út 2–26.

E-mail: agi.kover@gmail.com

experimental and clinical study assumes its immunological origin. The aim of our study was the better understanding the phagocyte function of granulocytes and monocytes. Our hypothesis was that the change in phagocyte function is caused by circulating factors in the maternal blood.

Material and Method: 6 healthy pregnant, 6 preeclamptic pregnant and 6 non-pregnant women were involved in our study. Cells were separated from peripheral blood samples of non-pregnant patients and incubated in plasma samples of healthy pregnant, preeclamptic pregnant and non-pregnant patients. Granulocytes and monocytes were isolated by Ficoll density gradient, and the fluorescein isothiocyanate labelled particules were phagocytated by the cells. Monocytes and granulocytes from healthy non-pregnant women were incubated in healthy non-pregnant, healthy pregnant and preeclamptic pregnant plasma samples and calculated the phagocytosis index.

Results: Phagocyte function of neutrophil granulocytes and monocytes of healthy non-pregnant women decreased after incubation in healthy pregnant plasma samples. Further phagocytic function decline has been detected when cells from non-pregnant patients were treated with plasma from preeclamptic patients.

Conclusion: Neutrophil granulocytes and monocytes decreased phagocyte function in healthy pregnancy and preeclampsia are caused by factors from the maternal circulation.

Keywords: pregnancy, preeclampsia, phagocyte function, granulocytes, monocytes

Bevezetés

A preeclampsia egy terhesség specifikus megbetegedés, ami a terhességek 3-5%-ában fordul elő, a terhes nők emelkedett vérnyomásértékeivel és proteinúriával jellemezhető [1]. A preeclampsia az egyik fő oka az anyai, magzati és neonatalis morbiditásnak, különösen az alacsonyan és közepesen fejlett országokban [2]. Kezeletlen esetben súlyos szövődmények alakulhatnak ki, úgymint eclampsia, májelégtelenség, stroke, tüdőödéma vagy veseelégtelenség, amelyek akár halálhoz is vezethetnek [3]. 2014-ben the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP) megváltoztatta a preeclampsia diagnosztikus kritériumait [4]. Az ISSHP a preeclampsiaét úgy definiálja, mint a terhesség 20. hete után kialakuló magas vérnyomást, amelyhez proteinuria is társulhat (>300 mg/nap), májérintettség, veseelégtelenséggel, neurológiai, hematológiai vagy kardiovaszkuláris elváltozásokkal, illetve uteroplacentáris diszfunkcióval járhat. A kórkép jelentőségét az is alátámasztja, hogy azok a nők, akiknek a terhessége magas vérnyomással szövődött, kedvezőtlen kardiovaszkuláris rizikó csoportba tartoznak. Két évvel a szülés után, a preeclampsias nők 30%-ánál írtak le magas vérnyomást, 25%-ánál pedig metabolikus szindrómát [5,6]. Kutatási adatok bizonyítják, hogy a szisztémás gyulladás biomarkereinek szintje egészséges terhességben emelkedik a nem terhes állapothoz képest, és patológiás terhességekben ez az emelkedés még kifejezettebb [7, 8]. Graviditás során az anyai immunrendszerben egy korán megfigyelhető változás, a fehérvérsejtszámnövekedés [9]. Csaknem minden fehérvérsejt mennyisége megemelkedik az anyai vérplazmában, de a legkifejezettebb, a neutrofil granulociták száma, amelyek a terminusra akár a másfélszeresére is növekedhetnek. Paradox módon azonban a neutrofilszám-emelkedés mellett egészséges terhességben gyakoribbak a fertőzések, valamint azok lefolyása is súlyosabb [10]. A preeclampsia patofiziológiája ismeretlen, de számos kísérleti és klinikai vizsgálat feltételezi annak immunológiai eredetét, valamint átlagosan elfogadott, hogy alapját és a klinikai tünetek eredetét az endothelsejt-diszfunkció képezi [11]. Preeclampsiaiban a placentáció folyamata károsodik, a trofoblaszt invázió zavart szenved, következmé-

nyesen a lepény hipoxiája alakul ki [12]. A hipoxiás lepényből az egészséges terhességben mért szintnél nagyobb mennyiségben trofoblaszt mikropartikulumok szabadulnak fel, amelyek méretüket és funkciójukat tekintve heterogén csoportot alkotnak. Ezen mikropartikulumok az anyai perifériás keringésbe kerülve az endothelsejtek károsodását okozzák [13]. A 2000-es években a preeclampsia kutatása az angiogenezist befolyásoló faktorok felé fordult. Az eddigi vizsgálatok az antiangiogén- és proangiogén faktorok szintjének változását mutatták ki az élettani terhességben mért értékekhez képest. Jelenlegi ismereteink szerint az antiangiogén fehérjék felelősek a preeclampsiaiban kialakuló endothelkárosodásért [14]. A preeclampsia patomechanizmusának vizsgálatát különböző angiogenezist befolyásoló faktorokkal is vizsgálták, amelyek közül az egyik leggyakrabban vizsgált, a szolúbilis endoglin, mint kórosan beágyazott méhlepényből felszabaduló antiangiogén hatású TGF- β -koreceptor [15, 16]. A szolúbilis endoglin feltehetően gátolja a TGF- β -útvonalon történő jelátvitelt, az extravillószus trofoblasztsejtek autofagocitózist, hozzájárulva a kóros vaszkuláris remodellinghez és következményesen a preeclampsia kialakulásához [17]. A csökkent keringésű placentából hipoxia hatására szolúbilis fms-like tirozin-kináz-1 szabadul fel és a keringésbe jutva endothel-diszfunkciót okoz, amely hatására kialakulnak a preeclampsia tünetei [14]. A placentából felszabaduló proinflammatorikus anyagok hatására szisztémás gyulladásos válasz lép fel, amely részeként kialakul az akutfázis-reakció és az oxidatív stressz felerősödik. A preeclampsias terhesek szérumában a kemokinek, adhéziós molekulák és proinflammatorikus citokinek előfordulása magasabb [18]. A gyulladás szempontjából fontos a visceralis zsírszövet szerepe. Az adipociták TNF- α -T, IL-6-ot szekretálnak, a leptin fő forrásai. A leptin gyulladásos reakciót vált ki, illetve fokozhatja azt. Bármely eredetű gyulladás felerősödhet obes betegekben, a zsírszövet proinflammatorikus hatásai miatt [19]. A TNF- α inzulinrezisztenciát okoz, serkenti lipolízist és gátolja a lipidek szintézisét, ami a szabad zsírsavak felszabadulásához vezet. A szabad zsírsavak emelkedett szintjét figyelték meg preeclampsias nők vérében az egészséges terhesek értékeihez képest [19, 20]. A patogén mikroorganizmusok elimi-

