

A nitrogén-monoxid-szintézis zavarai preeclampsziában

Kukor Zoltán dr.¹ ■ Valent Sándor dr.²

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, ¹Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet, ²II. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest

A preeclampsia a legveszélyesebb terhességi kórképek közé tartozik, egyike a vezető terhességi halálokoknak. A betegség kialakulása a placentához köthető. A patomechanizmusban kulcsszerepet tulajdonítanak az elégtelen NO-szintézisnek. A placentában az endothelialis izoforma (eNOS) a jellemző, ennek ismert zavarait foglaljuk össze. Csökkentheti a NO-szintézist szubsztrát- (arginin), kofaktor- (tetrahidrobiopterin, BH4) és kalciumhiány. Preeclampsziában nőhet a nem észtereszített szabad zsírsavak (FFA), a szolubilis VEGF-receptor (sVEGFR), az aszimmetrikus dimetil-arginin, a reaktív oxigéngyökök és a glükóz szérumszintje. Ezek különböző útvonalakon csökkentik a NO mennyiségét. Ismert a preeclampticus placénták egy részében az enzim csökkent BH4 iránti affinitása, ami a NO-szintézis csökkenésén túl emelkedett szuperoxid-termelést is okozhat. A preeclampsziához – nem kellően bizonyítottan – eNOS-polimorfizmusokat is társítottak (D298E, -786T>C). A dohányzásnak preventív hatása van preeclampsia ellen. A hatásmechanizmus nem tisztázott, a NO-szintézisre fókuszálva is ellentmondásokkal teli. A dohányfüst az eNOS expresszióját csökkenti, az aktivitását emelő Ser1177 és az enzimaktivitást gátló Thr495-foszforilációt egyaránt fokozza. Az oxidatív stresszel a NO-szint közvetlenül csökken. A dohányzás csökkenti az FFA-szintet, ami az eNOS-aktivitás növekedését okozhatja. A dohányzás CO-ot termel, ami részben NO-mimikáló hatásával pótolhatja a NO-t. *Orv. Hetil., 2010, 151, 2125–2135.*

Kulcsszavak: preeclampsia, nitrogén-monoxid-szintáz, dohányzás

Nitric oxide and preeclampsia

Preeclampsia is one of the leading causes of obstetric morbidity and mortality. The placenta has a crucial role in the development of preeclampsia. Despite intensive researches the cause of disorder is still unknown. Insufficient NO synthesis may have a key role in pathogenesis. Endothelial NO synthesis (eNOS) is the primary isoenzyme expressed in human placenta, its known disturbances are discussed. Deficiency of substrate (arginine), cofactor (tetrahydrobiopterin, BH4) and calcium can decrease the NO synthesis. Serum levels of free fatty acids (FFA), asymmetric dimethylarginine, reactive oxygen species and glucose may increase in preeclamptic pregnancy. These substances decrease NO production by different ways. The reduced affinity of eNOS to the cofactor BH4 may lead to insufficient NO, but increased superoxide production in preeclamptic placentas. Polymorphisms of eNOS gene (D298E, -786T>C) were associated with preeclamptic complications (not adequately documented). Data suggest that smoking has protective role against preeclampsia. The mechanism is not clear, even the actions of smoking on eNOS are ambivalent. The expression of eNOS is decreased, while the phosphorylation of the activator Ser1177 and also the deactivator Thr495 are increased by cigarette smoke. The oxidative stress directly decreases NO levels. Smoking lowers serum FFA levels, thus the activity of eNOS may be increased. CO produced during smoking mimics the effect of NO and can compensate its absence partially. *Orv. Hetil., 2010, 151, 2125–2135.*

Keywords: preeclampsia, nitric oxide synthase, smoking

(Beérkezett: 2010. október 20.; elfogadva: 2010. november 10.)

Rövidítések

ADMA = aszimmetrikus dimetil-arginin; AMPK = AMP-aktivált proteinkináz; BH4 = tetrahidro-biopterin; CAT = kationos aminosav-transzporter; CREB = cAMP-reszponzív elemet kötő protein; CRT2 CREB = transducer of regulated CREB; DDAH = dimetil-arginin dimetil-aminohidroláz; EDRF =

endotheleredetű relaxációs faktor; eEF2 = eukaryota elongációs faktor 2; eNOS = endothelialis NO-szintáz; FFA = nem észtereszített, szabad zsírsav; FFK1 = foszfofruktokináz 1; FFK2 = foszfofruktokináz 2; G6P-áz = glükóz-6-foszfátáz; GTPH I = GTP ciklohidroláz I; HELLP = hemolízis, emelkedett májenzimek, alacsony vérlemezkeszám; HIF = hypoxiain-

dukált transzkripció faktor; HMG-KoA-reduktáz = hidroximetil-glutaril-KoA-reduktáz; HSL = hormonszenzitív lipáz; IGF = inzulinszerű növekedési hormon; iNOS = indukálható NO-szintáz; nNOS = neuralis NO-szintáz; SREBP = szterol regulált elemet kötő protein; PEPCK = foszfoenol-piruvát-karboxi-kináz; PI3 kináz = foszfatidil-inozitol-3 kináz; PKC = proteinkináz C; PP2B = foszfoprotein-foszfátáz 2 B; PRMT = protein arginil-metiltransferáz; PS = proteaszóma; VEGF = vascularis endothelialis növekedési faktor; VEGFR = vascularis endothelialis növekedési faktor receptor; sVEGFR = szolubilis vascularis endothelialis növekedési faktor receptor

