

Patogenetikai markerek vizsgálata praeeclampsiában

Doktori értekezés

Dr. Stenczer Balázs

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Rigó János egyetemi tanár, az MTA doktora

Hivatalos bírálók:

Dr. Melczer Zsolt, egyetemi docens, Ph.D.

Dr. Gyarmati Béla, osztályvezető főorvos, Ph.D.

A szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Paulin Ferenc egyetemi tanár, az MTA doktora

A szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Sobel Gábor, egyetemi tanársegéd, Ph.D.

Dr. Demeter János, osztályvezető főorvos, kandidátus

Budapest

2011

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés.....	7
1.1. A Praeclampsia definíciója	9
1.2. A praeclampsia patogenezise	10
1.2.1. Angiogén faktorok szerepe a praeclampsia patogenezisében.....	11
1.2.1.1. A placenta élettani és kóros érképződése	11
1.2.1.2. Keringő anigiogenetikus faktorok szerepe praeclampszában.....	12
1.2.1.3. Az sFlt1 és PlGF szintek meghatározásának klinikai jelentősége praeclampszában.....	14
1.2.2. A praeclampsia immunológiai háttere	15
1.2.2.1. Anyai citokinek szerepe praeclampszában	15
1.2.2.2. Placentáris apoptózis és az anyai keringésben található placentáris törmelék szerepe a praeclampsia patogenezisében	16
1.2.2.3. Az immunsejtek szerepe praeclampszában	16
1.2.3. Az oxidatív stressz és endotél-diszfunkció szerepe a praeclampsia patogenezisében	18
1.2.4. A vasanyagcsere változásai praeclampszában.....	19
1.3. A vizsgált markerek jellemzői	19
1.3.1. Az osteopontin szerkezete és funkciói.....	19
1.3.2. A hepcidin szerkezete és funkciói	20
1.3.3. A szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor (suPAR) szerkezete és funkciói.....	21
1.3.4. A trombospondin 1 szerkezete és funkciói.....	22
1.3.5. A trombospondin 2 szerkezete és funkciói.....	24
2. Célkitűzések	25
3. Módszerek és vizsgálati csoportok.....	27
3.1. Beválasztási és kizárási kritériumok.....	27
3.2. Mintavételek, minták tárolása.....	28
3.3. Statisztikai analízis	28

3.4.	A keringő osteopontin, CRP, malondialdehid, VWF:Ag, fibronectin és szabad magzati DNS koncentrációk mérése	29
3.4.1.	Vizsgálati alanyok és anyagok	29
3.4.2.	Mérési módszerek.....	30
3.5.	A keringő hepcidin koncentrációk, gyulladáshoz kapcsolódó markerek és a vasanyagcsere paramétereinek vizsgálata	31
3.5.1.	Vizsgálati alanyok és anyagok	31
3.5.2.	Mérési módszerek.....	31
3.6.	Keringő suPAR, CRP és IL-6 koncentrációk vizsgálata	32
3.6.1.	Vizsgálati alanyok és anyagok	32
3.6.2.	Mérési módszerek.....	33
3.7.	Keringő trombospondin 1 (TSP-1) koncentrációk mérése egészséges, praeclampsias és HELLP-szindrómás terhesekben.....	33
3.7.1.	Vizsgálati alanyok és anyagok	33
3.7.2.	Mérési módszerek.....	33
3.8.	Keringő trombospondin 2, sFlt1 és PlGF koncentrációk mérése egészséges és praeclampsias terhesekben	34
3.8.1.	Vizsgálati alanyok és anyagok	34
3.8.2.	Mérési módszerek.....	34
4.	Eredmények.....	35
4.1.	Keringő osteopontin, CRP, malondialdehid, VWF:Ag, fibronectin és szabad magzati DNS koncentrációk egészséges terhesekben és praeclampsiasban ..	35
4.1.1.	A vizsgálati csoportok klinikai jellemzői	35
4.1.2.	Laboratóriumi eredmények.....	36
4.2.	Hepcidin szintek, gyulladáshoz kapcsolódó markerek és a vasanyagcsere jellemzői praeclampsiasban	39
4.2.1.	A vizsgálati csoportok klinikai jellemzői	39
4.2.2.	Laboratóriumi eredmények.....	39
4.3.	A suPAR szintek és gyulladáshoz kapcsolódó markerek praeclampsiasban	41
4.3.1.	A vizsgálati csoportok klinikai jellemzői	41
4.3.2.	Laboratóriumi eredmények.....	41

4.4.	Keringő trombospondin 1 (TSP-1) koncentrációk egészséges, praeclampsziával és HELLP-szindrómával szövődött terhességben.....	44
4.4.1.	A vizsgálati csoportok klinikai adatai	44
4.4.2.	Laboratóriumi eredmények.....	45
4.5.	Keringő trombospondin 2, sFlt1 és PlGF szintek praeclampsziában	48
4.5.1.	A vizsgálati csoportok klinikai adatai	48
4.5.2.	Laboratóriumi eredmények.....	49
5.	Megbeszélés	52
5.1.	Keringő osteopontin koncentrációk praeclampsziában	52
5.2.	Emelkedett hepcidin koncentrációk praeclampsziában	54
5.3.	A suPAR a szisztémás gyulladás markere praeclampsziában	56
5.4.	A keringő trombospondin 1 szintek változatlanok praeclampsziában, de csökkenek HELLP-szindrómában	58
5.5.	Trombospondin 2, sFlt1 és PlGF szintek praeclampsziában	59
6.	Következtetések	62
7.	Összefoglalás.....	64
8.	Irodalomjegyzék.....	66
9.	Saját publikációk jegyzéke.....	89
9.1.	Az értekezés témájában megjelent, illetve megjelenés alatt álló közlemények...	89
9.2.	Az értekezés témájától független közlemények.....	89
10.	Köszönetnyilvánítás	92

Rövidítések jegyzéke

Ang II	angiotenzin II
AST	aszpartát-aminotranszferáz
AT-1	1-es típusú angiotenzin II-receptor
AUC	görbe alatti terület
BMI	testtömeg-index
CAD	coronaria artéria-betegség
CD	cluster of differentiation
cffDNA	szabad magzati DNS
cGMP	ciklikus guanozil-monofoszfát
CI	konfidencia intervallum
CRP	C-reaktív protein
DA	detektálhatóság küszöbe alatti érték
dNTP	dezoxiribonukleozid-trifoszfát
EDTA	etilén-diamin-tetra-ecetsav
ELISA	enzimhez kapcsolt immunszorbens teszt
EOPE	korai kezdetű praeclampsia
ETA-1	korai T-limfocita aktivációs fehérje
FGF	fibroblaszt növekedési faktor
Flt-1	fms-szerű tirozin kináz 1
GM-CSF	granulocita-monocita kolóniastimuláló faktor
HELLP	hemolízis, emelkedett májenzimek, alacsony vérlemezkeszám
HIV	humán immundeficiencia vírus
HP	egészséges terhesség
HPLC	magas nyomású folyadékkromatográfia
CRP	C-reaktív protein
IFN- γ	interferon- γ
IL	interleukin
IUGR	intrauterin magzati növekedési retardáció
kDa	kilodalton
LDH	laktát-dehidrogenáz

LDL	alacsony denzitású lipoprotein
LOPE	késői kezdetű praeclampsia
MAP	mitogén aktiváló protein
MCH	vörösvértestek átlagos haemoglobin-tartalma
MCHC	vörösvértestek átlagos haemoglobin-koncentrációja
MCV	vörösvértestek átlagos térfogata
MDA	malondialdehid
NA	nem alkalmazható
NK-sejtek	természetes ölősejtek
NO	nitrogén-monoxid
NP	nem terhes
NS	nem szignifikáns
OPN	osteopontin
PAPP-A	terhességgel asszociált plazma protein A
PCR	polimeráz láncreakció
PDGF	vérlemezke eredetű növekedési faktor
PE	praeclampsia
PIGF	placentáris növekedési faktor
PP-13	placentáris protein 13
RGD	arginin-glicin-aszparaginsav
ROS	reaktív oxigén szabadgyök
RR	vérnyomás
rtPCR	valós idejű polimeráz láncreakció
sEng	szolubilis endoglin
sFlt-1 / VEGFR-1	szolubilis vaszkuláris endoteliális növekedési faktor receptor 1
SIPE	rarakódásos praeclampsia
SRY	az Y kromoszóma nemi determináló régiója
suPAR	szolubilis urokináz plazminogen aktivátor receptor
TGF- β	transzformáló növekedési faktor β
Th-1, -2	T-helper limfocita-1, -2
TNF- α	tumornekrózis-faktor α
TSP	thrombospondin

TSR	1-es típusú ismétlődő thrombospondin domén
TVK	teljes vaskötő kapacitás
uPAR	urokináz-típusú plazminogen aktivátor receptor
VEGF	vaszkuláris endoteliális növekedési faktor
VSMC	vaszkuláris simaizom-sejt
VWF:Ag	von Willebrand faktor antigén

1. Bevezetés

A praeclampsia (PE) patogenetikai háttere, az elmúlt évtizedek intenzív kutatásai ellenére, mindmáig csak részben tisztázott. Ezen időszak alatt számos elmélet született e rejtély megfejtésére, amelyek közül végül csak keveset sikerült igazolni, ezért emlegetik e kórképet a „teóriák betegsége”-ként is. A klinikai tünetek főként a terhesség második felében alakulnak ki, a kórélettani folyamatok azonban már jóval korábban elkezdődnek. A diagnózis két alappillére a magas vérnyomás és a proteinuria. Fontos tisztázni, hogy e vezető tünetek mellett, a betegség az egész anyai és magzati szervezetet érinti, számos, a terhességre jellemző élettani folyamat kisiklásán keresztül. Az említett diagnosztikus kritériumok sem tévedhetetlenek; nem ritkán előfordul hogy praeclampsia jellemező klinikai kép alakul ki anélkül, hogy mindkét kritérium teljesülne. Alapvető fontosságú a kórkép patogenezisének pontosabb megismerése, és új, hatékony biomarkerek felfedezése, hiszen e súlyos betegség megelőzése, korai felismerése, pontos diagnosztikája és hatékony kezelése csak ezek segítségével lehetséges.

A praeclampsia incidenciája 2-10% közötti (1). A rekurrencia valószínűsége a következő terhességekben, az egyes vizsgálatok szerint igen széles tartományban, 7,5-65% között mozog (2). A PE-nak számos rizikófaktora ismert: primiparitas, fiatal vagy idős anyai életkor, obesitas és inzulinrezisztencia, többes terhesség, afro-amerikai etnikum, praeclampsia egy előző terhességben vagy a családi anamnézisben, 10 évnél hosszabb intervallum egy előző terhesség óta, krónikus hipertónia, gesztációs és pregesztációs diabetes mellitus, vesebetegség, szisztémás autoimmun betegség, antifoszfolipid-szindróma, anyai fertőzések (húgyúti fertőzés, periodontitis, chlamydia, citomegalovírus okozta fertőzés), malnutrició, trombofilia (Leiden-mutáció, protein S-hiány), hiperlipidémia, hiperhomociszteinémia, magzati hidropsz, mola hydatidosa (3). Érdekes módon azt találták, hogy a terhesség alatti dohányzás csökkenti a praeclampsia kockázatát (4). Az ikerterhességek gyakoriságának, a krónikus kardiovaszkuláris betegségben szenvedő gyermekvállaló nők számának és az anyai átlagéletkornak a növekedésével a praeclampsia is egyre gyakrabban fordul elő (5).

A praeclampsia mindmáig az anyai, és perinatális morbiditás és mortalitás vezető oka, a fejlett országokban ezek 15-20%-áért felelős (6). Világszerte, évente több

tízezer várandós nő és még több újszülött életét követeli (7). A betegség a koraszülést és az intrauterin magzati növekedési retardációt (IUGR) előidéző tényezők között is az élvonalban szerepel (5). Ezzel a praeclampsia a mai szülészet-nőgyógyászat egyik legnagyobb kihívását jelenti. Súlyossági spektruma, progressziójának gyorsasága igen heterogén. Általánosságban elmondható, hogy a terhesség korábbi szakaszában kialakuló formák súlyosabb tünetekkel járnak, míg a késői formák enyhébbek. Emellett fontos megemlíteni, hogy a praeclampsiás nők és gyermekeik hosszú távú kardiovaszkuláris morbiditása (magas vérnyomás, ateroszklerózis, iszkémiás szívbetegség, stroke) is magasabb (8-10).

A praeclampsia egyik viszonylag ritka, de súlyos, gyorsan progrediáló, életet veszélyeztető szövődménye a HELLP szindróma, amelynek jellemzői a hemolízis, a májenzim szintek emelkedése és a trombocitopénia. Incidenciája 0.17-0.85% (11), a súlyos praeclampsiás terhesekben 10-20%. Az esetek 70%-a a szülést megelőzően, 30%-a azt követően jelentkezik (12). Előfordulása fehér nőkben, multiparákban, illetve az életkor előre haladtával magasabb (13). Jelentős anyai és perinatalis morbiditással és mortalitással jár. Súlyos szövődményei az agyödéma, a szubkapszuláris májhematóma, illetve a májruptura. A praeclampsia további súlyos komplikációi a korai lepényleválás, disszeminált intravaszkuláris koaguláció, tüdőödéma, akut veseelégtelenség, eclampsia, súlyos májkárosodás, stroke.

A praeclampsia kialakulásának, progressziójának előrejelzése mindmáig megoldatlan feladatok. Számos törekvés történt a betegség kifejlődésének megelőzésére, amelyek eredményei kevésbé voltak meggyőzőek (14-16). A kezelés főként tüneti, antihipertenzív szerek adásából, esetleg fehérjepótlásból áll, definitív megoldást egyedül a terhesség befejezése jelent.

Az *in vivo*, kísérletes vizsgálatok nehézségét jelenti, hogy a praeclampsia kizárólag az emberi fajban jelentkezik, megfelelő állatkísérletes modellt eddig nem sikerült találni.

A praeclampsia etiológiájának és patofiziológiai hátterének pontosabb megértése tehát alapfeltétele a klinikai eredmények javításának, a hatékonyabb diagnosztikának, megelőzésnek és kezelésnek.

1.1. A Praeclampsia definíciója

A praeclampsia diagnózisát a National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy, 2000-ben kiadott ajánlása alapján állítottam fel (17). Eszerint a PE, a terhesség 20. hete után fellépő magas vérnyomás (a szisztolés vérnyomás ≥ 140 Hgmm vagy a diasztolés vérnyomás ≥ 90 Hgmm, legalább két alkalommal, minimum 6 óra, de maximum 7 nap különbséggel mérve, korábban normotenzív terhes nőben), amit proteinuria (≥ 300 mg/24 óra) kísér (17, 18). A praeclampsia súlyosnak tekintendő az alábbi tünetek bármelyikének fennállása esetén:

- A szisztolés vérnyomás ≥ 160 Hgmm vagy a diasztolés vérnyomás ≥ 110 Hgmm,
- Proteinuria ≥ 5 g/24 óra vagy $\geq 3+$ tesztcsíkkal legalább két random vizeletmintában, minimum 6 óra különbséggel nyerve
- Oliguria (vizeletürítés < 500 ml/ 24 óra)
- Központi idegrendszeri zavarok, látászavar
- Tüdőoedema vagy cyanosis
- Epigastriális vagy jobb bordaív alatti fájdalom
- Májenzim értékek emelkedése
- Trombocitopénia
- Magzati sorvadás (a magzat születési súlya kisebb, mint a terhességi kornak és a nemnek megfelelő 10 percentilis érték) (19)

A terhesség előtt fennálló magas vérnyomás, vesebetegség, illetve egyéb szisztémás betegség talaján kifejlődő praeclampsia esetén ráarakódásos praeclampsziáról (superimposed preeclampsia – SIPE) beszélünk. A kórisme megállapítása gyakran nehéz, főleg ha a proteinuria (pl. vesebetegség miatt) már a 20. terhességi hét előtt is fennáll. A kórkép jelentőségét növeli, hogy prognózisa mind az anyára, mind a magzatra nézve kedvezőtlenebb, mint a genuin praeclampsziáé (17).

A HELLP-szindróma diagnosztikájában a Mississippi-beosztást szokás alapul venni, mely a trombocitaszám alapján a kórképet három súlyossági szintre osztja (20). Egységes kritérium, hogy a szérum aszpartát-aminotranszferáz (AST) szint 70 U/l feletti, a szérum laktátdehidrogenáz (LDH) szint pedig meghaladja a 600 U/l-t. A

trombocitaszám alapján súlyos (I. kategória: trombocitaszám ≤ 50 G/l), középsúlyos (II. kategória: 51-100 G/l) és enyhe (III. kategória: 101-150 G/l) formákat különítünk el. A beosztás jól korrelál a kórkép súlyosságának laboratóriumi és klinikai mutatóival. Diagnosztikai nehézséget okozhat, hogy HELLP-szindróma kialakulhat definitív praeclampsia nélkül is (21).

1.2. A praeclampsia patogenezeise

A praeclampsia valószínűleg multietiológiájú betegség, kialakulásában több tényező együttes fennállása játszik szerepet. Egyes elméletek szerint kóreredete immunológiai, mások szerint genetikai alapokon nyugszik. Feltehetően következményes patofiziológiai jelenségek a kifejezett generalizált gyulladós reakció, a szisztémás és placentáris oxidiatív stressz, az érendotél-aktiváció és -sérülés, a véráramlási rendszer aktiválódása és az endokrin rendszer diszfunkciója. Bebizonyosodni látszik, hogy a klinikai tünetek kialakulásában központi szerepet játszik a vérkeringésben található angiogénikus faktorok egyensúlyának megbomlása.

Újabban a kóreredet alapján placentáris és maternális formát különítenek el (22). A legtöbb eset klinikailag nem sorolható egyértelműen egyik, vagy másik csoportba, gyakori a kevert forma. A placentáris formában a klinikai tünetek rendszerint a 34. gesztációs hét előtt lépnek fel (korai forma), és súlyosabbak. A placentáris diszfunkció gyakran vezet magzati hipoxiához, növekedési retardációhoz és esetenként intrauterin elhaláshoz. Ez a forma két lépcsőben alakul ki, ezek a praeklinikai és a klinikai stádium. Előbbi alapja a méhlepény kifejlődésének zavarában és vérkeringésének elégtelenségében, hipoperfúziójában keresendő. A klinikai stádiumban, a méhlepény hipoxiájának, iszkémiájának hatására különböző, eddig még csak részben ismert faktorokat kezd termelni és bocsájt az anyai keringésbe (23). Ezek hatására generalizált, szisztémás gyulladós reakció és endoteliális diszfunkció alakul ki, és fellépnek a jellemző anyai tünetek.

A maternális forma patogenezisében inkább metabolikus tényezők játszanak szerepet. Ez a forma rendszerint a 34. gesztációs hét után alakul ki (késői forma), lassabban progrediál, és ritkábban jár mind magzati, mind anyai szövődeményekkel. E betegekben alacsony-fokú szisztémás gyulladós reakció mutatható ki, olyan, mint ami

elhízásban, diabéteszben, magas vérnyomás betegségben, ill. érbetegségekben jellemző (22). Tudvalevő, hogy ezek az állapotok mind erősen hajlamosítanak praeclampsia kialakulására. Itt tehát a probléma alapja nem a terhességben keresendő, sokkal inkább az anyai szervezet terhességre adott kóros válaszában (24). A terhesség ezen nők számára egy olyan stresszfaktor, ami az egyébként is fennálló metabolikus sérülékenységen talaján, provokálja az anyai szervezet patológiás reakcióját (25).

1.2.1. Angiogén faktorok szerepe a praeclampsia patogenezisében

1.2.1.1. A placenta élettani és kóros érképződése

A terhesség második felében a méhlepény anyai oldalról történő vérellátási igénye folyamatosan nő. Ennek kielégítése csak akkor lehetséges, ha a deciduális spirális artériák, melyek a vért közvetlenül az intervillózus űrbe szállítják, a terhesség elején megfelelő átalakuláson mennek keresztül. Egészséges terhességben ezért a remodellingért a tumor-szerű sejtekké differenciálódó extravillózus citotrofoblasztok felelősek, amelyek a 6-18. terhességi hét között hatolnak a méhfalba (26).

A placentáris érképződés három folyamatból áll, ezek a vaszkulogenezis, az angiogenezis és a pszeudovaszkulogenezis, vagyis a spirális artériák remodellingje. A vaszkulogenezis, az endoteliális prekursorok endotélsejtté történő differenciációja, a terhesség első heteiben kezdődik. Ez a folyamat vezet új erek létrejöttéhez (27). A vaszkulogenezist az angiogenezis követi, amely új kapillárisok kifejlődését jelenti, már meglévő erekből. A terhesség 21. napjától a placentáris trofoblasztok, az anyai decidua és a makrofágok által termelt, szolubilis angiogenetikus faktorok szabályozzák a chorionbolyhok érképződését (28). Az invazív citotrofoblasztok a 9-12. hét között, elvándorolnak a spirális artériákhoz és behatolnak azokba, ezzel az addig elzárt erek rekanalizációját idézik elő. Az így megnövekvő placentáris oxigenizáció a trofoblaszt proliferáció és diffenziáció felgyorsulásához vezet, és ezáltal az oxidatív stressz placentáris markereinek hirtelen megjelenéséhez (29). Ezt követően folytatódik a pszeudovaszkulogenezis. A citotrofoblasztok epiteliális-endoteliális redifferenciáción esnek át (30), és úgynevezett endovaszkuláris trofoblasztokként, az endotélsejtek helyét átvéve, pszeudoendotéliumot alkotnak (26). Az érfalak simaizomrétege feloldódik,

ezáltal az erek sokkal tágabbá válnak. Ezen változások hatására a spirális artériák magas nyomású rezisztenciaerekből, alacsony nyomású kapacitáserekké alakulnak, ami a placentáris vérátáramlás növekedését eredményezi (31). Ez a folyamat a terhesség 20. hetéig többé-kevésbé végbemegy, így az anyai keringés elegendő vérrrel tudja ellátni a növekvő intervillózus teret. Placentáris praeclampsziában a citotrofoblasztok inváziója valamilyen (immunológiai, genetikai) úton gátlás alá kerül, ezáltal a spirális artériák átalakulása nem megy végbe megfelelően, az uteroplacentáris keringés nyomása magas, kapacitása túl alacsony marad (22). A placentáris hipoperfúzió és iszkémia számos további, a PE-ra jellemző kórélettani folyamat elindítója.

A kapilláris hálózat a 26. terhességi hétig folyamatosan sűrűsödik. Ezt követően, a terhesség végéig, a chorionbolyhban történő érképződés a nem elágazódó erekre korlátozódik, mivel az érett bolyhok kevés elágazódással rendelkező kapilláris hálózatot tartalmaznak (27). Ebben a fázisban a placenta által termelt két meghatározó angiogenetikus faktor a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) és a placentáris növekedési faktor (PlGF). A VEGF nagy affinitású endotélsejt receptorához (Flt1) kötődve indukál angiogenezist (32). Kimutatták továbbá, hogy hozzájárul az endotélsejtek stabilitásához is (33), és jelenléte különösen fontos a méhlepényben többségben lévő, fenestrált szinuszoidális endotélium élettani működéséhez (34). A VEGF inaktivációja embrionális korban letalitáshoz vezet, és a placenta érrendszerének jelentős károsodásával jár (35). A placentáris növekedési faktornak eddig négy izoformája ismert (PlGF-1 – 4) (36). Termelésében főszerepet a szinciciotrofoblasztok játszanak, amelyek közvetlen kapcsolatban állnak az anyai keringéssel (37). A PlGF a VEGF-hez hasonlóan az Flt1 receptorhoz kötődik (38). Érdekes módon, annak ellenére, hogy jelentős pro-angiogenetikus hatással bír, génkiütött egerekben nem jön létre placentáris, ill. embrionális vaszkuláris eltérés (39).

1.2.1.2. Keringő angiogenetikus faktorok szerepe praeclampsziában

Praeclampsziában a méhlepény által termelt anti-angiogenetikus faktorok felhalmozódása a keringésben hozzájárul az anyai endoteliális diszfunkcióhoz és ezzel a PE klinikai tüneteinek kialakulásához. E faktorok közül a legnagyobb jelentőséggel bírónak a szolubilis Flt1 (sFlt1) és a szolubilis endoglin (sEng) tűnnek (40-43).

Koncentrációjuk emelkedése már a klinikai tünetek kialakulása előtt megfigyelhető, és mértéke összefüggést mutat a kórkép súlyosságával (40, 42, 44-46). Az sFlt1 az Flt1 receptor csonkolt változata, melyből hiányzik a transzmembrán és citoplazmatikus régió (47). Az egészséges terhességhez viszonyított termelés-fokozódás nagyjából a PE klinikai tüneteinek megjelenése előtt öt héttel kezdődik (42). Az sFlt1 a keringő VEGF és PlGF megkötésén keresztül az endotélsejtek osztódásának és homeosztázisának zavarához vezet (47, 48), ezeken kívül érösszehúzó hatással is rendelkezik. Terhes patkányokba sFlt1-et juttatva PE-ra jellegzetes eltéréseket (hipertónia, proteiunuria, glomeruláris endoteliózis) tapasztaltak (41). Rosszindulatú daganatos betegségben szenvedő betegek VEGF gátlókkal történő kezelése szintén a PE-ra jellemző mellékhatásokkal járt (49). In vitro kísérletben kimutatták, hogy praeclampsias nők vérplazmájához sFlt1 elleni antitestet adva megszüntethető annak anti-angiogenetikus hatása (48). Az emelkedett sFlt1 szintek magyarázattal szolgálhatnak a PE fokozott kockázatára mola terhességben (50) és ikerterhességben (51). A közelmúltban az sFlt1 számos variánsát fedezték fel. Praeclampsias betegekben az sFlt1-14 altípus mennyisége növekszik meg drámaian. Ez a típus specifikus az emberi fajra és főként degeneratív szinciciotrofoblasztok csoportjai, az ún. trofoblaszt csomók termelik (52). Számos mechanizmust feltételeztek az sFlt1-termelés szabályozásának hátterében (lepényi hipoxia, genetikai rendellenesség, oxidatív stressz, gyulladás), de eddig egyiket sem sikerült bebizonyítani (39).

A szolubilis endoglin szérumkoncentrációja szintén már hetekkel a tünetek kialakulása előtt megemelkedik PE-ban (40), és az sFlt1-gyel együtt hozzájárul az endoteliális diszfunkció létrejöttéhez (43). Hatását a keringő transzformáló növekedési faktor β (TGF- β) megkötésén és antagonizálásán keresztül fejtí ki (33). Állatkísérletekben az sFlt1-gyel és sEng-nel egyszerre történő kezelés a PE súlyos formájához, HELLP szindrómához hasonló állapotot hozott létre (43). Mai tudásunk szerint úgy tűnik, hogy a keringő anti-angiogén faktorok, mint az sFlt1 és a sEng központi szerepet játszanak a PE patogenezisében, ennek ellenére nem valószínű, hogy egyedül felelősek a betegség kialakulásáért.