nálásához hasonlóan a trofoblaszt mikropartikulumok eltávolításában is szerepe lehet az anyai szervezet természetes immunrendszerének, amelynek fő képviselői a „professzionális fagociták” csoportjába tartozó neutrofil granulociták és a monociták. A neutrofil granulociták és monociták működése több kísérletes vizsgálat tárgya egészséges és praeclampsziás terhességben egyaránt [21, 22]. Saját munkacsoportunk is foglalkozott a neutrofil granulociták szuperoxid-anion termelésével egészséges és praeclampsziás terhességben, és arra a következtetésre jutott, hogy a szuperoxid-anion-termelés csökken egészséges terhességben a nem terhes állapothoz képest, azonban ez a csökkenés elmarad a praeclampsziás terhesek esetében. A fagocitózissal kapcsolatos vizsgálatainkban kimutattuk, hogy egészséges terhességben mind a neutrofil granulociták mind a monociták fagocita funkciója szignifikánsan csökkent az egészséges nem terhes kontrollokéhoz képest. Feltételezésünk szerint a jelenség egy védekező mechanizmus lehet a magzat, mint hemiallograft érdekében, az anyai immunsuppresszió részeként. A praeclampsziás terheseknél mindkét vizsgált fehérvérsejt-típus esetében a sejtek fagocita funkciója szignifikánsan csökkent az egészséges terhesek és egészséges nem terhesek fagocita funkciójával összehasonlítva [23]. A praeclampsziában mért csökkent fagocita funkció része lehet a kórképben tapasztalható immunregulációs zavarnak.

Célunk volt a fagocita funkció további vizsgálata, illetve annak tisztázása, hogy a fagocita funkcióban bekövetkező változást az anyai vérplazmában keringő faktorok okozzák-e.

Anyag és módszer

Vizsgált személyek

A vizsgálatban résztvevő betegek tájékoztatását követően a Debreceni Egyetem Regionális Kutatás-Értékelési Bizottságának engedélyével, tájékozott beleegyezést követően 10 ml perifériás vérmintát vettünk 6 praeclampsziás (életkor átlagértéke: $35 \pm 3,67$ év), 6 egészséges terhes (életkor átlagértéke: $28,4 \pm 6,87$ év) és 6 egészséges nem terhes nőtől (életkor átlagértéke: $25 \pm 1,41$ év). A mintavételhez Vacutainer típusú EDTA-t tartalmazó (Becton-Dickinson, Cedex, France) zárt rendszerű vérvételi csöveket alkalmaztunk. A praeclampszia diagnózisa szerint a betegek vérnyomása egyenlő vagy nagyobb volt, mint 140/90 Hgmm egy nap kétszer mérve, legalább 6 óra különbséggel; valamint vizeletük fehérjetartalma több volt, mint 0,3 gramm/24 óra [24]. A vizsgálatainkban résztvevő személyek egyike sem dohányzott, nem szenvedett cukorbetegségben, nem szedett gyógyszert, speciális diétát nem folytatott, valamint nem volt súlyos belgyógyászati betegsége.

Granulociták és monociták szeparálása és vizsgálata

Az egészséges nem terhesektől származó granulociták és monociták szeparálását az irodalomban korábban már leírt módszer szerint végeztük el [25, 26]. A vérminta fehérvérsejteket, vörösvértesteket és trombocitákat tartalmazó frakcióját EDTA-t tartalmazó (1,8 mg/ml) Hanks' oldattal (pH

7,4) az eredeti térfogatra hígítottuk vissza, majd ezt követően Ficoll-sűrűség gradiensre (1,077 g/ml és 1,119 g/ml) rétegeztük, majd 400 g-n, 20 °C-on, 30 percig centrifugáltuk. Az eltérő sűrűségű Ficoll-rétegek fázishatárára szeparálódott granulocitákat és monocitákat összegyűjtöttük, ezt követően kétszer mostuk a sejteket Hanks' oldattal. Tripánkéék festéssel ellenőriztük a sejtek életképességét, amely minden esetben legalább 96-98%-osnak adódott. Fénymikroszkóppal végzett sejtmorfológia meghatározás alapján a kinyert szuszpenzióban a granulociták aránya 95-98% volt.