A praeclampsia a terhesség kiváltotta kórképek közé tartozik. Diagnosztikája a terhesség 20. hete után kialakuló hypertóniához (vérnyomás >140/90 Hgmm) és proteinuriához (>0,3 g/24 óra) köthető [1]. A betegek körében gyakori az ödéma és az újszülöttek körülbelül harmadában megfigyelhető az intrauterin retardáció [2]. A praeclampsia a terhességek 2–10%-ában fordul elő. A fejlett országokban a terhességi vezető halálokok közé tartozik mind az anyáknál, mind a magzatoknál. Az idáig ismert egyetlen sikeres kezelése a terhesség megszakítása. A praeclampsia vizsgálata már régóta nagyon intenzíven folyik, ennek ellenére az elsődleges okát még nem sikerült felderíteni. Nehezíti a megismerést, hogy a praeclampsia multifaktoriális betegség. Praeclampsia kialakulhat foetus hiányában, molaterhességben is, sőt, gyakorisága magasabb, mint normálterhességben. A placenta eltávolítása ebben az esetben is a tünetek megszűnéséhez vezet, ami arra utal, hogy a placenta kulcs szerepet játszik a betegség kialakulásában. Ismereteink alapján úgy tűnik, hogy a betegség kialakulásában fontos szerepe lehet az elégtelen NO-szintézisnek. Ennek hátterében genetikai, környezeti okok egyaránt állhatnak, és összefüggésben lehet más betegségekkel (diabetes, metabolikus szindróma) is. A NO-hiány direkt vagy indirekt összefüggésben van a megnövekedett vérnyomással, glomerulusfiltrációs rátával, proteinuriával, vérlemezke-diszfunkcióval. A NO-képződés zavarának szerepét állatkísérletek is alátámasztják. A praeclampsia a főemlősök betegsége, de NOS-gátló szerekkel rágcsálókban is kiváltható. Ilyen vegyület a nitro-arginin-metilészter [3], ami a NOS kompetitív gátlószere, így alkalmazásával tanulmányozható a praeclampsia megfigyelt emelkedett szintű endogén NOS-inhibitor, az aszimmetrikus dimetil-arginin (ADMA) hatása.

Nitrogén-monoxid-szintáz

A NO egyike az anyagcserében szereplő legegyszerűbb molekuláknak. Sokáig mindössze a légszennyező, mérgező gázok egyikeként tartották számon, fiziológiai szerepének tisztázását instabilitása rendkívül megnehezítette. Az 1980-as évek végén derült ki, hogy a vérnyomás szabályozásában kulcsszereplő endothel eredetű relaxációs faktor (EDRF) nem más, mint ez a kis molekula. Karrierje innentől fogva meredeken emelkedett, 1992-

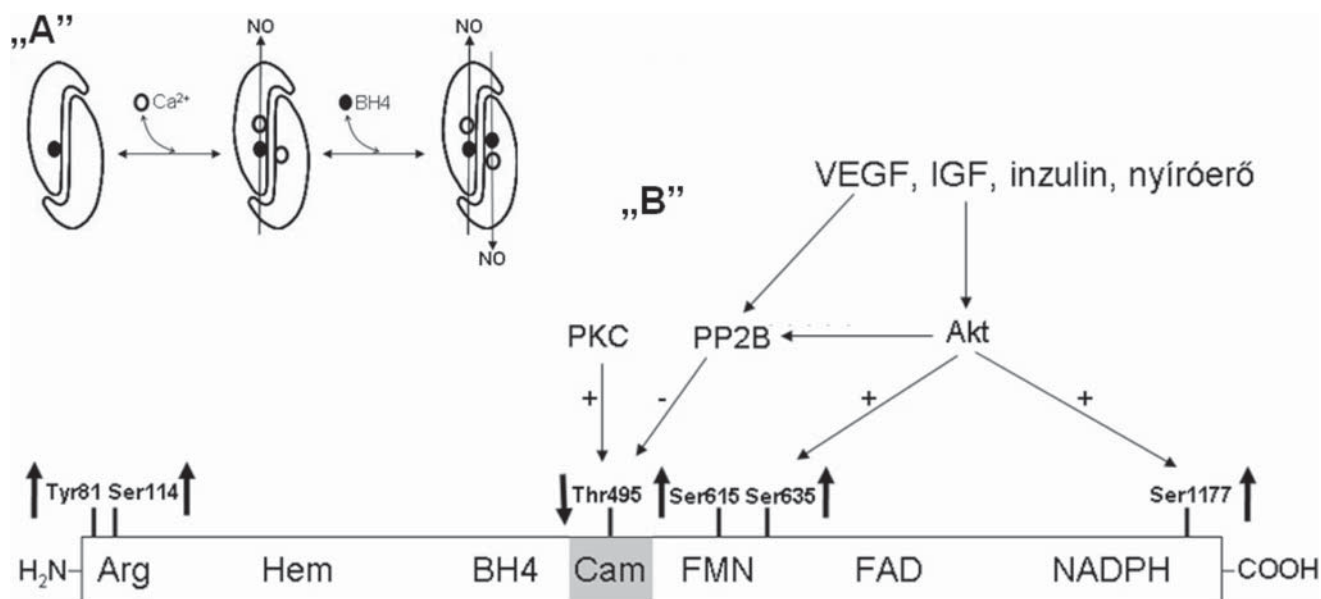
ben a *Science* az év molekulájává választotta, és a felfedezésében elévülhetetlen érdemeket szerző négy kutató közül három munkáját már 1998-ban Nobel-díjjal ismerték el. (L. Ignarro, R. Furchgott és F. Murad, a díjat S. Moncada nem kapta meg.) A NO-ot a szervezetben a NO-szintáz enzim hozza létre, amelynek három izoformája van, a neuralis (nNOS), az indukálható (iNOS) és az endothelialis (eNOS). Az enzim arginint és molekuláris oxigént alakít át nitrogén-monoxiddá és citrullinná. Mindhárom izoenzimnek ugyanaz a koenzim- és kofaktorszükséglete (NADPH, FAD, FMN, BH₄, hem, Ca-kalmodulin). Ezek az enzimek dimer formában aktívak, monomerként, illetve arginin és BH₄ hiányában szuperoxidot termelhetnek. Szabályozásuk jelentősen eltér. A nNOS aktivitása elsősorban az NMDA-receptoron a sejtbe kerülő intracelluláris Ca²⁺-koncentrációtól függ. Az iNOS aktivitását az enzim mennyisége határozza meg, a NO-termelés az indukcióval arányos. Gyulladásos mediátorok indukálhatják az enzimet. Az eNOS az nNOS-hoz hasonlóan Ca-dependens forma, de aktivitását a BH₄-koncentráció, a kaveolinhoz kötődés és számos foszforilációs hely (Thr81, Ser114, Thr495, Ser617, Ser635, Ser1177) is jelentősen befolyásolja. A foszforilációs helyek közül a Thr495 és Ser1177 a meghatározóak. A Thr495 foszforilációja csökkenti, a Ser1177 foszforilációja növeli az enzimaktivitást (1. ábra).

