

Válasz Prof. Dr. Bártfai György, az MTA doktora

„Angiogén és immunológiai tényezők vizsgálata praeclampszában” című MTA
doktori értekezéséről készített

bírálatára

Mindenekelőtt szeretném megköszönni Professzor Úrnak, hogy elvállalta értekezésem bírálatát, és hogy időt szakított annak részletes áttanulmányozására. Köszönöm kritikai megjegyzéseit, amiket természetesen elfogadok. Értekezésemmel kapcsolatos kérdéseire az alábbiakban válaszolok:

A praeclampsia kockázatát a kórelőzményben szereplő praeclampsia jelentősen emeli 7.19 (5.85-8.83) ugyanakkor az idős anyai életkor (≥ 40 év) multiparákban csupán 1.96 (1.34-2.87) kockázat növekedést mutat. Ez azt jelenti, hogy a kórelőzményben szereplő megelőző szülés praeclampsia mentes volt? Az emelkedés ugyanis kicsinek tűnik.

Duckitt és Harrington hivatkozott közleményében az 1,96-os relatív kockázati érték (95%-os konfidencia intervallum: 1,34-2,87) arra vonatkozik, hogy a 40 éves vagy annál idősebb multiparák kockázata praeclampsziára 1,96x-os a 40 évesnél fiatalabb multiparákkal összehasonlítva. Mindkét csoportban előfordult a terhesek egy részénél a kórelőzményben praeclampsia. A megfigyelt mérsékelt kockázat növekedés csak az idősebb életkorból adódik multiparákban.

Hogyan magyarázza a normális méhlepényből származó gyulladásos stimulust? Egyetért-e Redman ezen hipotézisével, ha igen, mivel támasztható alá ez az elképzelés (146. irodalom)?

A méhlepény élettani terhességben úgynevezett trophoblast-törmeléket bocsát az anyai keringésbe apoptózis eredményeként. A trophoblast-törmelék syncytiotrophoblast mikrovezikulumokat, citokeratin fragmentumokat, valamint magzati DNS-t és RNS-t tartalmaz. Redman munkacsoportja kimutatta azt is, hogy a syncytiotrophoblast mikrovezikulumok pro-inflammatorikus tulajdonságúak (1). Számos megfigyelés támasztja alá egy enyhe fokú (szubklinikus) szisztémás gyulladás fennállását élettani terhességben. Jól ismert a klinikai gyakorlatban, hogy a szövődmenymentes terhességet mérsékelt leukocitózis jellemzi, valamint hogy az akut fázis reakció részeként csökken az albumin szérumszintje.

Kimutatták továbbá a monociták, granulociták és limfociták aktivációját is (2-4). A szisztémás gyulladásos környezet fennállását élettani terhességben saját eredményeink is megerősítik. A C-reaktív protein, valamint az interferon- γ -indukált protein-10 (IP-10) szérumszintjét szignifikánsan magasabbnak találtuk egészséges terhes, mint nem terhes nőkben. Továbbá megfigyeltük a komplementrendszer szisztémás aktiválódását is a terminális komplex (SC5b9) fokozott képződésével.

Megállapítja, hogy az sFlt-1 emelkedés és a PlGF csökkenés hetekkel megelőzheti a praeclampsia kialakulását. Van-e jelenleg ennek diagnosztikus és/vagy terápiás jelentősége? Nem minden magas sFlt-1 és alacsony PlGF esetén alakul ki praeclampsia. Milyen védő mechanizmusok lehetnek ezen esetekben a felelősek? Továbbá "alacsony sFlt-1 és magas PlGF mellett is kialakulhat praeclampsia - multifaktoriális, más angiogen és nem angiogen faktorok szerepe". Milyen nem angiogen faktorokra gondolt a szerző?

Az sFlt-1 szérumszintje 5 héttel a praeclampsia klinikai tünetek jelentkezése előtt megemelkedik, míg a PlGF szérum koncentrációja már a 13-16. héten szignifikánsan alacsonyabb azokban a terhesekben, akiknél később praeclampsia alakul azokkal összehasonlítva, akik a terhesség alatt végig normotóniások maradnak (5). Egy szisztémás review és meta-análízis az sFlt-1 szenzitivitását 26%-nak, míg a PlGF-ét 32%-nak találta 5%-os ál-pozitív arány mellett a praeclampsia előrejelzésére a 30. terhességi hét előtt. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy ezek a markerek nem alkalmasak a kórkép előrejelzésére (6). Poon és munkatársainak eredményei szerint a PlGF mellett a PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein-A) szérumszintjének, az artériás középnyomásnak, az artéria uterinák pulzatilitási indexének a meghatározásával, a testtömeg indexet, a paritást és a kórelőzményben szereplő praeclampsiaát is figyelembe véve, 5%-os ál-pozitív arány mellett a korai kezdetű praeclampsia 93,1%-ban, a késői kezdetű praeclampsia 35,7%-ban, a gesztációs hipertónia 18,3%-ban előre jelezhető a 11-13. terhességi héten (7). Az American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) a vizsgálatot alacsony pozitív prediktív értéke miatt a korai kezdetű praeclampsia első trimeszteri szűrésére azonban nem javasolja (8).