A zimozán részecskék opsonizálását és fluoreszcens jelzését a szakirodalomban korábban meghatározott módszerek szerint végeztük [27]. Ennek alapján a zimozán-A partikulumokat (1×10^8 /ml) 60 percig, 37 °C-on inkubáltuk 0,01 mg/ml FITC-t tartalmazó karbonát pufferben (pH 9,6), majd a részecskéket háromszor mostuk Hanks' oldattal. Az opsonizálást 50% humán AB-szérumot tartalmazó Hanks' oldatban 30 percig 37 °C-on végeztük. Ezt követően a jelölt és opsonizált partikulumokat (FITC-OZ) háromszor mostuk, milliliterenként 3×10^7 FITC-OZ-t tartalmazó Hanks' oldatban lefagyasztottuk és a felhasználásig -20 °C-on tároltuk. A granulocitákat és monocitákat (1×10^6 /ml) 30 percig 20 °C-on sejtenyészítő kamrákban kitapasztottuk. A nem kötődött sejteket mosással eltávolítottuk. A fagocitózis célpontjaként a sejtekhez FITC-OZ-t adtunk, majd együtt inkubáltuk őket 60 percig 37 °C-on. A nem fagocitált zimozán részecskék fluoreszcenciáját tripánkéék festéssel kioltottuk [28, 29]. A granulocitákat és monocitákat 4%-os paraformaldehid oldattal fixáltuk a lemezekben. A monocitáknál indirekt immunfluoreszcens jelölést használtunk. A monocita sejteket DyLight 594 fluoureszcens festékkel konjugált CD14 monoklonális antitesttel jelöltük, majd mind a monociták mind a granulociták sejtmagját 4', 6'-diamino-2-fenillindollal (DAPI) festettük. A minták kiértékelését Axioplan fluoreszcens mikroszkóppal (Zeiss Oberkochen, Németország) végeztük, amelynek során randomszerűen kiválasztott látóterekben megszámloltuk a sejtek által fagocitált részecskék számát. Az eredményeket fagocitózis indexben (FI) adtuk meg (100 sejt által fagocitált zimozán részecskék száma/100).

A granulociták és monociták kezelése plazmával

Az egészséges nem terhes, egészséges terhes és praeclampsziás terhesek perifériás vérmintájából sejtmentes vérplazma nyerése céljából a vérmintákat 800 g-n 20 °C-on 10 percig centrifugáltuk, majd a plazmát donoronként steril csövekbe gyűjtöttük. Az egészséges nem terhes nők granulocita és monocita sejtjeit 1×10^6 /ml koncentrációban 60 percig 37 °C-on inkubáltuk, praeclampsziás, egészséges terhes, és egészséges nem terhesektől származó plazmákkal (plazmakészítmények: 1,5 ml). A kezeléseket követően a plazmákat centrifugálással eltávolítottuk, a sejteket Hanks' oldatban (pH 7,4) újra szuszpendáltuk.

Statisztikai analízis

Az ábrákon hat független kísérlet eredményeinek az átlagértékeit és a szórását [\pm standard deviáció (SD)] tüntettük fel.

1. táblázat. Egészséges terhes, egészséges nem terhes és praeclampsziás terhesek klinikai tulajdonságai

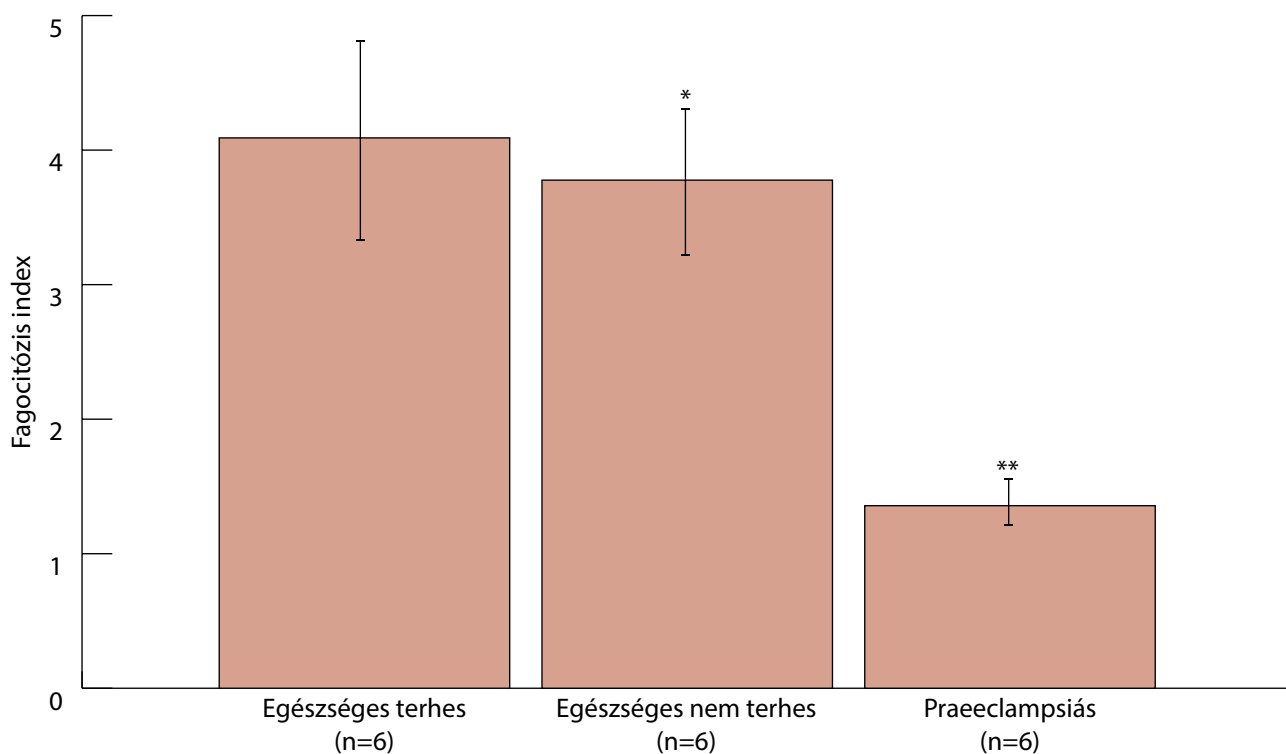
	Nem terhesek (n=6)	Egészséges terhesek (n=6)	Praeclampsziás terhesek (n=6)	p-érték
Életkor	25±1,41	28,4±6,87	35±3,67	>0,05
Gesztációs kor a vérvételkor (hét)	NA	37,4±1,67	35±3,39	> 0,05
Gesztációs kor a szüléskor (hét)	NA	38±1,58	37,6±2,6	> 0,05
Terhesség előtti BMI (kg/m ²)	24,44±4,65	30,1±3,96	31,76±4,14	<0,05*
BMI a szüléskor (kg/m ²)	NA	30,1±4,55	34,88±2,94	<0,05
Paritás ^a	NA	0 (0–2)	0 (0–1)	> 0,05
Szisztolés vérnyomás a vérvételkor (Hgmm)	114±7,34	115,8±14,6	154,8±19,84	<0,05*
Diasztolés vérnyomás a vérvételkor (Hgmm)	75±4,47	71,8±11,23	86,8±14,87	>0,05
Újszülött súlya (gramm)	NA	3234±479,35	2774±791,44	>0,05
Proteinuria a vérvételkor (vizeletben keresz) ^a	0 (0–0)	0 (0–0)	3 (1–3+)	<0,001*
Graviditás ^a	NA	2 (1–3)	2 (1–4)	>0,05