1.2.1.3. Az sFlt1 és PIGF szintek meghatározásának klinikai jelentősége praeclampszában

Számos közlemény számolt be emelkedett sFlt1 szintekről praeclampsziás terhességben (41, 42, 44-46, 53-57). Az első trimeszterben és a második trimeszter elején a különbség még nem jelentős azok között, akiknél a későbbiekben PE alakult ki, ill. akik terhességük végéig egészségesek maradtak. A szérumszintek eltérése a klinikai tünetek kialakulása előtt kb. öt héttel válik kimutathatóvá, a különbség a legtöbb tanulmány szerint kettő-négyszeres. A szerzők egyetértenek abban, hogy minél magasabb az sFlt1 koncentráció, annál valószínűbb praeclampszia kialakulása, illetve fennállása. A keringő szabad PIGF szint szignifikánsan alacsonyabb praeclampszában (41, 42, 54, 57-65), ami minden valószínűség szerint a magas koncentrációban jelen lévő sFlt1-hez történő kötődés következménye, és nem a csökkent placentáris produkcióból fakad. A szérum PIGF koncentráció csökkenése már a PE klinikai tüneteinek megjelenése előtt 9-11 héttel észlelhető, azonban csak öt héttel korábban válik markánsná. A klinikai tünetek kialakulása körüli időszakban a szérumszintek a legtöbb tanulmány szerint négy-ötször alacsonyabbak, egészséges terhességhez viszonyítva. Sunderji és mtsai az sFlt1 szérumszinteket illetően 37,9-szeres, a PIGF szintek esetén 37,3-szoros különbséget találtak a diagnózist követően vett vérmintákban (66). Érdekes módon, krónikus magas vérnyomásban szenvedő terhes nők sFlt1 és PIGF szintjei nem különböztek jelentősen az egészséges terhesektől, ami alapján ezek a markerek hasznosak lehetnek e betegeknek a praeclampsziásktól történő elkülönítésében. Ezt a megfigyelést Woolcock és mtsai is alátámasztották (55).

A fenti eredmények alapján értelemszerűnek tűnik, hogy a két marker kombinációban történő mérése, és az sFlt1 / PIGF hányados számolása a diagnosztikus hatékonyság javulásához vezet. E paraméter határértékének megállapításában még nem született konszenzus, az egyes vizsgálatok eltérő cut-off értékeket találtak legmegfelelőbbnek. Általánosságban elmondható, hogy a klinikai tünetek megjelenése körüli időszakban, 90% körüli szenzitivitás értékekhez 95% körüli specificitás tartozott. Többen próbálkoztak e paramétert további faktorokkal (sEng, PAPP-A, PP-13, arteria uterina flow) kombinálni, azonban ezekkel nem értek el jelentős javulást a prediktív és diagnosztikus pontosságban. Összefoglalásként elmondható, hogy az angiogenetikus

faktorok anyai keringésben történő meghatározása minden valószínűség szerint a praeclampsia előrejelzésének és diagnosztikájának szerves részét fogja képezni a jövőben.

1.2.2. A praeclampsia immunológiai háttere

A keringő angiogenetikus faktorok mellett a PE patogenezisének megértésére irányuló legintenzívebb kutatások az immunológiai háttér tisztázására történnek. Az immunrendszer zavara, egészséges terhességre jellemző működésétől való eltérése, feltételezések szerint mind elsődleges, oki, mind másodlagos, következményes patogenetikai folyamatok alapját képezi. Terhesség alatt, az anyai-magzati határfelületen, az immunrendszer (főként az öröklött immunrendszer) elemei nagy mennyiségben vannak jelen. Szerepük a beágyazódás és a placentáció elősegítése mellett, a magzattal szembeni immuntolerancia kialakítása (67). Fiziológiás terhesség során az anyai immuntolerancia létrejötte nélkülözhetetlen a magzat immunológiai rejekciójának elkerülése érdekében. Ennek kialakulását segíti elő Th1 típusú immunválasz Th2 típusúra történő váltása (Th1-Th2 shift). Praeclampszában ez a váltás nem történik meg, az anyai immuntolerancia nem alakul ki megfelelően (68). A háttérben álló igen összetett szabályozás bármely részfolyamatának kisiklása jelentős következményekkel járhat a terhesség további alakulására nézve.

1.2.2.1. Anyai citokinek szerepe praeclampszában

Számos tanulmány beszámolt az egészséges terhességre jellemzőtől eltérő anyai citokin szintekről PE-ban. Az egészséges terhességben is megfigyelhető alacsony fokú, szisztémás, citokin-mediált gyulladásos reakció PE-ban igen kifejezett (69), jellemző a Th2-predominancia hiánya, és így a Th1-típusú immunitás és a pro-inflammatorikus citokinek előtérbe kerülése (68). Az anyai keringésben megemelkedik az IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , IFN- γ , és C-reaktív protein (CRP) szint (70-77). Ezzel szemben a placentában, a decíduális limfocitákban, és a perifériás mononukleáris sejtekben történő anti-inflammatorikus IL-10 termelés lecsökken (78-80). A pro-inflammatorikus citokinek, köztük az IL-6 szintjének emelkedése a magzatvízben és az anyai szérumban

már a terhesség közepétől megfigyelhető azoknál, akiknél később PE alakul ki (75, 81). E faktorok közrejátszhatnak a trofoblasztinvázió elégtelenségében is, mivel pl. a TNF- α -ról és az IFN- γ -ról kimutatták, hogy gátolják a trofoblasztmigrációt és direkt citotoxikusak (82-84).

1.2.2.2. Placentáris apoptózis és az anyai keringésben található placentáris törmelék szerepe a praeclampsia patogenezisében

A placentában végbemenő folyamatos apoptózis élettani terhességben is megfigyelhető jelenség, főként a harmadik trimeszterben (85). Praeclampsiaival szövődött terhességben a trofoblasztok fokozott pusztulását figyelték meg (86, 87), ami több patogenetikai folyamatot indukálhat. Egyrészt, koraterhességben, a trofoblasztinvázió elégtelenségén keresztül megakadályozhatja a spirális artériák megfelelő átalakulását (88, 89). Másrészt, a terhesség második felében, a placentáris iszkémia, hipoxia és oxidatív stressz következtében létrejövő kiterjedt károsodás nagy mennyiségű proinflammatorikus citokin, lipidperoxidációs termék és placentáris törmelék (szinciciotrofoblaszt mikorfragmentumok, citokeratin, magzati DNS és RNS, egész trofoblaszt sejtek) anyai keringésbe jutásához vezet (90). Előbbiek közvetlen gyulladáskeltő hatásúak, míg utóbbiak idegen antigén jellegük következtében indukálnak kifejezett, szisztémás gyulladásos választ az anyai szervezetben (69, 91, 92). Az elmúlt évtizedben számos közlemény számolt be a magzati sejtek és magzati szabad DNS anyai keringésben megfigyelt mennyiségi növekedéséről PE-ban (93).

1.2.2.3. Az immunsejtek szerepe praeclampsiaiban

A makrofágok képviselik a deciduális fehérvérsejt-populáció 20-30%-át (94). Nem képesek dendritikus sejté történő átalakulásra, és folyamatosan anti-inflammatorikus citokineket (pl. IL-10) szekretálnak (95). Alapvető szerepet játszanak a decida homeosztázisának fenntartásában és a trofoblasztműködés szabályozásában. Az angiogenetikus folyamatok szabályozásában is központi helyet foglalnak el VEGF, mátrix metalloproteináz, TGF- β , FGF, fibronectin, osteopontin és kollagén termelésük által (96). A makrofágok felelősek az elpusztult sejtek eltakarításáért, de képesek a

feleslegessé vált sejtek apoptózisának indukálására is (97). Kis mennyiségű apoptotikus törmelék Th2-citokin termelést indukál bennük, míg a praeclampsiára jellemző nagy mennyiségű elhalt sejtmadvány pro-inflammatórikus (TNF- α , IFN- γ) választ provokál (84). Ez egy öngerjesztő folyamattá válik, ami gátolja a trofoblasztinváziót (98) és további nagy mennyiségű trofoblaszt elpusztulásához vezet (97).

A természetes ölösejtek (NK-sejtek) lokális jelenléte és megfelelő aktivációja szintén elengedhetetlen az egészséges terhesség kialakulásához. E sejtek koraterhességben felhalmozódnak a beágyazódás helyén, és segítik az invazív trofoblasztok működését (99). A makrofágokhoz hasonlóan, VEGF és PlGF termelésükkel szerepet játszanak az angiogenezis és a spirális artériák remodellingjének szabályozásában (100). Emellett még számos citokint termelnek, köztük olyanokat is, amelyek a trofoblasztokat gátolják. Az NK-sejtek működésének zavarát is feltételezték a PE hátterében, miszerint nem megfelelő aktivációjuk következtében a trofoblasztok ellen fordulnak, ezzel a megfelelő élettani folyamatok végbemenetelét megakadályozva (101).

A decíduális immunsejtek között kb. 10%-ban fordulnak elő a T-sejtek (102), ezek nagy részét a CD3⁺ T-limfociták alkotják (103). Ezek Th1 és Th2 irányú differenciációra is képesek (102). A Th1 sejtek főként pro-inflammatórikus citokineket termelnek (IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IL-15, IL-18, IFN- γ , TNF- α), ezzel erős sejt-közvetített immunválaszt előidézve (104). A Th2 sejtek citokintermelésükkel (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, granulocita-monocita kolóniastimuláló faktor (GM-CSF)) főként a humorális immunreakciót szabályozzák (104). A Th2-típusú citokineket azonban nagyobb részben nem limfoid szövetek, főként a placentáris-decíduális sejtek, azon belül is leginkább a trofoblasztok termelik (105). A feto-maternális egység védelmének érdekében a terhesség alatti citokintermelést Th2 predominancia jellemzi, ami elnyomja a citotoxikus T-sejtek magzatot és a trofoblasztokat károsító Th1-es típusú immunválaszt (106). Praeclampsiában eddig nagyrészt ismeretlen okból a citokin-mintázat e jellegzetes eltolódása nem megy végbe, a Th1 predominancia fennmarad (68, 104). Az ennek következtében létrejövő kifejezett szisztémás gyulladásnak fontos szerepet tulajdonítanak a PE patogenezisében (69).

1.2.3. Az oxidatív stressz és endotél-diszfunkció szerepe a praeclampsia patogenezisében

A placentáris oxidatív stressz fontos etiopatogenetikai tényezőnek tűnik a PE kialakulásában. Terhesség alatt a szabadgyökök első számú forrásai a placentáris mitokondriumok. A hibás placentáció következményeként károsodott uteroplacentáris keringés hatására, a méhlepényben iszkémia lép fel, ami hozzájárul nagy mennyiségű reaktív oxigén szabadgyök (ROS) képződéséhez (107). Ezzel szemben a ROS-t semlegesítő glutation és szuperoxid-diszmutáz placentáris mennyiségének csökkenését figyelték meg PE-ban (108). A szabadgyökök megtámadják a sejtmembrán foszfolipid komponenseit, és a többszörösen telítetlen zsírsavakkal reagálva a sejtfunkciót károsító lipid-peroxidokat képeznek. Ez a mechanizmus feltehetően a praeclampsia jellegzetes endotél-diszfunkció kialakulásában is központi szerepet játszik (109). A malondialdehid (MDA) a lipid-peroxidációs folyamatok másodlagos terméke. Placentáris és keringő koncentrációja emelkedett PE-ban, egészséges terhességhez képest. Ezzel a perifériás MDA szint az oxidatív stressz mértékének megbízható jelzője, ami összhangban áll a betegség klinikai súlyosságával (110-113).

Régóta feltételezik, hogy a praeclampsia patogenezisében kulcsszerepet játszik a vaszkuláris endotélium szisztémás működészavara, sérülése (114). Habár mára egyre több tényezőről igazolódni látszik, hogy az endotélsejtek károsításáért felelős PE-ban (pl. anti-angiogenetikus faktorok, fokozott oxidatív stressz), a kép még mindig nem állt össze teljes egészében. Számos markert vizsgáltak már, hogy az endotélkárosodás mértékét, és ezzel a betegség súlyosságát nyomon lehessen követni. E markerek közül az egyik legmegbízhatóbbnak a fibronektin bizonyult. Ez a fehérje eredetileg a vaszkuláris endoteliális bazális membránban helyezkedik el, ahonnan az endotélsejtek sérülésekor felszabadul és a keringésbe kerül. A fibronektin-szint emelkedése praeclampsiaiban, feltehetően szoros összefüggésben van az endotélkárosodás kiterjedtségével (115-117). Az endotéliumot jellemző másik eltérés praeclampsiaiban az endotélsejtek szisztémás aktivációja. Ennek egyik megbízható szérummarkere az általuk termelt von Willebrand faktor antigén (VWF:Ag) (118, 119).

1.2.4. A vasanyagcsere változásai praeclampsziában

A PE patogenezisének tanulmányozása során a vasháztartás változásait is többen vizsgálták. Kimutatták, hogy PE-ban, élettani terhességhez viszonyítva a plazma vas-koncentráció, ferritin-szint és transferrin-szaturáció emelkedett, míg a teljes vaskötő-kapacitás, a nem szaturált vaskötő-kapacitás és az apotranszferrin szint csökkent (120, 121). Mivel a vas a Fenton-reakción keresztül képes reaktív oxigén gyökök (ROS) képzésére, egyes feltételezések szerint az élettaninál magasabb vaskoncentráció, a lipidperoxidáció és endotélsejt-sérülés fokozásán keresztül hozzájárulhat a PE patogeneziséhez (121). A megnövekedett plazma vaskoncentráció azonban ellentétben áll a PE-ban zajló generalizált gyulladással. Számos eredmény és általános klinikai tapasztalat támogatja azt az elgondolást, miszerint krónikus gyulladásban csökken a vas hozzáférhetősége, ami akár gyulladás által indukált anaemiát is eredményezhet (122). Ezek alapján, inkább a plazma vaskoncentráció csökkenését várnánk PE-ban, a megfigyelt növekedés helyett. Ezen ellentmondás magyarázatának megtalálásához további vizsgálatok szükségesek.

1.3. A vizsgált markerek jellemzői

1.3.1. Az osteopontin szerkezete és funkciói

Az osteopontin (OPN) egy 70 kDa molekulásúlyú glikoprotein. Először a csont extracelluláris mátrixának alkotóelemeként írták le (123). Azóta bebizonyosodott, hogy számos sejttípus képes expressziójára. A T-limfociták érésük korai fázisában szintén szekretálják, ezért korai T-limfocita aktivációs fehérjének is nevezik (ETA-1) (124). Részt vesz a gyulladással kapcsolatos folyamatok kialakításában, Th1-típusú proinflammatorikus citokinként viselkedik (125). Ezenkívül az OPN az endotéliumban, vaszkuláris simaizom-sejtekben (VSMC) és más immunsejtekben (makrofágok, neutrofil granulociták, dendritikus sejtek, NK-sejtek, B-limfociták) is termelődik (126, 127). Sérülésre adott, illetve gyulladással válasz során számos szervben (szív, vese, tüdő, csont, központi idegrendszer, bélrendszer, ízületek, máj, zsírszövet), valamint daganatokban is fokozott expresszióját figyelték meg (127-129). Receptorai közé

különböző integrinek és a CD44 receptor tartoznak (130, 131). E receptorok számos sejtfunkciót szabályoznak (adhézió, migráció, túlélés), különféle sejteken. Ezáltal az OPN is sok élettani és patológiás folyamat regulációjában szerepet játszik, úgymint sebgyógyulás, csont-turnover, daganatképződés, iszkémiára adott reakció és az immunválasz. Kimutatták, hogy az OPN jelen van az endometriumban, ahol decidualizáció-jellegű folyamatot indukál terhességben (132). Az uteroplacentáris határfelületen részt vesz a sejtadhézióban és a jelátvitelben (133). Az OPN humán placenta trophoblastjaiban történő expresszióját szintén megfigyelték, és in vitro kimutatták, hogy képes a trophoblastok invazivitásának fokozására (134). Az OPN szerepet játszik fiziológus folyamatok irányításában, mint például az embrió implantációjában és a placentációban (133). Emellett számos, krónikus gyulladással járó és autoimmun betegség, valamint rosszindulatú daganat biomarkereként azonosították (135-140).

Az OPN lokális túltermelődését és emelkedett plazmakoncentrációját figyelték meg az aorta, a koronáriák és az arteria carotis ateroszklerózisában (141-145). Kimutatták, hogy az OPN az ateroszklerotikus plakk komponense, és szerepet játszik az arteriális neointima képzésében és az érfalak disztrófiás kalcifikációjában (146). Mindezek az OPN jelentőségét mutatják az ateroszklerózis krónikus gyulladós folyamatának fenntartásában és a plakk-képződésben. Az ateroszklerózisban és a praeclampszában számos rizikófaktor (obesitás, diszlipidémia, inzulin-rezisztencia) és patogenetikai jellemző (gyulladás, oxidatív stressz és endotél-sérülés) közös. Ezenfelül, azok a gravidák, akikben PE alakul ki, későbbi életük során fokozott kockázatnak vannak kitéve ateroszklerózis és egyéb kardiovaszkuláris betegségek tekintetében (10). Széleskörű regulációs aktivitását tekintve véve, jogosnak tűnik a feltevés, hogy az OPN esetleg szerepet játszhat a PE patogenezisében.

1.3.2. A hepcidin szerkezete és funkciói

Praeclampsziára magas keringő vas szintek és krónikus gyulladós állapot jellemzőek, melyek látszólag egymásnak ellentmondanak. A vashomeosztázis és gyulladás közötti diszkrépancia feloldása a hepcidin lehet. Ez egy nemrégiben felfedezett fehérje, melyet első sorban – bár nem kizárólag – a hepatociták termelnek

(147). Érett, bioaktív formája 25 aminosavból áll. Emellett a szérumban kimutathatóak rövidebb izoformák is, ezek biológiai jelentősége azonban még ismeretlen (148). A hepcidin a plazma vas szintjének negatív regulátora. E hatását több útvonalon keresztül hozza létre. Egyrészt, a bélből történő vasfelszívódást gátolja. Másrészt a ferroportin nevű transzportfehérje degradációját és internalizációját indukálva, az enterocitákból és makrofágokból a keringésbe történő vasfelszabadulást akadályozza meg (149). Egyéb a vasanyagcserében szerepet játszó proteinekhez hasonlóan, a hepcidin is részt vesz az immunrendszer szabályozásában, akut fázis fehérjeként viselkedik. Expresszióját számos faktor szabályozza. Elsődleges triggerei az akut gyulladáshoz vezető szignálok, mint az interleukin-1 α (IL-1 α) és interleukin-6 (IL-6), valamint a magas vaskoncentráció (147, 150). Termelődését a hipoxia, a fokozott eritropoézissel járó állapotok, az anaemia és a kiürült vasraktárak gátolják (147).

A hepcidin szintek megváltozását számos, főként vérképzőszervi és vasanyagcserével kapcsolatos betegségben észlelték. Tussing-Humphreys és mtsai a közelmúltban arról számoltak be, hogy a szisztémás hepcidin szint emelkedett elhízott premenopauzális nőbetegekben (151). Mint jól ismert, az elhízás a PE fontos rizikófaktora. Zaritsky munkacsoportja krónikus vesebetegségben szenvedők között mutattak ki emelkedett hepcidin-szinteket (152). Korábban egyetlen tanulmány sem vizsgálta a hepcidin koncentráció változásait PE-ban.

1.3.3. A szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor (suPAR) szerkezete és funkciói

A szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor (suPAR) egy nemrégiben felfedezett biomarker, amely egyre szélesebb körű alkalmazást nyer a szisztémás gyulladás monitorizálásában. A suPAR egy 60 kDa tömegű glikoprotein, az urokináz-típusú plazminogén aktivátor receptor (uPAR) keringő formája. Utóbbi egy glikozil-foszfátidilinozitol által a sejtmembránhoz horgonyzott fehérje, mely immunsejtek (monociták, aktivált T-limfociták, makrofágok) mellett számos egyéb sejt típuson (endotélsejtek, keratinociták, fibroblasztok, simaizomsejtek, megakariociták, tumorsejtek) is megtalálható (153-156). A vérplazmában, cerebrospinális folyadékban

és a vizeletben jelen lévő suPAR a membránhoz kötött uPAR hasadása és felszabadulása útján keletkezik (157).

Az immunrendszer aktivációjának fokozódása és a megnövekedett gyulladással válasz, a plazma suPAR szintjének megemelkedéséhez vezet. Ezt támasztják alá a virális, bakteriális és parazita fertőzések, valamint autoimmun betegségek esetében megfigyelt emelkedett suPAR-szintek. Az előbbi esetek mindegyikében kimutatták, hogy a suPAR koncentrációja pozitív irányú összefüggést mutat a kórkép súlyosságával, magasabb suPAR szintek rosszabb prognózist jeleznek (157-162). Több közlemény beszámolt arról, hogy a suPAR plazmakoncentráció korrelál egyéb gyulladással kapcsolatos markerekkel, úgymint a TNF- α (163) és a CRP (164) szintjeivel. A különböző betegségekben észlelt erős prognosztikus ereje alapján arra következtethetünk, hogy a suPAR szint pontosabban jelzi a szervezetben fennálló gyulladás súlyosságát, mint a klasszikus inflammációs markerek (CRP, TNF- α , IL-6) (157). Emellett a suPAR diagnosztikus hatékonyságát növelheti a molekula nagy stabilitása és szintjének cirkadián állandósága (163). Az azonban jelenleg nem tisztázott, hogy a suPAR a pro-inflammatorikus válasz létrehozásában működik-e közre, vagy szintjének emelkedése az immunrendszer aktivációjának következményes jelensége-e (157). Az keringő suPAR koncentrációkat praeeclampsziában eddig nem vizsgálták.

1.3.4. A trombospondin 1 szerkezete és funkciói

A trombospondin 1-et (TSP-1) az 1970-es évek elején fedezték fel és írták le először, mint egy, a trombin által aktivált trombociták felszínéhez kapcsolódó fehérjét (165). In vivo 420 kDa molekulatömegű homotrimerikus szerkezetű glikoproteinként fordul elő (166). A TSP-1 első leírása óta több, az ehhez a géncsaládhoz tartozó fehérjét izoláltak (TSP-2, TSP-3, TSP-4, TSP-5). A TSP-1 szerkezeti és funkcionális tulajdonságait tekintve a TSP-2-höz áll legközelebb, ezek alkotják az „A” alcsoportot.

Termelését és a keringésbe való szekrécióját első sorban aktivált vérlemezkék és endotélsejtek végzik (167, 168). Legmagasabb koncentrációja a trombociták α -granulumaiban figyelhető meg, ahonnan azok aktivációjakor szabadul fel (169). Emellett számos egyéb sejttípusban is kimutatták expresszióját in vitro, ami feltehetően a promotereiben található szérum-függő elemnek köszönhető. Szérummentes

sejtkültúrákban expressziója alacsony szintű, azonban növekedési faktorok (vérlemezkeregetű növekedési faktor (PDGF), transzformáló növekedési faktor β (TGF- β), fibroblaszt növekedési faktor (FGF)) hozzáadására hirtelen növekszik (170, 171). A p53 tumorszuppresszor fehérje, valamint gyulladáscsökkentő fehérjék (interleukin 1 β (IL-1 β), tumornekrózis-faktor α (TNF- α) szintén befolyásolják expresszióját (171, 172). Termelődése fokozódik stresszállapotok, úgymint hipoxia, vagy hő sokk hatására (172, 173). A humán endometriumban a progeszteron serkenti kifejeződését (174). A TSP-1 nagy mennyiségben termelődik az extracelluláris mátrix sérülését követően (175). Lebontása intra- és extracellulárisan történhet. Az érrendszerben, az aktivált trombocitákból kiszabadult, és a fibrinrögökbe beépült TSP-1, a trombin és a XIIIa faktor szubsztrátja (172). Sejtekbe történő felvételét és következményes lizoszómális degradációját proteoglikánok és az alacsony denzitású lipoprotein receptorhoz kapcsolt fehérje (LDL receptor-related protein) szabályozzák (176). A TSP-1 fehérjeszintjének regulációja tehát több útvonalon keresztül megy végbe, lehetővé téve ezzel a finom idő- és térbeli szabályozását.

A TSP-1 hatásai szintén sokrétűek. A von Willebrand faktorról és fibrinogénnel együtt, a TSP-1 hozzájárul a véralvadás szabályozásához, vérrögződéshez (177). Emellett a plazminogénhez és urokinázhoz való kötődése révén a fibrinolízisben is részt vesz (172). A gyulladáscsökkentő válasz keretében, a TSP-1 szerepet játszik a vérlemezkék és fehérvérsejtek közötti molekuláris hidak kialakításában (172), valamint az apoptotikus neutrofil granulociták makrofágok általi felismerésében (178). Mivel kapcsolódni tud a TGF- β -hoz, ezzel azt aktiválva, feltehetően további, indirekt hatásai is vannak az immunválaszra (179). Ezekon kívül a TSP-1 az angiogenezis jól ismert inhibitora és az apoptózis szabályozásában is részt vesz (180, 181). Receptorához, a CD47-hez való kötődésén keresztül, a TSP-1 gátolja a pro-angiogenetikus és értágító hatású cGMP-nek a nitrogén-monoxid (NO) által indukált termelését (182), ezáltal feltehetően részt vesz a vérnyomás szabályozásában is (183). Legfrissebb klinikai tanulmányok eredményei szerint, a TSP-1 proateroszklerotikus hatással is rendelkezik (184). Eddig korlátozott mennyiségű adat áll rendelkezésre a keringő TSP-1 szintek és kardiovaszkuláris betegségek összefüggéseiről.

1.3.5. A trombospondin 2 szerkezete és funkciói

A trombospondin 2 (TSP-2) egy 150 kDa molekulású glikoprotein, a trombospondin fehérjecsald "A" alcsoportjának a tagja. Multifunkciós fehérje, melyet 1991-ben fedeztek fel (185). Először az extracelluláris mátrix nem-strukturális, szabályozó elemeként írták le, ahol fő funkciója proteáz enzimek és növekedési faktorok aktivitásának és hozzáférhetőségének szabályozása (186). Kimutatták, hogy a TSP-2 termelődik az érfalakban is, és feltehetőleg az endotélsejtek szekretálják a vérkeringésbe (187-190). Ellentétben a TSP-1-gyel, a TSP-2 nem található meg a vérlemezkékben, kimutatható mennyiségben (191). A TSP-2 termelődését egyebek mellett a hipoxia is szabályozza (192). A TSP-2 számos sejtfunkció regulációjában részt vesz, úgymint a proliferáció, a motilitás, az adhézió és az apoptózis. Ezek által közreműködik az angiogenezis, a tumor növekedés és a sebgyógyulás folyamataiban (193).

Számos közlemény foglalkozott a TSP-2 anti-angiogenetikus tulajdonságainak vizsgálatával (190, 194-199). A fehérje tartalmazza az ún. 1-es típusú trombospondin domént (TSR), amiről *in vitro* kimutatták, hogy gátolja a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) által indukált sejt migrációt és éréződést (200, 201). Továbbá a TSP-2 csökkenti a vaszkuláris endotélsejtek proliferációját, és képes azok apoptózisának indukálására (194, 196, 202, 203). Egérmodelleken megfigyelték, hogy a TSP-2 korlátozza a sérülésre adott neovaszkularizációs választ (197, 204). TSP-2 génkiütött állatokban több szövettípusban is kimutatták a vaszkuláris denzitás növekedését, elhúzódó vérzési időt és a seb neovaszkularizációjának fokozódását (205). A TSP-2 anti-angiogenetikus hatása feltehetőleg több útvonalon jöhet létre. Elsőként, kötődése a CD36 sejt felszíni receptorhoz (195, 201, 206) az endotélsejtek apoptózisát indukálja, valószínűleg tirozin-kináz, p38 – MAP kináz és kaszpázok jelátviteli útvonalainak aktiválásával (201). Ezek mellett a TSP-2 és különböző növekedési faktorok, proteázok, hisztidinben gazdag glikoproteinek és egyéb sejt felszíni receptorok interakciója szintén szerepet játszhat az angiogenezis szabályozásában (203, 207).

Eddig kevesen vizsgálták a TSP-2 jelentőségét kardiovaszkuláris, immunológiai és gyulladási betegségekben. Praeclampsziában eddig nem tanulmányozták mennyiségét az anyai keringésben.