A placentában elsősorban az eNOS expresszálódik [4, 5], ezért az eNOS-t érintő változások a placenta termelte NO mennyiségét is befolyásolhatják. A NO-nak a placentában fontos szerepe van a placenta és a magzat vérellátásában, közvetve a magzat tápanyagellátásában, fejlődésében is. Praeclampsiaiban számos eltérést írtak már le a normálterhességhez képest, ezek jelentős része a NO-termeléssel szorosan összefügg. Leírták praeclampsiaiban a NO koncentrációjának csökkenését, növekedését, változatlanágát normálterhességekhez képest. Kezdetben a gyorsan metabolizálódó NO mennyiségét a stabilabb NO₂⁻ és NO₃⁻-metabolitok mennyiségével jellemezték, de ezek a vegyületek nem feltétlenül arányosak a biológiailag hasznosítható NO mennyiségével. A NO-szignál egyik eleme a cGMP, aminek mennyisége csökken praeclampsiaiban, ami arra utal, hogy a hatásos NO mennyisége praeclampsiaiban nem megfelelő.

Az alábbiakban azok a praeclampsiaiban megfigyelt változások kerülnek tárgyalásra, amelyek kapcsolódnak a NO termeléséhez.

Praeclampsia és a NO-szintézis zavarai

A praeclampsiahoz köthető NO-termelési zavarokat a 2. ábra foglalja össze. Praeclampsiaiban megfigyelhető az oxidatív stressz, markereinek a koncentrációja emelkedik a placentában, szérumban, vizeletben egyaránt. Az oxidatív stressz kialakulása mitokondriumkárosodáshoz; plazma xantin-oxidáz, NADPH-oxidáz aktivitásának növekedéséhez; szuperoxid-dizmutáz és glutation-



1. ábra

Az eNOS szabályozása. A) Az eNOS-t elsősorban a Ca²⁺-szint emelkedése aktiválja. Az endogén BH₄ dimer állapotban tartja egy BH₄ kötésével az eNOS-t, a második BH₄ az aktuális koncentrációtól függően kapcsolódik, és további aktiválást okoz. B) Az eNOS szabályozása foszforilációval. Az ábrán az eNOS-szubsztrát és kofaktor kötőhelyei, valamint a foszforilálható aminosavai tanulmányozhatóak. Az aminosav melletti nyílak azt jelölik, hogy foszforilálásuk növeli vagy csökkenti az enzimaktivitását. A praeclampsziában érintett szabályozókat is fel vannak tüntetve. A VEGF, IGF, inzulin, nyríróerő az Akt kinázon keresztül aktivációt okoznak a Thr1177 foszforilálásával és a PP2B foszfátáz aktiválásán át a Thr495 defoszforilálásával. A PKC a Thr495-öt foszforilálja, így gátolva az eNOS-t

VEGF = vascularis endothelialis növekedési faktor; IGF = inzulinszerű növekedési faktor; PP2B = foszfoprotein-foszfátáz 2B; PKC = proteinkináz C

peroxidáz csökkent aktivitásához köthető praeclampsziában [6]. A NOS szuperoxid- (O₂⁻) termelésre is képes, ami hozzájárulhat az oxidatív stresszhez. A NO labilis molekula, metabolizmusa extrém módon felgyorsulhat oxidatív környezetben. Oxidációja során peroxinitritté (ONOO⁻), majd nitritté és a stabil végtermékké, nitráttá alakul. A ONOO⁻ erőteljes oxidálószer, a fehérjék nitrálásával zavarja funkciójukat.

A szérum-Ca²⁺ szintje praeclampsziás terhességekben csökkenhet. Az eNOS Ca²⁺-dependens izoforma, ezért a Ca²⁺-hiányos táplálkozás csökkentheti az eNOS aktivitását [7].

Praeclampsziás terhességben megfigyelték a placenta argininkoncentrációjának emelkedését, és az anyai és foetalis plazmában az emelkedését, csökkenését, változatlan szintjét is [7]. A plazma argininkoncentrációjának emelkedése nem feltétlenül jelenti a NOS aktivitásának emelkedését, ez függ az intracelluláris argininszinttől és az endogén inhibitor ADMA-koncentrációjától is. Oxidatív stresszben a ONOO⁻ nitrálja a plazma-arginintranszportert (CAT1) is, ami az arginin sejtből történő kiáramlásának növekedését és következményes intracelluláris argininhiányt eredményez. Ezzel párhuzamosan az ADMA-szint nő, ez pedig a NO-szintézis csökkenéséhez vezet [8]. Praeclampsziában fokozódhat az arginintranszporterek expressziója, ami kompenzálhatja a csökkent NO-szintézist. Lokális argininszint-csökkenéshez vezethet az argináz fokozott expressziója is. Az argináz elsősorban a májra jellemző, az ureacik-

lusban argininből ureát hoz létre. Praeclampsziás terhességekben megfigyelték a placentában [9] és az anyai vasculaturában az arginázexpresszió növekedését. Az argináz felhasználva a placenta és az endothelsejtek argininjét, csökkenti az eNOS számára hozzáférhető szubsztrát mennyiségét. Az argináz indukciója nemcsak kompetíciót eredményez az eNOS-sal, hanem az argininszint csökkenésével közvetve növeli az eNOS O₂⁻-produkciónak is. Argininsupplementációval paradox módon az oxidatív stressz fokozódik, és ezzel az erősen oxidáló tulajdonságú peroxinitrit szintje is nő [10].

