

# A szérum angiogén faktor és citokin profiljának vizsgálata praeeclampsziában

Doktori tézisek

**Dr. Szarka András**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Molvarec Attila egyetemi adjunktus, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Molnár Andrea szakorvos, Ph.D.

Dr. Szmola Richárd egyetemi tanársegéd, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Siklósi György egyetemi tanár,  
az orvostudomány doktora

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Czegle Ibolya egyetemi tanársegéd,  
Ph.D.

Dr. Siklós Pál osztályvezető főorvos,  
az orvostudomány kandidátusa

Budapest  
2012



## Bevezetés

A praeclampsia, melyet a terhesség második felében kialakuló magasvérnyomás és fehérjevizelés jellemez, a humán terhesség egy súlyos szövődménye. Gyakorisága 2-8%-ra tehető. Még a fejlett országokban is az egyik leggyakoribb oka mind az anyai, mind a magzati morbiditásnak és mortalitásnak. A praeclampsia etiológiája és patogenezise az intenzív kutatások ellenére sem tisztázott teljes mértékben. Egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy egy kifejezett anyai szisztémás gyulladáshoz vezető válaszreakció a természetes és adaptív immunrendszer aktiválódásával, valamint a keringő angiogén és anti-angiogén faktorok egyensúlyának felbomlása központi szerepet játszik a kórkép patogenezisében. A praeclampsia kialakulását mind genetikai, mind környezeti tényezők befolyásolják, ezzel is jelezve multifaktoriális kórereditét.

A vaszkuláris endothelialis növekedési faktor receptor 1 (VEGFR1) keringésben természetesen előforduló formája a szolubilis fms-szerű tirozin kináz-1 (sFlt-1), mely az Flt-1 transzkriptum alternatív hasítása útján jön létre, az intracelluláris és transzmembrán Flt-1 domének deléciója eredményezve. Az sFlt-1 nagy affinitással köti meg a VEGF-t és a lepényi növekedési faktort (PlGF), ezen angiogén faktorok számára egy szolubilis csapdát jelentve. Az sFlt-1 fokozott lepényi termelődését észlelték praeclampsziában, a keringő sFlt-1 szint emelkedését eredményezve, mely szülést követően normalizálódott. A praeclampsziában megfigyelt emelkedett szérumsFlt-1 szintek a vérkeringésben kimutatható szabad VEGF és PlGF csökkent szintjeivel társultak. Vemhes patkányoknak adott sFlt-1 a praeclampsia jellemzőit, mint magasvérnyomást, fehérjevizelést és glomerularis endotheliosist eredményezett. Kísérleti adatok támasztják alá, hogy a praeclampsziás méhlepény fokozott sFlt-1 expressziójáért a lepényi hypoxia a felelős. Továbbá bebizonyosodott, hogy a megnövekedett keringő sFlt-1 és a csökkent szabad PlGF szintek előrejelzik a későbbiekben kialakuló praeclampsziát.

Praeclampsziában a szisztémás gyulladás egyik jellegzetessége az egészséges terhességre jellemző Th2-irányú eltolódás elmaradása és a Th1-típusú immunitás praedominanciája. Saito és mtsai számoltak be először arról, hogy praeclampsziában a perifériás vérben a Th1 sejtek gyakorisága és a Th1/Th2 arány szignifikánsan magasabb, míg a Th2 sejtek százalékos megozslása szignifikánsan alacsonyabb, mint a

normális terhesség harmadik trimeszterében. Egy másik tanulmányban ugyanez a kutatócsoport praeclampsziában a perifériás vér mononukleáris sejtjeinek (PBMC) megnövekedett interleukin (IL)-2, interferon (IFN)- $\gamma$  és tumor nekrozis faktor (TNF)- $\alpha$  termelését, valamint a vérnyomás átlagértéke és a Th1 citokin koncentrációk közötti pozitív korrelációt figyelte meg. Praeclampsziában a praedominans Th1-típusú immunitás irányába történő eltolódást a perifériás vér T (helper és citotoxikus) és NK sejtjeiben intracelluláris citokinek mérésével foglalkozó más vizsgálatok, valamint praeclampsziás betegek perifériás véréből izolált mononukleáris sejtek citokin szekréciójának meghatározása is megerősítette. Mindazonáltal egészséges és praeclampsziás terhességben a keringő citokinek koncentrációjával foglalkozó tanulmányok ellentétes eredményeket hoztak.