2. Célkitűzések

1. Az osteopontin (OPN) egy multifunkciós fehérje, amely szerepet játszik élettani és kórélettani folyamatok szabályozásában egyaránt. Terhességben feltehetően közreműködik a méhlepény fejlődésének irányításában. Emellett immunreakciók szabályozása révén szerepet játszik a krónikus gyulladás kialakulásában és fenntartásában. Keringő szintjének emelkedését kimutatták több olyan szív-érrendszeri betegségben, amelyek a praeclampsiával közös rizikófaktorokkal rendelkeznek. Céлом volt annak vizsgálata, hogy különbözik-e az OPN szintje a vérkeringésben, PE-ban szenvedő és egészséges terhes nők között. Vizsgáltam továbbá, hogy van-e összefüggés az OPN-szint és a PE egyéb patogenetikai folyamatainak (szisztémás gyulladás, endotélaktiváció és -sérülés, oxidatív stressz, megnövekedett keringő placentáris törmelék) markerei között.
2. Praeclampsiára jellemző a generalizált, szisztémás gyulladásos reakció. Emellett a vasanyagcserében fellépő változásokról is beszámoltak e betegségben. A hepcidin egy, a vasháztartás szabályozásában kulcsszerepet játszó molekula, mely pro-inflammatórikus tulajdonsággal is rendelkezik, akut-fázis fehérjeként működik. Vizsgáltam, hogy változik-e a hepcidin plazmakoncentrációja praeclampsiában, illetve, hogy mutat-e összefüggést a vasháztartás szabályozásában szerepet játszó egyéb faktorok, továbbá más, pro-inflammatórikus markerek koncentrációjával.
3. Praeclampsiában, a gyulladásos reakció keretében, megnövekszik a vérkeringésben kimutatható pro-inflammatórikus citokinek szintje. A szolubilis urokináz plazminogen aktivátor receptor (suPAR) egy nemrégiben felfedezett biomarker, amely egyre szélesebb körű alkalmazást nyer a szisztémás gyulladás monitorizálásában. Céлом volt annak vizsgálata, hogy van-e különbség a suPAR keringő szintjei között PE-ban és egészséges terhességben, és hogy mutat-e összefüggést olyan klasszikus gyulladásos fehérjékkel, mint a C-reaktív protein (CRP), vagy az interleukin-6 (IL-6). Vizsgáltam továbbá, hogy e markerekhez képest, milyen hatékonysággal jelzi a suPAR a szisztémás gyulladást PE-ban.

4. Fiziológias terhekre a véralvadási rendszer túlműködése (hiperkoagulabilitás) jellemző, továbbá növekszik az angiogenezist indukáló faktorok (PIGF, VEGF) szintje és egy alacsony fokú, szisztémás gyulladással alakul ki. Praeclampsziában ezek a folyamatok aktivitása az egészségestől eltérő. Az élettaninál kifejezettebb a véralvadás aktiválódása és a gyulladással válasz, míg az angiogenetikus faktorok szintje az érképződés gátlók (pl. sFlt1) irányába tolódik. HELLP-szindrómára a véralvadási rendszer kontroll nélküli működése, olykor teljes összeomlása jellemző. A trombospondin 1 (TSP-1) egy multifunkcionális fehérje, melyet főként aktivált vérlemezkék és endotélsejtek termelnek. Részt vesz a véralvadás aktiválásában, vérrögképződésben, emellett kifejezett anti-angiogenetikus és immunmoduláns hatással is rendelkezik. Vizsgáltam, hogy különbözik-e a TSP-1 szérumszintje nem terhes állapotban, egészséges terheknél, praeclampsziában és HELLP-szindrómában, továbbá, hogy összefüggést mutat-e a betegek klinikai jellemzőivel e kórképekben.

5. A trombospondin 2 (TSP-2) szerkezetében és sok funkciójában hasonlóságot mutat a TSP-1-hez. Azzal ellentétben azonban, nem expresszálódik a trombocitákban és kisebb mértékben vesz részt a véralvadási folyamatokban. Ezzel szemben viszont, kifejezett anti-angiogenetikus hatással bír. A praeclampsia alapvető jelentőségű patogenetikai jelensége a keringő anti-angiogenetikus faktorok túlsúlya, a pro-angiogenetikusakkal szemben. Céлом volt annak megállapítása, hogy megváltozik-e a keringő TSP-2 szint praeclampsziában, egészséges terhes nőkhöz képest. Vizsgáltam továbbá egyéb, az angiogenezisben szerepet játszó faktorokkal (sFlt1, PIGF), illetve a betegek klinikai jellemzőivel való összefüggéseit.

3. Módszerek és vizsgálati csoportok

A vizsgálati alanyokat részletes tájékoztatás és tájékozott beleegyezést követően vontam be vizsgálataimba. A várandós nőket a Semmelweis Egyetem, I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán és a Kútvölgyi Klinikai Tömb Szülészeti és Nőgyógyászati Osztályán gondozták 2007 és 2011 között. A vizsgálatokat Magyarország azonos földrajzi területéről származó, kaukázusi rasszhoz tartozó, terhes és nem terhes nők vérmintából végeztük.

3.1. Beválasztási és kizárási kritériumok

A PE diagnózisát az előzőleg normotenziós nőkben, a 20. terhességi után észlelt magas vérnyomás (RR \geq 140 Hgmm szisztolés és / vagy RR \geq 90 Hgmm diasztolés érték, legalább két alkalommal, legalább 6 óra különbséggel mérve) és társuló fehérjeürítés (\geq 0,3g / 24 óra, vagy vizelet gyorstesztel \geq 1+) alapján állítottam fel. Minden, a vizsgálataimban résztvevő PE-s beteg esetében normalizálódott a vérnyomás a szülést követő 12 héten belül. A PE-t súlyosnak tekintettem, amennyiben az alábbi kritériumok közül legalább az egyik jelen volt: szisztolés vérnyomás \geq 160 Hgmm vagy diasztolés vérnyomás \geq 110 Hgmm, proteinuria \geq 5g/24 óra vagy \geq 3+ tesztsíkkal, oliguria (vizeletürítés < 500 ml/ 24 óra), központi idegrendszeri zavarok, látászavar, tüdőoedema vagy cyanosis, epigastriális vagy jobb bordaív alatti fájdalom, májenzim értékek emelkedése, trombocitopénia, magzati növekedési ratrdáció (IUGR). Korai kezdetű praeclampiát diagnosztizáltam, amennyiben a hipertónia és a proteinuria a 34. betöltött terhességi hét előtt együttesen fennállt. A HELLP-szindróma csoportba azon terhes nőket soroltam, akiknél a trombocitaszám 150G/L alatti, a szérum AST szint 70 U/L feletti és a szérum LDH szint 600 U/L feletti volt. Minden HELLP-szindrómás terhes nő egyben súlyos praeclampiában is szenvedett. A HELLP szindróma súlyosság szerinti beosztását a Mississippi-klasszifikáció szerint végeztem; súlyos (I. kategória: trombocytaszám \leq 50 G/l), középsúlyos (II. kategória: 51-100 G/l) és enyhe (III. kategória: 101-150 G/l)] csoportokat különítettem el. Kizáró tényezőként szerepelt a többes terhesség, krónikus hipertónia, autoimmun betegségek, angiopátia, vesebetegség, anyai vagy magzati infekció, illetve fetális kongenitális anomália.

Intrauterin magzati növekedési retardációt akkor állapítottam meg, ha a születési súly a gesztációs korra és nemre vonatkoztatott 10. percentilis alatt volt, a magyar születési súly-percentilis görbe alapján (208).

A kontrollcsoportba sorolt terhesek terhességük alatt mindvégig normotenzívek maradtak, és semmilyen kóros terhességi állapot nem alakult ki náluk. A terhes nők egyikénél sem állt fent rendszeres méhtevékenység és nem történt magzatburokrepedés a vérvételt megelőzően.

Az egészséges, nem terhes nők bevonása a rutin nőgyógyászati vizsgálaton jelentkezők közül történt. A vérvételre a menstruációs ciklus 5-7. napja között került sor. Az alanyok semmilyen krónikus, ill. akut betegségben nem szenvedtek, orális fogamzásgátló módszert nem alkalmaztak, és gyógyszert nem szedtek a vérvétel idején.

3.2. Mintavételek, minták tárolása

Minden vérvétel alkari vénából történt, natív, etilén-diamin-tetra-ecetsavval (EDTA), nátrium-citráttal, vagy lítium-heparinnal antikoagulált VacutainerTM kémcsövekbe. A vérvételt követően a mintákat azonnal, szobahőmérsékleten 3000 G relatív centrifugális erővel, 10 pecen át centrifugáltam. A plazma és szérum felülúszókat -80 °C-on tároltam a felhasználásig.

3.3 Statisztikai analízis

A statisztikai számításokat a STATISTICA (version 8.0; StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) és a „Statistical Package for the Social Sciences” (version 15.0 Windows-ra; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) szoftverek segítségével végeztem. A folyamatos változók normál eloszlását a Shapiro-Wilk-féle W-teszt segítségével vizsgáltam. Amennyiben a folyamatos változók normál eloszlásúak voltak, paraméteres, ellenkező esetben nem-paraméteres statisztikai módszereket használtam. Két csoport folyamatos változóinak összehasonlításához Student-féle t-próbát, illetve Mann-Whitney-féle U-tesztet alkalmaztam. Két csoport kategoriális változóinak összehasonlítását a Fisher-féle egzakt és a Pearson-féle χ^2 -próbák segítségével végeztem el. Korrelációs koefficiensek számításához a Pearson-féle korrelációs tesztet és a Spearman-féle rangkorrelációt

használtam. Több csoport átlagértékeinek összehasonlításakor egy utas varianciaanalízis tesztet (ANOVA), illetve Kruskal-Wallis-féle ANOVA tesztet végeztem. Post-hoc tesztként a Tukey-tesztet és a Mann-Whitney U-tesztet alkalmaztam. Többszörös (többváltozós) lineáris regresszióval a standardizált regressziós együtthatókat határoztam meg. Analíziseim során, a zavaró (confounding) változók hatását dichotom függő változó esetén többszörös (többváltozós) logisztikus regresszióval, míg, ha a függő változó folytonos volt, kovariancia analízissel (analysis of covariance (ANCOVA)) korrigáltam (adjusztáltuk). Amennyiben a függő változó nem normális eloszlást mutatott, logaritmikus transzformációs korrekciót alkalmaztam. A vizsgált paraméterek diagnosztikus effektivitását ROC-analízissel határoztam meg. Minden különbséget a $p < 0,05$ értéke esetén tekintettem statisztikailag szignifikánsnak. Az eredményeket folyamatos változók esetében medián (interkvartilis terjedelem – 25. és 75. percentilis) formában, míg kategorikus változók esetében esetszám (relatív gyakoriság - %) formában tüntettem fel.

3.4. A keringő osteopontin, CRP, malondialdehid, VWF:Ag, fibronektin és szabad magzati DNS koncentrációk mérése

3.4.1. Vizsgálati alanyok és anyagok

Eset-kontroll vizsgálatomba negyvennégy praeeclempsiás terhes nőt (ebből 19 súlyos formában szenvedő) és 44 életkorra és gesztációs korra illesztett normotenzíós egészséges, gravidát vontam be. Az esetszám megfelelő statisztikai erőt (power) biztosított (>80% 0,05 értékű I-es típusú hiba mellett) ahhoz, hogy a plazma OPN koncentrációk különbségeit detektáljam a vizsgálati és a kontroll csoport között, amelyet korábban coronaria artéria-betegség esetében (CAD) figyeltek meg (142). HELLP-szindrómában szenvedő betegek nem szerepeltek ebben a tanulmányban. A C-reaktív protein (CRP) koncentrációját szérummintákból határoztam meg. Az osteopontin (OPN), fibronektin, malondialdehid (MDA) és szabad magzati DNS (cffDNA) koncentrációk meghatározásához EDTA-val antikoagulált plazmamintákat használtam, míg a von Willebrand faktor antigén (VWF:Ag) szintjét citráttal antikoagulált plazmákban határoztam meg.

3.4.2. Mérési módszerek

A plazma OPN kvantitatív meghatározását a Human Osteopontin ELISA assay (DRG International, Inc., Mountainside, NJ, USA, Cat. No. EIA-3116) segítségével, a gyártói protokoll alapján végeztem. Az assay szenzitivitása 0,11 ng/ml, az intra- és interassay variációs koefficiens pedig < 5 %, illetve <10 % volt. A szérum CRP-koncentrációt a Cobas Integra 800 (Roche, Mannheim, Németország) alkalmazásával, a gyártó kitjével mértem. A detektálási szint alsó határa 0,07 ng/l volt. A plazma VWF:Ag koncentrációját ELISA (Dakopatts, Glostrup, Dánia) alkalmazásával, míg fibronektin koncentrációt nefelométerrel (Dade Behring, Marburg, Németország), a gyártó utasításai alapján mértem. Ezen tesztek szenzitivitása 6,16% illetve 0,01 g/l volt. A vérplazma tiobarbiturátsav-reaktív anyag koncentrációját Placer módszerével határoztam meg (209). A vizsgálati folyamat a 2-tiobarbiturátsav MDA-val, mint a lipidperoxidáció végtermékével, savas kémhatáson (pH=2,0) és magas hőmérsékleten (100 °C) való hozzáadásán alapult. Az assay-t 1,1,3,3-tetraethoxy-propán alkalmazásával kalibráltam (Fluka, Buchs, Switzerland), az MDA forrásaként. Az MDA vérplazma koncentrációját mmol/ml plazmában számítottam. A meghatározás érzékenységi küszöbe 0,82 mmol/ml volt.

A anyai vérben lévő szabad magzati DNS mennyiségének meghatározása fiú magzatok esetében kvantitatív valós idejű polimeráz lánreakcióval (rtPCR), az Y kromoszóma nemi determináló régiójának (SRY) azonosításával, a korábban leírtaknak megfelelően történt (210). Röviden, a DNS-t 400 µl EDTA-val anticoagulált plazmából vontam ki, High Pure PCR TemplatePreparation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Németország) segítségével, a gyártó előírásai alapján. A DNS-t 50 µl elúciós-puffer oldattal mostam, és 1 µl-t használtunk mintaként a PCR-reakcióhoz. Az SYBR Green rtPCR analízishez a LightCycler 1.0 rendszert alkalmaztam (Roche Diagnostics, Mannheim, Németország). A vérkeringésben lévő fiú magzati DNS-t az SRY gén következő primereivel mutattam ki: előre 5'-GGC AAC GTC CAG GAT AGA GTG A-3', hátra 5'-TGC TGA TCT CTG AGT TTC GCA TT-3'. A PCR-vizsgálatot 1 ml DNS-t, minden amplifikációs primerből 2,5 pmol/l-t, 1 ml DNS Master SYBR Green I mixet (LightCycler FastStart DNS Master SYBR Green I kit: Taq-polimeráz, dNTP, MgCl₂) és 6 ml nukleázmentes vizet tartalmazó 10 ml reakciótérfogatban végeztem. A

PCR-reakció 40 ciklusban, az alábbi körülmények között zajlott: kezdő denaturáció 8 perc 95°C-on, 5 s-es denaturáció 95°C-on, 10 s-es annealing 60°C-on, 15 s láncszintézis 72°C-on, hűtés 48°C-ra. A plazmamintában jelenlévő cirkuláló DNS kópiaszámának meghatározásához egy standard hígítási görbét, férfi genomiális DNS ismert koncentrációjával használtam. Minden mintát duplán mértem. A detektálási szint küszöbe 1.5 pg/l volt.

3.5. A keringő hepcidin koncentrációk, gyulladáshoz kapcsolódó markerek és a vasanyagcsere paramétereinek vizsgálata

3.5.1. Vizsgálati alanyok és anyagok

30 praeeclampsziás és 37 egészséges várandós nőt választottam be eset-kontroll tanulmányomba. Minden résztvevő a terhesség alatt szokásos orális vaspótlásban részesült, vas(II)-szulfát formájában (30 mg/nap), a rutin perinatális ellátás keretében. A vérplazmát 6 ml térfogatú, lítium-heparinnal antikoagulált, éhomi vérmintákból nyertem (melyek a napi gyógyszerek bevétele előtt kerültek levételre, ideértve az orális vaspótlást is). A kvantitatív vérkép vizsgálatok EDTA-val antikoagulált vérmintákból történtek.

3.5.2. Mérési módszerek

A hepcidin koncentrációkat meghatározása tömeg-spekrofotométerrel történt, a Murphy által javasolt módosítások figyelembevételével (211). Röviden összefoglalva, a humán plazmát és 50 ng/ml belső standardot tartalmazó acetonitrilt vegyítettem 1:1 arányban. Tris(2-carboxyethyl)-phosphine-t alkalmaztam a minták redukálásához, majd iodoacetamidot adtam az SH-csoportok blokkolására. Az elegyet 7000 G-n, 5 °C-on, 10 percig centrifugáltam, 150 µl felülúszót transzferáltam 500 µL vizet tartalmazó Oasis HLB 30 µm µElution SPE lemezre (Waters Corporation, Milford, MA, USA). Az üregeket 500 µL vízzel öblítettem. Kimosáshoz 180 µl trifluor-ecetsav/víz/acetonitril (0,1/20/80 arányban) keverékét használtam. Az eluent 96-üregű polypropylen lemezre gyűjtöttem, és 20 °C-on száradásig párologtattam. A minta rekonstitúciójához 100 µl

vizes ecetsavat (0,5%) alkalmaztam, majd a mintákat HPLC-oszlopra oltottam [LiChroCART 55-2 Purospher STAR RP-18 endcapped (3 µm), Merck Chemicals, Darmstadt, Németország]. A lineáris grádiens elúciót A-eluens (0,5% ecetsav vízben) és B-eluens (0,5 % ecetsav acetonitril/methanol 3:1 arányú keverékében) használatával (0. perc: 95% A, 2 perc: 95% A, 12 perc: 5% A, 18 perc: 5% A) 200 µl/perces áramlási rátával végeztem. Tíz µl mintát injektáltam. A HPLC-rendszert egy tömegspektrofotométerhez kapcsoltam (Orbitrap Discovery XL, ThermoScientific, Waltham, MA, USA), amely a pozitív ion elektropray módban üzemelt. A módosított hepcidin dupla töltésű ionjait 30,000 FWHM nominális felbontású beállításban detektáltam.

Az IL-6 szintek meghatározásához a Roche Elecsys IL-6 kitet (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország) használtam, a 1,5-5000 pg/ml között értéktartomány mérésével. A teljes kvantitatív vérképben a vörösvértestek, fehérvérsejtek, vérlemezkék számát, vörösvértestek átlagos térfogatát (MCV), vörösvértestek átlagos haemoglobin-tartalmát (MCH), valamint a vörösvértestek átlagos haemoglobin-koncentrációját (MCHC) a Sysmes K4500 haematológiai automata analizátorral (GMI, Ramsey, MN, USA), Diagon-reagens alkalmazásával (Diagon Kft., Budapest, Magyarország) mértem. A plazma vas-, transferrin- és ferritin-koncentrációt, valamint a teljes vaskötő kapacitást (TVK) egy Olympus 2700 laboratóriumi automata analizátorral, és egy Olympus kit segítségével (Olympus Europa GmbH, Hamburg, Németország) mértem. A C-reaktív protein (CRP) koncentrációját a Roche Hitachi 912 eszköz használatával, a Roche Tina-quant CRP immuno-turbidimetriás assay alkalmazásával (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország) határoztam meg.

3.6. Keringő suPAR, CRP és IL-6 koncentrációk vizsgálata

3.6.1. Vizsgálati alanyok és anyagok

62 egészséges terhes és 41 PE-ás nőt vontam be retrospektív vizsgálatomba. A mérések során felhasznált vérplazmákat lítium-heparinnal antikoagulált éhomi vérmintákból nyertem, melyek reggel 7 és 9 óra között kerültek levételre.

3.6.2. Mérési módszerek

A plazma suPAR koncentrációt a suPARnostic Flex ELISA assay (ViroGates A/S, Birkerød, Dánia) segítségével mértem. Az IL-6 szintek meghatározásához a Roche Elecsys IL-6 kitet (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország) használtam. A CRP szinteket a Roche Hitachi 912 eszközzel, Roche Tina-quant CRP immun-turbidimetriás assay (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország) alkalmazásával mértem.

3.7. Keringő trombospondin 1 (TSP-1) koncentrációk mérése egészséges, praeclampsias és HELLP-szindrómás terhesekben

3.7.1. Vizsgálati alanyok és anyagok

Retrospektív eset-kontroll tanulmányomban, 45 korai kezdetű (EOPE), ill 43 késői kezdetű praeclampsias (LOPE) terhes nő, 21 HELLP-szindrómás beteg, 45 egészséges, szövődménymentes gravida (HP), valamint 20 nem terhes kontroll (NP) vett részt. A HELLP-szindrómás betegeket három csoportba osztottam a laboreredmények súlyossága szerint, a Mississippi- klasszifikáció alapján (212).

3.7.2. Mérési módszerek

A méréseket szérummintákban végeztem. A TSP-1 koncentrációkat enzimhez kapcsolt immunosorbens teszttel, (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, US, Cat. No. DTSP10) automatizált ELISA analizátorral (Elisys UNO, Human GmbH, Wiesbaden, Németország) mértem.

3.8. Keringő trombospondin 2, sFlt1 és PlGF koncentrációk mérése egészséges és praeclampsziás terhességben

3.8.1. Vizsgálati alanyok és anyagok

Eset-kontroll vizsgálatomba harmincöt praeclampsziás beteget (közülük 23-nál állt fenn súlyos forma és 18-nál korai kezdetű forma) és 35 egészséges, normotenziós, kontroll terhes nőt vontam be. HELLP-szindrómában szenvedő betegek nem szerepeltek ebben a tanulmányban. A méréseket szérum mintákból végeztem.

3.8.2. Mérési módszerek

A szérum TSP-2 szinteket enzimhez kapcsolt immunszorbens teszttel (ELISA, Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, USA, Cat. No. DTSP20) határoztam meg automata ELISA analízátor segítségével (Elisys UNO, Human GmbH, Wiesbaden, Germany). A teljes sFlt1 és biológiailag aktív PlGF koncentrációt elektrokemolumineszcens immunoassay technikával (Elecsys, Roche, Mannheim, Germany, Cat. No. 05109523 and 05144671, respectively), Cobas e 411 analízátorral (Roche, Switzerland) mértem.

4. Eredmények

4.1. Keringő osteopontin, CRP, malondialdehyd, VWF:Ag, fibronectin és szabad magzati DNS koncentrációk egészséges terhességben és praeclampszában

4.1.1. A vizsgálati csoportok klinikai jellemzői (1. táblázat)

1. táblázat A vizsgálati csoportok klinikai jellemzői

	Egészséges terhesség (n=44)	Praeclampsia (n=44)	Szignifikancia (p)
Életkor, év	30,5 (28–32,5)	29 (26–32,5)	NS
BMI, kg/m ²	26,1 (24,3–28,2)	29,9 (25,7–34,0)	<0,05
Dohányzás	0 (0%)	3 (6,8%)	NS
Primiparitás	27 (61,4%)	28 (63,6%)	NS
Szisztolés vérnyomás, Hgmm	112,5 (110–120)	169,5 (160–180)	<0,001
Diasztolés vérnyomás, Hgmm	70 (60–80)	100 (100–110)	<0,001
Terhességi kor vérvételkor	36 (36–37)	37 (35,5–38)	NS
Terhességi kor szüléskor	39 (38–40)	38 (36–38)	<0,001
Születési súly	3450 (3025–3550)	2900 (2225–3350)	<0,001
IUGR	0 (0%)	11 (25,0%)	<0,001

A táblázatban a folytonos változók esetében a mediánt és az interkvartilis terjedelmet, míg a kategoriális változóknál az esetszámot és a relatív gyakoriságot (%) tüntettem fel. BMI: terhesség előtti testtömeg index; IUGR: intrauterin növekedési retardáció; NS: nem szignifikáns

A vizsgálati csoportokban nem volt statisztikailag szignifikáns különbség a vérvételek idején az anyai életkorban és a gesztációs korban, valamint a dohányzók és a primiparák százalékos eloszlásában. A testtömeg-index (BMI) és a szisztolés és diasztolés vérnyomás értékek szignifikánsan magasabbak, míg a gesztációs kor a szülés idején és az újszülöttek születési súlya szignifikánsan alacsonyabb volt a PE-s csoportban a kontrollcsoporthoz viszonyítva. Magzati növekedési retardáció nem jelentkezett a kontroll betegek esetében, ezzel szemben a PE-s csoportban 25%-ban volt jelen.

4.1.2. Laboratóriumi eredmények

A keringő CRP, a VWF:Ag, fibronectin, MDA és szabad magzati DNS koncentrációk szignifikánsan magasabbak voltak a PE-ban szenvedő betegeknél a normotenziós, egészséges terhes nőkhöz viszonyítva. A plazma OPN-koncentrációk nem különböztek szignifikánsan a kontroll és a PE-s csoportban (**2. táblázat**).

