

Válasz Prof. Dr. Szekeres Júlia, az orvostudomány doktora
„Angiogén és immunológiai tényezők vizsgálata praeclampszában” című MTA
doktori értekezéséről készített
bírálatára

Szeretnék köszönetet mondani Professzor Asszonynak, hogy elvállalta és elkészítette értekezésem bírálatát. A formai megjegyzéseit természetesen elfogadom. Kérdéseire az alábbiakban válaszolok:

A beteganyag válogatása során kizáró tényező volt a diabetes mellitus, az autoimmun betegségek, angiopathiák és vesebetegségek, de a krónikus hypertonia nem. Ennek alapján feltételezem, hogy ebben a nagy beteganyagban anyai praeclampsziás esetek is szerepeltek. Elkülöníthető-e a placentális és a maternális praeclampsia a disszertációban szereplő vizsgálatok alapján, tovább menve, alkalmazható-e a PlGF gyorseszteszt korai terhességben a praeclampsia kockázatának kitett asszonyok kiszűrésére?

Krónikus hipertóniás és ráakódós praeclampsziás terheseket csak „A „betegágy melletti” PlGF gyorseszteszt diagnosztikus hatékonyságának és prognosztikai értékének vizsgálata magas vérnyomással szövődött terhességekben” című és „A PlGF gyorseszteszt és a magzati flowmetria összehasonlítása a kedvezőtlen magzati kimenetel azonosításában magas vérnyomással szövődött terhességekben” című vizsgálatokba vontunk be. Ezek célja a PlGF gyorseszteszt klinikai alkalmazhatóságának megítélése volt a magas vérnyomással szövődött terhességek minden formájában. Az összes többi tudományos eredményem olyan praeclampsziás terhesek vizsgálatából származik, akiknél a diabetes mellitus, az autoimmun betegségek, angiopathiák és vesebetegségek mellett a krónikus hipertónia is kizáró tényező volt.

A PlGF gyorsesztesztet korai terhességben a praeclampsia szűrésére még nem vizsgálták. Poon és munkatársai kidolgoztak egy modellt, ami a PlGF mellett a PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein-A) szérumszintjét, az artériás középnyomást, az artéria uterinák pulzatilitási indexét, a testtömeg indexet, a paritást és a kórelőzményben szereplő praeclampsziát veszi alapul (1). Tanulmányukban a PlGF szérumszintjét ELISA módszerrel határozták meg. Eredményeik szerint a modell az első trimeszterben 5%-os ál-pozitív arány mellett a korai kezdetű praeclampsziát 93,1%-ban, a késői kezdetű praeclampsziát 35,7%-ban, a gesztációs hipertóniát 18,3%-ban képes előre jelezni. A korai kezdetű praeclampsia előrejelzésében

megfigyelt magas detekciós ráta ellenére az American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) a vizsgálatot alacsony pozitív prediktív értéke miatt a korai kezdetű praeclampsia első trimeszteri szűrésére nem javasolja (2).

Megállapították, hogy a betegágy mellett alkalmazható PIGF gyorseszteszt segítségével hipertóniás terhesekben már a 35. hét előtt felállítható a diagnózis és az eredmény előre jelzi a terhesség várható időtartamát.

Kiválthatja-e a PIGF gyorseszteszt alkalmazása a flowmetriás vizsgálatot, ill. van-e olyan eset, mikor az utóbbi több, a beteg ellátása szempontjából releváns információval szolgál?

A PIGF gyorseszteszt klinikai jelentőségét abban látom, hogy a 35. terhességi hét előtt segít azon hipertóniás terhesek azonosításában, akiknél a terhesség sürgős lezárása válhat szükségessé kóros flowmetriás lelet, vagy normális flowmetriás eredmény esetén kóros CTG lelet vagy oligohydramnion miatt. A pozitív PIGF teszteredmény 100%-ban képes azonosítani továbbá az intrauterin növekedési restrikció előfordulását normális magzati flowmetriás lelet esetén is. A normális flowmetriás lelet és PIGF teszteredmény együttes előfordulása másrésről elkülöníti azt a hipertóniás terhes populációt, akiknél a kedvezőtlen magzati kimenetel (37. terhességi hét előtti szülés szükségessége, intrauterin növekedési restrikció) kockázata alacsony. A terhesség lezárásának szükségességét önmagában a PIGF gyorseszteszt eredménye alapján nem állapíthatjuk meg. A pozitív PIGF teszteredmény viszont képes azonosítani azt a nagy kockázatú hipertóniás terhes populációt, akik esetében sokkal szorosabb magzati állapotdiagnosztika alkalmazása indokolt.