A praeclampsia anyai tünetegyüttesének kialakulása nem egyetlen patogenetikai tényezőre vezethető vissza, a magas sFlt-1 és alacsony PlGF szint mellett egyéb tényezők fennállása is szükséges ahhoz. A szolubilis endoglinról kimutatták, hogy potenciózza az sFlt-1 anti-angiogén hatását (9). Saját eredményeink szerint a perifériás vérben található T és NK sejtek

csökkent VEGF-A termelése is hozzájárulhat az angiogén egyensúlyzavar kialakulásához praeclampsziában. A nem angiogén tényezők közül kimutattuk, hogy a pro-inflammatorikus citokinek, kemokinek és adhézis molekulák anyai keringésben megnövekedett mennyisége is szerepet játszik a praeclampsia anyai tünetegyüttesére jellemző kifejezett szisztémás gyulladásos válaszreakcióban és generalizált endothel-diszfunkcióban. Továbbá a megnövekedett szérum IL-17A, leptin és Hsp70 koncentráció additív hatását figyeltük meg a kórkép kockázatában az emelkedett sFlt-1/PlGF hányadossal. Kimutattuk a komplementrendszer klasszikus és alternatív úton történő szisztémás aktiválódását, a keringésben található galektin-1-pozitív T és NK sejtek arányának csökkenését, a granulizintermelő citotoxikus T sejtek arányának emelkedését, a Th17, Tc17 és IL-17A-termelő NK sejtek emelkedett prevalenciáját, a konvencionális és nem konvencionális regulátor T sejtek alacsonyabb gyakoriságát, valamint a regulátor T sejt alcsoportok arányának megváltozását praeclampsziában. Ezek mindegyike részt vehet a generalizált intravaszkuláris gyulladásos reakció kialakulásában praeclampsziában. A genetikai tényezők közül az ösztrogén receptor α gén PvuII (rs2234693) és XbaI (rs9340799) polimorfizmusával, valamint a tumor nekrosis faktor- α gén G-308A (rs1800629) polimorfizmusával találtunk összefüggést praeclampsziában.

A "betegágy melletti" PlGF gyorseszteszt korjósító prognosztikus értékét meggyőzően mutatja be. Kérdésem alkalmazták-e jelenleg ezt a tesztet a klinikai gyakorlatban? Végeztek-e költség-hatékonysági vizsgálatot e tekintetben?

A PlGF gyorseszteszttel költség-hatékonysági vizsgálatot nem végeztünk. A betegség mellett alkalmazható teszt klinikai jelentőségét a hipertóniás terhesek kockázat besorolásában látom („triage”). A negatív PlGF teszteredménnyel elkülöníthetjük a gesztációs és krónikus hipertóniás terhesek azon alcsoportját, akiknél a praeclampsia, illetve ráakódásos praeclampsia kialakulásának kockázata alacsony. Esetükben kevésbé intenzív ellenőrzés szükséges és a kórházi felvétel is elkerülhető, illetve a kórházi benntartózkodás időtartama csökkenthető, ami a társadalombiztosítás számára kiadás csökkenést hozhat. Másrészről a pozitív PlGF teszteredmény képes azonosítani azt a nagy kockázatú hipertóniás terhes populációt, akik esetében a terhesség sürgős lezárása válhat szükségessé, és így sokkal szorosabb magzati állapotdiagnosztikai ellenőrzésük szükséges. Ez elősegítheti az anyai és perinatális morbiditás és mortalitás csökkenését a magas vérnyomással szövődött terhességekben, aminek jelentősége a költség-hatékonyságon túlmutat.