A hősokkfehérjék ubikviter és filogenetikailag konzerválódott molekulák, mely egyben jelzi is funkcionális jelentőségüket. Elsősorban intracelluláris fehérjéként ismertek dajkafehérje (molekuláris chaperon) és citoprotectiv funkcióval. A 70 kDa molekulatömegű hősokkfehérje (Hsp70, HSPA1A) azonban jelen van egészséges terhes és nem terhes egyének perifériás vérében is. Praeclampsziában a szérumban Hsp70 szintek emelkedettek szövődénymentes terhességgel összehasonlítva, és a kórképben megfigyelt szisztémás gyulladást, oxidatív stresszt, valamint hepatocelluláris károsodást tükrözik. Továbbá a Hsp70 szintek jóval magasabbak HELLP-szindrómában, mint súlyos praeclampsia esetén HELLP-szindróma kialakulása nélkül, jelezve a szöveti károsodást, úgymint a haemolysist és hepatocelluláris necrosist, illetve a kórkép súlyosságát. A keringésben található hősokkfehérje-ellenes antitestek (anti-humán Hsp60, anti-humán Hsp70, anti-mycobacterialis Hsp65) szintjei azonban nem változnak praeclampsziában.

## Célkitűzések

1. Egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy a praeclampsia patogenezisében a keringésben található angiogén és anti-angiogén faktorok egyensúlyának felbomlása fontos szerepet játszik. Ezért tanulmányunk során megmértük egészséges nem terhes és terhes nők, valamint praeclampsziás várandósok szérumban az sFlt-1 és PlGF szinteket. Továbbá meghatároztuk a praeclampsia kialakulásában szerepet játszó patofiziológiai folyamat számos markerét, és megvizsgáltuk, hogy a szérumban sFlt-1 és PlGF szintek milyen összefüggést mutatnak a tanulmányban résztvevők klinikai jellemzőivel és laboratóriumi paramétereivel, különös tekintettel a szisztémás gyulladás (C-reaktív protein), az endothel-aktiválódás (von Willebrand faktor antigén), az endothel-sérülés (fibronectin), az oxidatív stressz (malondialdehid) és a trophoblast-degradáció (szabad magzati DNS) markereire. Célunk volt továbbá a szérumban sFlt-1 és PlGF mérések diagnosztikus pontosságának meghatározása praeclampsziában.
2. A praeclampsziát egy kifejezett anyai szisztémás gyulladásos válaszreakció jellemzi az immunrendszer természetes és adaptív ágának aktiválásával. A citokinek, kemokinek és adhéziós molekulák központi szerepet játszanak mind a természetes, mind az adaptív immunválaszban. Ezért célunk volt, hogy nagyszámú egészséges nem terhes és terhes nő, valamint praeclampsziás beteg bevonásával átfogó módon meghatározzuk a keringésben található citokinek, kemokinek és adhéziós molekulák koncentrációját. Megvizsgáltuk továbbá viszonyukat a vizsgálatban részt vevők klinikai jellemzőivel és laboratóriumi paramétereivel, beleértve a gyulladást (C-reaktív protein), endothel-aktivációt (von Willebrand faktor antigén), endothel-sérülést (fibronectin), oxidatív stresszt (malondialdehid) és trophoblast-törmelék (szabad magzati DNS) markereit.
3. Korábban beszámoltunk róla, hogy a Hsp70 szérumszintje emelkedett praeclampsziában szövődégmentes terhességgel összehasonlítva, jelezve ezzel a kórképben megfigyelt szisztémás gyulladást, oxidatív stresszt és hepatocellularis károsodást. Korábbi megfigyeléseinket kiterjesztve megvizsgáltuk, hogy praeclampsia esetén az emelkedett szérumban Hsp70 szintek összefüggésben állnak-e a kórkép patogenezisében kulcsszerepet betöltő citokinek, kemokinek, adhéziós molekulák és angiogén faktorok keringésben mért koncentrációival.