Az értékek az átlagot jelentik ±SD; ^a: Az értékek átlagot jelölnek (tartomány); NA: nem értelmezhető; BMI=testtömegindex (kg/m²); *p<0,05 az egészséges terhesek és praeclampsziások között.

Az adatok eloszlását Shapiro–Wilk-tesztel ellenőriztük, és normáloszlásúnak találtuk. A statisztikai elemzéshez egytényezős variancia-analízist alkalmaztunk (one-way analysis of variance, ANOVA), majd a páronkénti összehasonlítás-hoz Newman–Keuls post-hoc tesztet használtunk. A p<0,05 értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

Az általunk vizsgált egészséges terhesek, egészséges nem terhesek és praeclampsziás terhesek klinikai tulajdonságait foglalja össze az első táblázat (1. táblázat). Eredményeinkből látható, hogy a praeclampsziás terhesek körében a szülésko-



1. ábra. Egészséges nem terhesekből származó neutrofil granulociták fagocitózis indexe egészséges nem terhes, egészséges terhes, illetve praeclampsziás plazmákkal történő kezelést követően

Átlagértékek ±SD vannak feltüntetve. *p<0,01 az egészséges terhesek és egészséges nem terhesek eredményeit összehasonlítva. **p<0,01 az egészséges nem terhesek és praeclampsziások, valamint az egészséges terhesek és egészséges nem terhesek eredményeit összehasonlítva.

ri magasabb testtömegindex, vérértelkor magasabb szisztolés vérnyomásértékek, valamint a proteinuria, szignifikáns változást mutat az egészséges terhes kontrollok eredményeivel összehasonlítva. Továbbá megfigyelhető az alacsonyabb gestációs kor, az alacsonyabb újszülöttsúly, és emelkedett diasztolés vérnyomásértékek, az alábbi eredményeknél azonban szignifikáns változásokat nem tapasztaltunk vizsgálatunkban részt vevő személyeknél, amely az alacsony esetszámmal magyarázható.