A 4.3 fejezet tárgyalja a PIGF gyorseszteszt és a magzati flowmetriás eredmények összehasonlítását. A 11. és 12. táblázatból kitűnik, hogy kóros flowmetria halmozottan fordul elő a nagyon alacsony PIGF érték mellett. Jó lett volna tájékoztató adatot látni arról, hogy mit tekintettek kóros flow értéknek és mely erekben mérték az áramlást. A CTG-re vonatkozóan még ennyi adat sem szerepel. Hiányolom a kóros flow és kóros CTG és a PIGF három csoportjának összehasonlítását, illetve azokat az adatokat, amikor csak a CTG volt kóros, a flow nem. Továbbá, akár a módszer fejezetben akár az eredményeknél legalább egy irodalmi utalás kívánatos melyben szó esik a CTG minősítésének kritériumairól. Mit tekintettek kóros CTG-nek? Erre nézve jól alkalmazható FIGO beosztás létezik.

Kóros flowmetriás lelet alatt azt értettük, ha az arteria umbilicalison vagy a magzati aorta descendensen diasztolés blokkot vagy reverse flow-t észleltünk, illetve ha a magzati keringés centralizációját figyeltük meg az arteria cerebri media egyidejű vizsgálatával. Kóros CTG leletnek a non-reaktív non-stressz tesztet, a beszűkült vagy szaltatorikus oszcillációt, a szinuszoid CTG görbét, az alapvonal bradycardiát, illetve a repetitív késői vagy elhúzódó decelerációkat tekintettük. Bár tanulmányunk idején a FIGO 2015-ös irányelve még nem volt ismert, klinikai gyakorlatunk az abban foglaltaknak megfelelt (10). Tizenöt terhesnél észleltünk kóros CTG leletet normális flowmetriás eredmény mellett, akik közül 3 esetben volt normális, 4 esetben alacsony, 8 esetben pedig nagyon alacsony a plazma PIGF szint. Kóros CTG és flowmetriás lelet együtt 9 terhesnél fordult elő, 1 esetben alacsony, míg 8 esetben nagyon alacsony plazma PIGF koncentrációval társult.

A 4.4. fejezetben tárgyalja a vérplazma ADAMTS13 aktivitást a von Willebrand faktor antigén szintjével összefüggésben és megállapítja, hogy irodalmi adatok alapján HELLP szindrómában csökkent ADAMTS13 aktivitás és emelkedett von Willebrand faktor antigén szint figyelhető meg. Nem találtam arra nézve adatot, hogy a jelölt által vizsgált HELLP szindrómás betegeknél ilyen vizsgálatot végzett volna. Értekezésében a szerző javasolja az ADAMTS13 aktivitás meghatározását. Ismét felmerül a kérdés, hogy az ígéretes klinikai kutatómunka eredményei mikor hasznosulhatnak a mindennapi klinikai gyakorlatban?

HELLP-szindrómában emelkedett plazma von Willebrand faktor antigén szint mellett csökkent ADAMTS13 aktivitást figyelték meg két korábbi tanulmányban is (11, 12), ezért HELLP-szindrómás terhesekben azokat nem vizsgáltuk. Amennyiben egy prospektív tanulmány igazolná, hogy a vérplazma ADAMTS13 aktivitásának csökkenése előrejelzi a

HELLP-szindróma kialakulását praeclampsziás terhesekben, az ADAMTS13 aktivitás meghatározását a mindennapi klinikai gyakorlatba is érdemes lenne bevezetni praeclampsziában. Jelenleg azt a HELLP-szindróma és a trombotikus trombocitopénias purpura (TTP) elkülönítő diagnosztikájában alkalmazzuk.

A 4.5 fejezetben a plazma oszteopontin szintjét vizsgálta praeclampsia-ban. Új tudományos eredményként megállapítja, hogy „A plazma oszteopontin és fibronektin szintek között szignifikáns pozitív lineáris összefüggés figyelhető meg praeclampsziás terhesekben”. A 15. táblázatból számomra az tűnik ki, hogy az egészséges és a praeclampsia csoport között nincs szignifikáns különbség és csupán akkor látunk különbséget, amikor a fibronektin szint a felső kvartilisban van ($>0,82$ g/l, $n=13$). Tehát célszerű lenne az oszteopontin és fibronektin szintek közötti összefüggésre vonatkozó új megállapítást is pontosítani.