## Beteganyag és módszerek

### A tanulmányban részt vevők

Hatvan praeclampsias, 60 egészséges, szövődmenymentes terhest és 59 egészséges nem terhes nőt vontunk be eset-kontroll vizsgálatunkba. A tanulmány résztvevői a Semmelweis Egyetem I. Számú Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, valamint a Semmelweis Egyetem Kútvölgyi Klinikai Tömb Szülészeti és Nőgyógyászati Osztályának betegei közül kerültek ki. Mindegyik résztvevő a kaukázusi rasszhoz tartozott és Magyarország ugyanazon földrajzi régiójában lakott. A praeclampsias és egészséges terheseket az anyai életkor és a terhességi kor alapján illesztettük és válogattuk ki ennek megfelelően 93 praeclampsias és 176 egészséges terhes közül. Kizáró okként szerepelt a többes terhesség, a krónikus magasvérnyomás, a cukorbetegség, az autoimmun betegség, az érrendszerei megbetegedés, a vesebetegség, az anyai vagy magzati fertőzés és magzati fejlődési rendellenesség. Az egészséges nem terhes nők mindegyikét menstruációs ciklusának korai follicularis fázisában (a ciklus 3. és 5. napja között) vizsgáltuk, és egyikük sem részesült hormonális fogamzásgátló kezelésben. Minden vizsgálat éhgyomorrra történt. A terhesek közül egyiknél sem volt megindult szülés, vagy idő előtti burokrepedés észlelhető.

A praeclampsia kritériumának a korábban normotónias terheseknél a 20. terhességi hét után jelentkező magasvérnyomást (hat óra különbséggel  $\geq 2$  alkalommal  $\geq 140$  Hgmm szisztolés vagy  $\geq 90$  Hgmm diasztolés vérnyomás) és fehérjevizelést ( $\geq 0.3$  g/24h vagy  $\geq 1$  + a vizelet gyorssteszten húgyúti fertőzés nélkül) tekintettük. Minden praeclampsias résztvevő normotóniássá vált a szülést követő 12. hétig. A praeclampsias súlyosnak tekintettük, ha bármelyik a következő kritériumok közül teljesült:  $\geq 160$  Hgmm szisztolés vagy  $\geq 110$  Hgmm diasztolés vérnyomás, proteinuria  $\geq 5$  g/24h (vagy  $\geq 3$  + a vizelet gyorssteszten). Azon terhes nőket, akiknél eclampsia vagy HELLP-szindróma alakult ki, nem vontuk be a vizsgálatokba. Korai kezdetű praeclampsiasról általában akkor beszéltünk, ha annak tünetei a betöltött 34. terhességi hét előtt léptek fel. Az intrauterin növekedési retardáció (IUGR) diagnózisát akkor állítottuk fel, ha a magyarországi születési súlypercentilis táblázat alapján az újszülött

születési súlya az adott terhességi korra és nemre vonatkozó 10 percentilis értéket nem érte el.

A vizsgálati protokollt a Semmelweis Egyetem Regionális, Intézményi Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyta, és minden beteg írásban hozzájárulását adta a vizsgálathoz. A tanulmányt a Helsinki Deklarációban foglaltaknak megfelelően végeztük.

## **Laboratóriumi módszerek**

A vérmintákat alkari vénából vettük natív, valamint etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA) és nátrium-citrát antikoagulánsokat tartalmazó Vacutainer™ kémcsövekbe. Ezt követően a mintákat szobahőmérsékleten 10 percig 3000 g-vel centrifugáltuk. Az alikvotokat a vizsgálatig - 80 Celsius fokon tároltuk.