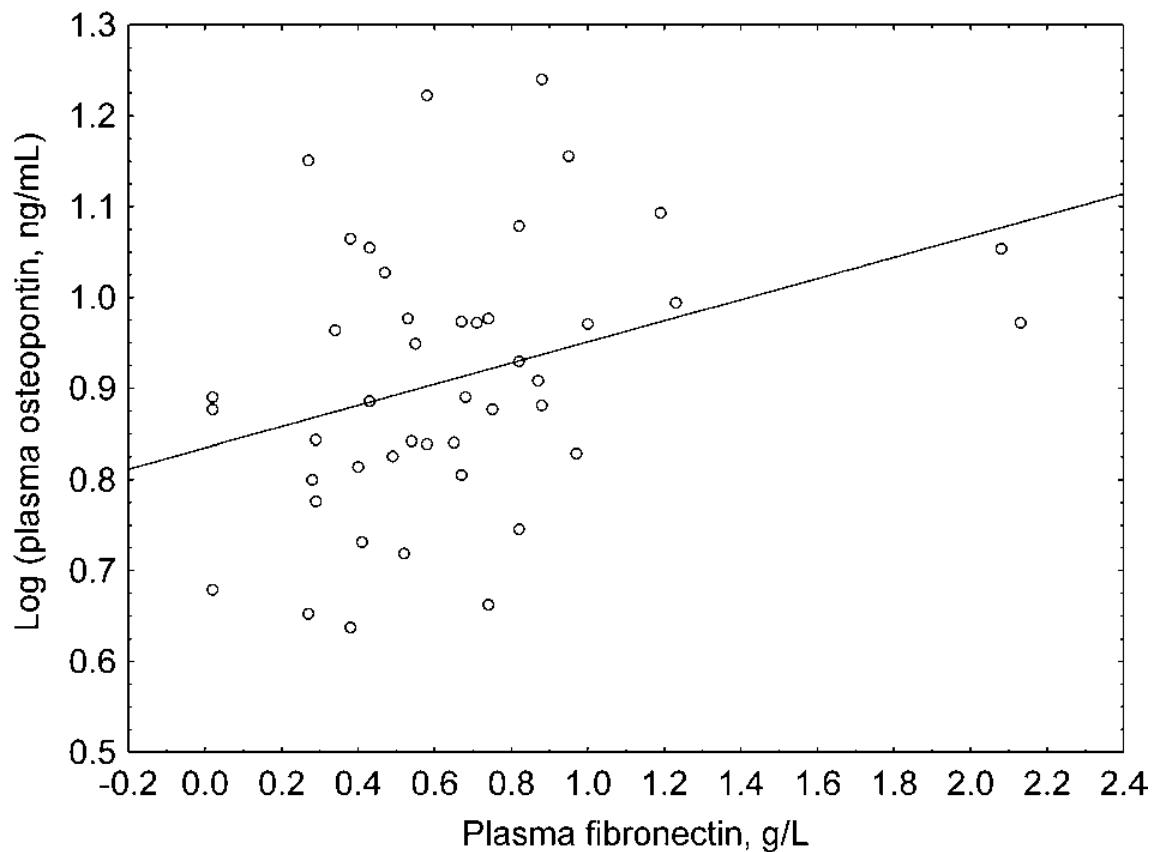
2. táblázat Szérum CRP, plazma VWF:Ag, fibronectin, malondialdehid, magzati DNS és osteopontin koncentrációk egészséges terhességben és praeclampsziában

	Egészséges terhesség (n=44)	Praeclampsia (n=44)	Szignifikancia (p)
Szérum CRP, mg/L	3,59 (1,68–7,40)	6,11 (1,92–12,12)	<0,05
Plazma VWF:Ag, %	148,4 (106,6–199,0)	183,0 (128,7–242,8)	<0,05
Plazma fibronectin, g/L	0,36 (0,32–0,47)	0,58 (0,39–0,82)	<0,001
Plazma MDA, nmol/mL	13,13 (8,38–18,61)	18,17 (14,98–20,31)	<0,05
Plazma magzati DNS, pg/mL	0,005 (0,0–0,178)	0,065 (0,034–0,267)	<0,05
Plazma OPN, ng/mL	7,40 (6,51–8,80)	7,77 (6,60–9,67)	NS

A táblázatban a folytonos változók esetében a mediánt és az interkvartilis terjedelmet tüntettem fel

CRP: C-reaktív protein; VWF:Ag: von Willebrand faktro antigén; MDA: malondialdehid; OPN: osteopontin; NS: nem szignifikáns

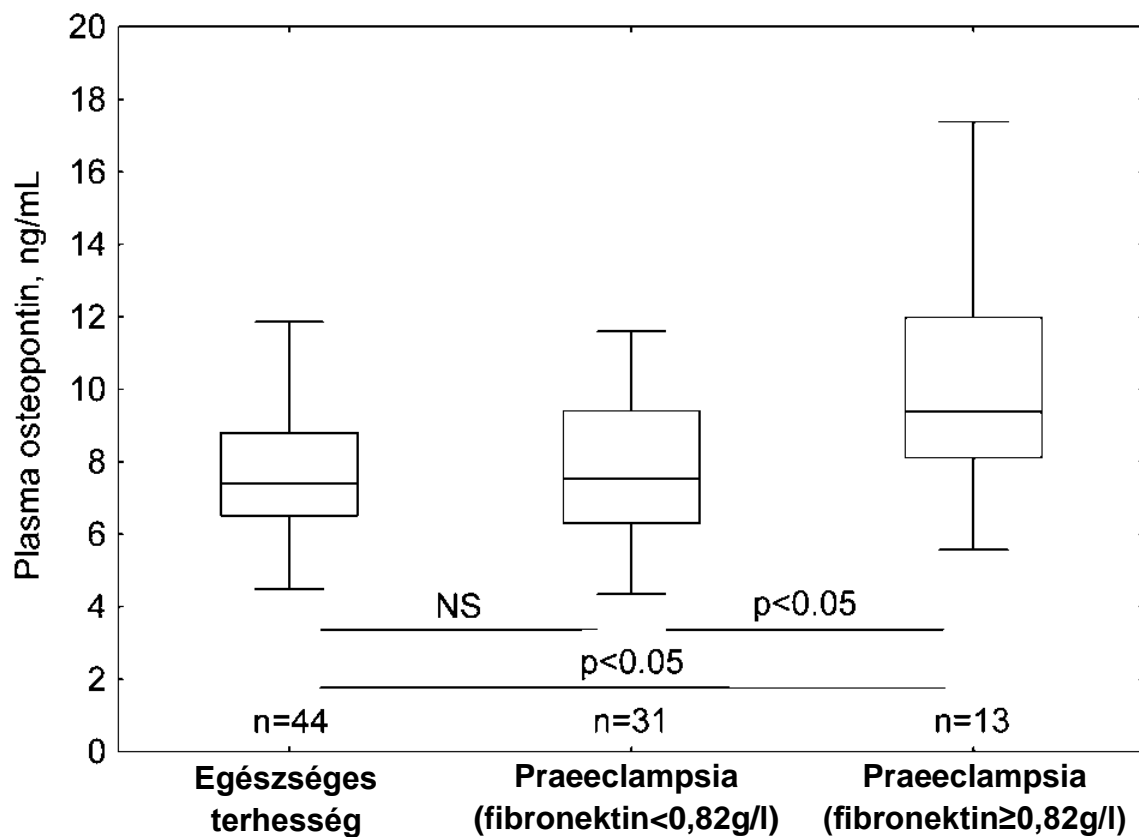
Megvizsgáltam, hogy a tanulmányban résztvevők klinikai jellemzői és laboratóriumi paramétereik összefüggést mutatnak-e a plazma OPN koncentrációkkal. Praeclampsziás betegekben a plazma OPN szignifikáns pozitív lineáris összefüggést mutatott a plazma fibronectin koncentrációival (Spearman $R=0,38$; $p<0,05$), még a BMI-re történő adjusztálást követően is (standardizált regressziós koefficiens (β)= $0,41$; $p<0,05$), **1. ábra**. További összefüggéseket nem találtam a vizsgálatban résztvevők klinikai jellemzői, valamint a vizsgált laboratóriumi paraméterek (szérum CRP, plazma VWF:Ag, MDA és szabad magzati DNS) és a plazma OPN koncentrációk között, sem a kontroll, sem a PE-s csoportban.



1. ábra A plazma osteopontin és fibronectin szint közötti összefüggés praeclampsziás betegekben.
(Spearman $R = 0,38$; standardizált regressziós koefficiens (β) = $0,41$; $p < 0,05$).

Tekintettel a plazma OPN és a fibronectin koncentrációk közötti összefüggésre, a plazma fibronectin szintek alapján két csoportra osztottam a PE-s betegeket. Azon betegekben, akiknek plazma fibronectin koncentrációja a felső kvartilisben volt ($\geq 0,82$

g/L) szignifikánsan magasabb OPN-koncentrációkat találtam, összehasonlítva azokkal, akiknek fibronectin szintje a 75. percentilis alatt volt ($<0,82$ g/l), illetve az egészséges kontrollcsoporttal [9,38 (8,10–11,99) vs. 7,54 (6,31–9,40) illetve 7,40 (6,51–8,80) ng/ml, , $p < 0,05$ mindkét esetben], **2. ábra**. A PE-s betegek ezen alcsoportjára jellemző volt a súlyos forma magasabb aránya (9/13 (69,2%) vs. 10/31 (32,3%), $p < 0,05$), valamint a szignifikánsan magasabb diasztolés vérnyomásérték [110 (100–120) vs.100 (98–110) Hgmm, $p < 0,05$].



2. ábra Plazma osteopontin koncentrációk praeclampsziás betegekben 0,82g/L feletti, ill. az alatti fibronectin szintek esetén, valamint egészséges terhes nőkben

Középvonal: medián; box: interkvartilis terjedelem; whisker: terjedelem (kiugró értékek kizárva)

NS: not significant.

4.2. Hecpidin szintek, gyulladássos markerek és a vasanyagcsere jellemzői praeclampsziában

4.2.1. A vizsgálati csoportok klinikai jellemzői

A vizsgálatban résztvevők klinikai jellemzőit a **3. táblázatban** tüntettem fel. A terhességi kor a vérvétel idején és az anyai életkor a két csoportban hasonló volt.

3. táblázat A vizsgálati csoportok klinikai jellemzői

	Egészséges terhesség (n=37)	Praeclampsia (n=30)	Szignifikancia (p)
Életkor, év	30 (22–38)	30 (17–45)	NS
Terhességi kor vérvételkor	36 (28–39)	36.5 (24–40)	NS
Szisztolés RR, Hgmm	110 (100–130)	160 (140–201)	<0,001
Diasztolés RR, Hgmm	72 (50–80)	101 (95–120)	<0,001
Terhességi kor a PE kezdetekor	NA	34 (24–40)	NA

A táblázatban a mediánt és az interkvartilis terjedelmet tüntettem fel
NA: nem alkalmazható; NS: nem szignifikáns; PE: praeclampsia; RR: vérnyomás

4.2.2. Laboratóriumi eredmények

Eredményeimet a **4. táblázatban** foglaltam össze. A plazma hepcidin-koncentráció emelkedett volt PE-ás gravidák esetében az egészséges terhes nőkkel összehasonlítva ($p=0,003$). A plazma IL-6 koncentráció szintén magasabb volt PE-ban a kontrollcsoporthoz képest ($p=0,0001$). Az IL-6 koncentráció a detektálhatóság szintje alatt volt 28 egészséges és 8 PE-ás grávida esetén. A statisztikai analízishez, a mérési küszöb alatti IL-6-koncentrációkat nullának vettem. A plazma vas- és ferritin-koncentrációk szintén magasabbak voltak ($p=0,02$ ill. $p=0,003$), míg a plazma transferrin koncentrációkat és a teljes vaskötő kapacitás (TVK) értékeit

alacsonyabbnak találtam PE-ás terhes nők esetében, az egészséges terhes nőkhöz képest (mindkét esetben $p=0,02$). A vörösvértestek átlagos haemoglobin-koncentrációja (MCHC) értéke csökkent volt PE-ban ($p=0,04$).

4. táblázat Hepcidin szintek, gyulladási markerek és a vasanyagcsere paraméterei egészséges terhes nőkben és praeclampsias betegekben

	Egészséges terhesség (n=37)	Praeclampsia (n=30)	Szignifikancia (p)
Plazma hepcidin, ng/mL	3,74 (0,73–8,14)	5,68 (0,72–9,25)	0,003
Interleukin-6, pg/mL	DA (DA–5,14)	2,75 (DA–130,4)	<0,001
CRP, mg/L	4,85 (0,9–11,6)	5,75 (0,2–18,2)	NS
Vörösvértestszám, T/L	4,05 (3,50–4,81)	4,05 (3,27–4,69)	NS
Fehérvérsejtszám, G/L	9,2 (6,2–14,4)	9,9 (7,2–14,7)	NS
Vérlemezkeszám, G/L	216 (153–329)	201 (70–373)	NS
MCV, fL	85,3 (63,6–98,1)	88,5 (78,1–94,0)	NS
MCH, pg	29,8 (21,2–33,9)	30,0 (25,4–33,2)	NS
MCHC, g/dL	34,4 (31,4–35,5)	33,6 (31,2–36,0)	0,04
Hemoglobin, g/L	12,1 (9,5–14,1)	11,8 (9,9–14,9)	NS
Hematokrit, %	35,5 (30,1–41)	35,1 (23,9–43,2)	NS
Plazma vas, mmol/L	15,0 (6,8–29,5)	19,1 (7,1–51,6)	0,02
Transzferrin, mmol/L	4,4 (3,6–6,2)	4,1 (2,8–5,7)	0,02
TVK, mmol/L	87,1 (71,3–122,8)	81,2 (55,4–112,9)	0,02
Plazma ferritin, mg/L	15 (5–69)	34 (5–78)	0,003

A táblázatban a mediánt és az interkvartilis terjedelmet tüntettem fel

CRP: C-reaktív protein; DA: detektálhatóság küszöbe alatti érték; MCH: vörösvértestek átlagos haemoglobin-tartalma; MCHC: vörösvértestek átlagos haemoglobin-koncentrációja; MCV: vörösvértestek átlagos térfogata; NS: nem szignifikáns; TVK: teljes vaskötő kapacitás

Nem volt összefüggés a hepcidin szintek és plazma vas koncentrációk, továbbá a vasanyagcserét jellemző egyéb paraméterek között. Nem találtam különbséget a vörövértetek átlagos térfogata (MCV), vörösvértetek átlagos haemoglobin-tartalma (MCH), a fehérvérsejt- és vérlemezke-szám, a hemoglobin-, hematokritértékek tekintetében a vizsgálati csoportok között. Bár a CRP szint magasabb volt PE-ban, ez statisztikailag nem bizonyult szignifikánsnak.

4.3. A suPAR szintek és gyulladásos markerek praeclampsziában

4.3.1. A vizsgálati csoportok klinikai jellemzői

A vizsgálatban résztvevők klinikai jellemzőit az **5. táblázatban** foglaltam össze. A terhességi kor a vérvétel idején és az anyai életkor a két csoportban hasonló volt.

5. táblázat A vizsgálati csoportok klinikai jellemzői

	Egészséges terhesség (n=62)	Praeclampsia (n=41)	Szignifikancia (p)
Életkor, év	31 (28–35)	31 (26,5–34,5)	NS
Terhességi kor vérvételkor	36 (33,5–38)	35 (30,5–37,5)	NS
Szisztolés RR, Hgmm	105 (100–120)	155 (140–185)	<0,001
Diasztolés RR, Hgmm	70 (60–80)	95 (85–110)	<0,001
Terhességi kor a PE kezdetekor	NA	33 (31–35)	NA

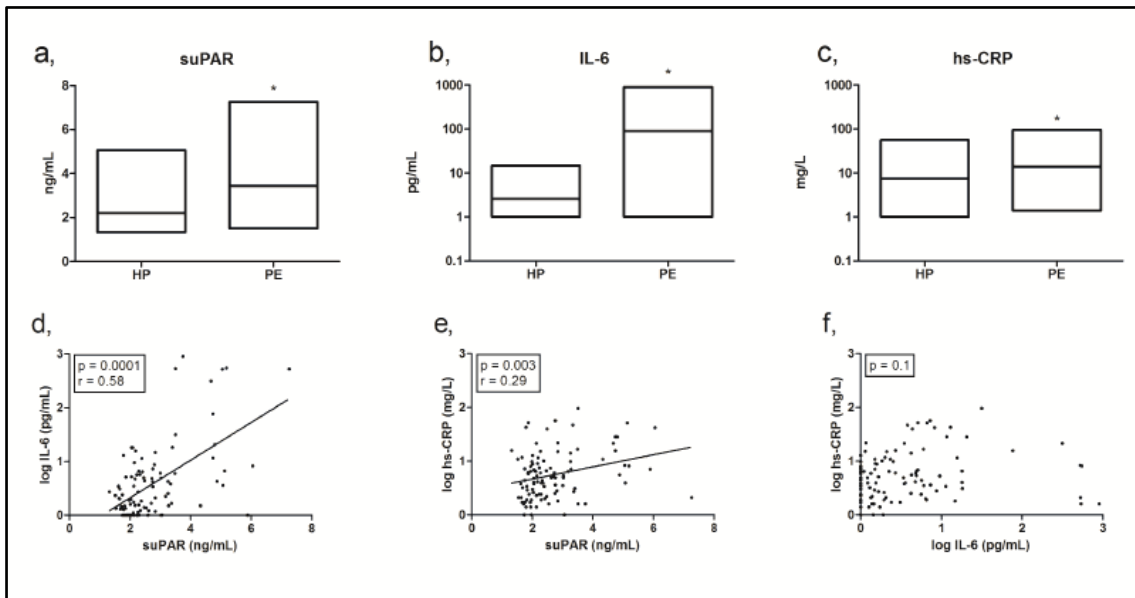
A táblázatban a mediánt és az interkvartilis terjedelmet tüntettem fel.
NA: nem alkalmazható; NS: nem szignifikáns; PE: praeclampsia; RR: vérnyomás

4.3.2. Laboratóriumi eredmények

A plazma suPAR szintek mindkét csoportban normál eloszlást mutattak. A suPAR koncentrációk PE-ban emelkedettek voltak, élettani terhességhez viszonyítva

(3,18 (2,30–4,71) ng/mL vs. 2,02 (1,81–2,40) ng/mL, $p < 0,001$), **3. ábra - a.** Az eredmény nem változott a vérértékelési korra és anyai életkorra történő adjusztálást (logisztikus regresszió) követően sem. Az IL-6 szintek szintén magasabbak voltak PE-ban, mint a kontrollcsoportban [5,99 (2,97–18,12) pg/mL vs. 1,41 (1,00–2,70) pg/mL, $p < 0,001$], **3. ábra - b.** A plazma IL-6 koncentráció a detektálhatóság szintje (1pg/mL) alatt volt 1 PE-s és 22 egészséges grávida esetében. A CRP-szintjét szintén magasabbnak találtam PE-ban, mint élettani terhességben (6,60 (3,55–15,40) mg/L vs. 3,90 (2,10–7,25) mg/L, $p = 0,006$), **3. ábra - c.**

A suPAR, IL-6 és CRP értékek közötti összefüggés vizsgálatához lineáris regresszió-analízist végeztem, ennek érdekében az IL-6 és a CRP értékeket logaritmikusan transzformáltam. Az IL-6 szintek detektálhatóság alatti értékeit 1-nek vettem, így logaritmikus transzformációt követően 0-nak tekintettem. A lineáris regresszió-analízis pozitív összefüggést mutatott a plazma suPAR és IL-6 szintek között ($R = 0,58$, $p < 0,001$); **3. ábra - d.**, valamint - bár kisebb erősséggel - a suPAR és CRP koncentrációk között is ($R = 0,29$, $p = 0,003$), **3. ábra - e.** Nem találtam azonban összefüggést az IL-6 és a CRP szintek között ($p = 0,1$), **3. ábra - f.** A fenti összefüggések akkor is jelen voltak, amikor az értékeket külön, a PE-s csoportban vizsgáltuk ($R = 0,62$, $p < 0,001$; $R = 0,27$, $p = 0,005$).

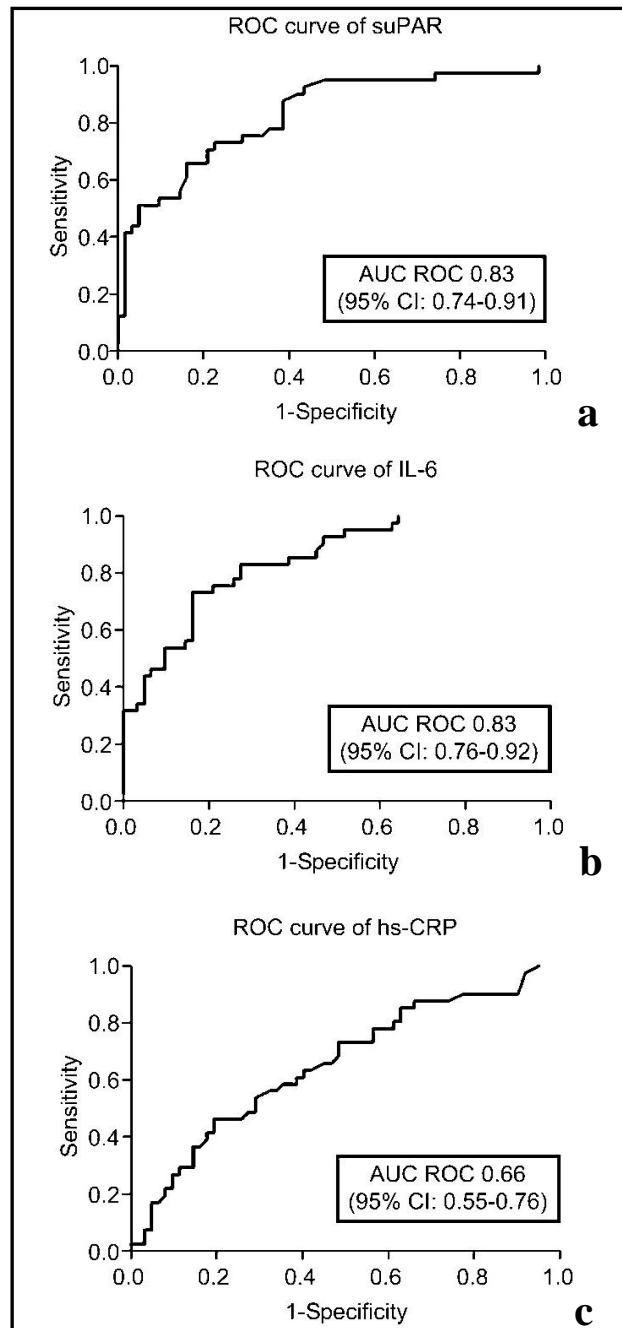


3. ábra Plazma suPAR, IL-6 és CRP szintek egészséges terhességben (HP) és praeclamsiában (PE)

a-c: Középvonal: medián; box: terjedelem; * $p < 0,05$

d-f: plazma suPAR, CRP és IL-6 szintek közötti összefüggés (lineáris regresszió)

A ROC-görbe analízise a suPAR esetében 0,83 ROC AUC-értéket mutatott (95% CI: 0,74-0,91; $p < 0,001$), **4. ábra - a**. Az AUC értéke szintén 0,83 volt (95% CI: 0,76-0,92; $p < 0,001$) az IL-6 tekintetében, **4. ábra - b**, továbbá 0,66 (95% CI: 0,55-0,76; $p = 0,008$) a CRP esetében, **4. ábra - c**.



4. ábra ROC analízis. Plazma suPAR (a), IL-6 (b) és CRP (c) szintek egészséges terhességben és praeclampsziában.

4.4. Keringő trombospondin 1 (TSP-1) koncentrációk egészséges, praeclampsiaival és HELLP-szindrómával szövődött terhességben

4.4.1. A vizsgálati csoportok klinikai adatai (6. táblázat)

6. táblázat A vizsgálati csoportok klinikai jellemzői

	Nem terhes nők (n=20)	Egészséges terhesség (n=45)	Korai kezdetű PE (n=45)	Késői kezdetű PE (n=43)	HELLP-szindróma (N=21)
Életkor, év	29 (27-34)	30 (28-34)	31 (27-35)	30 (27-34)	32 (28-37)
BMI ^a , kg/m ²	22,3 (21,2-24,7)	21,2 (20,1-22,7)	24,6 (22,4-29,1) ^{***}	24,8 (21,5-27,5) ^{***}	23,8 (22,0-27,5) [*]
Terhességi kor vérvételkor, hét	NA	36 (32-38)	31 (28-33) ^{***}	37 (36-39) [*]	32 (28-34) ^{***}
Terhességi kor szüléskor, hét	NA	39 (38-40)	31 (28-33) ^{***}	38 (37-39)	32 (28-34) ^{***}
Születési súly, g	NA	3240 (3100-3740)	1260 (850-1600) ^{***}	2950 (2550-3450)	1440 (990-1990) ^{***}
Trombocitaszám, G/L	270 (236-303)	223 (188-278)	199 (156-234)	180 (156-220) [*]	83 (64-109) ^{***}
Primiparitás	NA	18 (40,0)	32 (71,1) ^{**}	32 (74,4) ^{**}	18 (85,7) ^{***}
IUGR	NA	0	21 (46,7)	6 (14,0)	5 (23,8)
Dohányzás	6 (30,0)	7 (15,6)	9 (20,0)	10 (23,3)	2 (9,5)
Trombocitopénia	0	0	8 (17,8)	7 (16,3)	21 (100)

A táblázatban a folytonos változók esetében a mediánt és az interkvartilis terjedelmet, míg a kategoriális változóknál az esetszámot és a relatív gyakoriságot (%) tüntettem fel
IUGR: intrauterin növekedési retardáció; NA: nem alkalmazható; NS: nem szignifikáns; PE: praeclampsia

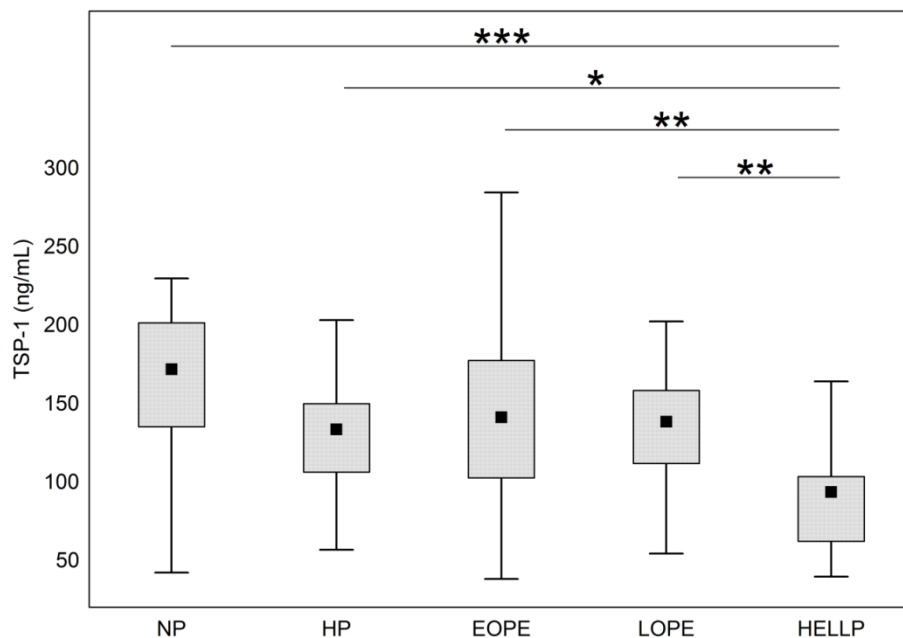
^a Terhesség előtti testtömeg-index;

Szignifikanciaszintek az egészséges terhes csoporthoz viszonyítva: * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001

Az életkort és a dohányzók arányát tekintve a vizsgálati csoportok között nem volt különbség. A testtömeg-index és az először szülők relatív gyakorisága mind a PE-s, mind a HELLP-szindrómás csoportokban magasabb volt, az egészséges terhes nőkhöz és a nem terhes kontrollokhoz képest, míg a hipertóniás csoportok hasonlóak voltak e változók tekintetében. Az IUGR előfordulása gyakoribb volt a korai kezdetű PE-ás betegek között, összehasonlítva a késői kezdetű PE-ás és a HELLP-szindrómás csoporttal. Trombocitopénia (<150 G/l) nyolc korai kezdetű PE-s és hét késői kezdetű PE-s betegnél fordult elő. 14 HELLP-szindrómás beteget soroltam a Mississippi II. kategóriába (középsúlyos forma), hetet pedig a III. kategóriába (enyhe forma).

4.4.2. Laboratóriumi eredmények

A TSP-1 szintek szignifikánsan alacsonyabbak voltak HELLP-szindrómás betegek esetében, összehasonlítva az összes többi vizsgálati csoporttal (93,5 (62,0-103,4) ng/ml vs. EOPE: 141,2 (102,5-177,3) ng/ml, $p=0,006$; LOPE: 138,4 (111,8-158,2) ng/ml, $p=0,008$; HP: 133,4 (106,2-149,8) ng/mL, $p=0,02$; NP: 171,7 (135,1-201,3) ng/ml, $p<0,001$), **5. ábra**.