A plazma oszteopontin és fibronektin szintek között szignifikáns pozitív lineáris összefüggést (Spearman $R=0,38$, $p<0,05$; standardizált regressziós együttható (β)= $0,41$, $p<0,05$ többszörös lineáris regresszióval BMI-re történt illesztést követően) csak a praeclampsziás csoportban figyeltünk meg. Az egészséges és praeclampsziás terhesek plazma oszteopontin szintje valóban csak akkor különbözött szignifikánsan, ha az utóbbiak fibronektin szintje a felső kvartilisba esett, ahogy értekezésemben is állítom. Ebből azt a következtetést vontam le, hogy az oszteopontin plazmaszintje kifejezett endothelsejt károsodással járó praeclampsziában szignifikánsan magasabb.

Érdekes és értékes része a tanulmánynak a komplementer rendszer vizsgálata praeclampsziában. A keringésben található fikolin-2 fokozott felhasználódása miatt kialakult csökkent szintje előre jelzi az endothel diszfunkciót, ezáltal az anyai kórkép kialakulását. Ugyanakkor fikolin-2 hiány genetikai okok miatt is kialakulhat és ez hasonló következményekkel jár. Kérdés, hogy érdemes-e genetikai szűrést végezni és ezáltal „felkészülni” a fikolin-2 hiány okozta következményekre. Amennyiben igen, milyen stratégiát javasol a jelölt?

A fikolin-2 gén polimorfizmusairól kimutatták, hogy képesek befolyásolni a ligand kötést, illetve a fikolin-2 vérkeringésben mért szintjét (13-15). Ezek szerepét a praeclampsia kockázatában azonban még nem vizsgálták. Amennyiben a praeclampsziával összefüggést mutatnak, meg kell vizsgálni prediktív értéküket önmagukban, illetve az anyai antropometriai

adatokkal, biokémiai (például PIGF) és biofizikai markerekkel (artéria uterina Doppler) kombinációban, hogy szűrőtesztként való alkalmazásukról véleményt alkothassunk.

Az anandamid szérumszintjét meghatározták praeclampsia-ban és megállapították, hogy az nincs összefüggésben az sFlt-1 és PIGF szérumszintjével "jelezve hogy az angiogén egyensúlyzavar és a keringésben található anandamid koncentrációjának megváltozása egymástól független folyamatok preeclampsia-ban". Nem vizsgálták azonban azt, hogy az anandamid szint csökkenés milyen hatással volt az IL-10 termelésre. Kérdés, hogy jelenlegi ismereteink szerint tudjuk-e befolyásolni az anandamid termelődést és ezen keresztül az IL-10 mennyiségét, így csillapítva a gyulladásos folyamatokat?

Az anandamid, illetve a szintetikus és növényi eredetű kannabinoidok alkalmazásával kedvező eredményekről számoltak be gyulladásos kórképek állatkísérletes modelljeiben (16, 17). A növényi eredetű kannabinoidok gyulladáscsökkentő hatását kimutatták gyulladásos bélbetegségben és sclerosis multiplexben humán vizsgálatokban is (18, 19). A kannabinoidok terápiás alkalmazásával a fő probléma azok pszichotróp mellékhatása és az addikció veszélye. Erre a problémára a jövőben a szelektív kannabinoid receptor 2 agonisták, vagy a csak periférián ható agonisták hozhatnak megoldást (20). Az anandamid hidrolíziséért felelős zsírsav-amid hidroláz (FAAH) gátlásával is kedvező hatást tapasztaltak gyulladásos kórképek állatkísérletes modelljeiben, pszichotróp mellékhatás nélkül (21). Terhességben a kannabinoid rendszerre ható készítmények biztonságosságáról is meg kell győződni. A terhesség alatti marihuána használatot az intrauterin növekedési restrikcióval, halvaszüléssel, koraszüléssel és a magzati idegrendszeri fejlődés zavarával hozták összefüggésbe (22). A kockázatok miatt az American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) a marihuána terhesség alatti használatát nem javasolja (23).

Érdekes megfigyelés, hogy az ösztrogén receptor α -gén PvuII és XbaI genotípus polimorfizmusa okozta ösztrogén-hiány milyen fontos kockázati tényező praeclampsia kialakulásában. Az ösztrogének szerepe ha nem is ennyire részletesen, de ismert (azonos kockázati tényezők szerepelnek praeclampsia-ban és cardiovascularis megbetegedésekben ösztrogén hiányban szemben az emlő rosszindulatú megbetegedésének kisebb prevalenciájával) Kérdésem, van-e adata az ösztrogén lehetséges szerepéről praeclampsia-ban?