A szérum össz sFlt-1 és biológiailag aktív PlGF szinteket elektrokemilumineszcens immunoassay (Elecsys, Roche, Mannheim, Németország, Cat. No. 05109523 és 05144671) útján határoztuk meg Cobas e 411-es analizátoron (Roche, Mannheim, Németország) 54 praeclapsiás, 58 egészséges terhes és 52 egészséges nem terhes nőben. Az IL-1 $\beta$ , IL-1 receptor antagonist (IL-1ra), IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , interferon- $\gamma$ -indukált protein (IP)-10, monocyta kemotaktikus protein (MCP)-1, intercellularis adhézis molekula (ICAM)-1 és vascularis sejtadhézis molekula (VCAM)-1 szérumszintjeit multiplex szuszpenziós array útján (Bio-Plex, Cat. No. X500317TGY és XF0000ZGAI) Bio-Plex 200 analizátor segítségével mértük meg (Bio-Rad Laboratories, Hercules, California, USA). Az anyai szérum transzformáló növekedési faktor (TGF)- $\beta$ 1 szintjeit ELISA (enzimhez kötött immunoszorbens vizsgálat) módszerrel határoztuk meg (DRG International, Mountainside, New Jersey, USA, Cat. No. EIA-1864). A szérum Hsp70 (HSPA1A) szinteket az R&D Systems (DYC1663E, Minneapolis, Minnesota, USA) ELISA kitjével mértük meg 60 praeclapsiás és 60 egészséges, szövődménymentes terhes nőben. A standard laboratóriumi paramétereket (klinikai kémia) és a C-reaktív protein koncentrációt automata analizátor segítségével gyári vizsgálati kitekkel határoztuk meg (Cobas Integra 800, Roche, Mannheim, Németország). A von Willebrand faktor antigén (VWF:Ag) plazmaszinteket ELISA (Dakopatts, Glostrup, Dánia), míg a plazma

fibronektin koncentrációkat nephelometria (Dade Behring, Marburg, Németország) segítségével mértük meg a kitek gyártói leiratának megfelelően. Fiú újszülöttek esetén az anyai plazmából szilícium-dioxid adszorpciós módszerrel kivontuk a DNS-t, ezt követően meghatároztuk a szabad magzati DNS mennyiségét az Y kromoszóma szex-determináló régiójának (*SRY*) kvantitatív valós idejű polimeráz láncreakciójával (PCR). A vérplazma malondialdehid szintjét tiobarbiturát alapú kolorimetriás eljárás útján mértük meg.

### **Statisztikai analízis**

A folyamatos változók eloszlását a Shapiro-Wilk-féle *W*-teszt útján határoztuk meg. Mivel azok nem mutattak normális eloszlást, nem-paraméteres statisztikai módszereket alkalmaztunk. Két csoport folyamatos változóinak összehasonlításához a Mann-Whitney *U*-tesztet, míg több csoport esetén a Kruskal-Wallis-féle varianciaanalízist (ANOVA) használtuk. Post-hoc tesztként az átlagos rangszámok többszörös összehasonlítását végeztük. A csoportok kategorikus változóinak összehasonlításához a Fisher-féle egzakt és a Pearson-féle  $\chi^2$  tesztet alkalmaztuk. A korrelációs együtthatókat a Spearman-féle rangszám korrelációs eljárással számoltuk ki. A szérum sFlt-1 és PlGF mérések diagnosztikus pontosságát praeclampsziában a Receiver Operating Characteristic (ROC) görbe segítségével értékeltük ki. A többszörös lineáris regresszióhoz és a szórás diagramok készítéséhez nem-paraméteres módszerként a függő változó logaritmusát vettük alapul. Az esélyhányadosokat (odds ratio, OR) és azok 95%-os konfidencia intervallumát (confidence interval, CI) logisztikus regresszióval határoztuk meg.