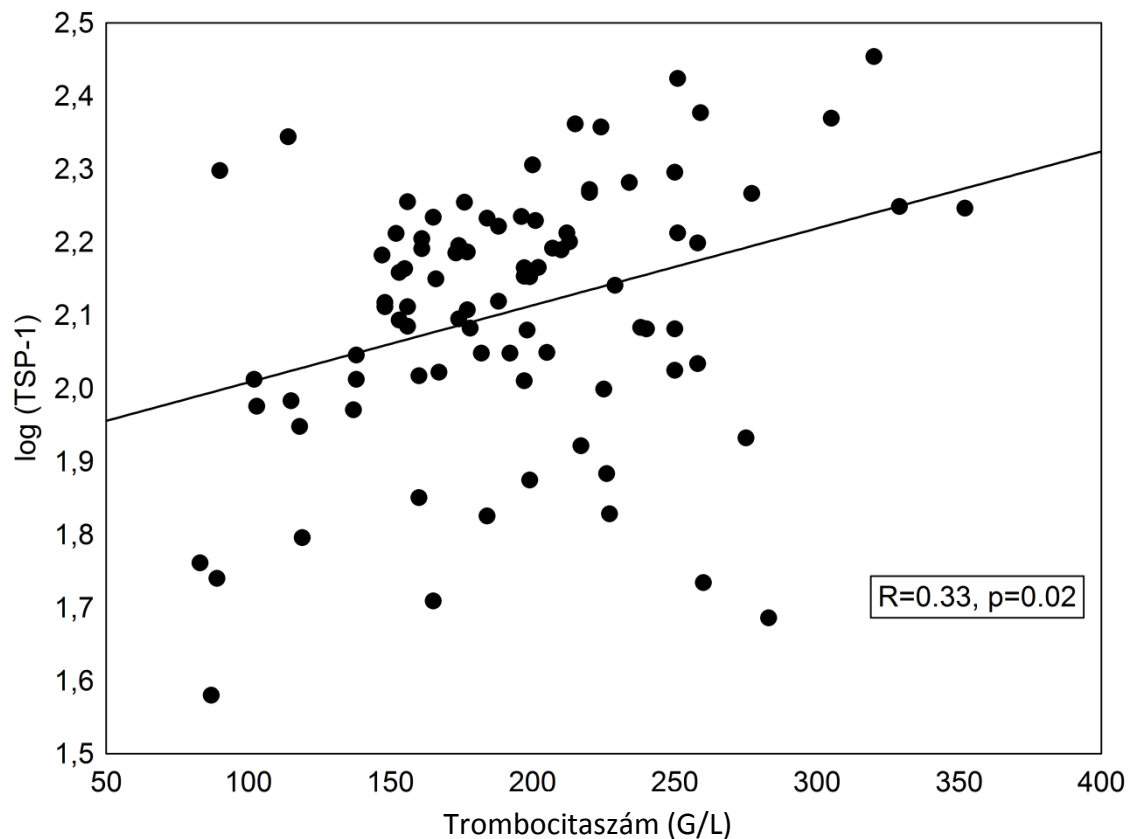
5. ábra Szérum TSP-1 koncentrációk a vizsgálati csoportokban

Középső pont: medián; box: interkvartilis terjedelelem; whisker: terjedelelem

NP: nem terhes, HP: egészséges terhes, EOPE: korai kezdetű praeclampsia, LOPE: késői kezdetű praeclampsia; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

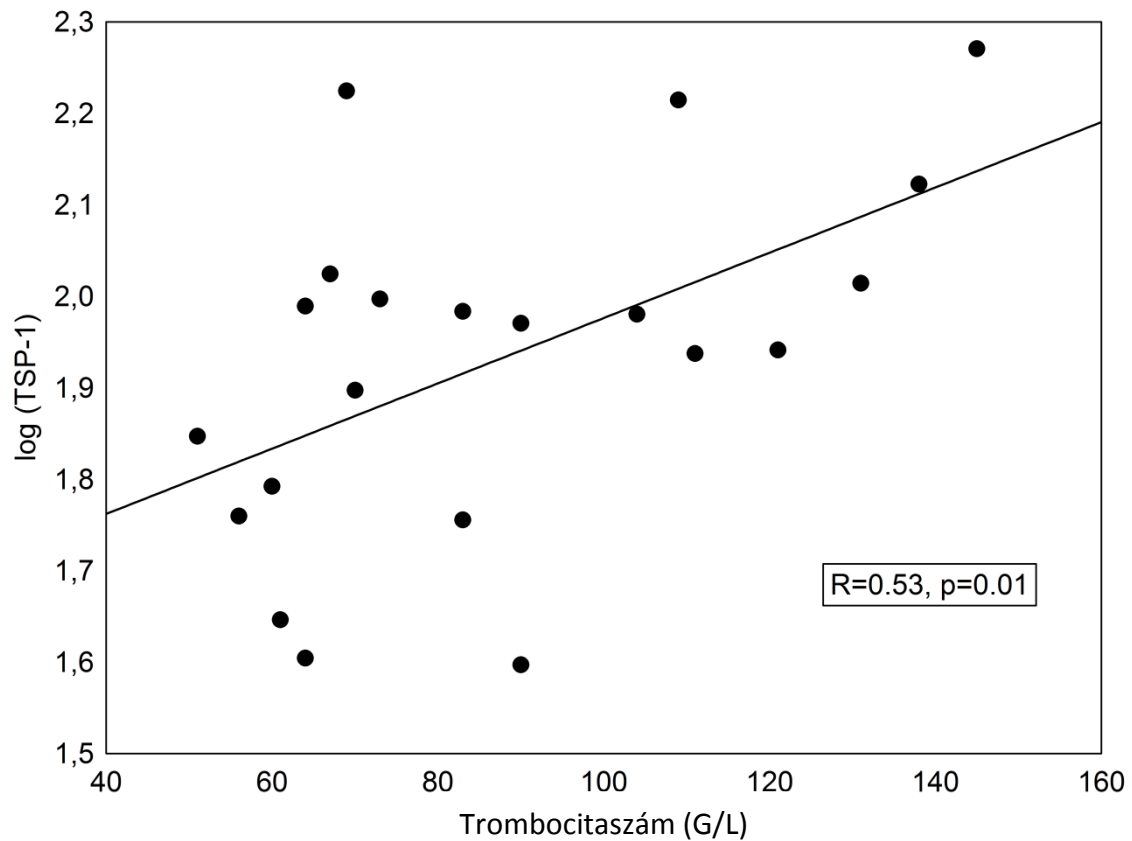
A többi csoport között nem volt statisztikailag szignifikáns különbség a TSP-1 szinteket tekintve. Nem találtam különbséget a PE-s betegeket együtt, a többi csoporthoz hasonlítva sem.

Szignifikáns pozitív összefüggés volt kimutatható a TSP-1 szintek és a vérlemezke szám között a PE-s és HELLP-szindrómás csoportokban (Pearson $R = 0,33$, illetve $0,53$, és $p = 0,02$, illetve $0,01$), **6. és 7. ábrák.**



6. ábra A szérumban TSP-1 koncentráció és a vérlemezkeszám közötti összefüggés praeclampsziás betegeknél

A súlyosabb HELLP-szindrómás betegeknél (Mississippi II. kategória), a TSP-1 szintek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a HELLP-szindróma enyhébb formájában szenvedő nőkhöz viszonyítva (Mississippi III. osztály), ((74.6 (57.0-97.6) vs. 103.4 (87.4-164.2) ng/ml, $p=0.04$). A PE-ben szenvedő betegek esetén, azoknál, akiknél trombocitopénia is jelen volt, alacsonyabb TSP-1 szinteket mértem, mint akiknél a normál tartományban volt a vérlemezkeszám (96.2 (62.5-131.1) vs. 145.8 (112.0-171.0) ng/ml, $p=0.004$).



7. ábra A szérumban TSP-1 koncentráció és a vérlemezkeszám közötti összefüggés HELLP-szindrómás betegeknél

A 21 HELLP-szindrómás beteg közül három esetben észleltem magasabb, a teljes vizsgálati csoport felső kvartilise feletti TSP-1 szintet (164.0, 167.8 és 186.5 ng/ml). Ezen betegek esetében a vérlemezkeszám rendre 109, 69 ill. 145 G/l volt.

Nem volt különbség a TSP-1 koncentrációt illetően a PE egyes alcsoportjai között (enyhe vagy súlyos; korai vagy késői kezdetű), illetve IUGR fennállása, vagy eutróf magzatokat hordozó terhes nők összehasonlításakor sem. Nem tudtam továbbá összefüggést kimutatni a TSP-1 szintek és a betegek klinikai jellemzői, valamint rutin laboratóriumi eredményei között (BMI, kor, dohányzás, perifériás fehérvérsejt-szám, szérumban májenzimek, laktát-dehidrogenáz, kreatinin) semelyik vizsgálati csoportban. HELLP-szindrómás betegeknél vizsgáltam a TSP-1 és a fibronectin szintek esetleges összefüggését is, de nem találtam korrelációt. A gesztációs kor vérvétel idején nem korrelált a TSP-1 szintekkel egyik csoportban esetében sem, és az eredmények változatlanok maradtak az erre történő adjusztálást követően is (kovariancia-analízis).

4.5. Keringő trombospondin 2, sFlt1 és PlGF szintek praeclampsziában

4.5.1. A vizsgálati csoportok klinikai adatai

A vizsgálatban résztvevők klinikai adatait az **7. táblázat**ban tüntettem fel.

7. táblázat A vizsgálati csoportok klinikai jellemzői

	Egészséges terhesség (n=35)	Praeclampsia (n=35)	Szignifikancia (p)
Anyai életkor, év	30 (26-34)	29 (25-33)	NS
Dohányzás	6 (17,1)	6 (17,1)	NS
Primiparitás	14 (40)	27 (80,6)	0,002
BMI, kg/m ²	21,53 (20,28-23,03)	24,22 (21,97-28,13)	0,002
Terhességi kor vérvételkor, hét	36 (32-38)	34 (29-37)	NS
Terhességi kor szüléskor, hét	39 (38-40)	35 (29-37)	<0,001
Születési súly, g	3 270 (3 100-3 750)	2 010 (980-2 690)	<0,001
Súlyos praeclampsia	NA	23 (65,7)	NA
Korai kezdetű preeclampsia	NA	18 (51,4)	NA
IUGR	0 (0)	15 (42,9)	NA

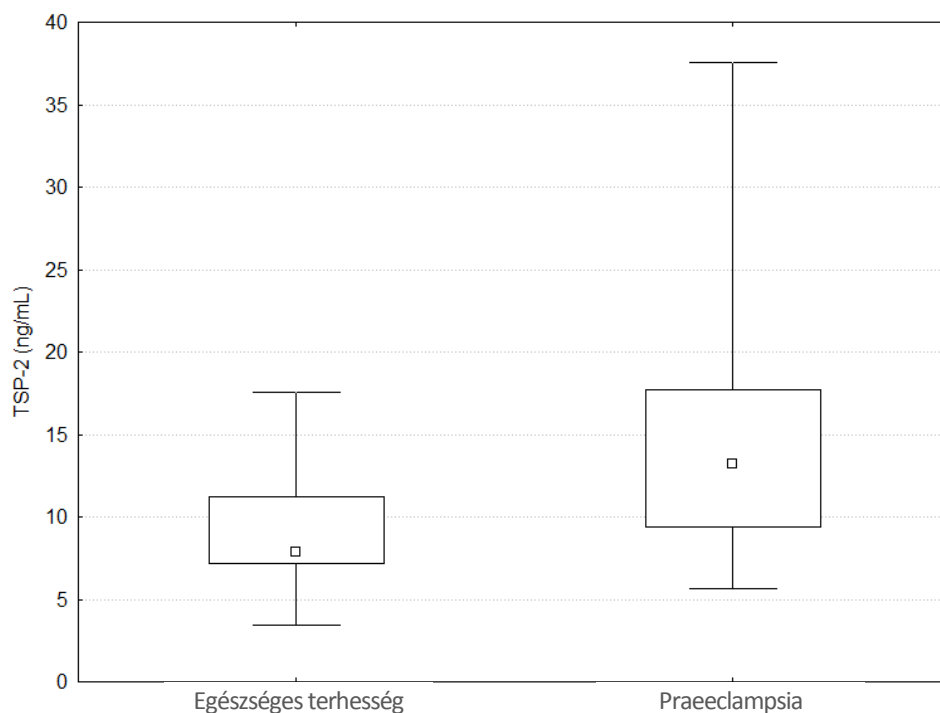
A táblázatban a folytonos változók esetében a mediánt és az interkvartilis terjedelmet, míg a kategoriális változóknál az esetszámot és a relatív gyakoriságot (%) tüntettem fel. BMI: Terhesség előtti testtömeg-index; IUGR: intrauterin növekedési retardáció; NS: nem szignifikáns; NA: nem alkalmazható

Nem volt statisztikailag szignifikáns különbség a csoportok között az anyai életkorban, a vérvételkori gesztációs korban és a dohányzók gyakoriságában. Az először szülők aránya és a testtömeg-indexek mediánja magasabb, míg a terhességi kor

szüléskor és a magzatok születési súlya alacsonyabb volt a praeclampsziás csoportban, a kontrollcsoporthoz viszonyítva. Magzati retardáció nem fordult elő az egészséges terhesek esetében, a praeclampsziás betegek között 42,9%-ban jelentkezett.

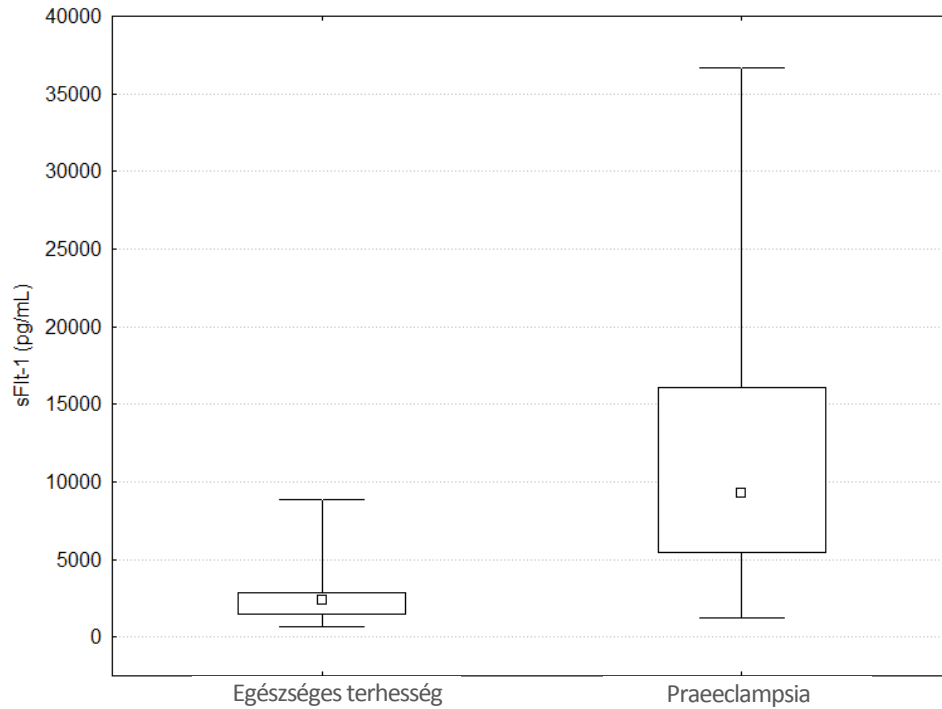
4.5.2. Laboratóriumi eredmények

A trombospondin 2 szérumszintek szignifikánsan emelkedettek voltak a praeclampsziás csoportban a kontrollcsoporthoz képest [13,22 (9,42-18,12) ng/mL vs. 7,88 (7,21-11,24) ng/mL, $p < 0,0001$], **8. ábra**. Továbbá szignifikánsan magasabb sFlt1 [9263 (5460-16110) pg/mL vs. 2414 (1448-2868) pg/mL, $p < 0,0001$], **9. ábra**, és alacsonyabb PIGF koncentrációkat [50,87 (27,87-87,39) pg/mL vs. 220,1 (137,3-339,8) pg/mL, $p < 0,0001$], **10. ábra**, mutattam ki a praeclampsziások esetében.



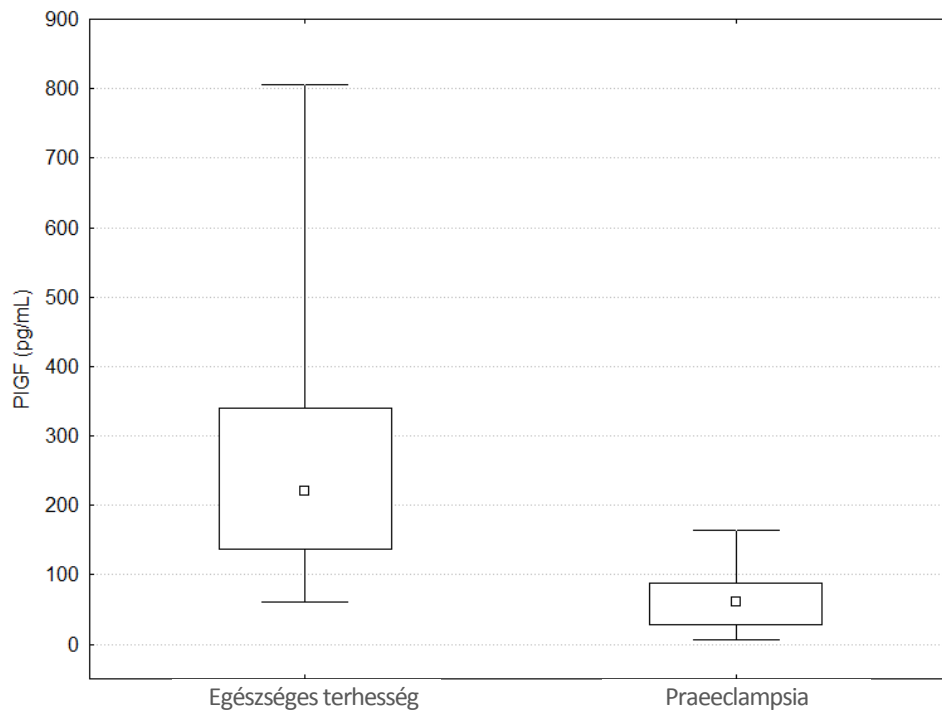
8. ábra Szérum trombospondin 2 (TSP-2) koncentrációk praeclampsziás betegekben és egészséges terhes nőkben ($p < 0,001$).

Középső pont: medián; box: interkvartilis terjedelem; whisker: terjedelem



9. ábra Szérum sFlt1 koncentrációk praeclampsziás betegeknél és egészséges terhes nőkben ($p < 0,001$).

Középső pont: medián; box: interkvartilis terjedelem; whisker: terjedelem



10. ábra Szérum placentáris növekedési faktor (PIGF) koncentrációk praeclampsziás betegeknél és egészséges terhes nőkben ($p < 0,001$)

Középső pont: medián; box: interkvartilis terjedelem; whisker: terjedelem

A szérumban TSP-2, sFlt1 és PlGF szintek közötti különbségek szignifikánsak maradtak a két csoport között az életkorra, dohányzásra, primiparitásra és terhesség előtti BMI-re történő adjusztálást (kovariancia-analízis, ANCOVA) követően is.

Nem tudtam különbséget kimutatni a TSP-2 szintekben a korai és késői kezdetű, illetve az enyhe és súlyos praeclampsziás alcsoportokat összehasonlítva. Hasonlóképpen nem találtam különbséget a praeclampsziások között IUGR fennállása, illetve eutróf magzatok esetén. Nem mutatkozott összefüggés a TSP-2 és az sFlt1, illetve a PlGF szintek között, sem a praeclampsziás, sem a kontroll csoportban. Továbbá a TSP-2 koncentrációk és a betegek klinikai adatai (anyai életkor, terhességi kor, vérvételkor, testtömeg-index) és rutin laboratóriumi paraméterei (fehérvérsejtszám, trombocitaszám, laktát-dehidrogenáz, aszpartát aminotranszferáz, alanin aminotranszferáz, szérumban kreatinin és karbamid, proteinuria) sem volt korreláció a vizsgálati csoportokban. A dohányzás és az előző terhességek száma szintén nem befolyásolta a TSP-2 koncentrációját.

5. Megbeszélés

5.1. Keringő osteopontin koncentrációk praeclampsziában

E vizsgálatomban kimutattam, hogy a magas fibronektin szinttel, vagyis kiterjedt endotél-károsodással jellemzett PE-s betegek osteopontin (OPN) koncentrációja szignifikánsan magasabb, összehasonlítva azon betegekkel, akiknél az endotél-sérülés kevésbé kifejezett, valamint egészséges terhes nőkkel. Emellett igazoltam, hogy a plazma OPN szint szignifikáns pozitív lineáris összefüggést mutat a plazma fibronektin-koncentrációkkal PE-ban.

Több klinikai vizsgálat is beszámolt a keringő OPN koncentrációk kardiovaszkuláris betegségekben előforduló változásairól. Ohmori és mtsai megfigyelték, hogy az OPN plazmakoncentráció összefügg a koronária-érbetegség (CAD) kiterjedésével (142). Coskun és mtsai emelkedett OPN koncentrációkat találtak akut koronária szindrómás betegekben, stabil anginában szenvedőkhöz viszonyítva (213). Soejima és kutatócsoportja kimutatta, hogy a perifériás T-sejtek OPN produkciója emelkedik a szívbetegség súlyosságával összefüggésben (214). Az OPN, feltételezhetően két külön útvonalon keresztül, fontos szerepet játszik az ateroszklerózis kialakulásában (146, 215). Egyrészt citokin és kemokin hatásain keresztül közreműködik a krónikus szisztémás gyulladás fenntartásában (136, 216); másfelől, Georgiadou és mtsai igazolták, hogy a CAD-ban szenvedő betegek vérmintáinak OPN-koncentrációi független összefüggésben állnak az MDA-koncentrációkkal, a lipid-peroxidáció és az oxidatív stressz jól ismert biomarkerével (144). A kiterjedt Th1-válasszal és oxidatív stresszel járó szisztémás gyulladás szintén alapvető tényezők a PE patogenezisében (68, 109). Minazonáltal, ezen tények ellenére, nem tudtam összefüggést kimutatni az OPN-koncentrációk és a gyulladásos reakció (CRP) vagy az oxidatív stressz (MDA) markerei között PE-ban. Lehetséges, hogy a vér aktivált perifériás mononukleáris sejtjei általi OPN túlprodukciónak elfedte annak a PE kifejezett gyulladásos folyamataiban történő gyors felhasználódása.

A humán placenta extravillózus trofoblasztjai szintén expresszálják az OPN-t, amely e sejtek invazivitását szabályozza (134). Gabinskaya és mtsai humán placentákat immunhisztokémiával tanulmányozva azt találták, hogy a 30. gestációs hét után, OPN

csak a PE-s méhlepények citotrofoblasztjaiban van jelen, az egészségesekből hiányzik (217). Korábban beszámoltak arról, hogy szignifikánsan nagyobb mennyiségű trofoblaszt-törmelék található az anyai keringésben PE fennállása esetén, az egészséges terhes nőkhöz viszonyítva (218-220). Ezen megfigyelésekre alapozva, tanulmányoztam a keringő szabad magzati DNS, mint a trophoblast-törmelék markerének koncentrációját, és annak összefüggését az OPN-nal, az anyai keringésben. Várakozással ellentétben nem találtam összefüggést e paraméterek között. Így azt feltételezem, hogy OPN-nek legfeljebb lokális hatása lehet a placentában, PE-ban.

Az endoteliális aktiváció és sérülés fontos szerepet játszik az ateroszklerózis patogenezisében, és az OPN is nagy valószínűség szerint részt vesz ebben a folyamatban (126). Az ateroszklerózishoz hasonlóan PE-ra is jellemző az endotél-aktiváció és -sérülés. Ezekre alapozva megvizsgáltam, hogy a plazma OPN koncentrációk kapcsolatba hozhatók-e az endothel-aktiváció (VWF:Ag), vagy az endothel-sérülés (fibronektin) markereivel PE-ban. A VWF:Ag és az OPN szintek között nem találtam összefüggést. Ezzel szemben pozitív lineáris kapcsolatot figyeltem meg a fibronektin és OPN koncentrációi között. Ráadásul az OPN koncentrációja szignifikánsan magasabb volt azon PE-s betegek esetében, akiknek fibronektin koncentrációi a felső kvartilisbe estek, összehasonlítva azokkal a praeclampsziás terhesek nőekkel, akiknek fibronektin szintje a 75. percentilis alatt volt, illetve az egészséges kontrollokkal. Ezek mellett, a magasabb fibronektin koncentrációval jellemzett PE-s gravidák esetében gyakrabban volt megfigyelhető a betegség súlyos formája. Az OPN és a fibronektin az extracelluláris mátrix építőelemei, és mindkettő tartalmaz egy arginin-glicin-aszpartinsav (RGD)-szekvenciát, amely képes integrin molekulák kötésére. Érdekes módon, molekulák közötti keresztkötések is létesülhetnek e két fehérje között (221). Ezek alapján azt feltételezhetjük, hogy kiterjedt endotél-sérülés esetén az OPN a fibronektinnel együtt felszabadul az érfalból, és a perifériás keringésbe kerül. Ez megmagyarázhatja a plazma OPN- és a fibronektin-koncentrációk közötti megfigyelt összefüggést PE-ban. Az osteopontin pontos patofiziológiai szerepének tisztázásához további vizsgálatok szükségesek, melyek felfedhetik az OPN és az endotél-diszfunkció vagy -sérülés kapcsolatának részleteit.

5.2. Emelkedett hepcidin koncentrációk praeclampsziában

E tanulmányunkban elsőként vizsgáltam a vasanyagcsere szabályozásában szerepet játszó akut-fázis fehérje, a hepcidin keringő koncentrációit praeclampsziában. A plazma vas szinteket negatív irányban szabályozó hepcidin koncentrációjának emelkedését figyeltem meg PE-ban, ennek ellenére a plazma vas-koncentráció magasabb volt a betegekben, az egészséges kontrollokhöz viszonyítva. Ezen ellentmondás magyarázata, feltételezésem szerint, a hepcidin vascsökkentő hatásával szembeni rezisztencia lehet, PE-ban. Ezen túl, vizsgálatom megerősített több, már korábban leírt, vasanyagcserével kapcsolatos eltérést praeclampsziában, úgymint a plazma vas szintek emelkedését, valamint a vas-homeosztázisban szerepet játszó faktorok (transzferrin, ferritin, teljes vaskötő kapacitás) koncentrációjának megváltozását.

A hepcidin expressziójának szabályozásában számos faktor szerepet játszik. Egyik fő trigger a pro-inflammatórikus citokin, interleukin-6 (IL-6) (150). A korábbi vizsgálatokhoz hasonlóan magasabb plazma IL-6-koncentrációt találtam PE-ban (70, 77). Ezek az eredmények támogatják azt az elképzelést, miszerint, a megnövekedett IL-6 koncentráció felelős lehet a hepcidin emelkedett plazmaszintjéért.

Az IL-6-on kívül egyéb faktorok is szerepet játszhatnak a hepcidin szint szabályozásában PE-ban. Ishizaka és munkatársa kimutatták, hogy az angiotenzin II (Ang II) alkalmazása a hepcidin mRNS expresszióját fokozza (222). A közelmúltban végzett vizsgálatok az angiotenzin II-receptor 1-es típusa (AT-1) elleni agonista autoantitesteket találtak egyes PE-ban szenvedő betegekben (223). Ez a jelenség teoretikusan hozzájárulhat a magasabb hepcidin-koncentrációk kialakulásához.

A hepcidin fő hatása a vasat a sejtekből a keringésbe exportáló transzportfehérje, a ferroportin internalizációján és degradációján keresztül valósul meg. A működő ferroportin mennyiségnek redukciója a plazma vas koncentrációjának csökkenéséhez vezet. Megfigyeléseim fő ellentmondása, hogy a megnövekedett hepcidin-koncentráció magasabb plazma vas-koncentrációval párosult. Emelkedett plazma vas-koncentrációról több szerző beszámolt már PE-ban (120, 121), ami a reaktív oxigén szabadgyök (ROS) termelés fokozódásán keresztül hozzájárulhat az oxidatív stressz és gyulladós állapot

kialakulásához. Tanulmányom korlátja, hogy nem vizsgáltam a ferroportin expresszióját, melynek mennyisége esetleg jelentősen változhat PE-ban.

Több teória magyarázatot adhat a PE-ban megfigyelhető hepcidin-rezisztenciára. Egyes feltételezések szerint a PE hemokromatózis-szerű jegyekkel is rendelkezik, bár a HFE-gén bizonyos mutációinak jelenlétét vizsgálták PE-ban, definitív eredmény nélkül (121, 224). A haemochromatosis általánosan alacsony hepcidin-koncentrációk jellemzik, bár a betegségnek egyik altípusa, magasabb hepcidin koncentrációkkal, és a ferroportin funkcionális és strukturális rendellenességeinek következtében hepcidin-rezisztenciával jár. A ferroportin-gén számos mutációját leírták, amelyek megnövekedett plazma vas-koncentrációkkal és telített vasraktárakkal járnak. Ilyen többek között a Q248H mutáció, amely egyes etnikai csoportokban akár 20%-os gyakorisággal jelen van (225, 226). A vizsgálatban résztvevők korlátozott száma következtében, jelen tanulmányomban nem volt lehetőségem a ferroportin esetleges mutációit vizsgálni.

Terhesség során hatékony mechanizmusok biztosítják az anyai szervezet megfelelő vasellátását, amely fedezi a növekvő magzat igényeit is. A placentában található transferrin-receptorok felelősek a vas anyai keringésből a magzatba történő transzportjéért. A transferrin-receptor expressziója PE-ban csökkent, ami magyarázatot adhat arra a klinikai tapasztalatra, miszerint a PE-ás anyák újszülöttjei csökkent vasraktárral rendelkeznek (227, 228). Ez okot adhat arra a feltételezésre, hogy a vas magzat felé történő transzportjának elégtelensége az egyik tényező, amely az anyai keringésben a vas szintjének növekedéséhez vezet. Az így megemelkedett anyai vas-koncentráció pedig tovább növelheti a hepcidin szintet PE-ban.