Az ösztetrol (E4) patogenetikai szerepét praeclampsziában nem vizsgálták. Irodalmi adatok szerint az ösztetrol plazmaszintje az intrauterin magzati állapottal mutat összefüggést praeclampsziában, csökkent plazmaszintje megelőzi a magzat méhen belüli elhalását (24). Egy másik tanulmányban a szérum ösztetrol koncentrációt a magzati elhalás érzékenyebb és megbízhatóbb markerének találták praeclampsziás terhesekben, mint a szérum ösztriol szintet (25). A flowmetriás vizsgálat elterjedése azonban kiszorította a klinikai gyakorlatból a biokémiai módszereket a magzat méhen belüli állapotának megítélésében.

A Toll-like receptor 4 gén és a Thr399Ile polimorfizmusának vizsgálatát jelentős nagyságú közép-magyarországi populáción vizsgálták és szemben holland és kanadai szerzőkkel nem találtak a két polimorfizmus és a praeclampsia között összefüggést. Ez az eredmény egyezett brazil szerzők eredményével (ld. 390. irodalom). Eredményüket, azaz a más szerzők eredményétől való eltérést etnikai különbségekkel magyarázták. Felmerül a kérdés, hogy a közép-magyarországi kaukázusi populáció mennyiben hasonlított a brazil populációra és különbözött a hollandtól?

A praeclampsia előfordulása jelentős földrajzi különbségeket mutat, egy régió belül is eltérő gyakorisággal (26). Ebben a környezeti hatások mellett rasszbeli/etnikai különbségek is szerepet játszhatnak (27). Bár a brazil populáció rasszbeli/etnikai összetétele jelentősen különbözik a közép-magyarországitól, a szerzők a praeclampsziás és kontroll csoportjukat rassz szerint (kaukázusi-nem kaukázusi) illesztették. A holland tanulmányba is bevontak nem kaukázusi rasszhoz tartozó pácienseket. Saját vizsgálatunkat kizárólag kaukázusi populáción végeztük. Irodalmi adatok szerint a praeclampsia gyakorisága még egy rasszon belül is különbözik az etnikai alcsoportok között (28). Ezért elképzelhetőnek tartom, hogy a holland beteganyag eltérő etnikai összetétele is szerepet játszhat eredményeikben. Mindazonáltal azok a megfigyelések, melyek szerint a mutáns allél változatok nem befolyásolják a monociták, illetve a teljes vér lipopoliszacharid által kiváltott aktivációját, megkérdőjelezi a Toll-like receptor 4 gén két polimorfizmusának szerepét a gyulladásos kórképek iránti fogékonyságban (29, 30). Így az is lehetséges, hogy a holland tanulmányban a mutáns alléllal megfigyelt asszociáció nem valódi, hanem háttérben populációs rétegződés áll. Ennek lehetőségét csak „transmission disequilibrium test” (TDT) alkalmazásával, vagy több, nem kapcsolt marker egyidejű vizsgálatával lehetne kizárni.

Még egyszer köszönöm Professzor Úrnak MTA doktori értekezésem alapos, részletekre is kiterjedő értékelését. Köszönöm, hogy értekezésem nyilvános vitára bocsátását támogatta. Tisztelettel kérem válaszaim szíves elfogadását.

Budapest, 2017. április 30.

Dr. Molvarec Attila

Semmelweis Egyetem

I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

Irodalomjegyzék

1. Germain SJ, Sacks GP, Sooranna SR, Sargent IL, Redman CW. Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles. *J Immunol* 2007; 178: 5949-5956.
2. Koumandakis E, Koumandaki I, Kaklamani E, Sparos L, Aravantinos D, Trichopoulos D. Enhanced phagocytosis of mononuclear phagocytes in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1986; 93: 1150-1154.
3. Barriga C, Rodriguez AB, Ortega E. Increased phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1994; 57: 43-46.
4. Sacks GP, Studena K, Sargent K, Redman CW. Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 80-86.
5. 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. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004; 350: 672-683.
6. Kleinrouweler CE, Wiegerinck MM, Ris-Stalpers C, Bossuyt PM, van der Post JA, von Dadelszen P, Mol BW, Pajkrt E, Collaboration EC. Accuracy of circulating placental growth factor, vascular endothelial growth factor, soluble fms-like tyrosine