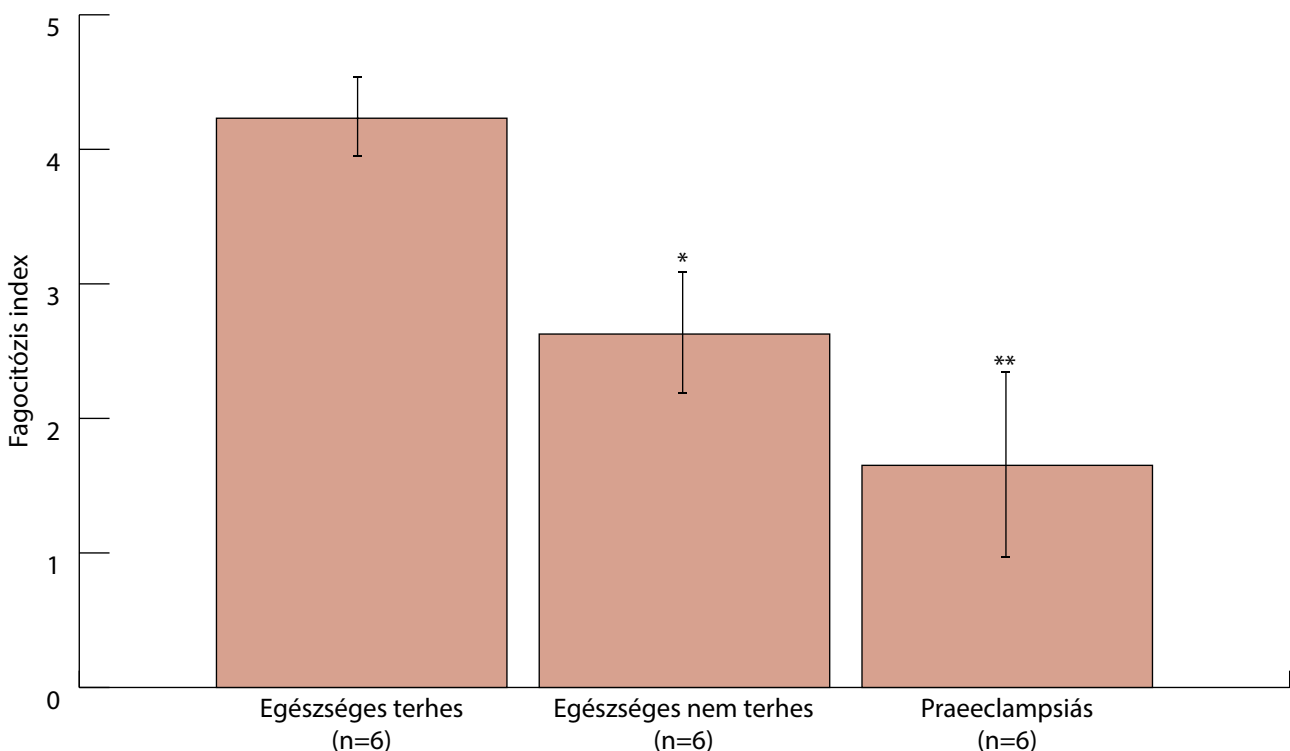
Az 1. ábrán az egészséges nem terhesekből származó neutrofil granulociták fagocitózis indexének változása látható egészséges nem terhes, egészséges terhes, illetve praeclampsziás terhesek plazmamintáival történő kezelést követően. Az egészséges terhesek plazmájával kezelt sejtek fagocita funkciója (FI: $2,73 \pm 0,54$; $p < 0,01$) szignifikánsan csökkent az egészséges nem terhesek plazmájával kezelt sejtek fagocita funkciójához képest. A praeclampsziás terhesek plazmáival kezelt sejtek fagocita indexe (FI: $1,33 \pm 0,18$) szintén csökkent mind az egészséges terhesektől származó plazmákkal ($p < 0,01$), mind az egészséges nem terhesektől származó plazmákkal (FI: $4,04 \pm 0,75$; $p < 0,01$) történő kezelést követően.

A 2. ábrán az egészséges nem terhesekből származó monociták fagocitózis indexének változását tüntettük fel egészséges nem terhes, egészséges terhes, illetve praeclampsziás terhesek plazmamintáival történő kezelést követően. Az egészséges nem terhesek monocitáinak fagocita funkciója csökkent egészséges terhesek plazmáival kezelve (FI: $2,66 \pm 0,46$; $p < 0,01$), összehasonlítva az egészséges nem terhesektől származó plazmakezeléssel (FI: $4,26 \pm 0,30$; $p < 0,01$). Szignifikáns csökkenés látható a praeclampsziás betegek

plazmáival kezelt sejtek fagocita funkciójában, összehasonlítva az egészséges terhesek plazmáival történt vizsgálatok eredményeivel ($p < 0,01$). Szignifikáns csökkenés látható praeclampsziás terhesek plazmáival (FI: $1,68 \pm 0,70$; $p < 0,05$) kezelt sejtek fagocita funkciójában, az egészséges nem terhesektől származó plazmákkal történő kezeléssel összehasonlítva.

Megbeszélés

Az egészséges terhesség létrejöttéhez és fenntartásához nélkülözhetetlen, hogy az anyai immunrendszer tolerálja a „hemiallograft” magzatot, de egyúttal védje is a fertőzések-től. A természetes immunrendszer első vonalban védi a szervezetet a kórokozók ellen, de a nekrotikus, apoptotikus sejtek, és tumorsejtek elpusztításában is fontos szerepe van, elsősorban a fagocitózis révén [30]. Képviselői többek között a monociták (mononukleáris fagociták) és a neutrofil granulociták (polimorfonukleáris fagociták) [31]. Egészséges terhesség alatt a fehérvérsejtek számának növekedése figyelhető meg, legnagyobb mértékben a neutrofil granulocitáké. Paradox módon egészséges terhességben az infekciók előfordulása magasabb, lefolyása súlyosabb a nem terhes kontrollokkal összehasonlítva [10]. Kísérletes adatok bizonyítják, hogy a szisztémás gyulladás biomarkereinek szintje emelkedik egészséges terhességben, a nem terhes állapothoz képest. A patológiai terhességekben ez az emelkedés még erőteljesebb [7, 32]. Egészséges terhességben növekszik TNF- α placentáris szekréciója és a vaszkuláris endothel növekedési faktor (VEGF), amelyekről úgy vélik, hogy előse-



2. ábra. Egészséges nem terhesekből származó monociták fagocitózis indexe egészséges nem terhes, egészséges terhes, illetve praeclampsziás plazmákkal történő kezelést követően

Átlagértékek \pm SD vannak feltüntetve; * $p < 0,01$ az egészséges terhesek és egészséges nem terhesek eredményeit összehasonlítva; ** $p < 0,05$ az egészséges nem terhesek és praeclampsziások, valamint az egészséges terhesek és egészséges nem terhesek eredményeit összehasonlítva