A fent leírt tényezők alapján felmerül a kérdés, hogy milyen mértékben felelős a hepcidin a vas-homeostatis szabályozásáért PE-ban, egészséges terhes nőkkel összehasonlítva. Eddig egy tanulmány írja le a hepcidin és a vasanyagcsere kapcsolatát terhességben. Ez a vizsgálat azt találta, hogy a vizelet hepcidin koncentrációja pozitív összefüggést mutat a ferritinnel, és negatívan korrelál a szolubilis transferrin-receptorral, vashiányban szenvedő terhes nőkben. Ezek az eredmények alátámasztják, hogy a hepcidin jelátvitel különbözhet terhességben, vashiány jelenlététől függően (229). Ezek az adatok azonban nem hasonlíthatók össze megfigyeléseimmel, mivel egyik vizsgálati alanyom sem szenvedett vashiányban, és a meghatározásokat vizelet

helyett plazmamintákból végeztem. Megjegyzem, hogy a plazma hepcidin koncentráció, a viszonylag stabil vizelet hepcidin-tartalomhoz képest, nagy egyéni változékonyságot mutat. Bár ez részben magyarázhatja, hogy miért nem tudtam összefüggését kimutatni a hepcidin és a plazma vas-koncentráció, valamint a vasanyagcserét jellemző további paraméterek között, az azonban különös, hogy még élettani terhességben sem volt megfigyelhető a hepcidin és a vas-státusz paraméterinek összefüggése. A hepcidin és a vas-homeosztázis közötti korreláció hiánya arra utalhat, hogy eddig ismeretlen, a terhességre specifikus faktorok interferálhatnak a hepcidin vascsökkentő hatásával.

5.3. A suPAR a szisztémás gyulladás markere praeclampsziában

Emelkedett plazma suPAR szinteket számos, az immunrendszer fokozott aktivációjával járó betegségben kimutattak, többek között HIV-vírus fertőzésben, maláriában, szepszisben, bakteriális és virális központi idegrendszeri fertőzésekben, aktív tbc-ben, úgy mint szolid tumorok különböző formáiban (nem-kissejtes tüdőrák, emlő-, kolorektális, prosztata- és ovariumtumorok) (157-162). E tanulmányomban elsőként vizsgáltam a plazma suPAR koncentrációt praeclampsziában. Eredményeim szerint a keringő suPAR szintje emelkedett PE-ban, élettani terhességgel összehasonlítva. Nagyságrendileg a fent említett betegségekben megfigyelthez hasonló mennyiségbeli növekedést mutattunk ki. A PE jól ismert jellemzője a fokozott immunaktiváció, amely főként az élettani terhességben megfigyelt immuntolerancia csökkenésének következménye. Ennek megfelelően, PE-val szövődött terhességben emelkedett IL-6 és CRP szinteket találtam.

Egy közelmúltbeli tanulmány kimutatta, hogy a suPAR az alacsony fokú (low grade) gyulladás megbízható markere, melynek plazmaszintbeli emelkedése előrejelzi a rosszindultú daganatok, kardiovaszkuláris- és anyagcsere-betegségek kialakulását és a mortalitást addig tünetmentes személyekben (230). Ezenkívül a molekula kifejezett stabilitása a suPAR-t ideális klinikai markerré teheti (163). A CRP-vel ellentétben, amely az alacsony fokú gyulladásos állapot jelenlegi standard markere, a suPAR keringő szintje a nap folyamán állandó, nem mutat cirkadián ingadozást, és a vérvételt megelőző esetleges étkezés sem befolyásolja (231). Még a plazmaminták ismételt lefagyasztása és felolvasztása sem befolyásolták a suPAR koncentrációkat (232). ROC-

görbe analízisem szerint a suPAR a CRP-nél jobb, az IL-6-hoz hasonló diagnosztikus effektivitással rendelkezik PE-s betegek és egészséges terhes nők gyulladási aktivitás alapján történő elkülönítésében. A suPAR klinikumban való alkalmazhatóságának korlátja, hogy prediktív értéke nem specifikus egyes betegségekre, mivel számos patológiás állapotban megfigyelhető szintjének emelkedése, általános szisztémás gyulladásra és immunaktivációra utal. Fontos megjegyezni, hogy a suPAR magasabb értékei összefüggést mutatnak számos betegség kedvezőtlenebb prognózisával (159, 160).

Mindeddig egy tanulmány vizsgálta a keringő suPAR szinteket terhességben (233). Ostrowski és munkatársai feltételezték, hogy a suPAR szintje előrejelezheti a magzati kimenetel súlyosságát az anya maláriafertőzése esetén. Egészséges, aktív maláriában és korábban krónikus fertőzésen átesett nőbetegekben határozták meg a suPAR szinteket, a szülés során vett anyai és köldökzsinórból nyert plazmamintákból. Az anyai suPAR szinteket magasabbnak találták aktív infekcióban szenvedő nőbetegeknél, a nem fertőzött és a korábban fertőzésen átesett betegekhez képest, ellenben a köldökzsinórvérben kimutatott suPAR koncentrációk hasonlóak voltak a három csoportban. Fontos azonban kiemelni, hogy aktív maláriafertőzésben szenvedő nők esetében, a gesztációs kor mellett egyedül az anyai suPAR-szint volt a magzati születési súly független prediktora.

A plazma suPAR szint összefüggést mutat az IL-6 és CRP szintekkel és az IL-6-hoz hasonló effektivitással jelzi a szisztémás gyulladást praeclampsziában. Ismert, hogy az IL-6 szintjének emelkedése a magzatvízben és az anyai szérumban már a terhesség közepétől megfigyelhető azoknál, akiknél később PE alakul ki (75, 81). Fontos lenne prospektív tanulmányokban vizsgálni, hogy a suPAR szint emelkedése is elkezdődik-e már a klinikai tünetek kialakulása előtt. A suPAR nagy diagnosztikai előnye, hogy koncentrációjára alacsonyabb egyéni variabilitás és magasabb stabilitás jellemző az IL-6-hoz és a CRP-hez képest. Eredményeim alapján a suPAR szint a PE-ra jellemző emelkedett gyulladási válasz hasznos indikátora lehet, és a terhesség alatti gyulladási állapot jellemzésének klinikai markerévé válhat, segítséget nyújtva a fokozott kockázatnak kitett, szoros monitorozást igénylő terhes nők kiszűrésében.

5.4. A keringő trombospondin 1 szintek változatlanok praeclampszában, de csökkenek HELLP-szindrómában

E tanulmányban azt vizsgáltam, hogy van-e különbség az anti-angiogenetikus és protrombotikus tulajdonságú trombospondin 1 (TSP-1) szérumszintjeiben, nem terhes nők, egészséges és praeclampsziás várandósok, valamint HELLP-szindrómában szenvedő betegek között.

Praeclampszában a keringő angiogenetikus faktorok egyensúlya markánsan eltolódik az anti-angiogenetikus hatásúak javára (40-46, 53-65). A hemosztatikus rendszer zavara hiperkoagulabilitást eredményez (234). A TSP-1-et főként aktivált vérlemezkék és endotélsejtek termelik (168, 181). Ez a multifunkcionális glikoprotein, kifejezett anti-angiogenetikus és protrombotikus aktivitással rendelkezik (177, 181, 192). Az endotélsejtek felszínén található CD47 receptorhoz való kötődése gátolja az nitrogén-monoxid (NO) által indukált cGMP képződést. A pro-angiogenetikus, anti-trombotikus és vazodilatátor aktivitású NO jelátviteli útvonalának megszakítása révén, a TSP-1 tehát indirekt módon, a vaszkuláris simaizomsejteken keresztül vazokonstriktiót hoz létre, a vérlemezkékre nézve pro-trombotikus, az endotélsejt proliferáció gátlásával pedig anti-angiogenetikus hatású (182, 235). Utóbbi folyamatok a PE patogenezisében is fontos tényezők (236). Újabb eredmények szerint a TSP-1 részt vesz a vérnyomás szabályozásában is (183). A szöveti hipoxia, amely számos szövettípusban kimutatható PE-ban (pl. a placentában), valószínűleg részt vesz a TSP-1 expressziójának szabályozásában (192). Továbbá jól ismert az a tény, hogy azok a betegek, akiknél terhességük alatt PE alakul ki, későbbi életükben magasabb kockázatnak vannak kitéve érlemeszesedés kialakulásának tekintetében (237). A TSP-1 pro-ateroszklerotikus tulajdonsággal is rendelkezik (184). Ezen tények ellenére, nem találtam különbséget a TSP-1 keringő koncentrációiban a PE-s és a kontroll csoportok között. Ezenkívül a TSP-1 szintek nem mutattak összefüggést a betegek klinikai jellemzőivel, és függetlenek voltak a terhességi kortól minden vizsgálati csoport esetében.

Vizsgálatom további eredménye, hogy jelentősen csökkent TSP-1 szérumszinteket mutattam ki HELLP-szindrómában, a nem terhes állapothoz, egészséges terhességhez és PE-hoz viszonyítva. A TSP-1 részt vesz a trombocita-aggregáció szabályozásában (177). Legmagasabb koncentrációja a trombociták α -granulumaiban figyelhető meg,

ahonnan azok aktivációjakor szabadul fel (169). Az érrendszerben, az aktivált trombocitákból kiszabadult, és a fibrinrögökbe beépült TSP-1, a trombin és a XIIIa faktor szubsztrátja (172). Ezek alapján feltételezem, hogy keringő vérszintjének csökkenéséért HELLP-szindrómában, legalábbis részben, a vérlemezkében gazdag mikrotrombusok keletkezése során történő felhasználódása felelős. A TSP-1 koncentrációinak szignifikáns pozitív korrelációja a vérlemezke számmal alátámaszthatja ezt a feltételezésemet, és felveti, hogy a keringő TSP-1-szintek összhangban állhatnak a betegség súlyosságával a terhesség e súlyos szövődményében.

Fontos megjegyezni, hogy a TSP-1 koncentrációi összefüggést mutattak a vérlemezkeszámmal a PE-s csoportban is, valamint hogy trombocitopéniával járó PE esetén alacsonyabb TSP-1 szinteket találtam, összehasonlítva azon PE-s gravidákkal, akiknek trombocitaszáma normális volt. További prospektív vizsgálatok szükségesek annak megállapítására, hogy a keringő TSP-1 szintek csökkenése alkalmas-e a HELLP-szindróma kialakulásának előrejelzésére PE-s betegekben.

A keringő TSP-1 szintek csökkentek HELLP-szindrómában, míg PE-ban változatlanok. A TSP-1 szintek és a vérlemezkeszám összefüggésének fényében úgy tűnik, hogy a keringő TSP-1 koncentrációja a betegség súlyosságát tükrözi HELLP-szindrómában, az alacsonyabb koncentrációk a betegség súlyosabb formájára utalnak. Eredményeim arra utalnak, hogy markáns anti-angiogenikus hatása ellenére, a keringő TSP-1 nem játszik szignifikáns szerepet a PE patogenezisében. Tudomásom szerint ez az első tanulmány, amely összehasonlítja a keringő TSP-1 koncentrációkat a PE és HELLP-szindróma alcsoportjaiban. Ez az új marker hasznos további információkat nyújthat a jövőben, a HELLP-szindróma súlyosságának értékelésében. Vizsgálatom korlátjai annak retrospektív volta, és a betegek alacsony száma az egyes vizsgálati csoportokban. További tanulmányok szükségesek a TSP-1-nek a terhesség e súlyos szövődményében játszott pontos patogenetikai szerepének tisztázása érdekében.

5.5. Trombospondin 2, sFlt1 és PlGF szintek praeclampsziában

E vizsgálatomban elsőként mutattuk ki, hogy az anti-angiogenetikus hatású trombospondin 2 szérumszintje jelentősen emelkedett praeclampsziában. E megfigyelés háttérében feltételezésem szerint, a praeclampsziára jellemző szisztémás endoteliális

aktiváció következményeként, a vaszkuláris endotélsejtek TSP-2 termelésének fokozódása állhat. Másik magyarázat lehet a molekula fokozott felszabadulása a sérült endotélsejtekből, hiszen a praeclampsia kifejezett endotélkárosodás is jellemző. A trombospondin 2 a praeclampsia új szérummarkere lehet, amely anti-angiogenetikus, proapoptotikus és immunmoduláns hatásain keresztül feltehetően közrejátszik a kórkép patogenezisében.

A praeclampsia hátterében álló patogenetikai folyamatok között főszerepet játszik a keringő angiogenetikus faktorok egyensúlyának meg bomlása. Az anti-angiogenetikus szolubilis vaszkuláris endoteliális növekedési faktor receptor-1 (VEGFR-1, más néven sFlt1) túlsúlyba kerül a keringésben. Ez a molekula megkötö a keringésben található VEGF-t és placentáris növekedési faktort (PlGF), ezzel meggátolva azokat hatásuk kifejtésében (42, 46). Ezen anyagok alapvető fontosságúak az endotélium integritásának fenntartásához, így hiányuk generalizált endotél sérüléshez és diszfunkcióhoz vezet (114). Korábbi irodalmi adatoknak megfelelően, szignifikánsan emelkedett sFlt1 és csökkent PlGF szinteket mutattam ki praeclampsiaiban.

A TSP-2 három ún. 1-es típusú trombospondin doménnel (TSR) rendelkezik, melyek in vitro gátolják a VEGF indukálta endotheliális sejtmigrációt és ér képződést (200, 201). A TSP-2 korlátozza a sejtproliferációt és apoptózist indukál az endotélsejtekben (194, 196, 202), valamint egér kísérletekben kimutatták, hogy gátolja a neovaszkularizációt a "sérülésre adott válasz" modellekben (197). A TSP-2 anti-angiogenetikus hatását valószínűleg több útvonalon fejti ki. Egyrészt a CD36 sejtfelszíni receptor kötésén keresztül apoptózist indukál feltehetőleg tirozin-kináz, p38 mitogén-aktiválta protein kináz és kaspáz szignálutakon keresztül (201, 206). Emellett a TSP-2 és növekedési faktorok, proteázok, hisztidinben gazdag glikoproteinek, valamint egyéb sejtfelszíni receptorok interakciója szintén szerepet játszhat az angiogenezis szabályzásában (203). A trombospondin 2 kifejezett anti-angiogenetikus hatása ellenére nem tudtam összefüggést kimutatni az egyéb vizsgált angiogenikus faktorok (sFlt1, PlGF) szérumszintjeivel. Ez alapján azt feltételezem, hogy a TSP-2 anti-angiogenetikus hatását az sFlt1-től eltérő úton hozza létre, például a vaszkuláris endoteliális sejtek direkt gátlásán keresztül, vagy apoptózisuk indukálása révén.

A TSP-2 klinikai jelentősége, és kardiovaszkuláris, valamint immunológiai betegségekben kifejtett hatása nagyrészt ismeretlen. Daniel és mtsai állatkísérleteikben

fokozott TSP-2 expressziót figyeltek meg a tubulointersticiális szövetben, glomerulonephritis esetén (199). Egy másik tanulmányukban leírták, hogy a TSP-2 kísérletes túltermeltetése gátolja a gyulladásos válasz, a transzformáló növekedési faktor β (TGF- β) aktivációját és a glomeruláris endotélsejt-proliferációt(238). Park és mtsai reumatoid artritiszben szenvedő betegek szövetmintáit vizsgálták. A szinoviális szövet TSP-2-vel történő kezelése anti-angiogenetikus hatásúnak bizonyult, és az interferon γ (IFN- γ) és a tumor nekrosis faktor α (TNF- α) proinflammatorikus citokinek termelődésének gátlásán keresztül csökkentette a gyulladásos választ (190). A praeclampsziára az immunrendszer generalizált aktiválódása és kifejezett szisztémás gyulladás jellemző. Ez ellentmondásban áll az általam megfigyelt TSP-2 szérumszint-emelkedéssel, hiszen az eddigi ismereteink tükrében ez a faktor inkább anti-inflammatorikus hatással bír. Feltételezésem szerint más anyagok ellensúlyozhatják, vagy meggátolhatják a TSP-2 gyulladáscsökkentő hatásának kifejeződését praeclampsziában. A trombospondin 2 szöveti expressziójának és lokális hatásmechanizmusának vizsgálata szükséges - főként a placentában -, hogy megtaláljuk ennek az ellentmondásnak a magyarázatát.

6. Következtetések

1. Az osteopontin (OPN) anyai szérumszintje nem különbözik praeclampsziában szenvedők és egészséges terhes nők között. Koncentrációi azonban összefüggést mutatnak a keringő fibronektin szintekkel, ami az endotél-sérülés ismert markere praeclampsziában. Továbbá, azon PE-s betegekben, akikre kifejezett endotélkárosodás jellemző (magas fibronektin szint), jelentősen magasabb az OPN koncentráció is, és ezen betegek között magasabb a súlyos forma aránya. Azt feltételezzük, hogy kiterjedt endotél-sérülés esetén az OPN a fibronektinnel együtt felszabadul az érfalból, és a perifériás keringésbe kerül. Ezek alapján az OPN az endotélkárosodás biomarkere lehet praeclampsziában. Nem találtam összefüggést a PE további patogenetikai folyamatainak (endotélaktiváció, oxidatív-stressz, placentáris törmelék megnövekedett keringő mennyisége) markerei (von Willebrand faktor antigén, malondialdehid, szabad magzati DNS) és az OPN szintek között. Ezek alapján valószínű, hogy ezen folyamatokban az OPN nem játszik lényegi szerepet.
2. A vasanyagcsere szabályozásában közreműködő, akut-fázis fehérje, a hepcidin keringő koncentrációja szignifikánsan emelkedett PE-ban, egészséges terhességhez képest. Ennek hátterében egyrészt a generalizált gyulladós válasz, másrészt a PE-ban észlelt emelkedett szérum vas-koncentráció állhat. Eredményeim azt sugallják, hogy valamilyen okból a hepcidin nem tudja kifejteni vascsökkentő hatását PE-ban. A hepcidin és a vas-homeosztázist jellemző markerek közötti korreláció hiánya arra utalhat, hogy eddig ismeretlen, a terhességre specifikus faktorok, interferálhatnak a hepcidin vascsökkentő hatásával.
3. A szolubilis urokináz plazminogén aktivátor (suPAR) keringő szintje PE-ban magasabb, fiziológiás terhességhez viszonyítva. Eredményeim alapján a suPAR szint a PE-ra jellemző emelkedett gyulladós válasz hasznos indikátora lehet. A plazma suPAR szint összefüggést mutat a klasszikus gyulladós markerek (IL-6 és CRP) szintjeivel. Diagnosztikus hatékonysága a PE-s betegek és egészséges terhes nők gyulladós reakció alapján történő elkülönítésében a CRP-t felülmúlja, az IL-

6-tal egyenértékű. Kiváló stabilitási jellemzői miatt a suPAR a terhesség alatti gyulladásoz állapot jellemzésének hasznos markerévé válhat.

4. Az anti-angiogenetikus, pro-trombotikus és immunmoduláns hatású trombospondin 1 (TSP-1) szérumszintje jelentősen alacsonyabb HELLP-szindrómás betegekben, nem terhes nőkhöz, egészséges várandósokhoz és PE-ban szenvedő betegekhez képest. Ennek oka feltételezésem szerint a véralvadási rendszer általános aktivációja következtében létrejövő konzumpciója. A TSP-1 szint erős összefüggést mutat a vérlémezkeszámmal, ezáltal jól tükrözi a betegség súlyosságát HELLP-szindrómában. Ezzel szemben a TSP-1 szintek változatlanok egészséges terhességben a nem terhes állapothoz képest, valamint PE-ban az egészséges várandósokhoz viszonyítva. Ebből arra következtettem, hogy a keringő trombospondin 1 szintjének változása nem játszik szerepet a terhesség élettani folyamataiban, és nem vesz részt a PE patogenezisében sem. A TSP-1 tehát a HELLP-szindróma hasznos markere lehet.
5. Az anti-angiogenetikus hatású trombospondin 2 (TSP-2) szérumszintje magasabb praeclampsiában, fiziológiás terhességgel összehasonlítva. Mivel a TSP-2 termeléséért főként az endotélsejtek felelősek, feltételezésünk szerint ezek PE-ra jellemző aktivációja, vagy sérülése állhat a megfigyelt emelkedés hátterében. Ez feltehetően hozzájárul a keringő angiogenetikus faktorok egyensúlyának anti-angiogenetikus irányba való eltolódásához, PE-ban. A TSP-2 szintek nem mutattak összefüggést a közismert patogenetikai jelentőségű sFlt1 és PlGF keringő szintjeivel. Ez alapján azt feltételezem, hogy a TSP-2 anti-angiogenetikus hatását az sFlt1-től eltérő úton hozza létre, például a vaszkuláris endoteliális sejtek direkt gátlásán, vagy apoptózisuk indukálása révén. A TSP-2 az anti-angiogenetikus túlsúly hasznos biomarkere lehet PE-ban.

7. Összefoglalás

A praeclampsia (PE) egy multietiológiájú betegség, amely súlyos szövődményei miatt a mai szülészeti-nőgyógyászati egyik legnagyobb problémáját jelenti. Kialakulásában fontos szerepet játszanak, többek között immunológiai folyamatok, a keringő angiogén faktorok egyensúlyának megváltozása és a véralvadási rendszer zavara. Patogenezisének pontosabb megértése és új markerek felfedezése alapfeltétele a kórkép megelőzésnek, korai felismerésnek és hatékony kezelésnek. Célom volt olyan új faktorok szintjének vizsgálata az anyai keringésben, amelyek a PE patogenezisében szerepet játszhatnak. Vizsgálataimat retrospektív megközelítésben végeztem.

Az osteopontin (OPN) egy pro-inflammatórikus citokin, melynek szérumszintje kardiovaszkuláris betegségekben megemelkedik. Kimutattam, hogy keringő koncentrációja magasabb azon PE-s betegekben, akiknél kiterjedt endotélkárosodás áll fent. Az OPN tehát az endotélkárosodás új markere lehet praeclampsziában.

A hepcidin a vasanyagcsere szabályozásában szerepet játszó akut-fázis fehérje. Eredményeink szerint plazmakoncentrációja emelkedett PE-ban, egészséges terhességhez képest. Bár élettani körülmények között a hepcidin a vas szintjét csökkenti a keringésben, PE-ban a magas hepcidin szint magas vas-koncentrációval jár. Feltételezem, hogy PE-ban, eddig ismeretlen tényezők, gátolják a hepcidin vas-csökkentő hatását. Magas szintje a szisztémás gyulladás markere lehet.

A suPAR a szisztémás gyulladás monitorizálásában egyre szélesebb körben használt biomarker. Igazoltam, hogy keringő szintje emelkedett PE-ban. Eredményeim szerint a suPAR előnyösebb gyulladási marker lehet, mint a klasszikus CRP, vagy IL-6.

A trombospondin 1 (TSP-1) egy erős anti-angiogenetikus, pro-inflammatórikus és pro-koaguláns hatásokkal rendelkező molekula. Ennek ellenére szérumszintje nem különbözik PE-ban, fiziológiás terhességhez viszonyítva. Ezzel szemben HELLP-szindrómában jelentősen csökken a mennyisége, ami szoros korrelációt mutat a trombocitaszámmal, és így a kórkép súlyosságával is.

Az anti-angiogenetikus hatású trombospondin 2 (TSP-2) szintjének emelkedését figyeltem meg praeclampsziában, ami az angiogenetikus egyensúly kisiklását tükrözheti.

Eredményeim és ezen új markerek, remélhetőleg hozzájárulnak a PE patogenezisének pontosabb megértéséhez, és ezzel a klinikai eredmények javulásához.

Summary

Preeclampsia (PE) is a disease of multi-factorial origin. Due to its severe complications, it is one of the main challenge of today's obstetrics. Immunologic processes, the imbalance in the circulating angiogenic factors and the disturbance of the coagulation system play an important role in the pathogenesis. The better understanding of its background is crucial to improve the clinical issues, regarding prevention, early diagnosis and effective management. My aim was to study new maternal circulating factors, which might contribute to the development of PE, and probably serve as clinical markers, in the future. My studies were conducted in case-control design.

Osteopontin is a pro-inflammatory cytokine. Its serum levels are elevated in several cardiovascular diseases. I have shown that circulating concentrations of OPN are elevated in those preeclamptic patients who are characterized by excessive endothelial injury. Therefore, OPN can be a new biomarker of endothelial damage in PE.

Hepcidin is an acute-phase protein participating in the regulation of the iron-homeostasis. My results show that hepcidin concentrations are elevated in the plasma of PE patients. However, under physiologic conditions hepcidin decreases iron levels, in PE high hepcidin concentrations are accompanied by elevated iron levels. I suggest that unknown factors may interfere with the iron decreasing action of hepcidin in PE. Its high levels can indicate systemic inflammation in PE.

suPAR is a biomarker increasingly used for the monitoring of systemic inflammation. I demonstrated that its levels are elevated in PE. My results suggest that suPAR could be a more advantageous inflammatory marker, than the classic IL-6 or CRP.

Thrombospondin 1 (TSP-1) has potent anti-angiogenic, pro-inflammatory and pro-coagulant effects. Despite these actions, its serum levels do not differ in PE compared to physiologic pregnancy. However, its concentrations are significantly decreased in HELLP syndrome, which is strongly associated to platelet count, and thus to the clinical severity of this disease.

I have shown that the circulating levels of the anti-angiogenic thrombospondin 2 (TSP-2) are elevated in PE, which might reflect the anti-angiogenic excess. My results and these new markers will hopefully contribute to the clarification of the pathogenesis of PE in details, and thus they will improve the clinical issues.

8. Irodalomjegyzék

1. Duckitt K, Harrington D. (2005) Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ*, 330:565.
2. Cudihy D, Lee RV. (2009) The pathophysiology of pre-eclampsia: current clinical concepts. *J Obstet Gynaecol*, 29:576-582.
3. Sibai BM, Gordon T, Thom E, Caritis SN, Klebanoff M, McNellis D, Paul RH. (1995) Risk factors for preeclampsia in healthy nulliparous women: a prospective multicenter study. The National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *Am J Obstet Gynecol*, 172:642-648.
4. Conde-Agudelo A, Althabe F, Belizan JM, Kafury-Goeta AC. (1999) Cigarette smoking during pregnancy and risk of preeclampsia: a systematic review. *Am J Obstet Gynecol*, 181:1026-1035.
5. Roberts JM, Pearson G, Cutler J, Lindheimer M. (2003) Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy. *Hypertension*, 41:437-445.
6. Dechend R, Luft FC. (2008) Are we getting closer to a Nobel prize for unraveling preeclampsia? *Curr Cardiol Rep*, 10:440-447.
7. Broughton Pipkin F. (2001) Risk factors for preeclampsia. *N Engl J Med*, 344:925-926.
8. Smith GC, Pell JP, Walsh D. (2001) Pregnancy complications and maternal risk of ischaemic heart disease: a retrospective cohort study of 129,290 births. *Lancet*, 357:2002-2006.
9. Wilson BJ, Watson MS, Prescott GJ, Sunderland S, Campbell DM, Hannaford P, Smith WC. (2003) Hypertensive diseases of pregnancy and risk of hypertension and stroke in later life: results from cohort study. *BMJ*, 326:845.
10. Roberts JM, Gammill H. (2005) Pre-eclampsia and cardiovascular disease in later life. *Lancet*, 366:961-962.
11. Rath W, Faridi A, Dudenhausen JW. (2000) HELLP syndrome. *J Perinat Med*, 28:249-260.