- kinase 1 and soluble endoglin in the prediction of pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis. *BJOG* 2012; 119: 778-787.
7. Poon LC, Kametas NA, Maiz N, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. *Hypertension* 2009; 53: 812-818.
 8. Committee Opinion Summary No. 638: First-Trimester Risk Assessment for Early-Onset Preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2015; 126: 689.
 9. 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. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 2006; 12: 642-649.
 10. Ayres-de-Campos D, Spong CY, Chandrachan E, FIGO Intrapartum Fetal Monitoring Expert Consensus Panel. FIGO consensus guidelines on intrapartum fetal monitoring: Cardiotocography. *Int J Gynaecol Obstet* 2015; 131: 13-24.
 11. Lattuada A, Rossi E, Calzarossa C, Candolfi R, Mannucci PM. Mild to moderate reduction of a von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13) in pregnant women with HELLP microangiopathic syndrome. *Haematologica* 2003; 88: 1029-1034.
 12. Hulstein JJ, van Runnard Heimel PJ, Franx A, Lenting PJ, Bruinse HW, Silence K, de Groot PG, Fijnheer R. Acute activation of the endothelium results in increased levels of active von Willebrand factor in hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets (HELLP) syndrome. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2569-2575.
 13. Hummelshoj T, Munthe-Fog L, Madsen HO, Fujita T, Matsushita M, Garred P. Polymorphisms in the FCN2 gene determine serum variation and function of Ficolin-2. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 1651-1658.
 14. Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Hansen BE, Koch C, Madsen HO, Skjodt K, Garred P. The impact of FCN2 polymorphisms and haplotypes on the Ficolin-2 serum levels. *Scand J Immunol* 2007; 65: 383-392.
 15. Cedzynski M, Nuytinck L, Atkinson AP, St Swierzko A, Zeman K, Szemraj J, Szala A, Turner ML, Kilpatrick DC. Extremes of L-ficolin concentration in children with recurrent infections are associated with single nucleotide polymorphisms in the FCN2 gene. *Clin Exp Immunol* 2007; 150: 99-104.
 16. Nagarkatti P, Pandey R, Rieder SA, Hegde VL, Nagarkatti M. Cannabinoids as novel anti-inflammatory drugs. *Future Med Chem* 2009; 1: 1333-1349.

17. Gui H, Tong Q, Qu W, Mao CM, Dai SM. The endocannabinoid system and its therapeutic implications in rheumatoid arthritis. *Int Immunopharmacol* 2015; 26: 86-91.
18. Naftali T, Mechulam R, Lev LB, Konikoff FM. Cannabis for inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2014; 32: 468-474.
19. Zajicek JP, Apostu VI. Role of cannabinoids in multiple sclerosis. *CNS Drugs* 2011; 25: 187-201.
20. Lu Y, Anderson HD. Cannabinoid signaling in health and disease. *Can J Physiol Pharmacol* 2017; 95: 311-327.
21. Schlosburg JE, Kinsey SG, Lichtman AH. Targeting fatty acid amide hydrolase (FAAH) to treat pain and inflammation. *AAPS J* 2009; 11: 39-44.
22. Metz TD, Stickrath EH. Marijuana use in pregnancy and lactation: a review of the evidence. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 213: 761-778.
23. Committee Opinion No. 637: Marijuana Use During Pregnancy and Lactation. *Obstet Gynecol* 2015; 126: 234-238.
24. Tulchinsky D, Frigoletto FD, Jr., Ryan KJ, Fishman J. Plasma estetrol as an index of fetal well-being. *J Clin Endocrinol Metab* 1975; 40: 560-567.
25. Kundu N, Carmody PJ, Didolkar SM, Petersen LP. Sequential determination of serum human placental lactogen, estriol, and estetrol for assessment of fetal morbidity. *Obstet Gynecol* 1978; 52: 513-520.
26. Abalos E, Cuesta C, Grosso AL, Chou D, Say L. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; 170: 1-7.
27. Ghosh G, Grewal J, Mannisto T, Mendola P, Chen Z, Xie Y, Laughon SK. Racial/ethnic differences in pregnancy-related hypertensive disease in nulliparous women. *Ethn Dis* 2014; 24: 283-289.
28. Rao AK, Cheng YW, Caughey AB. Perinatal complications among different Asian-American subgroups. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194: e39-41.
29. Erridge C, Stewart J, Poxton IR. Monocytes heterozygous for the Asp299Gly and Thr399Ile mutations in the Toll-like receptor 4 gene show no deficit in lipopolysaccharide signalling. *J Exp Med* 2003; 197: 1787-1791.
30. von Aulock S, Schroder NW, Gueinzius K, Traub S, Hoffmann S, Graf K, Dimmeler S, Hartung T, Schumann RR, Hermann C. Heterozygous toll-like receptor 4

polymorphism does not influence lipopolysaccharide-induced cytokine release in human whole blood. J Infect Dis 2003; 188: 938-943.