gítik a placentáris angiogenezist és növekedést [33]. Újabban felfedezték, hogy a TNF- α stimulálja a VEGF-család egy tagjának termelését, a placentanövekedési-faktort (PIGF) a trofoblaszt sejtekben [34]. A TNF- α az implantáció és trofoblaszt funkció kulcsfontosságú szabályozója az első trimeszterben és kimutatták, hogy apoptózist indukál a trofoblaszt sejt kultúrákban [33, 35, 36]. A túlzott leukocita-aktiváció praeclampsziában fokozott veleszületett és adaptív immunválasszal társul, amely zavarhatja a normálterhesség fejlődését [37]. A proinflammatorikus citokinek fokozott termelése és az anyai endotheliális sejtek aktivációja eredményezi a szisztémás és diffúz endothelsejt-diszfunkciót, amely a preeclampsia alapvető patomechanizmusa [38]. Jelenleg az obesitas hozzávetőleg a reproduktív korú nők 1/3-át érinti, így terhességben is magas az előfordulása [39]. Az obes nőkben kétszer nagyobb valószínűséggel alakul ki praeclampsia és hatszor nagyobb valószínűséggel alakul ki terhességi magas vérnyomás, mint a normálsúlyú nőkben [40]. A zsírszövet adipocitákat, immunsejteket (makrofágok és limfociták), preadipocitákat és endothelsejteket tartalmaz. Az antiinflammatorikus eozinofil populáció csökken az elhízottak zsírszövetében. Továbbá, obesitasban csökken a Treg-sejtek és nő a CD4+ Th1 és CD8+ effector T-sejtek száma. Elhízottakban nő a B-sejtek és aktivált T-sejtek száma, amely fokozza az M1-like makrofágok polarizációját, a gyulladást és az inzulinrezisztenciát [41]. Különböző anyagcserezavarok és szöveti diszfunkciók társulnak az elhízáshoz [42]. Az elhízás összefüggésbe hozható az immunrendszer funkcionális változásaival [43]. A veleszületett immunitás eredményezi a monocitákat/makrofágokat és dentritikus sejteket, amelyek jelátviteli kaskádokat indítanak citokin-produkciót eredményezve. Az adaptív immunitás eredményezi a T- és B-sejtek aktivációját [44]. Elhízásban, a veleszületett és adaptív immunitás is aktiválódik, következtében az elhízás által kiváltott krónikus gyulladást indukál [45]. Az anyai elhízás endotheliális sejt diszfunkcióval társul [46]. Az endotheliális sejt diszfunkció összefüggésben lehet különböző faktorok által, mint például hormonok, zsíreredetű anyagcsere-termékek és citokinek. Ezen zsírsejteredetű termékek hatással lehetnek a vaszkuláris funkcióra valamint a kialakuló inzulinrezisztenciára. A szabad zsírsavakat összefüggésbe hozták a csökkent vaszkuláris reakcióképességgel, amely az endotheliális diszfunkció indikátora [47]. Ma már egyre több bizonyíték van arra, hogy az anyai elhízás megváltoztatja a placentáris funkciót, és hogy a terhesség kapcsolatban van az anyai szisztémás gyulladással [48]. Az elhízott nők placentájában terminusban megnövekedett összlipid-tartalom, makrofágok és proinflammatorikus mediátorok halmozódnak fel, ellentétben a normálsúlyú nők placentájával [49, 50]. A terhesség előtti elhízás alacsony differenciáltságú metabolikus gyulladással állapottal és szubklinikai endotoxémiával társul, amelyek egyike hozzájárulhat a terhességhez társult inzulinrezisztencia romlásához [51]. A terhesség egyik legfontosabb kórképe a praeclampsia, amelyre az anyai szervezet növekedett szisztémás gyulladással válasza és az endothelsejtek diszfunkciója jellemző [52]. Praeclampsziás terhesekben az endothelsejt-károsodás keringő markereinek emelkedett szintje mutatható ki. Ezen markerek az endothelin, a celluláris fibronectin, a plazmi-

nogén aktivátor inhibitor-1, és a megváltozott prosztaciklin/tromboxán arány [53]. Az egyik széles körben elfogadott nézet, hogy az elégtelen placentáció okozta hipoxia trofoblaszt mikropartikulumok leszakadásához vezet, ami az anyai vérkeringésbe kerülve endothelsejt-diszfunkciót hoz létre [54]. A granulocita-monocita kolóniastimuláló faktor (GM-CSF), hemopoetikus citokin, illetve a sejtproliferáció és differenciáció indikátora. Azonban a GM-CSF magas koncentrációja hozzájárul a placentáris hipoxia hatásához, amely döntő fontosságú a praeclampsia fejlődésében [55]. A trofoblaszt mikropartikulumok, valamint a mikrobák eliminálásának fontos tényezője lehet a fehérvérsejtek fagocita funkciója, amelyről szakirodalmi adat eddig nem állt rendelkezésre. Korábbi kutatásunk célja volt a két fehérvérsejttípus fagocita funkciójának vizsgálata. Kimutattuk, hogy egészséges terhességben mind a neutrofil granulociták, mind a monociták fagocita funkciója szignifikánsan csökkent a nem terhes kontrollok eredményeihez viszonyítva. Az egészséges terhesek plazma faktorainak hatására csökkent fagocita funkció főleg a megfelelő szintű Fc-gamma-receptor-blokkoló IgG szimmetrikus, nagy valószínűséggel B2-limfociták által termelt ellenanyagok okozzák, a normális anyai immuntolerancia részeként. Ezen receptorokon keresztül csökkentik a fagocita funkciókat és a komplement faktoroknak az IgG Fc-komponenseknek történő kötődését. Továbbá ez a csökkenés része lehet a magzat, mint hemiallograft érdekében létrejövő anyai immun-suppresszióknak. Praeclampsziában mind az egészséges terhesekhez, mind a nem terhes kontrollokhoz viszonyítva, szignifikánsan csökkent fagocita funkciót igazoltunk mindkét vizsgált fehérvérsejttípus esetében. Feltételezzük, hogy ez a kórképben létrejövő immunregulációs zavar része. Hipotézisünk szerint praeclampsziában a trofoblaszt mikropartikulumok száma jelentősen megnövekszik az anyai vérkeringésben, és a csökkent fagocita funkcióval rendelkező fehérvérsejtek ezt igen kis hatékonysággal tudják eliminálni. Így hozzájárulnak a szisztémás endothelsejt-diszfunkcióhoz, valamint az ezzel összefüggésbe hozható súlyos szövődményekhez. Az egészséges terhességben és praeclampsziában tapasztalt csökkent fagocita funkciót az anyai keringésben lévő faktorok okozhatják. Eredményeink szerint az egészséges nem terhesekből izolált neutrofil granulociták és monociták fagocita funkciója csökken ha egészséges terhesekből származó plazmával kezeljük, valamint további fagocita funkció csökkenést tapasztaltunk, ha ezen sejteket praeclampsziás terhesektől származó plazmákkal kezeltük. Mindezekből arra a következtetésre jutottunk, hogy az egészséges terhesek granulocitáinak és monocitáinak csökkent fagocita funkcióját, továbbá a praeclampsziában tapasztalt további fagocita funkció csökkenést az anyai keringésben lévő, egyelőre ismeretlen (anyai vagy magzati eredetű) faktorok okozzák. Az általunk igazolt plazmafaktorok azonosítására, eredetének meghatározására további vizsgálatok szükségesek.