A statisztikai analízist az alábbi szoftverek alkalmazásával végeztük: STATISTICA (version 8.0; StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA), Statistical Package for the Social Sciences (version 15.0 for Windows; SPSS, Inc., Chicago, Illinois, USA) és MedCalc for Windows (version 10.0.1.0; MedCalc Software, Mariakerke, Belgium). Minden statisztikai analízisünknel a  $p < 0.05$  értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Az adatok folyamatos változók esetén medián (interkvartilis tartomány), a kategorikus változónál abszolút szám (százalék) formájában vannak megadva.



## Eredmények

### Keringő angiogén faktorok vizsgálata praeclampszában

A szérumban sFlt-1 és PlGF koncentráció, valamint az sFlt-1/PlGF hányados szignifikánsan magasabb volt az egészséges terheseknél, mint a nem terhes nőknél. Praeclampsziás terheseknél szignifikánsan magasabb sFlt-1 szinteket és sFlt-1/PlGF hányadost, illetve szignifikánsan alacsonyabb szérumban PlGF koncentrációkat észleltünk, mint egészséges terheseknél. Továbbá, a praeclampsziás terhesek sFlt-1 és PlGF szérumszintje, valamint sFlt-1/PlGF hányadosa szignifikánsan magasabb volt, mint a nem terhes nőké.

Az alsó csoport vizsgálatok szerint súlyos praeclampsziás terhesek sFlt-1 szérumszintjei szignifikánsan magasabbak voltak, mint az enyhe praeclampsziásoké. Azon praeclampsziás terheseknél, akiknél a tünetek korán jelentkeztek (<37. terhességi hét), vagy akiknél magzati növekedési retardáció is társult a tünetekhez, szignifikánsan alacsonyabb PlGF szérumban-koncentrációkat mértünk, mint akiknél a fentiek nem voltak észlelhetők.

Egészséges nem terhes nőknél statisztikailag szignifikáns negatív korrelációt találtunk a szérumban PlGF koncentráció és a szisztolés vérnyomás között. Az egészséges terhes nők csoportjában a primiparáknak szignifikánsan magasabb volt a szérumban sFlt-1/PlGF hányadosa, mint a multiparáké. Egészséges terhes nők szérumban sFlt-1 szintjei szignifikáns pozitív korrelációt mutattak a szérumban kreatinin szintekkel, éppúgy, mint a plazma VWF:Ag és fibronectin szintekkel. Szignifikáns pozitív korreláció volt megfigyelhető egészséges terhes nők szérumban PlGF szintje és az újszülöttek születési súlya között, míg a PlGF és CRP koncentrációik fordított arányban álltak egymással. A praeclampsziás csoportban szignifikáns pozitív korreláció volt a szérumban sFlt-1 szintek és a szisztolés, diasztolés vérnyomás, a karbamid és a kreatinin szérumszintek, valamint a plazma VWF:Ag, fibronectin és szabad magzati DNS szintek között. Továbbá a praeclampsziás terhesek szérumban PlGF koncentrációi szignifikáns pozitív korrelációt mutattak a tünetek jelentkezésekor és a szüléskor terheségi korrallal, illetve az újszülöttek születési súlyával, ugyanakkor szignifikánsan fordított korrelációban álltak a szérumban karbamid, kreatinin és a plazma fibronectin szintekkel.

A Receiver Operating Characteristic (ROC) analízist használva meghatároztuk az sFlt-1 és a PlGF koncentrációk és hányadosuk cut-off értékeit a praeclampsziás terhesek elkülönítésére az egészséges terhesektől. Ezen cut-off pontok szenzitivitása és specificitása a következő volt: magas sFlt-1 szint ( $>4165$  pg/ml): 74.1% és 67.2%, alacsony PlGF szint ( $<146$ pg/ml): 77.8% és 70.7%, illetve magas sFlt-1/PlGF hányados ( $>31.2$ ): 75.9% és 74.1%.