Preeclampsziás terhesekben magasabbnak találta a serum leptin koncentrációját, mint normális lefolyású terhességben. A 20. táblázat adatai szerint ebben a csoportban vizsgált preeclampsziás terhesek BMI indexe szignifikánsan magasabb volt, mint az egészséges terheseké.

Vannak-e arra vonatkozó epidemiológiai adatok, hogy a túlsúlyos terhesekben gyakoribb-e a preeclampsia?

Az obezitás a praeclampsia független kockázati tényezője. Az Amerikai Egyesült Államokban végzett „The First and Second Trimester Evaluation of Risk (FASTER)” populáció-alapú tanulmány eredményei szerint a 10-14. héten a 30 és 34,9 kg/m² közötti testtömeg index a praeclampsia kockázatát 1,6x-osára, míg a 35 kg/m², illetve afeletti BMI

3,3x-osára növeli (3). Egy másik tanulmányban, ami 1,4 millió terhes nő adatait dolgozta fel egy szisztémás review formájában, azt figyelték meg, hogy minden egyes 5-7 kg/m² emelkedés a terhesség előtti BMI-ben megduplázza a praeclampsia kockázatát (4). A megnövekedett kockázat hátterében az obezitást kísérő inzulinrezisztencia, hyperlipidaemia, illetve szubklinikus gyulladás szerepét feltételezik. Bár tanulmányunkban a praeclampsias terhesek testtömeg indexe szignifikánsan nagyobb volt, mint az egészséges terhes nőké, a szérum leptin koncentrációban megfigyelt különbség szignifikáns maradt azt követően is, hogy kovariancia analízissel a két csoportot BMI-re illesztettük.

A perifériás vérben található lymphocyták intracelluláris VEGF expressziója magasabb, galectin-1 expressziója alacsonyabb preeclampsiaiban, mint normális terhességben.

Vizsgálták-e, vagy van-e az irodalomban információ arról, hogy hogyan változik ezeknek a sejteknek a funkciója?

Irodalmi adatok szerint a perifériás vérben található CD4⁺ és CD8⁺ T limfociták aktiválódnak praeclampsiaiban (5). Az NK sejtek fokozott funkcionális aktivitását is megfigyelték praeclampsiaiban (6). A keringő CD4⁺ és CD8⁺ T limfociták, valamint NK sejtek intracelluláris pro-inflammatorikus citokin expresszióját is magasabbnak találták praeclampsiaiban (7). Mikó és munkatársai kimutatták továbbá az aktivált V δ 2⁺ T sejtek és invariáns NKT sejtek fokozott citotoxikus potenciálját praeclampsiaiban (8, 9). Tanulmányunkban azt találtuk, hogy praeclampsiaiban a VEGF-A-pozitív, valamint a galektin-1-pozitív T (helper és citotoxikus) és NK sejtek aránya a perifériás vérben szignifikánsan csökken szövődménymentes terhességgel összehasonlítva. Feltételezzük, hogy a perifériás vér limfocitáinak csökkent VEGF-A, illetve galektin-1 expressziója az anyai szisztémás gyulladásos válaszreakció részjelensége praeclampsiaiban. Lehetséges, hogy az aktiváció hatására a keringő T és NK sejtek megváltoztatják fenotípusukat, és VEGF-A, illetve galektin-1 helyett inkább gyulladásos citokineket expresszálnak.