Érdekeltségek, támogatások:

A szerzőknek nincsenek érdekeltségeik.

A kutatás anyagi háttérét a Debreceni Egyetem Belső Kutatási Pályázata (RH/885/2013.) biztosította.

IRODALOM

1. Ananth CV, Keyes KM, Wapner RJ. Pre-eclampsia rates in the United States, 1980–2010; age-period-cohort analysis. *BMJ* 2013; 347: f6564.
2. Saleem S, McClure EM, Goudar SS, et al. A prospective study of maternal, fetal and neonatal death in low- and middle- income countries. *Bull World Health Organ* 2014; 92: 605–12.
3. Souza JP, Gülmezoglu AM, Vogel J, et al. Moving beyond essential interventions for reduction of maternal mortality (the WHO Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health): a cross-sectional study. *Lancet* 2013; 381: 1747–55.
4. Tranquilli AL, Dekker G, Magee L, et al. The classification, diagnosis and management of the hypertensive disorders of pregnancy: A revised statement from the ISSHP. *Pregnancy Hypertens* 2014; 4:97–104.
5. Hermes W, Franx A, van Pampus MG, et al. Cardiovascular risk factors in women who had hypertensive disorders late in pregnancy: a cohort study. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 208: 474.e1–8.
6. Veerbeek JH, Hermes W, Breimer AY, et al. Cardiovascular disease risk factors after early-onset preeclampsia, late-onset preeclampsia, and pregnancy-induced hypertension. *Hypertension* 2015; 65: 600–6.
7. Sacks GP, Studena K, Sargent IL, Redman CWG. Normal pregnancy and pre-eclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 80–6.
8. Calleja-Agius J, Jauniaux E, Pizzey AR, Muttukrisna S. Investigation of systemic inflammatory response in first trimester pregnancy failure. *Hum Reprod*. 2012; 27: 349–57.
9. Kuhnert M, Strohmeier R, Stegmüller M, Halberstadt E. Changes in lymphocyte subsets during normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 76: 147–51.
10. Cunningham FG, Leveno KJ, Schmidt-Ehry B. Respiratory insufficiency associated with pyelonephritis during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1984; 63: 121–5.
11. Cha J, Sun X, Dey SK. Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy. *Nat Med*. 2012; 18: 1754–67.
12. Khong TY, De Wolf F, Robertson WB, Brosens I. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants. *Br J Obstet Gynaecol* 1986; 93: 1049–59.
13. Redman CW, Tannetta DS, Dragovic RA, et al. Review: Does size matter? Placental debris and the pathophysiology of pre-eclampsia. *Placenta* 2012; 33: S48–54.
14. Alasztics B, Gullai N, Molvarec A, et al. Az angiogén faktorok szerepe praeclampsiaiban. *Orv Hetil* 2014; 155(47): 1860–6.
15. Levine RJ, Lam C, Qian C, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006; 355(10): 992–05.
16. Maynard SE, Karumanchi SA. Angiogenic factors and preeclampsia. *Semin Nephrol* 2011; 31:33–46.
17. Nakashima A, Yakanaka-Tatematsu M, Fujita et al. Impaired autophagy by soluble endoglin, under physiological hypoxia in early pregnant period, is involved in poor placentation in preeclampsia. *Autophagy* 2013; 9: 303–16.
18. Molvarec A, Szarka A, Lázár L, et al. Serum cytokine profile in normal pregnancy and preeclampsia [A szérum citokinprofil vizsgálata szövődménymentes terhességben és praeclampsiaiban.]. *Magyar Nőorvosok Lapja* 2012; 75: 10–20.
19. Redman CW, Sargent IL. Placental stress and pre-eclampsia: a revised view. *Placenta* 2009; 31: 38–2.
20. Kukor Z, Valent S. Nitric oxide and preeclampsia. [A nitrogénmonoxid-szintézis zavarai praeclampsiaiban]. *Orv Hetil* 2010; 151: 2125–35.
21. Walsh SW. Plasma from preeclamptic women stimulates transendothelial migration of neutrophils. *Reprod Sci* 2009; 16: 320–5.
22. 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* 2011; 89: 199–206.
23. Lampé R, Kövér Á, Szűcs S, et al. Phagocytic index of neutrophil granulocytes and monocytes in healthy and preeclamptic pregnancy. *J Reprod Immunol* 2015; 107: 26–30.
24. ACOG Committee on Obstetric Practice. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 2002; 77: 67–75.
25. Böyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Introduction. *Stand J Clin Lab Invest Suppl* 1968; 97: 77–89.
26. English D, Andersen BR. Single-step separation of red blood cells. Granulocytes and mononuclear leukocytes on discontinuous density gradients of Ficoll-Hypaque. *J Immunol Methods* 1974; 5: 249–52.
27. Hed J, Hallden G, Johansson SG, Larsson P. The use of fluorescence quenching in flow cytometry to measure the attachment and ingestion phases in phagocytosis in peripheral blood without prior cell separation. *J Immunol Methods* 1987; 101: 119–25.