Néhány vizsgálat beszámolt arról, hogy praeclampsziás szérumban az ADMA szintje növekszik és együtt jár endotheldiszfunkcióval [11]. Az ADMA endogén kompetitív inhibitora a NOS-enzimeknek. Kompetitív jellegénél fogva az IC₅₀ értéke az aktuális argininkoncentrációtól függ. Méréseink szerint az egészséges primordialis placenta argininszintje magas (550 μM), az eNOS K_M-értékét (3 μM) nagyságrendekkel meghaladja, az arginin elvileg nem limitálja az enzimaktivitást, az argininre nézve maximális sebességgel működik. ADMA jelenlétében a K_M-érték az ADMA és az arginin kompetíciója miatt nő, ami magyarázza az úgynevezett „argininparadoxon”-t is. Eszerint hiába 30–50-szer nagyobb az arginin intracelluláris szintje (100 μM körül) az *in vitro* mérhető K_M-értéknek (az enzim 20-szoros K_M-érték fölötti szubsztrátkoncentrációnál maximális sebességgel működik), arginin hozzáadásakor a reakciósebesség mégis nő. A fentiek miatt nem elegendő az arginin szintjének mérése, hasznos lenne praeclamp-

reprodukálni. A BH4-affinitás csökkenését az teszi figyelemre méltóvá, hogy az eNOS BH4-affinitásának csökkenése nem jár együtt a BH4-szint emelkedésével, tehát relatív BH4-hiányt okoz. A BH4-affinitás csökkenése nem pusztán a NO-termelést csökkenti, hanem lehetőséget nyújt az eNOS O_2^- -termelésére is, ami hozzájárulhat a praeclampsziára jellemző oxidatív stresszes állapot kialakulásához [16]. A csökkent BH4-affinitás oka nem ismert, mutáció vagy az enzimszabályozás változása egyaránt állhat a háttérben.

A trofoblaszt apoptózisa emelkedik praeclampsziás placentákban. A NO-nak antiapoptotikus hatása van, ezért az elégtelen NO-termelés az apoptotikus folyamatokat erősítheti. A BH4 és arginin hiánya csökkentheti a NO és növelheti a O_2^- -termelését. A NO és O_2^- extrém gyorsan, mindössze a diffúzió sebességétől függően peroxinitrít alakul. A peroxinitrit nagyon erős oxidálószer és nitrálóreagens. Az ONOO⁻ és származékai gátolják a mitokondriális elektrontranszportláncot, és ez a mitokondrium emelkedett szuperoxid-termeléséhez vezet. Ez pozitív visszacsatolással további mitokondriális károsodást és ONOO⁻-produkciót eredményez. Az elektrontranszportlánc károsodása membránpotenciálcsökkenéshez vezet, az átmeneti permeabilitási pórus (permeability transition pore) kinyílik, és az apoptotikus faktorok kijutnak a mitokondriumból. A BH4 relatív vagy tényleges hiánya összekapcsolja a csökkent NO-szintézist a megnövekedett apoptotikus aktivitással.

A placenta normális kifejlődéséhez és funkciójához nélkülözhetetlen a vascularis endothelialis növekedési faktor (VEGF) és receptora (VEGFR-1). A VEGF növeli az eNOS aktivitását, mert a Ser1177 foszforilációját és a Thr495 defoszforilációját eredményezi. Oxidatív stresszben HIF (hypoxiaindukált transzkripció faktor) közvetítésével a VEGFR egy része alternatív splicing eredményeként nem tartalmaz membránkötő és citoszolikus régiót, ezért vízoldékonyvá válik, megjelenik a szérumban. Ezt a formát *szolubilis VEGFR*-nek (sVEGFR) nevezik. Az sVEGFR köti a plazmában a VEGF-et, de szignáltranszdukció nem indul róla, az sVEGFR ezért csökkenti a hatásos VEGF-szintet. Az sVEGFR endotheldiszfunkciót eredményez, következményes oxidatív stressz alakul ki. Az oxidatív stressz jellemzője, hogy antioxidáns kezelés nem hatásos ellene, ami magyarázhatja a praeclampsziában megfigyelt hatástalan antioxidáns kezelést. Az utóbbi időben fedezték fel, hogy az sVEGFR szintje praeclampsziás terhességben emelkedik. Az sVEGFR emelkedése a NO szintézisét csökkenti, mert elégtelenné válik az eNOS Ser1177 foszforilációja és a Thr495 defoszforilációja. Az oxidatív stressz a NO-hiányt a NO átalakításával tovább fokozhatja.

Évek óta folynak munkák praeclampsziához köthető polimorfizmusok azonosítására. Néhány génnél már találtak asszociációt. Többek között az epithelialis Na-csatorna R563Q-mutációja [17], metilén-tetrahidrofolát-reduktáz C677T; a protrombin G20210A; V faktor

Leiden-mutáció [18], hemochromatosis gén C282Y [19], tumornekrózis-faktor-alfa G308A, interleukin-6 G174C; interleukin-10 G1082A [20] és a már említett DDAH- [13] polimorfizmus köthető a praeclampsziához.