Különösen érdekes a kannabinoid receptorok lepényi expressziójának vizsgálata preeclampsiaiban. Feltételezik, hogy a C1B fokozott expressziója az elégtelen trophoblast invázió következtében oki tényező lehet a kórkép kialakulásában. Ismert, hogy a leptin metabolikus és immunológiai hatásai mellett az invázióban is szerepet játszik, és szabályozza a trophoblast invazivitását. Mivel a betegség placentáris fázisa nehezen vizsgálható, érdemes

lett volna ugyanezek a metszeteken az inváziót szintén szabályozó leptin expresszióját is vizsgálni, az árnyaltabb kép kialakításához.

A leptin a mátrix metalloproteinázok expressziójának fokozásával elősegíti az extravillous cytotrophoblast inváziót (10, 11). Praeclampsias terhesekben azonban a leptin lepényi expresszióját nagyobbak találták, mint egészséges terhes nőkben. Továbbá *in vitro* a humán trophoblastsejtek leptin szekréciója megnövekedett hipoxiás körülmények között (12). Ezért a leptin fokozott expressziója inkább a placentáris perfúzió zavarának (lokális hipoxia) következménye praeeclampsiaiban, semmint oki tényező a kórkép kialakulásában (13). Az endokannabinoid rendszer fontos szerepet játszik a placentáció folyamatában szövődménymentes terhességben (14). A kannabinoid receptor 1 fokozott lepényi expresszióját a korai spontán vetélés kialakulásával is kapcsolatba hozták (15). Mindazonáltal tanulmányunk eset-kontroll jellege miatt direkt ok-okozati összefüggés a kannabinoid receptor 1 fokozott lepényi expressziója és a praeeclampsia kialakulása között nem állapítható meg.

A kontrollnak használt, normális lefolyású terhességből származó placentákat nyilvánvalóan nehéz gestatios kor szerint illeszteni. A 31. táblázatban az egészséges terhesek átlagosan a 38. héten szültek, de van köztük olyan is, akinek a terhessége csak a 34. hétig tartott, ami nyilvánvalóan nem tartozik a normális terhesség kategóriájába.

Van-e ismeret arról, hogy a vizsgált paraméterek hogyan viselkednek koraszülés, vagy késői spontán vetélés eseteiben?

Ismert-e egérkísérletek eredményeiből, vagy elektív terhesség megszakításból nyert placenták vizsgálatából a C1B expresszió gestatios kor függése?

Koraszülésben, illetve középido s spontán vetélésben nem találtam szakirodalmi adatot az endokannabinoid rendszer lepényi expressziójának vizsgálatáról. A kannabinoid receptor 1 koraterhességtől terminusig kifejeződik a méhlepényben (16, 17). Nem találtam olyan közleményt, ami a kannabinoid receptor 1 lepényi expressziójának változásáról számolna be a harmadik trimeszterben a terhességi kor előrehaladásával. Elektív császármetszésből és normális hüvelyi szülésből származó minták összehasonlításával vajú dást követően a CB1 expressziójának szignifikáns csökkenését figyelték meg a méhlepény bolyhaiban (18). Tanulmányunkban a lepényi mintákat császármetszés kapcsán vettük mind a praeeclampsias, mind a szövődménymentes terhes nőktől, és azt vajú dás nem előzte meg. A vizsgált

paraméterek és a terhességi kor között nem találtunk kapcsolatot egyik vizsgálati csoportunkban sem.

Preeclampsias betegek perifériás vérében mind a konvencionális, mind a nem konvencionális regulator T sejtek alacsonyabb arányban fordultak elő, mint egészséges terhesek vérében, ezen belül, a legnagyobb mértékű negatív különbséget az effector regulator T sejtek számában találták.

Mi a véleménye, az aktív szuppresszió hiánya csupán a betegség klinikai fázisában tapasztalható gyulladásos környezetért felelős, avagy a Treg sejtek csökkent jelenléte okozta immunregulációs zavar már a placentáció során is szerepet játszhat a spirális artériák átalakulásának zavarában?