28. Busetto S, Trevisan E, Patriarca P, Menegazzi R. A single-step, sensitive flow cytometric assay for the simultaneous assessment of membrane-bound and ingested *Candida albicans* in phagocytosing neutrophils. *Cytometry A* 2004; 58: 201–6.
29. Chaka W, Scharringa J, Verheul AF, Verhoef J, Van Strijp AG, Hoepelman IM. Quantitative analysis of phagocytosis and killing of *Cryptococcus neoformans* by human peripheral blood mononuclear cells by flow cytometry. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2: 753–9.
30. Stuart LM, Ezekowitz RA. Phagocytosis: elegant complexity. *Immunity* 2005; 22: 539–50.
31. Beutler B. Innate immunity: an overview. *Mol Immunol* 2004; 40: 845–59.
32. Calleja-Agius J, Jauniaux E, Pizzey AR, Muttukrisna S. Investigation of systemic inflammatory response in first trimester pregnancy failure. *Hum Reprod* 2012; 27: 349–57.
33. Pavlov OV, Niaiuri DA, Selutin AV, et al. Coordinated expression of TNF- α and VEGF-mediated signaling components by placental macrophages in early and late pregnancy. *Placenta* 2016; 42: 28–6.
34. Kato E, Yamamoto T & Chishima F. Effects of cytokines and TLR ligands on the production of PlGF and Svegfr1 in primary trophoblast. *Gynecologic and Obstetric Investigation* (in press) 2016.
35. Knöfler M, Mösl B, Bauer S, et al. TNF- α /TNFR1 in primary and immortalized first trimester cytotrophoblast. *Placenta* 2000; 21: 525–35.
36. Siwetz M, Blaschitz A, El-Heliebi, et al. TNF- α alters the inflammatory secretion profile of human first trimester placenta. *Laboratory Investigation* 2016; 96: 428–38.
37. Lok CA, Jebbink J, Nieuwland R, et al. Leukocyte activation and circulating leukocyte-derived microparticles in preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 2009; 61: 346–59.
38. Raghupathy R. Cytokines as key players in the pathophysiology of preeclampsia. *Med Princ Pract* 2013; 22: 8–19.
39. Flegal KM, Carroll MD, Kit BK & Ogden CL. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999–2010. *JAMA* 2012; 307:491–7.
40. Stang J & Huffman LG. Position of the academy of nutrition and dietetics: obesity, reproduction, and pregnancy outcomes. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 2016; 116: 677–91.
41. Indrani Ray, Sushil K. Mahata and Rajat K. De. Obesity: An Immunometabolic Perspective. *Frontiers in Endocrinology. Mini Review* 2016.
42. Andersen CJ, Murphy KE, Fernandez ML. Impact of obesity and metabolic syndrome on immunity. *Adv Nutr* 2016; 7: 66–75.
43. Zhao Z, Pang W, Zhang Z, et al. Pomegranate extract and exercise provide additive benefits on improvement of immune function by inhibiting inflammation and oxidative stress in high-fat-diet-induced obesity in rats. *J Nutr Biochem* 2016; 32: 20–8.
44. Wilson RM, Messaoudi I. The impact of maternal obesity during pregnancy on offspring immunity. *Mol Cell Endocrinol* 2015; 418: 134–42.
45. Osborn O, Olefsky JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med* 2012; 18: 363–74.
46. Lappas M. Markers of endothelial cell dysfunction are increased in human omental adipose tissue from women with pre-existing maternal obesity and gestational diabetes. *Metabolism* 2014; 63: 860–73.
47. Steinberg HO, Baron AD. Vascular function, insulin resistance and fatty acids. *Diabetologia* 2002; 45: 623–34.
48. Aye IL, Lager S, Ramirez VI, et al. Increasing maternal body mass index is associated with systemic inflammation in the mother and the activation of distinct placental inflammatory pathways. *Biol Reprod* 2014; 90: 129.
49. Calabuig-Navarro V, Puchowicz M, Glazebrook, et al. Effekt of ω -3 supplementation on placental lipid metabolism in overweight and obese women. *Am J Clin Nutr* 2016; 103: 1064–72.
50. Challier JC, Basu S, Bintein T, et al. Obesity pregnancy stimulates macrophage accumulation and inflammation in the placenta. *Placenta* 2008; 29: 274–81.
51. Basu S, Hagniac M, Surace P, et al. Pregravid obesity associates with increased maternal endotoxaemia and metabolic inflammation. *Obesity (Silver Spring)* 2011; 19: 476–82.
52. Eastbrook G, Brown M, Sargent I. The origins and end-organ consequence of pre-eclampsia. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011; 25: 435–47.
53. Mutter WP, Karumanchi SA. Molecular mechanisms of preeclampsia. *Microvasc Res* 2008; 75: 1–8.
54. Laregoiti-Servitje E. A leading role for the immune system in the pathophysiology of preeclampsia. *J Leukoc Biol* 2013; 94: 247–57.
55. Hayashi M, Hamada Y, Ohkura T. Elevation of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in placenta and blood in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190: 456–61.