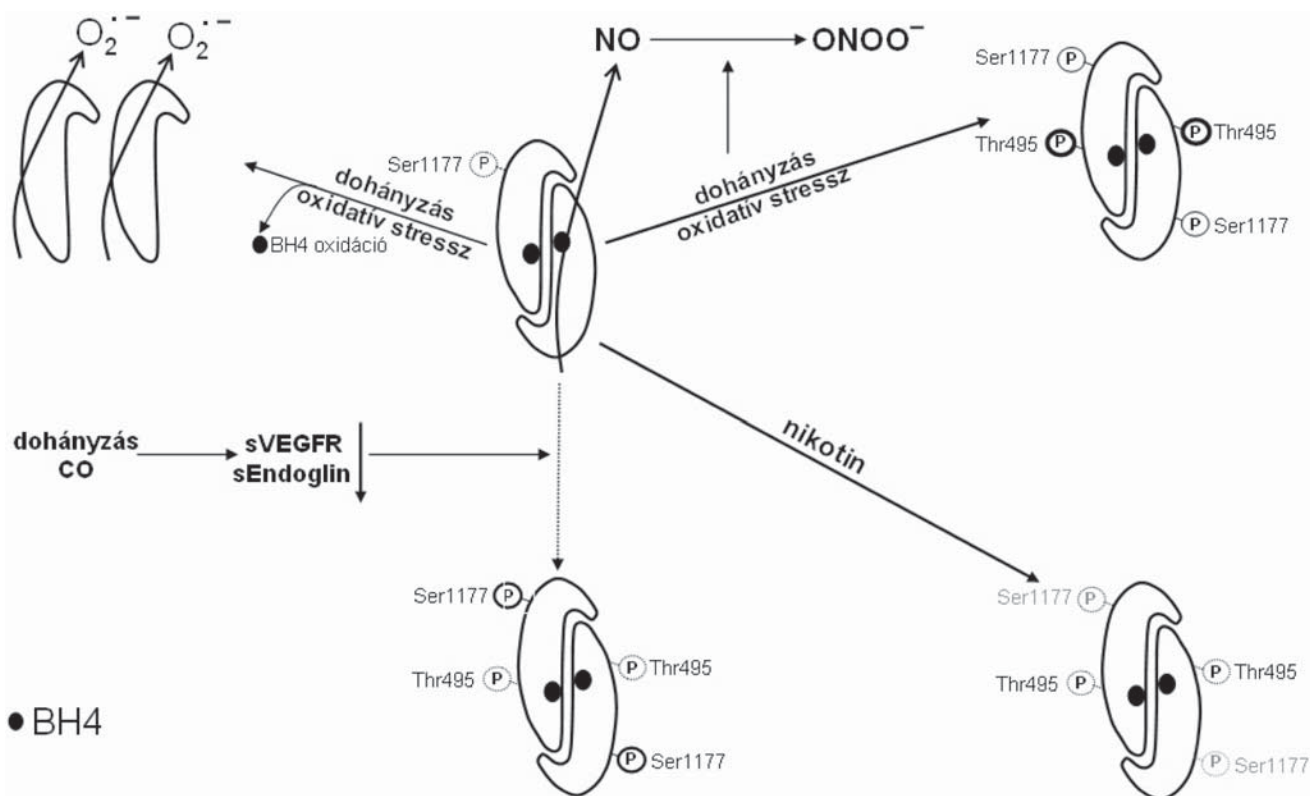
A NOS vérnyomást szabályozó szerepe miatt már régóta a kandidáns gének közé tartozik. Az eNOS praeclampsziához köthető mutációja az E298D, -786T>C. Érdekes, hogy a praeclampszia ellen védő hosszúságpolimorfizmust is találtak már az eNOS-génben. Rekombináns eNOS E298D-mutáns fehérjével már funkcionális vizsgálatot is végeztek. Eszerint az eNOS Asp298 és Glu298 nem mutatott különbséget sem a K_m , sem a V_{max} értékében, és a K_i is azonosnak bizonyult ADMA-ra. A vizsgálat szerint az E298D mutáns eNOS gyorsabban degradálódik, mint a vad típus, de más vizsgálat szerint ez az eredmény műtermék. A másik eNOS-mutáció, a -786T>C a promotorszakaszt érinti és valószínűleg az eNOS csökkent expresszióját okozza [21, 22, 23].

Az eNOS mellett megvizsgálták egy másik izoforma, az iNOS génjét is, amiben a G300A- és a G274T-polimorfizmust írták le praeclampsziával összefüggésben [24]. Az iNOS vizsgálatára azért került sor, mert indukálódik praeclampsziában, ami a gyulladási folyamatok előtérbe kerülésével érhető következménye a praeclampsziának.

Praeclampsziával társult betegségek

A praeclampszia előfordulása gyakoribb *diabetese*s és *metabolikus szindrómás* terhesek körében. Terhesség alatt *2-es típusú diabete*ssel kell elsősorban számolni. Diabetese betegeknel nőhet a szérumban a glükózszintje, és magas glükózszintnél a BH4-szint csökkenhet. Ez a BH4-szintézis gátlásán keresztül történik úgy, hogy a BH4-szintézis sebességmeghatározó enzimének, a GTP-ciklohidroláz I-nek a proteaszómadependens degradációs sebessége nő, emiatt elégtelenné válhat az enzimmennyiség. A BH4-szint csökkenésével a NO-szintézis csökken, a O_2^- -termelés pedig növekedhet. A hyperglykaemia fokozott fehérjeglükázást okoz, aminek eredményeként arginineredetű glikációs végtermékek is képződnek: N^ω-karboximetil-arginin, N^ω-karboxietil-arginin és N^ω-(5-hidro-5-metil-4-imidazol-2-il)-ornitin. Ezek az argininszármazékok a NO szintézisében érintett enzimek; a NOS, DDAH és argináz inhibitorai. Az IC₅₀-értékük nagyon magas, mM nagyságrendű, ezért fiziológiai körülmények között valószínűleg nincs szerepük [25]. A 2-es típusú és a terhességi diabetes inzulinrezisztenciával jár, és az inzulinrezisztencia hipertóniát okozhat. Az inzulin→inzulinreceptor-szubstrát 1→PI3-kináz→Akt-kináz szignálúton az eNOS Ser1177 foszforilálódik, az aktivitás fokozódik. Inzulinrezisztenciánál ez az útvonal nem működik megfelelően, a NO-szintézis csökkenhet [26].