Ezt követően összehasonlítottuk a szérumban sFlt-1 és PlGF koncentrációk és hányadosuk diagnosztikus értékét praeclampsziában. Az sFlt-1/PlGF hányados ROC görbéje alatti terület szignifikánsan nagyobb volt, mint az sFlt-1 és PlGF szintek esetében (AUC 95%-os konfidencia intervallummal az sFlt-1/PlGF hányados, sFlt-1 és PlGF szintek esetén sorra: 0.81 (0.73-0.88) versus 0.75 (0.66-0.83) és 0.77 (0.68-0.85);  $p < 0.05$  mindkét összehasonlításban).

### **A szérumban citokin profil vizsgálata szövődménymentes terhességben és praeclampsziában**

A keringésben található citokinek, kemokinek és adhéziónak molekulák koncentrációiban az IL-1 $\beta$  és a TGF- $\beta$ 1 szérumszintjeitől eltekintve vizsgálati csoportjaink között szignifikáns különbség adódott. Az IL-2 és IL-4, valamint az IFN- $\gamma$  és IL-4 hányadosai egészséges nem terhes és terhes nők között nem mutattak szignifikáns eltérést, azonban ugyanezen arányok praeclampsziás betegekben egészséges terhes nőkhöz képest szignifikánsan emelkedtek. Éppen ellenkezőleg, az IL-18/IL-12p70 hányados szignifikánsan magasabb, míg az IL-12p70/IL-12p40 arány szignifikánsan alacsonyabb volt egészséges terhesekben nem terhes nőkhöz viszonyítva, ugyanakkor praeclampsziás és egészséges terhesek között nem mutattak szignifikáns különbséget. Praeclampsziában a Th1-típusú immunitás irányába történő eltolódás (amire a megnövekedett IL-2/IL-4 és IFN- $\gamma$ /IL-4 hányadosok utalnak) mellett pro-inflammatorikus citokinek, mint az IL-6 és TNF- $\alpha$ , kemokinek (IL-8, IP-10 és MCP-1), valamint adhéziónak molekulák, mint az ICAM-1 és VCAM-1 szérumszintjei emelkedtek egészséges terhesekkel összehasonlítva, egy pro-inflammatorikus szisztémás környezetet eredményezve.

A praeclampsziás csoporton belül a vizsgált citokinek, kemokinek és adhéziós molekulák szérumszintjeiben nem találtunk szignifikáns különbséget sem az enyhe és súlyos praeclampsziások, sem a korai és késői kezdetű alcsoportok, sem pedig a magzati retardációval társuló illetve anélküli esetek között.

Egészséges nem terhes nőknél a szérum IL-6 és TNF- $\alpha$  koncentrációk szignifikánsan korreláltak a CRP szintekkel. Az egészséges terhes nők csoportjában statisztikailag szignifikáns negatív korrelációt találtunk az IL-2 és IFN- $\gamma$  koncentrációk, valamint a szüléskori terhességi kor között. Egészséges terhesek IL-6 és CRP szintjei között szignifikánsan pozitív korreláció, míg TGF- $\beta$ 1 és malondialdehid koncentrációik között fordított arányosság volt megfigyelhető. Egészséges terhes nők szérum IP-10 szintje szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a szérum kreatinin, valamint a plazma VWF:Ag és fibronectin koncentrációkkal, míg a születési súllyal fordított arányban állt. Továbbá ugyanezen csoport szérum MCP-1 koncentrációja és szérum kreatinin, illetve plazma fibronectin szintjei között szintúgy pozitív korreláció adódott. A praeclampsziás betegek szérum IP-10 szintje szignifikánsan korrelált a karbamid és kreatinin szérumszintjével, az aszpartát-aminotranszferáz (AST), alanin-aminotranszferáz (ALT) és laktát-dehidrogenáz (LDH) szérumban mért aktivitásával, valamint a plazma VWF:Ag és fibronectin koncentrációkkal. A praeclampsziás csoportban szignifikáns pozitív korrelációt találtunk az MCP-1 szérumszintje és a szisztolés vérnyomás, a szérum CRP, illetve a plazma malondialdehid koncentráció között. Ugyanezen csoport ICAM-1 koncentrációja szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a bilirubin, CRP és malondialdehid szintjével, az AST és LDH aktivitásával, míg VCAM-1 koncentrációja korrelált a karbamid, kreatinin és fibronectin szintekkel, valamint az AST és LDH aktivitással.