Tanulmányunkban a regulátor T sejtek és alcsoportjaik prevalenciáját a kórkép második (klinikai) fázisában vizsgáltuk a perifériás vérben. Ezt egy anyai szisztémás gyulladásos válaszreakció jellemzi a természetes és az adaptív immunrendszer aktiválódásával. Eredményeinkből az a következtetés vonható le, hogy a regulátor T sejtek, illetve azon belül a funkcionálisan legaktívabb effektor regulátor T sejtek perifériás vérben észlelt csökkent prevalenciája hozzájárulhat a természetes és az adaptív immunrendszernek a kórkép klinikai fázisában megfigyelt aktiválódásához. Mindazonáltal kimutatták, hogy a decíduális regulátor T sejtek felismerik az apai HLA-C antigéneket és képesek meggátolni a magzat ellen irányuló anyai immunreakciót élettani terhességben (19, 20). A decíduális regulátor T sejtek gyakoriságát alacsonyabbnak találták praeclampsias terhesekben, mint egészséges terhes nőkben (21-23). Bár a placentáció zavarában szerepet játszó tényezőket prospektív módon nem lehet vizsgálni praeclampsiasban, ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a decíduális regulátor T sejtek csökkent gyakorisága szerepet játszhat a kóros placentációban. A regulátor T sejtek immunológiai memóriával rendelkeznek, és patogenetikai szerepük magyarázatul szolgálhat azokra az epidemiológiai megfigyelésekre, hogy a praeclampsia kockázatát fokozza a fogamzást megelőző minimális spermaexpozíció a későbbi apával, a primiparitás, multiparákban a partnercsere, illetve ha több mint 10 év telt el az előző terhesség óta.

Ismételten megköszönöm Professzor Asszonynak MTA doktori értekezésem bírálatát, és hogy annak nyilvános vitára bocsátását javasolta. Köszönöm elismerő szavait, kritikai megjegyzéseit és kérdéseit. Tisztelettel kérem válaszaim szíves elfogadását.

Budapest, 2017. április 30.

Dr. Molvarec Attila

Semmelweis Egyetem

I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

Irodalomjegyzék

1. Poon LC, Kametas NA, Maiz N, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. *Hypertension* 2009; 53: 812-818.
2. Committee Opinion Summary No. 638: First-Trimester Risk Assessment for Early-Onset Preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2015; 126: 689.
3. Weiss JL, Malone FD, Emig D, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Saade G, Eddleman K, Carter SM, Craigo SD, Carr SR, D'Alton ME, Consortium FR. Obesity, obstetric complications and cesarean delivery rate--a population-based screening study. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190: 1091-1097.
4. O'Brien TE, Ray JG, Chan WS. Maternal body mass index and the risk of preeclampsia: a systematic overview. *Epidemiology* 2003; 14: 368-374.
5. Darmochwal-Kolarz D, Saito S, Rolinski J, Tabarkiewicz J, Kolarz B, Leszczynska-Gozaelak B, Oleszczuk J. Activated T lymphocytes in pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol* 2007; 58: 39-45.
6. Minagawa M, Narita J, Tada T, Maruyama S, Shimizu T, Bannai M, Oya H, Hatakeyama K, Abo T. Mechanisms underlying immunologic states during pregnancy: possible association of the sympathetic nervous system. *Cell Immunol* 1999; 196: 1-13.
7. Darmochwal-Kolarz D, Rolinski J, Leszczynska-Gozaelak B, Oleszczuk J. The expressions of intracellular cytokines in the lymphocytes of preeclamptic patients. *Am J Reprod Immunol* 2002; 48: 381-386.
8. Mikó É, Szereday L, Barakonyi A, Járkovich A, Varga P, Szekeres-Barthó J. Immunoactivation in preeclampsia: Vdelta2+ and regulatory T cells during the inflammatory stage of disease. *J Reprod Immunol* 2009; 80: 100-108.