12. Sibai BM, Ramadan MK, Usta I, Salama M, Mercer BM, Friedman SA. (1993) Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). *Am J Obstet Gynecol*, 169:1000-1006.
13. Sibai BM, Taslimi MM, el-Nazer A, Amon E, Mabie BC, Ryan GM. (1986) Maternal-perinatal outcome associated with the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets in severe preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 155:501-509.
14. Repke JT. (1991) Prevention of preeclampsia. *Clin Perinatol*, 18:779-792.
15. Trivedi NA. (2011) A meta-analysis of low-dose aspirin for prevention of preeclampsia. *J Postgrad Med*, 57:91-95.
16. Thangaratinam S, Langenveld J, Mol BW, Khan KS. (2011) Prediction and primary prevention of pre-eclampsia. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 25:419-433.
17. (2000) Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 183:S1-S22.
18. Sibai BM. (2003) Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol*, 102:181-192.
19. (2002) ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. *Obstet Gynecol*, 99:159-167.
20. Martin JN, Jr., Rinehart BK, May WL, Magann EF, Terrone DA, Blake PG. (1999) The spectrum of severe preeclampsia: comparative analysis by HELLP (hemolysis, elevated liver enzyme levels, and low platelet count) syndrome classification. *Am J Obstet Gynecol*, 180:1373-1384.
21. Sibai BM. (1990) The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): much ado about nothing? *Am J Obstet Gynecol*, 162:311-316.
22. Redman CW, Sargent IL. (2005) Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*, 308:1592-1594.
23. Karumanchi SA, Bdolah Y. (2004) Hypoxia and sFlt-1 in preeclampsia: the "chicken-and-egg" question. *Endocrinology*, 145:4835-4837.
24. Ness RB, Roberts JM. (1996) Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol*, 175:1365-1370.

25. Sattar N, Greer IA. (2002) Pregnancy complications and maternal cardiovascular risk: opportunities for intervention and screening? *BMJ*, 325:157-160.
26. Red-Horse K, Zhou Y, Genbacev O, Prakobphol A, Foulk R, McMaster M, Fisher SJ. (2004) Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. *J Clin Invest*, 114:744-754.
27. Bdolah Y, Sukhatme VP, Karumanchi SA. (2004) Angiogenic imbalance in the pathophysiology of preeclampsia: newer insights. *Semin Nephrol*, 24:548-556.
28. Zygmunt M, Herr F, Munstedt K, Lang U, Liang OD. (2003) Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 110 Suppl 1:S10-18.
29. Jauniaux E, Gulbis B, Burton GJ. (2003) The human first trimester gestational sac limits rather than facilitates oxygen transfer to the foetus--a review. *Placenta*, 24 Suppl A:S86-93.
30. Zhou Y, Fisher SJ, Janatpour M, Genbacev O, Dejana E, Wheelock M, Damsky CH. (1997) Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J Clin Invest*, 99:2139-2151.
31. Maynard S, Epstein FH, Karumanchi SA. (2008) Preeclampsia and angiogenic imbalance. *Annu Rev Med*, 59:61-78.
32. Shibuya M. (2001) Structure and function of VEGF/VEGF-receptor system involved in angiogenesis. *Cell Struct Funct*, 26:25-35.
33. Maharaj AS, Walshe TE, Saint-Geniez M, Venkatesha S, Maldonado AE, Himes NC, Matharu KS, Karumanchi SA, D'Amore PA. (2008) VEGF and TGF-beta are required for the maintenance of the choroid plexus and ependyma. *J Exp Med*, 205:491-501.
34. Esser S, Wolburg K, Wolburg H, Breier G, Kurzchalia T, Risau W. (1998) Vascular endothelial growth factor induces endothelial fenestrations in vitro. *J Cell Biol*, 140:947-959.
35. Ferrara N, Davis-Smyth T. (1997) The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*, 18:4-25.
36. Torry DS, Mukherjea D, Arroyo J, Torry RJ. (2003) Expression and function of placenta growth factor: implications for abnormal placentation. *J Soc Gynecol Investig*, 10:178-188.

37. Kuroda M, Oka T, Oka Y, Yamochi T, Ohtsubo K, Mori S, Watanabe T, Machinami R, Ohnishi S. (1995) Colocalization of vascular endothelial growth factor (vascular permeability factor) and insulin in pancreatic islet cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 80:3196-3200.
38. Carmeliet P, Moons L, Luttun A, Vincenti V, Compernelle V, De Mol M, Wu Y, Bono F, Devy L, Beck H, Scholz D, Acker T, DiPalma T, Dewerchin M, Noel A, Stalmans I, Barra A, Blacher S, Vandendriessche T, Ponten A, Eriksson U, Plate KH, Foidart JM, Schaper W, Charnock-Jones DS, Hicklin DJ, Herbert JM, Collen D, Persico MG. (2001) Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Nat Med*, 7:575-583.
39. Steinberg G, Khankin EV, Karumanchi SA. (2009) Angiogenic factors and preeclampsia. *Thromb Res*, 123 Suppl 2:S93-99.
40. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, Karumanchi SA. (2006) Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med*, 355:992-1005.
41. 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.
42. 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.
43. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, Bdolah Y, Lim KH, Yuan HT, Libermann TA, Stillman IE, Roberts D, D'Amore PA, Epstein FH, Sellke FW, Romero R, Sukhatme VP, Letarte M, Karumanchi SA. (2006) Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med*, 12:642-649.
44. Hertig A, Berkane N, Lefevre G, Toumi K, Marti HP, Capeau J, Uzan S, Rondeau E. (2004) Maternal serum sFlt1 concentration is an early and reliable predictive marker of preeclampsia. *Clin Chem*, 50:1702-1703.

45. Chaiworapongsa T, Romero R, Kim YM, Kim GJ, Kim MR, Espinoza J, Bujold E, Goncalves L, Gomez R, Edwin S, Mazor M. (2005) Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 concentration is elevated prior to the clinical diagnosis of pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 17:3-18.
46. Molvarec A, Szarka A, Walentin S, Szucs E, Nagy B, Rigo J, Jr. (2010) 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.
47. Kendall RL, Thomas KA. (1993) Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90:10705-10709.
48. Ahmad S, Ahmed A. (2004) Elevated placental soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 inhibits angiogenesis in preeclampsia. *Circ Res*, 95:884-891.
49. Patel TV, Morgan JA, Demetri GD, George S, Maki RG, Quigley M, Humphreys BD. (2008) A preeclampsia-like syndrome characterized by reversible hypertension and proteinuria induced by the multitargeted kinase inhibitors sunitinib and sorafenib. *J Natl Cancer Inst*, 100:282-284.
50. Kanter D, Lindheimer MD, Wang E, Borromeo RG, Bousfield E, Karumanchi SA, Stillman IE. (2010) Angiogenic dysfunction in molar pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 202:184 e181-185.
51. Bdolah Y, Lam C, Rajakumar A, Shivalingappa V, Mutter W, Sachs BP, Lim KH, Bdolah-Abram T, Epstein FH, Karumanchi SA. (2008) Twin pregnancy and the risk of preeclampsia: bigger placenta or relative ischemia? *Am J Obstet Gynecol*, 198:428 e421-426.
52. Sela S, Itin A, Natanson-Yaron S, Greenfield C, Goldman-Wohl D, Yagel S, Keshet E. (2008) A novel human-specific soluble vascular endothelial growth factor receptor 1: cell-type-specific splicing and implications to vascular endothelial growth factor homeostasis and preeclampsia. *Circ Res*, 102:1566-1574.
53. McKeeman GC, Ardill JE, Caldwell CM, Hunter AJ, McClure N. (2004) Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sFlt-1) is increased throughout gestation in patients who have preeclampsia develop. *Am J Obstet Gynecol*, 191:1240-1246.

54. Tsatsaris V, Goffin F, Munaut C, Brichant JF, Pignon MR, Noel A, Schaaps JP, Cabrol D, Franckenne F, Foidart JM. (2003) Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: pathophysiological consequences. *J Clin Endocrinol Metab*, 88:5555-5563.
55. Woolcock J, Hennessy A, Xu B, Thornton C, Tooher J, Makris A, Ogle R. (2008) Soluble Flt-1 as a diagnostic marker of pre-eclampsia. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 48:64-70.
56. Koga K, Osuga Y, Yoshino O, Hirota Y, Ruimeng X, Hirata T, Takeda S, Yano T, Tsutsumi O, Taketani Y. (2003) Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*, 88:2348-2351.
57. Shibata E, Rajakumar A, Powers RW, Larkin RW, Gilmour C, Bodnar LM, Crombleholme WR, Ness RB, Roberts JM, Hubel CA. (2005) Soluble fms-like tyrosine kinase 1 is increased in preeclampsia but not in normotensive pregnancies with small-for-gestational-age neonates: relationship to circulating placental growth factor. *J Clin Endocrinol Metab*, 90:4895-4903.
58. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, Pape J, Dudenhausen JW, Denk B, Stepan H. (2010) An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 202:161 e161-161 e111.
59. Kim SY, Ryu HM, Yang JH, Kim MY, Han JY, Kim JO, Chung JH, Park SY, Lee MH, Kim DJ. (2007) Increased sFlt-1 to PlGF ratio in women who subsequently develop preeclampsia. *J Korean Med Sci*, 22:873-877.
60. Torry DS, Wang HS, Wang TH, Caudle MR, Torry RJ. (1998) Preeclampsia is associated with reduced serum levels of placenta growth factor. *Am J Obstet Gynecol*, 179:1539-1544.
61. Taylor RN, Grimwood J, Taylor RS, McMaster MT, Fisher SJ, North RA. (2003) Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*, 188:177-182.

62. Reuvekamp A, Velsing-Aarts FV, Poulina IE, Capello JJ, Duits AJ. (1999) Selective deficit of angiogenic growth factors characterises pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol*, 106:1019-1022.
63. Livingston JC, Chin R, Haddad B, McKinney ET, Ahokas R, Sibai BM. (2000) Reductions of vascular endothelial growth factor and placental growth factor concentrations in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 183:1554-1557.
64. Livingston JC, Haddad B, Gorski LA, Neblett P, Ahokas RA, Ramsey R, Sibai BM. (2001) Placenta growth factor is not an early marker for the development of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 184:1218-1220.
65. Tjoa ML, van Vugt JM, Mulders MA, Schutgens RB, Oudejans CB, van Wijk IJ. (2001) Plasma placenta growth factor levels in midtrimester pregnancies. *Obstet Gynecol*, 98:600-607.
66. Sunderji S, Gaziano E, Wothe D, Rogers LC, Sibai B, Karumanchi SA, Hodges-Savola C. (2010) Automated assays for sVEGF R1 and PlGF as an aid in the diagnosis of preterm preeclampsia: a prospective clinical study. *Am J Obstet Gynecol*, 202:40 e41-47.
67. Audus KL, Soares MJ, Hunt JS. (2002) Characteristics of the fetal/maternal interface with potential usefulness in the development of future immunological and pharmacological strategies. *J Pharmacol Exp Ther*, 301:402-409.
68. Saito S, Umekage H, Sakamoto Y, Sakai M, Tanebe K, Sasaki Y, Morikawa H. (1999) Increased T-helper-1-type immunity and decreased T-helper-2-type immunity in patients with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*, 41:297-306.
69. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. (1999) Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 180:499-506.
70. Casart YC, Tarrazzi K, Camejo MI. (2007) Serum levels of interleukin-6, interleukin-1beta and human chorionic gonadotropin in pre-eclamptic and normal pregnancy. *Gynecol Endocrinol*, 23:300-303.
71. Conrad KP, Miles TM, Benyo DF. (1998) Circulating levels of immunoreactive cytokines in women with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*, 40:102-111.
72. Sharma A, Satyam A, Sharma JB. (2007) Leptin, IL-10 and inflammatory markers (TNF-alpha, IL-6 and IL-8) in pre-eclamptic, normotensive pregnant and healthy non-pregnant women. *Am J Reprod Immunol*, 58:21-30.

73. Wang Y, Walsh SW. (1996) TNF alpha concentrations and mRNA expression are increased in preeclamptic placentas. *J Reprod Immunol*, 32:157-169.
74. Bartha JL, Romero-Carmona R, Escobar-Llompart M, Comino-Delgado R. (2001) The relationships between leptin and inflammatory cytokines in women with pre-eclampsia. *BJOG*, 108:1272-1276.
75. Nakabayashi M, Sakura M, Takeda Y, Sato K. (1998) Elevated IL-6 in midtrimester amniotic fluid is involved with the onset of preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*, 39:329-334.
76. Szarka A, Rigo J, Jr., Lazar L, Beko G, Molvarec A. (2010) Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC Immunol*, 11:59.
77. Greer IA, Lyall F, Perera T, Boswell F, Macara LM. (1994) Increased concentrations of cytokines interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in plasma of women with preeclampsia: a mechanism for endothelial dysfunction? *Obstet Gynecol*, 84:937-940.
78. Hennessy A, Pilmore HL, Simmons LA, Painter DM. (1999) A deficiency of placental IL-10 in preeclampsia. *J Immunol*, 163:3491-3495.
79. Orange S, Horvath J, Hennessy A. (2003) Preeclampsia is associated with a reduced interleukin-10 production from peripheral blood mononuclear cells. *Hypertens Pregnancy*, 22:1-8.
80. Wilczynski JR, Tchorzewski H, Glowacka E, Banasik M, Lewkowicz P, Szpakowski M, Zeman K, Wilczynski J. (2002) Cytokine secretion by decidual lymphocytes in transient hypertension of pregnancy and pre-eclampsia. *Mediators Inflamm*, 11:105-111.
81. Williams MA, Farrand A, Mittendorf R, Sorensen TK, Zingheim RW, O'Reilly GC, King IB, Zebelman AM, Luthy DA. (1999) Maternal second trimester serum tumor necrosis factor-alpha-soluble receptor p55 (sTNFp55) and subsequent risk of preeclampsia. *Am J Epidemiol*, 149:323-329.
82. Rasmussen CA, Pace JL, Banerjee S, Phillips TA, Hunt JS. (1999) Trophoblastic cell lines generated from tumour necrosis factor receptor-deficient mice reveal specific functions for the two tumour necrosis factor receptors. *Placenta*, 20:213-222.

83. Todt JC, Yang Y, Lei J, Lauria MR, Sorokin Y, Cotton DB, Yelian FD. (1996) Effects of tumor necrosis factor-alpha on human trophoblast cell adhesion and motility. *Am J Reprod Immunol*, 36:65-71.
84. Yui J, Garcia-Lloret M, Wegmann TG, Guilbert LJ. (1994) Cytotoxicity of tumour necrosis factor-alpha and gamma-interferon against primary human placental trophoblasts. *Placenta*, 15:819-835.
85. Smith SC, Baker PN, Symonds EM. (1997) Placental apoptosis in normal human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 177:57-65.
86. Allaire AD, Ballenger KA, Wells SR, McMahon MJ, Lessey BA. (2000) Placental apoptosis in preeclampsia. *Obstet Gynecol*, 96:271-276.
87. Ishihara N, Matsuo H, Murakoshi H, Laoag-Fernandez JB, Samoto T, Maruo T. (2002) Increased apoptosis in the syncytiotrophoblast in human term placentas complicated by either preeclampsia or intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol*, 186:158-166.
88. Genbacev O, DiFederico E, McMaster M, Fisher SJ. (1999) Invasive cytotrophoblast apoptosis in pre-eclampsia. *Hum Reprod*, 14 Suppl 2:59-66.
89. DiFederico E, Genbacev O, Fisher SJ. (1999) Preeclampsia is associated with widespread apoptosis of placental cytotrophoblasts within the uterine wall. *Am J Pathol*, 155:293-301.
90. Hung TH, Skepper JN, Charnock-Jones DS, Burton GJ. (2002) Hypoxia-reoxygenation: a potent inducer of apoptotic changes in the human placenta and possible etiological factor in preeclampsia. *Circ Res*, 90:1274-1281.
91. Redman CW, Sargent IL. (2001) The pathogenesis of pre-eclampsia. *Gynecol Obstet Fertil*, 29:518-522.
92. Rusterholz C, Hahn S, Holzgreve W. (2007) Role of placentally produced inflammatory and regulatory cytokines in pregnancy and the etiology of preeclampsia. *Semin Immunopathol*, 29:151-162.
93. Zhong XY, Laivuori H, Livingston JC, Ylikorkala O, Sibai BM, Holzgreve W, Hahn S. (2001) Elevation of both maternal and fetal extracellular circulating deoxyribonucleic acid concentrations in the plasma of pregnant women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 184:414-419.

94. De M, Wood GW. (1990) Influence of oestrogen and progesterone on macrophage distribution in the mouse uterus. *J Endocrinol*, 126:417-424.
95. Heikkinen J, Mottonen M, Komi J, Alanen A, Lassila O. (2003) Phenotypic characterization of human decidual macrophages. *Clin Exp Immunol*, 131:498-505.
96. Sunderkotter C, Steinbrink K, Goebeler M, Bhardwaj R, Sorg C. (1994) Macrophages and angiogenesis. *J Leukoc Biol*, 55:410-422.
97. Hunt JS. (1989) Macrophages in human uteroplacental tissues: a review. *Am J Reprod Immunol*, 21:119-122.
98. Reister F, Frank HG, Kingdom JC, Heyl W, Kaufmann P, Rath W, Huppertz B. (2001) Macrophage-induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in the uterine wall of preeclamptic women. *Lab Invest*, 81:1143-1152.
99. Trundley A, Moffett A. (2004) Human uterine leukocytes and pregnancy. *Tissue Antigens*, 63:1-12.
100. Hanna J, Goldman-Wohl D, Hamani Y, Avraham I, Greenfield C, Natanson-Yaron S, Prus D, Cohen-Daniel L, Arnon TI, Manaster I, Gazit R, Yutkin V, Benharroch D, Porgador A, Keshet E, Yagel S, Mandelboim O. (2006) Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nat Med*, 12:1065-1074.
101. Sakai M, Ogawa K, Shiozaki A, Yoneda S, Sasaki Y, Nagata K, Saito S. (2004) Serum granulysin is a marker for Th1 type immunity in pre-eclampsia. *Clin Exp Immunol*, 136:114-119.
102. Saito S. (2000) Cytokine network at the feto-maternal interface. *J Reprod Immunol*, 47:87-103.
103. Vince GS, Johnson PM. (2000) Leucocyte populations and cytokine regulation in human uteroplacental tissues. *Biochem Soc Trans*, 28:191-195.
104. Challis JR, Lockwood CJ, Myatt L, Norman JE, Strauss JF, 3rd, Petraglia F. (2009) Inflammation and pregnancy. *Reprod Sci*, 16:206-215.
105. Chaouat G. (1999) Regulation of T-cell activities at the feto-placental interface--by placenta? *Am J Reprod Immunol*, 42:199-204.
106. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. (1993) Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today*, 14:353-356.

107. Vanderlelie J, Venardos K, Clifton VL, Gude NM, Clarke FM, Perkins AV. (2005) Increased biological oxidation and reduced anti-oxidant enzyme activity in pre-eclamptic placentae. *Placenta*, 26:53-58.
108. Madazli R, Benian A, Aydin S, Uzun H, Tolun N. (2002) The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol*, 22:477-480.
109. Gupta S, Agarwal A, Sharma RK. (2005) The role of placental oxidative stress and lipid peroxidation in preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv*, 60:807-816.
110. Atamer Y, Kocyigit Y, Yokus B, Atamer A, Erden AC. (2005) Lipid peroxidation, antioxidant defense, status of trace metals and leptin levels in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 119:60-66.
111. Aydin S, Benian A, Madazli R, Uludag S, Uzun H, Kaya S. (2004) Plasma malondialdehyde, superoxide dismutase, sE-selectin, fibronectin, endothelin-1 and nitric oxide levels in women with preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 113:21-25.
112. Yoneyama Y, Sawa R, Suzuki S, Doi D, Yoneyama K, Otsubo Y, Araki T. (2002) Relationship between plasma malondialdehyde levels and adenosine deaminase activities in preeclampsia. *Clin Chim Acta*, 322:169-173.
113. Takacs P, Kauma SW, Sholley MM, Walsh SW, Dinsmoor MJ, Green K. (2001) Increased circulating lipid peroxides in severe preeclampsia activate NF-kappaB and upregulate ICAM-1 in vascular endothelial cells. *FASEB J*, 15:279-281.
114. Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. (1989) Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol*, 161:1200-1204.
115. Stubbs TM, Lazarchick J, Horger EO, 3rd. (1984) Plasma fibronectin levels in preeclampsia: a possible biochemical marker for vascular endothelial damage. *Am J Obstet Gynecol*, 150:885-887.
116. Paternoster D, Stella A, Simioni P, Trovo S, Plebani P, Girolami A. (1994) Clotting inhibitors and fibronectin as potential markers in preeclampsia. *Int J Gynaecol Obstet*, 47:215-221.

117. Paternoster DM, Stella A, Simioni P, Girolami A, Plebani M. (1996) Fibronectin and antithrombin as markers of pre-eclampsia in pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 70:33-39.
118. Molvarec A, Rigo J, Jr., Boze T, Derzsy Z, Cervenak L, Mako V, Gombos T, Udvardy ML, Harsfalvi J, Prohaszka Z. (2009) Increased plasma von Willebrand factor antigen levels but normal von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) activity in preeclampsia. *Thromb Haemost*, 101:305-311.
119. Stepanian A, Cohen-Moatti M, Sanglier T, Legendre P, Ameziane N, Tsatsaris V, Mandelbrot L, de Prost D, Veyradier A. (2011) Von Willebrand factor and ADAMTS13: a candidate couple for preeclampsia pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31:1703-1709.
120. Basher K, Deb K. (2006) Alteration in iron status in pre eclampsia. *Mymensingh Med J*, 15:22-24.
121. Rayman MP, Barlis J, Evans RW, Redman CW, King LJ. (2002) Abnormal iron parameters in the pregnancy syndrome preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 187:412-418.
122. Balla J, Jeney V, Varga Z, Komodi E, Nagy E, Balla G. (2007) Iron homeostasis in chronic inflammation. *Acta Physiol Hung*, 94:95-106.
123. Mark MP, Prince CW, Oosawa T, Gay S, Bronckers AL, Butler WT. (1987) Immunohistochemical demonstration of a 44-KD phosphoprotein in developing rat bones. *J Histochem Cytochem*, 35:707-715.
124. Patarca R, Saavedra RA, Cantor H. (1993) Molecular and cellular basis of genetic resistance to bacterial infection: the role of the early T-lymphocyte activation-1/osteopontin gene. *Crit Rev Immunol*, 13:225-246.
125. Ashkar S, Weber GF, Panoutsakopoulou V, Sanchirico ME, Jansson M, Zawaideh S, Rittling SR, Denhardt DT, Glimcher MJ, Cantor H. (2000) Eta-1 (osteopontin): an early component of type-1 (cell-mediated) immunity. *Science*, 287:860-864.
126. O'Brien ER, Garvin MR, Stewart DK, Hinohara T, Simpson JB, Schwartz SM, Giachelli CM. (1994) Osteopontin is synthesized by macrophage, smooth muscle, and endothelial cells in primary and restenotic human coronary atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb*, 14:1648-1656.

127. Wang KX, Denhardt DT. (2008) Osteopontin: role in immune regulation and stress responses. *Cytokine Growth Factor Rev*, 19:333-345.
128. Sodek J, Batista Da Silva AP, Zohar R. (2006) Osteopontin and mucosal protection. *J Dent Res*, 85:404-415.
129. Gomez-Ambrosi J, Catalan V, Ramirez B, Rodriguez A, Colina I, Silva C, Rotellar F, Mugueta C, Gil MJ, Cienfuegos JA, Salvador J, Fruhbeck G. (2007) Plasma osteopontin levels and expression in adipose tissue are increased in obesity. *J Clin Endocrinol Metab*, 92:3719-3727.
130. O'Regan A, Berman JS. (2000) Osteopontin: a key cytokine in cell-mediated and granulomatous inflammation. *Int J Exp Pathol*, 81:373-390.
131. Weber GF, Ashkar S, Glimcher MJ, Cantor H. (1996) Receptor-ligand interaction between CD44 and osteopontin (Eta-1). *Science*, 271:509-512.
132. Apparao KB, Murray MJ, Fritz MA, Meyer WR, Chambers AF, Truong PR, Lessey BA. (2001) Osteopontin and its receptor alphavbeta(3) integrin are coexpressed in the human endometrium during the menstrual cycle but regulated differentially. *J Clin Endocrinol Metab*, 86:4991-5000.
133. Johnson GA, Burghardt RC, Joyce MM, Spencer TE, Bazer FW, Pfarrer C, Gray CA. (2003) Osteopontin expression in uterine stroma indicates a decidualization-like differentiation during ovine pregnancy. *Biol Reprod*, 68:1951-1958.
134. Briese J, Oberndorfer M, Patschenik C, Schulte HM, Makrigiannakis A, Loning T, Bamberger AM. (2005) Osteopontin is colocalized with the adhesion molecule CEACAM1 in the extravillous trophoblast of the human placenta and enhances invasion of CEACAM1-expressing placental cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 90:5407-5413.
135. Comabella M, Pericot I, Goertsches R, Nos C, Castillo M, Blas Navarro J, Rio J, Montalban X. (2005) Plasma osteopontin levels in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*, 158:231-239.
136. Scatena M, Liaw L, Giachelli CM. (2007) Osteopontin: a multifunctional molecule regulating chronic inflammation and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27:2302-2309.
137. Wong TS, Kwong DL, Sham J, Wei WI, Kwong YL, Yuen AP. (2005) Elevation of plasma osteopontin level in patients with undifferentiated nasopharyngeal carcinoma. *Eur J Surg Oncol*, 31:555-558.

138. Kao CL, Chiou SH, Ho DM, Chen YJ, Liu RS, Lo CW, Tsai FT, Lin CH, Ku HH, Yu SM, Wong TT. (2005) Elevation of plasma and cerebrospinal fluid osteopontin levels in patients with atypical teratoid/rhabdoid tumor. *Am J Clin Pathol*, 123:297-304.
139. Wong CK, Lit LC, Tam LS, Li EK, Lam CW. (2005) Elevation of plasma osteopontin concentration is correlated with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*, 44:602-606.
140. Mishima R, Takeshima F, Sawai T, Ohba K, Ohnita K, Isomoto H, Omagari K, Mizuta Y, Ozono Y, Kohno S. (2007) High plasma osteopontin levels in patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol*, 41:167-172.
141. Mohler ER, 3rd, Adam LP, McClelland P, Graham L, Hathaway DR. (1997) Detection of osteopontin in calcified human aortic valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17:547-552.
142. Ohmori R, Momiyama Y, Taniguchi H, Takahashi R, Kusuhara M, Nakamura H, Ohsuzu F. (2003) Plasma osteopontin levels are associated with the presence and extent of coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 170:333-337.
143. Georgiadou P, Iliodromitis EK, Kolokathis F, Mavroidis M, Andreadou I, Demopoulou M, Varounis C, Capetanaki Y, Boudoulas H, Kremastinos DT. (2008) Plasma levels of osteopontin before and 24 h after percutaneous coronary intervention. *Expert Opin Ther Targets*, 12:1477-1480.
144. Georgiadou P, Iliodromitis EK, Varounis C, Mavroidis M, Kolokathis F, Andreadou I, Psarras S, Capetanaki Y, Boudoulas H, Kremastinos DT. (2008) Relationship between plasma osteopontin and oxidative stress in patients with coronary artery disease. *Expert Opin Ther Targets*, 12:917-920.
145. Kurata M, Okura T, Watanabe S, Fukuoka T, Higaki J. (2006) Osteopontin and carotid atherosclerosis in patients with essential hypertension. *Clin Sci (Lond)*, 111:319-324.
146. Giachelli CM, Bae N, Almeida M, Denhardt DT, Alpers CE, Schwartz SM. (1993) Osteopontin is elevated during neointima formation in rat arteries and is a novel component of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*, 92:1686-1696.
147. Piperno A, Mariani R, Trombini P, Girelli D. (2009) Hecpidin modulation in human diseases: from research to clinic. *World J Gastroenterol*, 15:538-551.