### **A 70 kDa molekulatömegű hősokkfehérje (Hsp70, HSPA1A) szérumszintjének összefüggése praeclampsziás nők keringésében található citokinekkel, kemokinekkel, adhéziós molekulákkal és angiogén faktorokkal**

A Hsp70 szérumszintjei praeclampsziás betegeknél szignifikánsan magasabbak voltak, mint az egészséges terhes nők esetében. A praeclampsziás csoportban a szérum Hsp70 szintek szignifikáns pozitív korrelációt mutattak a szérum IL-12p40, MCP-1,

ICAM-1 és VCAM-1 koncentrációkkal. Az összefüggések szignifikánsak maradtak az életkorra és a vérvételkori terhességi korra többszörös lineáris regressziós analízissel történő illesztést követően is.

A ROC analízist használva meghatároztuk a szérumban Hsp70 koncentráció (>0.34 ng/ml; szenzitivitás: 86.7%, specificitás: 86.7%) és az sFlt-1/PlGF hányados (>31.2; szenzitivitás: 75.9%, specificitás: 74.1%) cut-off értékeit a praeclampsias terhesek elkülönítésére az egészséges terhesektől. Azon terhes nőknek, akiknek mind a szérumban Hsp70 szintje, mind az sFlt-1/PlGF hányadosa emelkedett volt, lényegesen nagyobb esélye volt praeclampsia-ra, mint azoknak, akiknek csak vagy a Hsp70 koncentrációja, vagy az sFlt-1/PlGF hányadosa volt emelkedett (OR (95% CI) rendre: 72.4 (17.4-300),  $p < 0.001$  versus 8.14 (1.82-36.5),  $p < 0.05$  és 0.42 (0.05-3.72),  $p > 0.05$ ), még az életkorra és a vérvételkori terhességi korra többszörös logisztikus regressziós analízissel történő illesztést követően is (adjustált OR (95% CI) rendre: 82.6 (17.9-381),  $p < 0.001$  versus 7.80 (1.53-39.7),  $p < 0.05$  és 0.38 (0.04-3.44),  $p > 0.05$ ).

## Következtetések

1. Az emelkedett sFlt-1 és csökkent PlGF szérumszintek kapcsolatát mutattuk ki praeeclampsziában a szisztolés és diasztolés vérnyomás értékekkel, a veseműködés zavarával, az endothelium diszfunkciójával, a trophoblast deportációs folyamattal, a terhesség rövidebb időtartamával, a magzati növekedési retardációval, valamint a klinikai tünetek súlyosságával és korábbi terhességi korban történő jelentkezésével. Az anyai életkor, a testtömeg index, a dohányzás, a paritás, a vérvételkor terheségi kor, a májfunkciós paraméterek, a gyulladás és az oxidatív stressz markerei nem álltak összefüggésben a praeeclampsziás betegek keringésében lévő angiogén faktorok szintjével. Megfigyeléseink alátámasztják az angiogén egyensúlyzavar e terhességi kórkép patogenezisében betöltött központi szerepét.
2. Tanulmányunk során nagy teljesítményű multiplex szuszpenziós array technológiával meghatároztuk egészséges nem terhes és terhes nők, valamint praeeclampsziás betegek keringésében számos citokin, kemokin és adhéziós molekula koncentrációját. Az IL-1 $\beta$  és TGF- $\beta$ 1 szintek kivételével minden mért paraméter szignifikánsan különbözött a három vizsgálati csoportban. Eredményeink szerint a praeeclampszia egy pro-inflammatorikus szisztémás környezettel párosul. A pro-inflammatorikus citokinek, kemokinek és adhéziós molekulák megnövekedett mennyisége az anyai keringésben központi szerepet játszhat a praeeclampszia anyai tünetegyüttesére jellemző kifejezett szisztémás gyulladásos válaszreakcióban és generalizált endothel-diszfunkcióban.
3. Megfigyeléseink szerint praeeclampsziás betegek esetében az emelkedett szérumszintű Hsp70 koncentráció összefüggésben áll a szérumszintű citokin profil pro-inflammatorikus irányú változásával, ami arra utal, hogy a keringésben lévő Hsp70 hozzájárulhat a praeeclampszia anyai tünetegyütteséért felelős generalizált intravasculáris gyulladásos reakció kialakulásához. Az emelkedett Hsp70 szérumszintek és sFlt-1/PlGF hányados együttes előfordulása additív módon növeli a praeeclampszia rizikóját.