9. Mikó É, Szereday L, Barakonyi A, Járkovich A, Varga P, Szekeres-Barthó J. The role of invariant NKT cells in pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol* 2008; 60: 118-126.
10. Castellucci M, De Matteis R, Meisser A, Canello R, Monsurro V, Islami D, Sarzani R, Marzioni D, Cinti S, Bischof P. Leptin modulates extracellular matrix molecules and metalloproteinases: possible implications for trophoblast invasion. *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 951-958.
11. Wang H, Cheng H, Shao Q, Dong Z, Xie Q, Zhao L, Wang Q, Kong B, Qu X. Leptin-promoted human extravillous trophoblast invasion is MMP14 dependent and requires the cross talk between Notch1 and PI3K/Akt signaling. *Biol Reprod* 2014; 90: 78.
12. Mise H, Sagawa N, Matsumoto T, Yura S, Nanno H, Itoh H, Mori T, Masuzaki H, Hosoda K, Ogawa Y, Nakao K. Augmented placental production of leptin in preeclampsia: possible involvement of placental hypoxia. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3225-3229.
13. Sagawa N, Yura S, Itoh H, Kakui K, Takemura M, Nuamah MA, Ogawa Y, Masuzaki H, Nakao K, Fujii S. Possible role of placental leptin in pregnancy: a review. *Endocrine* 2002; 19: 65-71.
14. Fonseca BM, Correia-da-Silva G, Almada M, Costa MA, Teixeira NA. The Endocannabinoid System in the Postimplantation Period: A Role during Decidualization and Placentation. *Int J Endocrinol* 2013; 2013: 510540.
15. Trabucco E, Acone G, Marenga A, Pierantoni R, Cacciola G, Chioccarelli T, Mackie K, Fasano S, Colacurci N, Meccariello R, Cobellis G, Cobellis L. Endocannabinoid system in first trimester placenta: low FAAH and high CB1 expression characterize spontaneous miscarriage. *Placenta* 2009; 30: 516-522.
16. Park B, Gibbons HM, Mitchell MD, Glassa M. Identification of the CB1 cannabinoid receptor and fatty acid amide hydrolase (FAAH) in the human placenta. *Placenta* 2003; 24: 473-478.
17. Habayeb OM, Taylor AH, Bell SC, Taylor DJ, Konje JC. Expression of the endocannabinoid system in human first trimester placenta and its role in trophoblast proliferation. *Endocrinology* 2008; 149: 5052-5060.
18. Acone G, Trabucco E, Colacurci N, Cobellis L, Mackie K, Meccariello R, Cacciola G, Chioccarelli T, Fasano S, Pierantoni R, Cobellis G. Low type I cannabinoid receptor levels characterize placental villous in labouring delivery. *Placenta* 2009; 30: 203-205.
19. Tilburgs T, Roelen DL, van der Mast BJ, de Groot-Swings GM, Kleijburg C, Scherjon SA, Claas FH. Evidence for a selective migration of fetus-specific CD4+CD25bright

- regulatory T cells from the peripheral blood to the decidua in human pregnancy. *J Immunol* 2008; 180: 5737-5745.
20. Tilburgs T, Scherjon SA, van der Mast BJ, Haasnoot GW, Versteeg VDV-MM, Roelen DL, van Rood JJ, Claas FH. Fetal-maternal HLA-C mismatch is associated with decidual T cell activation and induction of functional T regulatory cells. *J Reprod Immunol* 2009; 82: 148-157.
 21. Sasaki Y, Darmochwal-Kolarz D, Suzuki D, Sakai M, Ito M, Shima T, Shiozaki A, Rolinski J, Saito S. Proportion of peripheral blood and decidual CD4(+) CD25(bright) regulatory T cells in pre-eclampsia. *Clin Exp Immunol* 2007; 149: 139-145.
 22. Quinn KH, Lacoursiere DY, Cui L, Bui J, Parast MM. The unique pathophysiology of early-onset severe preeclampsia: role of decidual T regulatory cells. *J Reprod Immunol* 2011; 91: 76-82.
 23. Hsu P, Santner-Nanan B, Dahlstrom JE, Fadia M, Chandra A, Peek M, Nanan R. Altered decidual DC-SIGN+ antigen-presenting cells and impaired regulatory T-cell induction in preeclampsia. *Am J Pathol* 2012; 181: 2149-2160.