A praeclampszia kialakulásában szerepe lehet az FFA-nak is. A plazma FFA-szintje a késői terhesség alatt fizio-



• BH4

3. ábra

A dohányzás és az eNOS kapcsolata. A dohányzás mind az aktiválást okozó Ser1177, mind az inaktiválást okozó Thr495 foszforilációját eredményezi. A dohányzás reaktív oxigéngyököket termel, amik reagálnak a NO-dal, és peroxinitrit termelődik. Az oxidatív stressz miatt a BH4 oxidálódik, ami az eNOS szétkapcsolásához, szuperoxid-szintézishez vezet. A CO az sVEGFR és sEndoglin szintjét csökkenti, ami az eNOS aktiválását eredményezi. Nikotin hatására az inaktiválást eredményező Thr495 foszforilálódik. A dohányzás AMPK-aktiválást eredményez, aminek hatásait lásd a 4. ábrán

BH4 = tetrahydro-biopterin; sVEGFR = szolubilis vascularis endothelialis növekedési faktor receptor

lógiasan emelkedik, ami minden terhes nőnél inzulinrezisztenciát okoz. Az inzulinrezisztenciával összefüggő kórképekben (praeclampsia, metabolikus szindróma, diabetes) magasabb plazma-FFA-szint figyelhető meg, mint egészséges terhességekben. A diabetes mellett a *metabolikus szindróma* is gyakoribb a praeclampsias terhességekben, és metabolikus szindrómában jellemzően emelkedik az FFA-koncentráció. A FFA-szint emelkedése több NO-dal kapcsolatos patológiai folyamatban is szerepet játszik. A magas FFA-szint mitokondriális eredetű oxidatív stresszt eredményez, emiatt a NO egy része átalakul peroxinitritté. Az oxidatív stressz a PRMT aktivitását növeli, aminek következménye az ADMA-szint emelkedése lesz. Az FFA gátolja az Akt-ot, az eNOS aktiválását a Ser1177 foszforilációjával végző kinázt. A magas FFA-szint anyagcsereutakat is módosít. A palmitinsavszint emelkedése a ceramidszintézis fokozódásához vezet. A fokozottan keletkező ceramid csökkentheti az eNOS transzkripcióját és apoptotikus induktorként is működhet. Humán köldökzsinórvéna-endothelsejtekkel végzett kísérletek szerint a palmitát ceramiddá alakulva gátolja az Akt→eNOS útvonalat, így a ceramid az eNOS aktivációját is gátolja. Figyelemre méltó, hogy a közös lépéseket is tartalmazó szignáltranszdukciós útvonal miatt a ceramid blokkolja az in-

zulin okozta eNOS-aktiválást is, hozzájárulva az inzulinrezisztenciához [27]. Árnyalja a képet, hogy a FFA beépül a sejtmembránlipidekbe is, és minőségétől függően befolyásolja a kaveolákban elhelyezkedő eNOS aktivitását. A linolénsav az eNOS alapaktivitását csökkenti, míg a palmitinsav növeli azt [28]. Metabolikus szindrómában a plazma FFA-szintje emelkedik. A praeclampsia asszociálódik a metabolikus szindrómához, lehetséges, hogy az FFA az összekötő kapocs kettejük között. Felmerül a lehetősége annak, hogy az FFA az eNOS aktivitását közvetlenül is befolyásolhatja. Placenta-mikroszómával végzett kísérleteink alapján a palmitinsav és arachidonsav nem befolyásolja az eNOS aktivitását (Kukor Z., Kecskeméti A., Valent S. – nem publikált eredmény).

Dohányzás és PE: a „füstparadoxon”

Praeclampsia ellen ismert, egyértelműen prediktív hatással rendelkezik a dohányzás, előfordulását körülbelül harmadával csökkenti. Hatása dózisfüggő, az erősebb dohányosok körében kisebb a praeclampsia előfordulásának valószínűsége, mint a ritkábban dohányzók, illetve a nemdohányzók között. A védelem kialakul akkor is, ha a dohányzás a terhesség alatt kezdődik. Megszűnik a vé-

delem, ha a dohányzást felfüggeszti a terhes nő. A dohányzás védőhatása túlsúlyos terheseknél sem figyelhető meg [29]. A jótékony hatás nem összehasonlítható a dohányzás okozta károsodásokkal (foetusretardáció, csökkent fejterefogat, csökkent Apgar, anaemia stb.), megelőzésre semmiképpen nem alkalmazható. A dohányzás ráadásul a megjelenő praeclampsia kimenetelét súlyosbítja (kisebb születési súly, koraszülés, nagyon korai szülés, vetelés, halvaszülés) [30], és az eclampsia ellen sem véd. A bagórágás jótékony hatását a praeclampsia ellen egy több mint 600 000 főt érintő tanulmány során nem sikerült igazolni [31], sőt, van, aki a kockázat növekedéséről számolt be [32], tehát a védőhatást okozó anyag valószínűleg a dohányzás alatt képződik, nem a dohány alkotórésze. A hatásmechanizmus nem ismert minden részletében, megértése közelebb vinne minket a patomechanizmus felderítéséhez.