## Saját publikációk jegyzéke

### Az értekezés témájában megjelent közlemények

1. Molvarec A, **Szarka A**, Walentin S, Szűcs E, Nagy B, Rigó J Jr. (2010) Circulating angiogenic factors determined by electrochemiluminescence immunoassay in relation to the clinical features and laboratory parameters in women with preeclampsia. *Hypertens Res*, 33: 892-898. (IF: 2.353)
2. **Szarka A**, Rigó J Jr, Lázár L, Bekő G, Molvarec A. (2010) Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC Immunol*, 11: 59. (IF: 3.0)
3. Molvarec A, **Szarka A**, Walentin S, Bekő G, Karádi I, Prohászka Z, Rigó J Jr. (2011) Serum heat shock protein 70 levels in relation to circulating cytokines, chemokines, adhesion molecules and angiogenic factors in women with preeclampsia. *Clin Chim Acta*, 412: 1957-1962. (IF: 2.535)

### Az értekezés témájától független közlemények

1. **Szarka A**, Gerlei Zs, Berkes E, Kóbori L, Molvarec A, Garamvölgyi Z, Rigó J Jr. (2008) Májtranszplantációt követően sikeresen kiviselt terhesség. *Magy Nőorv L*, 71(6): 277-279.
2. Molvarec A, Kalabay L, Derzsy Z, **Szarka A**, Halmos A, Stenczer B, Arnaud P, Karádi I, Prohászka Z, Rigó J Jr. (2009) Preeclampsia is associated with decreased serum alpha(2)-HS glycoprotein (fetuin-A) concentration. *Hypertens Res*, 32: 665-669. (IF: 2.426)
3. 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: 2.966)
4. Molvarec A, **Szarka A**, Walentin S, Bekő G, Karádi I, Prohászka Z, Rigó J Jr. (2011) Serum leptin levels in relation to circulating cytokines, chemokines,

- adhesion molecules and angiogenic factors in normal pregnancy and preeclampsia. *Reprod Biol Endocrinol*, 9: 124. (IF: 2.045)
5. Stenczer B, Molvarec A, Szabó G, **Szarka A**, Fügedi G, Szijártó J, Rigó J Jr. (2012) Circulating levels of thrombospondin-1 are decreased in HELLP syndrome. *Thromb Res*, 129: 470-473. (IF: 2.440)
  6. Lázár L, Nagy B, Molvarec A, **Szarka A**, Rigó J Jr. (2012) Role of hsa-miR-325 in the etiopathology of preeclampsia. *Mol Med Report*, 6: 597-600. (IF: 0.418)
  7. Wettstein D, Gerlei Zs, Rigó J Jr, **Szarka A**, Asztalos L, Langer R. (2012) Szolid szerv transzplantációját követő gyermekvállalás Magyarországon. *Magy Nőorv L*, 75(4): 4-7.

**Összegzett impakt faktor: 18.183.**