148. Kemna EH, Kartikasari AE, van Tits LJ, Pickkers P, Tjalsma H, Swinkels DW. (2008) Regulation of hepcidin: insights from biochemical analyses on human serum samples. *Blood Cells Mol Dis*, 40:339-346.
149. Nemeth E, Ganz T. (2009) The role of hepcidin in iron metabolism. *Acta Haematol*, 122:78-86.
150. Wrighting DM, Andrews NC. (2006) Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood*, 108:3204-3209.
151. Tussing-Humphreys LM, Nemeth E, Fantuzzi G, Freels S, Guzman G, Holterman AX, Braunschweig C. (2010) Elevated systemic hepcidin and iron depletion in obese premenopausal females. *Obesity (Silver Spring)*, 18:1449-1456.
152. Zaritsky J, Young B, Wang HJ, Westerman M, Olbina G, Nemeth E, Ganz T, Rivera S, Nissenson AR, Salusky IB. (2009) Hepcidin--a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 4:1051-1056.
153. de Bock CE, Wang Y. (2004) Clinical significance of urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) expression in cancer. *Med Res Rev*, 24:13-39.
154. Estreicher A, Muhlhauser J, Carpentier JL, Orci L, Vassalli JD. (1990) The receptor for urokinase type plasminogen activator polarizes expression of the protease to the leading edge of migrating monocytes and promotes degradation of enzyme inhibitor complexes. *J Cell Biol*, 111:783-792.
155. Florquin S, van den Berg JG, Olszyna DP, Claessen N, Opal SM, Weening JJ, van der Poll T. (2001) Release of urokinase plasminogen activator receptor during urosepsis and endotoxemia. *Kidney Int*, 59:2054-2061.
156. Grondahl-Hansen J, Lund LR, Ralfkiaer E, Ottevanger V, Dano K. (1988) Urokinase- and tissue-type plasminogen activators in keratinocytes during wound reepithelialization in vivo. *J Invest Dermatol*, 90:790-795.
157. Thuno M, Macho B, Eugen-Olsen J. (2009) suPAR: the molecular crystal ball. *Dis Markers*, 27:157-172.
158. Mustjoki S, Sidenius N, Sier CF, Blasi F, Elonon E, Alitalo R, Vaheri A. (2000) Soluble urokinase receptor levels correlate with number of circulating tumor cells in acute myeloid leukemia and decrease rapidly during chemotherapy. *Cancer Res*, 60:7126-7132.

159. Ostergaard C, Benfield T, Lundgren JD, Eugen-Olsen J. (2004) Soluble urokinase receptor is elevated in cerebrospinal fluid from patients with purulent meningitis and is associated with fatal outcome. *Scand J Infect Dis*, 36:14-19.
160. Ostrowski SR, Ullum H, Goka BQ, Hoyer-Hansen G, Obeng-Adjei G, Pedersen BK, Akanmori BD, Kurtzhals JA. (2005) Plasma concentrations of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor are increased in patients with malaria and are associated with a poor clinical or a fatal outcome. *J Infect Dis*, 191:1331-1341.
161. Balabanov R, Lisak D, Beaumont T, Lisak RP, Dore-Duffy P. (2001) Expression of urokinase plasminogen activator receptor on monocytes from patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: effect of glatiramer acetate (copolymer 1). *Clin Diagn Lab Immunol*, 8:1196-1203.
162. Sier CF, Stephens R, Bizik J, Mariani A, Bassan M, Pedersen N, Frigerio L, Ferrari A, Dano K, Brunner N, Blasi F. (1998) The level of urokinase-type plasminogen activator receptor is increased in serum of ovarian cancer patients. *Cancer Res*, 58:1843-1849.
163. Andersen O, Eugen-Olsen J, Kofoed K, Iversen J, Haugaard SB. (2008) Soluble urokinase plasminogen activator receptor is a marker of dysmetabolism in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *J Med Virol*, 80:209-216.
164. Slot O, Brunner N, Loch H, Oxholm P, Stephens RW. (1999) Soluble urokinase plasminogen activator receptor in plasma of patients with inflammatory rheumatic disorders: increased concentrations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 58:488-492.
165. Baezinger NL BG, Majerus PW. (1971) A thrombin-sensitive protein of human platelet membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 68:240-249.
166. Lawler JW, Slayter HS, Coligan JE. (1978) Isolation and characterization of a high molecular weight glycoprotein from human blood platelets. *J Biol Chem*, 253:8609-8616.
167. Baezinger NL BG, Majerus PW. (1972) Isolation and properties of a thrombin-sensitive protein of human platelets. *J Biol Chem*, 247:2723-2731.
168. Mosher DF, Doyle MJ, Jaffe EA. (1982) Synthesis and secretion of thrombospondin by cultured human endothelial cells. *J Cell Biol*, 93:343-348.

169. McLaren KM. (1983) Immunohistochemical localisation of thrombospondin in human megakaryocytes and platelets. *J Clin Pathol*, 36:197-199.
170. Bornstein P. (1992) Thrombospondins: structure and regulation of expression. *FASEB J*, 6:3290-3299.
171. Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA, Bouck N. (1994) Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin-1. *Science*, 265:1582-1584.
172. Adams JC. (1997) Thrombospondin-1. *Int J Biochem Cell Biol*, 29:861-865.
173. Osada-Oka M, Ikeda T, Akiba S, Sato T. (2008) Hypoxia stimulates the autocrine regulation of migration of vascular smooth muscle cells via HIF-1 α -dependent expression of thrombospondin-1. *J Cell Biochem*, 104:1918-1926.
174. Iruela-Arispe ML, Porter P, Bornstein P, Sage EH. (1996) Thrombospondin-1, an inhibitor of angiogenesis, is regulated by progesterone in the human endometrium. *J Clin Invest*, 97:403-412.
175. Reed MJ, Iruela-Arispe L, O'Brien ER, Truong T, LaBell T, Bornstein P, Sage EH. (1995) Expression of thrombospondins by endothelial cells. Injury is correlated with TSP-1. *Am J Pathol*, 147:1068-1080.
176. Adams JC. (1995) Formation of stable microspikes containing actin and the 55 kDa actin bundling protein, fascin, is a consequence of cell adhesion to thrombospondin-1: implications for the anti-adhesive activities of thrombospondin-1. *J Cell Sci*, 108 (Pt 5):1977-1990.
177. Bonnefoy A, Moura R, Hoylaerts MF. (2008) The evolving role of thrombospondin-1 in hemostasis and vascular biology. *Cell Mol Life Sci*, 65:713-727.
178. Savill J, Fadok V, Henson P, Haslett C. (1993) Phagocyte recognition of cells undergoing apoptosis. *Immunol Today*, 14:131-136.
179. Schultz-Cherry S, Chen H, Mosher DF, Misenheimer TM, Krutzsch HC, Roberts DD, Murphy-Ullrich JE. (1995) Regulation of transforming growth factor-beta activation by discrete sequences of thrombospondin 1. *J Biol Chem*, 270:7304-7310.
180. Friedl P, Vischer P, Freyberg MA. (2002) The role of thrombospondin-1 in apoptosis. *Cell Mol Life Sci*, 59:1347-1357.

181. Zaslavsky A, Baek KH, Lynch RC, Short S, Grillo J, Folkman J, Italiano JE, Jr., Ryeom S. (2010) Platelet-derived thrombospondin-1 is a critical negative regulator and potential biomarker of angiogenesis. *Blood*, 115:4605-4613.
182. Isenberg JS, Frazier WA, Roberts DD. (2008) Thrombospondin-1: a physiological regulator of nitric oxide signaling. *Cell Mol Life Sci*, 65:728-742.
183. Isenberg JS, Qin Y, Maxhimer JB, Sipes JM, Despres D, Schnermann J, Frazier WA, Roberts DD. (2009) Thrombospondin-1 and CD47 regulate blood pressure and cardiac responses to vasoactive stress. *Matrix Biol*, 28:110-119.
184. Maier KG, Han X, Sadowitz B, Gentile KL, Middleton FA, Gahtan V. (2010) Thrombospondin-1: a proatherosclerotic protein augmented by hyperglycemia. *J Vasc Surg*, 51:1238-1247.
185. Bornstein P, O'Rourke K, Wikstrom K, Wolf FW, Katz R, Li P, Dixit VM. (1991) A second, expressed thrombospondin gene (Thbs2) exists in the mouse genome. *J Biol Chem*, 266:12821-12824.
186. Bornstein P, Armstrong LC, Hankenson KD, Kyriakides TR, Yang Z. (2000) Thrombospondin 2, a matricellular protein with diverse functions. *Matrix Biol*, 19:557-568.
187. Adolph KW. (1999) Relative abundance of thrombospondin 2 and thrombospondin 3 mRNAs in human tissues. *Biochem Biophys Res Commun*, 258:792-796.
188. Lin TN, Kim GM, Chen JJ, Cheung WM, He YY, Hsu CY. (2003) Differential regulation of thrombospondin-1 and thrombospondin-2 after focal cerebral ischemia/reperfusion. *Stroke*, 34:177-186.
189. Szasz T, Eddy S, Paulauskis J, Burnett R, Ellekilde M, Iovanna JL, Watts SW. (2009) Differential expression of pancreatitis-associated protein and thrombospondins in arterial versus venous tissues. *J Vasc Res*, 46:551-560.
190. Park YW, Kang YM, Butterfield J, Detmar M, Goronzy JJ, Weyand CM. (2004) Thrombospondin 2 functions as an endogenous regulator of angiogenesis and inflammation in rheumatoid arthritis. *Am J Pathol*, 165:2087-2098.
191. Kyriakides TR, Rojnuckarin P, Reidy MA, Hankenson KD, Papayannopoulou T, Kaushansky K, Bornstein P. (2003) Megakaryocytes require thrombospondin-2 for normal platelet formation and function. *Blood*, 101:3915-3923.

192. de Fraipont F, Nicholson AC, Feige JJ, Van Meir EG. (2001) Thrombospondins and tumor angiogenesis. *Trends Mol Med*, 7:401-407.
193. Adams JC, Lawler J. (2004) The thrombospondins. *Int J Biochem Cell Biol*, 36:961-968.
194. Volpert OV, Tolsma SS, Pellerin S, Feige JJ, Chen H, Mosher DF, Bouck N. (1995) Inhibition of angiogenesis by thrombospondin-2. *Biochem Biophys Res Commun*, 217:326-332.
195. Dawson DW, Pearce SF, Zhong R, Silverstein RL, Frazier WA, Bouck NP. (1997) CD36 mediates the In vitro inhibitory effects of thrombospondin-1 on endothelial cells. *J Cell Biol*, 138:707-717.
196. Streit M, Riccardi L, Velasco P, Brown LF, Hawighorst T, Bornstein P, Detmar M. (1999) Thrombospondin-2: a potent endogenous inhibitor of tumor growth and angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96:14888-14893.
197. Kyriakides TR, Leach KJ, Hoffman AS, Ratner BD, Bornstein P. (1999) Mice that lack the angiogenesis inhibitor, thrombospondin 2, mount an altered foreign body reaction characterized by increased vascularity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96:4449-4454.
198. Tomii Y, Kamochi J, Yamazaki H, Sawa N, Tokunaga T, Ohnishi Y, Kijima H, Ueyama Y, Tamaoki N, Nakamura M. (2002) Human thrombospondin 2 inhibits proliferation of microvascular endothelial cells. *Int J Oncol*, 20:339-342.
199. Daniel C, Amann K, Hohenstein B, Bornstein P, Hugo C. (2007) Thrombospondin 2 functions as an endogenous regulator of angiogenesis and inflammation in experimental glomerulonephritis in mice. *J Am Soc Nephrol*, 18:788-798.
200. Noh YH, Matsuda K, Hong YK, Kunstfeld R, Riccardi L, Koch M, Oura H, Dadras SS, Streit M, Detmar M. (2003) An N-terminal 80 kDa recombinant fragment of human thrombospondin-2 inhibits vascular endothelial growth factor induced endothelial cell migration in vitro and tumor growth and angiogenesis in vivo. *J Invest Dermatol*, 121:1536-1543.
201. Simantov R, Febbraio M, Silverstein RL. (2005) The antiangiogenic effect of thrombospondin-2 is mediated by CD36 and modulated by histidine-rich glycoprotein. *Matrix Biol*, 24:27-34.

202. Panetti TS, Chen H, Misenheimer TM, Getzler SB, Mosher DF. (1997) Endothelial cell mitogenesis induced by LPA: inhibition by thrombospondin-1 and thrombospondin-2. *J Lab Clin Med*, 129:208-216.
203. Armstrong LC, Bjorkblom B, Hankenson KD, Siadak AW, Stiles CE, Bornstein P. (2002) Thrombospondin 2 inhibits microvascular endothelial cell proliferation by a caspase-independent mechanism. *Mol Biol Cell*, 13:1893-1905.
204. Kyriakides TR, Tam JW, Bornstein P. (1999) Accelerated wound healing in mice with a disruption of the thrombospondin 2 gene. *J Invest Dermatol*, 113:782-787.
205. Kyriakides TR, Zhu YH, Smith LT, Bain SD, Yang Z, Lin MT, Danielson KG, Iozzo RV, LaMarca M, McKinney CE, Ginns EI, Bornstein P. (1998) Mice that lack thrombospondin 2 display connective tissue abnormalities that are associated with disordered collagen fibrillogenesis, an increased vascular density, and a bleeding diathesis. *J Cell Biol*, 140:419-430.
206. Koch M, Hussein F, Woeste A, Grundker C, Frontzek K, Emons G, Hawighorst T. (2010) CD36-mediated activation of endothelial cell apoptosis by an N-terminal recombinant fragment of thrombospondin-2 inhibits breast cancer growth and metastasis in vivo. *Breast Cancer Res Treat*.
207. Armstrong DJ, Hiscott P, Batterbury M, Kaye S. (2003) Keratocyte matrix interactions and thrombospondin 2. *Mol Vis*, 9:74-79.
208. Joubert K. (2000) Standards of the body mass and body length of birth in Hungary on the basis of the 1990–1996 nation-wide liveborn data. *Magyar Noorv Lap*, 63:155-163.
209. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. (1966) Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem*, 16:359-364.
210. Lazar L, Nagy B, Ban Z, Nagy GR, Papp Z. (2006) Presence of cell-free fetal DNA in plasma of women with ectopic pregnancies. *Clin Chem*, 52:1599-1601.
211. Murphy AT, Witcher DR, Luan P, Wroblewski VJ. (2007) Quantitation of hepcidin from human and mouse serum using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Blood*, 110:1048-1054.
212. Martin JN, Jr., Blake PG, Lowry SL, Perry KG, Jr., Files JC, Morrison JC. (1990) Pregnancy complicated by preeclampsia-eclampsia with the syndrome of

hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: how rapid is postpartum recovery? *Obstet Gynecol*, 76:737-741.

213. Coskun S, Atalar E, Ozturk E, Yavuz B, Ozer N, Goker H, Ovunc K, Aksoyek S, Kes S, Sivri B, Kirazli S, Ozmen F. (2006) Plasma osteopontin levels are elevated in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *J Natl Med Assoc*, 98:1746-1750.

214. Soejima H, Irie A, Fukunaga T, Oe Y, Kojima S, Kaikita K, Kawano H, Sugiyama S, Yoshimura M, Kishikawa H, Nishimura Y, Ogawa H. (2007) Osteopontin expression of circulating T cells and plasma osteopontin levels are increased in relation to severity of heart failure. *Circ J*, 71:1879-1884.

215. Fitzpatrick LA, Severson A, Edwards WD, Ingram RT. (1994) Diffuse calcification in human coronary arteries. Association of osteopontin with atherosclerosis. *J Clin Invest*, 94:1597-1604.

216. Cho HJ, Kim HS. (2009) Osteopontin: a multifunctional protein at the crossroads of inflammation, atherosclerosis, and vascular calcification. *Curr Atheroscler Rep*, 11:206-213.

217. Gabinskaya T, Salafia CM, Gulle VE, Holzman IR, Weintraub AS. (1998) Gestational age-dependent extravillous cytotrophoblast osteopontin immunolocalization differentiates between normal and preeclamptic pregnancies. *Am J Reprod Immunol*, 40:339-346.

218. Zhong XY, Holzgreve W, Hahn S. (2002) The levels of circulatory cell free fetal DNA in maternal plasma are elevated prior to the onset of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*, 21:77-83.

219. Lo YM, Leung TN, Tein MS, Sargent IL, Zhang J, Lau TK, Haines CJ, Redman CW. (1999) Quantitative abnormalities of fetal DNA in maternal serum in preeclampsia. *Clin Chem*, 45:184-188.

220. Schmidt M, Hoffmann B, Beelen D, Gellhaus A, Winterhager E, Kimmig R, Kasimir-Bauer S. (2008) Detection of circulating trophoblast particles in peripheral maternal blood in preeclampsia complicated pregnancies. *Hypertens Pregnancy*, 27:131-142.

221. Beninati S, Senger DR, Cordella-Miele E, Mukherjee AB, Chackalaparampil I, Shanmugam V, Singh K, Mukherjee BB. (1994) Osteopontin: its transglutaminase-

catalyzed posttranslational modifications and cross-linking to fibronectin. *J Biochem*, 115:675-682.

222. Ishizaka N, Saito K, Furuta K, Matsuzaki G, Koike K, Noiri E, Nagai R. (2007) Angiotensin II-induced regulation of the expression and localization of iron metabolism-related genes in the rat kidney. *Hypertens Res*, 30:195-202.

223. Siddiqui AH, Irani RA, Blackwell SC, Ramin SM, Kellems RE, Xia Y. (2010) Angiotensin receptor agonistic autoantibody is highly prevalent in preeclampsia: correlation with disease severity. *Hypertension*, 55:386-393.

224. Senden IP, de Groot CJ, Steegers EA, Bertina RM, Swinkels DW. (2004) Preeclampsia and the C282Y mutation in the hemochromatosis (HFE) gene. *Clin Chem*, 50:973-974.

225. Kasvosve I, Gomo ZA, Nathoo KJ, Matibe P, Mudenge B, Loyevsky M, Gordeuk VR. (2005) Effect of ferroportin Q248H polymorphism on iron status in African children. *Am J Clin Nutr*, 82:1102-1106.

226. Schimanski LM, Drakesmith H, Merryweather-Clarke AT, Viprakasit V, Edwards JP, Sweetland E, Bastin JM, Cowley D, Chinthammitr Y, Robson KJ, Townsend AR. (2005) In vitro functional analysis of human ferroportin (FPN) and hemochromatosis-associated FPN mutations. *Blood*, 105:4096-4102.

227. Khatun R, Wu Y, Kanenishi K, Ueno M, Tanaka S, Hata T, Sakamoto H. (2003) Immunohistochemical study of transferrin receptor expression in the placenta of pre-eclamptic pregnancy. *Placenta*, 24:870-876.

228. Chockalingam UM, Murphy E, Ophoven JC, Weisdorf SA, Georgieff MK. (1987) Cord transferrin and ferritin values in newborn infants at risk for prenatal uteroplacental insufficiency and chronic hypoxia. *J Pediatr*, 111:283-286.

229. Schulze KJ, Christian P, Ruczinski I, Ray AL, Nath A, Wu LS, Semba RD. (2008) Hepcidin and iron status among pregnant women in Bangladesh. *Asia Pac J Clin Nutr*, 17:451-456.

230. Eugen-Olsen J, Andersen O, Linneberg A, Ladelund S, Hansen TW, Langkilde A, Petersen J, Pielak T, Moller LN, Jeppesen J, Lyngbaek S, Fenger M, Olsen MH, Hildebrandt PR, Borch-Johnsen K, Jorgensen T, Haugaard SB. (2010) Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor predicts cancer, cardiovascular disease, diabetes and mortality in the general population. *J Intern Med*, 268:296-308.

231. Sier CF, Sidenius N, Mariani A, Aletti G, Agape V, Ferrari A, Casetta G, Stephens RW, Brunner N, Blasi F. (1999) Presence of urokinase-type plasminogen activator receptor in urine of cancer patients and its possible clinical relevance. *Lab Invest*, 79:717-722.
232. Riisbro R, Christensen IJ, Hogdall C, Brunner N, Hogdall E. (2001) Soluble urokinase plasminogen activator receptor measurements: influence of sample handling. *Int J Biol Markers*, 16:233-239.
233. Ostrowski SR, Shulman CE, Peshu N, Staalsoe T, Hoyer-Hansen G, Pedersen BK, Marsh K, Ullum H. (2007) Elevated plasma urokinase receptor predicts low birth weight in maternal malaria. *Parasite Immunol*, 29:37-46.
234. Kazmi RS, Cooper AJ, Lwaleed BA. (2011) Platelet function in pre-eclampsia. *Semin Thromb Hemost*, 37:131-136.
235. Isenberg JS, Frazier WA, Krishna MC, Wink DA, Roberts DD. (2008) Enhancing cardiovascular dynamics by inhibition of thrombospondin-1/CD47 signaling. *Curr Drug Targets*, 9:833-841.
236. Sandrim VC, Palei AC, Metzger IF, Gomes VA, Cavalli RC, Tanus-Santos JE. (2008) Nitric oxide formation is inversely related to serum levels of antiangiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endogline in preeclampsia. *Hypertension*, 52:402-407.
237. Haukkamaa L, Moilanen L, Kattainen A, Luoto R, Kahonen M, Leinonen M, Jula A, Kesaniemi YA, Kaaja R. (2009) Pre-eclampsia is a risk factor of carotid artery atherosclerosis. *Cerebrovasc Dis*, 27:599-607.
238. Daniel C, Wagner A, Hohenstein B, Hugo C. (2009) Thrombospondin-2 therapy ameliorates experimental glomerulonephritis via inhibition of cell proliferation, inflammation, and TGF-beta activation. *Am J Physiol Renal Physiol*, 297:F1299-1309.

9. Saját publikációk jegyzéke

9.1. Az értekezés témájában megjelent, illetve megjelenés alatt álló közlemények

1. Toldi G, Biro E, Szalay B, **Stenczer B**, Molvarec A, Rigo J, Vásárhelyi B, Bekő G. (2011) Soluble urokinase plazminogen activator receptor (suPAR) levels in healthy pregnancy and preeclampsia. Clin Chem Lab Med. doi: 10.1515/CCLM.2011.656. (IF: 2,069)
2. **Stenczer B**, Molvarec A, Veresh Z, Gullai N, Nagy GR, Walentin S, Szijártó J, Rigó J. (2011) Circulating levels of the anti-angiogenic trombospondin 2 are elevated in pre-eclampsia. Acta Obstet Gynecol Scand. doi:10.1111/j.1600-0412.2011.01220.x. (IF: 1,860)
3. Toldi G, **Stenczer B**, Molvarec A, Takats Z, Beko G, Rigo J, Jr., Vasarhelyi B. (2010) Hcpidin concentrations and iron homeostasis in preeclampsia. Clin Chem Lab Med, 48:1423-1426. (IF: 2,069)
4. **Stenczer B**, Rigo J, Jr., Prohaszka Z, Derzsy Z, Lazar L, Mako V, Cervenak L, Balogh K, Mézes M, Karádi I, Molvarec A. (2010) Plazma osteopontin concentrations in preeclampsia - is there an association with endothelial injury? Clin Chem Lab Med, 48:181-187. (IF: 2,069)

9.2. Az értekezés témájától független közlemények

1. Molvarec A, Shiozaki A, Ito M, Toldi G, **Stenczer B**, Szarka A, Nakashima A, Vásárhelyi B, Rigó J Jr, Saito S. (2011) Increased prevalence of peripheral blood granulysin-producing cytotoxic T lymphocytes in preeclampsia. J Reprod Immunol, 91:56-63. (IF: 2,204)

2. Szabo G, Molvarec A, **Stenczer B**, Rigo J, Jr., Nagy B. (2011) Natriuretic peptide precursor B gene (TTTC)(n) microsatellite polymorphism in pre-eclampsia. *Clin Chim Acta*, 412:1371-1375. (IF: 2,388)
3. Toldi G, Rigo J, Jr., **Stenczer B**, Vasarhelyi B, Molvarec A. (2011) Increased Prevalence of IL-17-Producing Peripheral Blood Lymphocytes in Pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*, 66:223-229. (IF: 2,451)
4. Molvarec A, Blois SM, **Stenczer B**, Toldi G, Tirado-Gonzalez I, Ito M, Shima T, Yoneda S, Vásárhelyi B, Rigó J Jr, Saito S. (2011) Peripheral blood galectin-1-expressing T and natural killer cells in normal pregnancy and preeclampsia. *Clin Immunol*, 139:48-56. (IF: 3,932)
5. Molvarec A, Ito M, Shima T, Yoneda S, Toldi G, **Stenczer B**, Vasarhelyi B, Rigo J Jr, Saito S. (2010) 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. (IF: 3,313)
6. Toldi G, **Stenczer B**, Treszl A, Kollar S, Molvarec A, Tulassay T, Rigó J, Vásárhelyi B. (2011) Lymphocyte calcium influx characteristics and their modulation by Kv1.3 and IKCa1 channel inhibitors in healthy pregnancy and preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*, 65:154-163. (IF: 2,451)
7. Bohacs A, Cseh A, **Stenczer B**, Muller V, Galffy G, Molvarec A, Rigó J, Losonczy G, Vásárhelyi B, Tamási L. (2010) Effector and regulatory lymphocytes in asthmatic pregnant women. *Am J Reprod Immunol*, 64:393-401. (IF: 2,451)
8. Tamasi L, Bohacs A, Tamasi V, **Stenczer B**, Prohaszka Z, Rigo J, Jr., Losonczy Gy, Molvarec A. (2010) Increased circulating heat shock protein 70 levels in pregnant asthmatics. *Cell Stress Chaperones*, 15:295-300. (IF: 3,162)

9. Toke J, Patocs A, Balogh K, Gergics P, **Stenczer B**, Racz K, Toth M. (2009) Parathyroid hormone-dependent hipercalcemia. *Wien Klin Wochenschr*, 121:236-245. (IF: 0,955)

10. Molvarec A, Kalabay L, Derzsy Z, Szarka A, Halmos A, **Stenczer B**, Arnaud P, Karadi I, Prohászka Z, Rigo J Jr. (2009) Preeclampsia is associated with decreased serum alpha(2)-HS glycoprotein (fetuin-A) concentration. *Hipertens Res*, 32:665-669. (IF: 2,426)

10. Köszönetnyilvánítás

Első helyen szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Rigó János professzor úrnak, hogy lehetőséget biztosított kutatómunkám elvégzéséhez és hogy azt tanácsaival és javaslataival irányította.

Köszönettel tartozom Molvarec Attila adjunktus úrnak, aki munkámhoz rengeteg segítséget nyújtott, aki kérdéseimre bármikor készséggel válaszolt.

Köszönöm a Semmelweis Egyetem I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, genetikai laboratóriumában dolgozó munkatársaimnak, Nagy Bálint tudományos főmunkatárs úrnak és Berczeliné Sarus Renátának kutatásaim kivitelezéséhez nyújtott segítségüket.

Hálásan köszönöm Jurasits Zsuzsának és klinikánk terhespatológiai osztályán és szülőszobáján dolgozó összes szülésznőnek a vérminták gyűjtésében nyújtott hatalmas segítségüket.

Köszönöm Szíjártó János laborvezető úrnak és klinikánk kémia laboratórában dolgozó asszisztenseknek a mintagyűjtésben és a vizsgálatok kivitelezésében nyújtott segítségüket.

Köszönöm a SE, I. sz. Gyermekklinikán dolgozó Vásárhelyi Barna tudományos főmunkatárs úrnak és Toldi Gergelynek a hatékony együttműködést közös vizsgálatainkban, hasznos tanácsaikat, javaslataikat.

Köszönettel tartozom az I. sz Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán dolgozó minden kollégámnak, aki kutatásaimhoz segítséget nyújtott, és munkámhoz kellemes légkört biztosított.

Köszönöm tudományos diákköri hallgatóimnak az adat- és mintagyűjtéssel kapcsolatos hasznos munkájukat.

Köszönetemet fejezem ki családomnak, hogy kutatómunkámhoz és értekezésem elkészítéséhez nyugodt körülményeket biztosított.