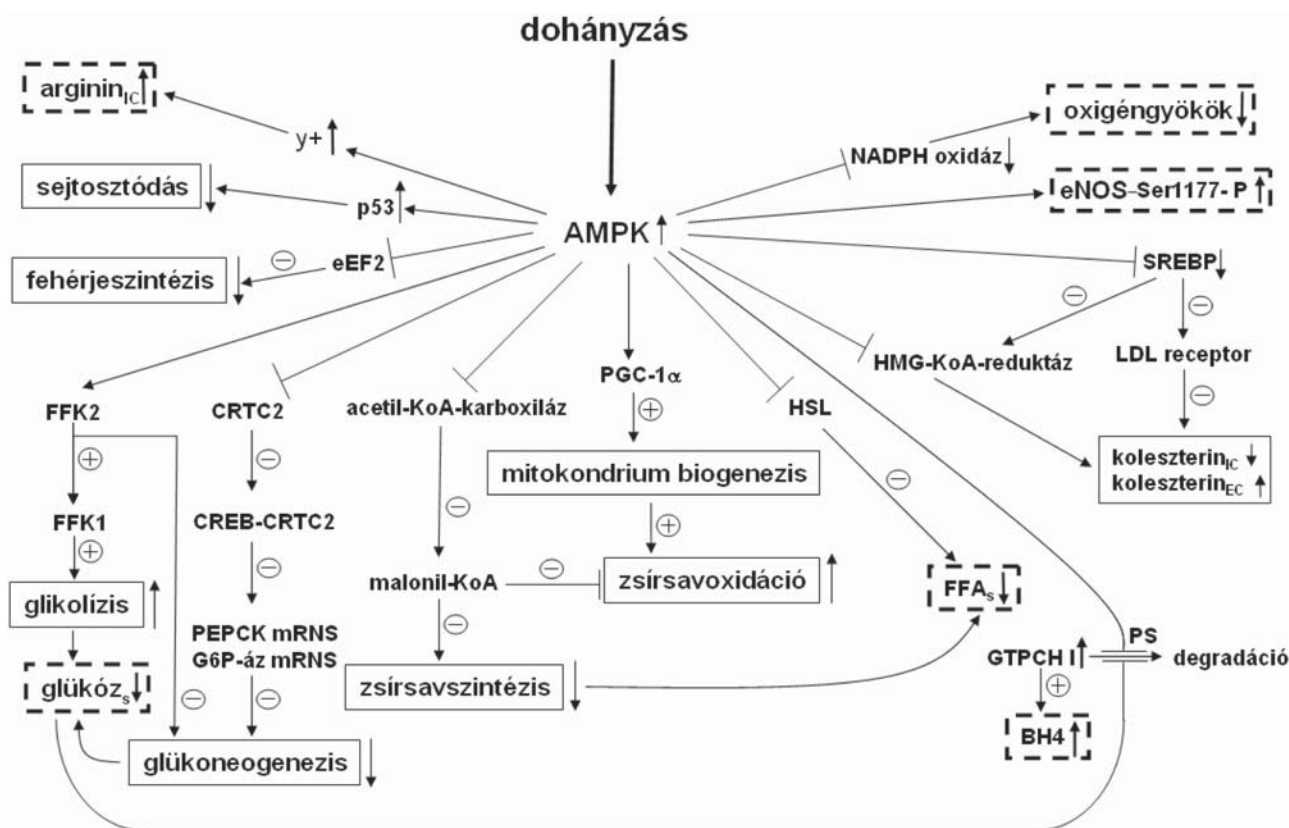
A dohányzás paradox jellegét az adja, hogy a praeclampsia elleni védelmet úgy biztosítja, hogy a praeclampsia ok-okozati tényezői együtt járnak a dohányzással. A dohányfüstnek jól ismert a magas szabadgyök- és prooxidánsképző hatása, ami csökkenti az endothelsejtekben a hatásos NO mennyiségét. Hosszabb távon endothel- és vascularis károsodást, hypertoniát okozhat. Ennek alapján a praeclampsia kialakulása, súlyosbodása várható, de mégis védelmet okoz.

A dohányzás hatást gyakorol a NOS-ra is, ezt a 3. ábra foglalja össze. Eredményeként a NO termelődése és hozzáférhetősége egyaránt csökken. A dohányzás több úton is támadja a NO képződését. Az oxidatív stressz következményeként a már ismertetett módon a NO peroxinitritte alakul, így a képződött NO mennyisége csökken. Dohányzás hatására az eNOS dimer monomerekre disszociál, az eNOS monomer O_2^- -t termel, a reaktív oxigéngyökök mennyiségét tovább emelve. A NOS dimerizációjáért az oxidációra igen érzékeny BH4 felel. Munkánk során mi is tapasztaltuk, hogy a BH4 oxidációját megakadályozva (glutathionnal, aszkorbáttal) vagy az oxidált termék (dihidrobiopterin) redukálásával az eNOS működése normalizálódik [33, 34]. Még nem bizonyított, de valószínű, hogy a dimer széteséséhez a BH4 oxidációja is hozzájárul. Ezt támasztja alá, hogy a dohányzás BH4-oxidációt okoz, valamint kimutatták, hogy a dohányfüst okozta dimerszétesés glutathionnal megakadályozható [35]. Dohányzás hatására az eNOS-aktivitás szabályozásában fontos foszforilációk is megváltoznak. *In vitro* egérendothelioma-sejtvonalon végzett kísérletben mind az aktiválást jelentő Ser1177, mind az inaktiválást okozó Thr495 foszforiláltsága nőtt. A gátlást okozó Thr495 foszforiláltsága kifejezettebb, ez az eNOS aktivitásának csökkenését eredményezi [36]. A dohányzás alatt a termelődő NO mennyisége csökken. A dohányzással együtt járó oxidatív stressz az ADMA-szintet emeli, a CAT1 gátlásával az intracelluláris arginin koncentrációja csökken. Ezek a szubsztrátfelhasználás hatékonyságát csökkentő változások a NO-szintézis csökkenéséhez vezetnek.

A dohányzás szerteágazó hatásához tartozik, hogy csökkenti a szérumban FFA-szintjét, ami az eNOS aktivitásának fokozódásához vezet. A vizsgálatok azt mutatják, hogy egymással ellentétes folyamatok zajlanak dohányzásra, és ezek intenzitása határozhatja meg, hogy melyik válik meghatározóvá.

Dohányzás alatt CO is képződik, ez a füsttel együtt a szervezetbe kerülhet. Az összegyűlt adatok arra utalnak, hogy a CO-nak fontos szerepe lehet a praeclampsia elleni védelemben. Ismert, hogy a dohányzás kezdeti időszakában nemhogy emelkedne, hanem csökkenhet is a vérnyomás. Ezt a CO-dal magyarázzák, mert a CO utánnozza a NO hatását, a cGMP-szintet növeli, ezért csökkentheti a vérnyomást. A CO a NO-hoz való hasonlósága ellenére sokkal stabilabb vegyület (a NO fél életideje 30 másodperc, a CO-é 2–6 óra) [37, 38], ezért a tüdőből eljuthat bárhova a szervezetbe. A dohányfüst, ezen belül a CO önmagában is csökkenti az sVEGFR, szolubilis endoglin termelését, mérsékelve hatásukat. A CO-kezelés emeli a hem-oxigenáz-1 és a szuperoxid dizmutáz expresszióját. A hem-oxigenáz CO-t termel, így a CO hatásait erősíti, a szuperoxid-dizmutáz-expresszió növekedése pedig az oxidatív stresszt csillapítja. A hem-oxigenáz másik terméke, a biliverdin és az ebből keletkező bilirubin antioxidáns tulajdonságúak, ezzel szintén az oxidatív stressz ellen hatnak. A CO gyulladáscsökkentő és antiapoptotikus hatásai egyaránt hozzájárulhatnak a védelemhez [39].

A praeclampsia ellen védő hatással nem rendelkező tubakolás szerepe is ellentmondásos. A tubakolás kátrány és égéstermékek képződésével nem jár együtt, de nikotin kerül a szervezetbe. Praeclampsziában a placenta vascularisatiója elégtelen. A nikotin viszont serkenti az angiogenezist, a hatását közvetítő nikotinreceptort köldökzsinórvéna-endothelsejtekben és placentában egyaránt kimutatták [40], a nikotin tehát potenciálisan növelheti a placentában a vascularisatiót. A nikotinkezelés *in vitro* viszont csökkenti az arteria uterina eNOS-aktivitását, mert csökken a Ser1177 foszforiláltsága is. A nikotin és a dohányzással együtt járó reaktív oxigéngyökök aktiválják a sejt általános energiaszintjét érzékelő („energiaszenzitív”) AMP-aktivált proteinkináz (AMPK). Az AMPK sejt- és szervezetszinten is energiaszenzor-funkciót tölt be, aktiválásával az energiaigényes folyamatok redukálódnak, míg az energiatermelő folyamatok intenzívebbé válnak (4. ábra). Az AMPK több kedvező hatással rendelkezik, ami mérsékelheti a praeclampsziában megfigyelt kóros változásokat. Fokozott glikolízist, zsírsav- β -oxidációt figyelhetünk meg, IRS1- és eNOS-aktivációt, valamint gátolt zsírszövetlipolízist [41]. A zsírszövetben az AMPK foszforilálja a hormonszenzitív lipázt és ezzel megakadályozza a működéséhez elengedhetetlen transzlokációt a zsírcseppekhez. A trigliceridek lipolízise és a zsírsavak szintézise gátolt, az oxidációjuk növekszik. Az AMPK aktiválásával az FFA felhasználása az oxidáció serkentésével hatékonyabbá válik. Ezt az FFA-csökkentő hatást az után-



4. ábra Az AMPK-aktiválás hatásai. A NO-szintézist befolyásoló változások vastag szaggatott keretzeléssel (---) kiemelve. Az ábrázolt folyamatok több sejttípusban mennek végbe. Az AMPK aktiválása a glükóz- és zsírsavbontást elősegíti, szintézisüket gátolja. Az eNOS-aktiválás közvetlenül a Ser1177 foszforilációjával, közvetetten az FFA-szint csökkenésével történik. A NAD(P)H-oxidáz-degradáció serkentésével a NO hozzáférhetősége nő. A GTPCH I-degradáció gátlásával a BH4 szintézise nő, ami az eNOS aktiválását okozza. A glükolízis serkentése és a glükoneogenezis gátlása a glükózsintet csökkenti, ami a GTPCH I stabilitását, a BH4 szintézisét növeli

AMPK = AMP-aktivált kináz; CREB = cAMP rezponzív elemet kötő protein; CRTC2 = regulált CREB-transzducer (TORC-nak is ismert); EC = extracelluláris; eEF2 = eukaryota elongációs faktor 2; FFAs = szérumszabadszírsv; FFK1 = foszfofruktokináz 1; FFK2 = foszfofruktokináz 2; G6P-áz = glükóz-6-foszfátáz; HMG-KoA-reduktáz = hidroximetilglutaril-KoA-reduktáz; HSL = hormonszenzitív lipáz; IC = intracelluláris; PEPCK = foszfoenolpiruvát-karboxi-kináz; PGC-1α = peroxiszóma proliferátor aktivált receptor γ koaktivátor 1 α; PS = proteaszóma; SREBP = szterol regulált elemet kötő protein; y+ = kationos aminosav transzporter

pótlásért felelős lipolízis gátlása erősíti, emiatt ezek a folyamatok a szérumszabadszírsv-szint mérséklését eredményezik. Az AMPK aktiválása a zsírszövet TNF-α és interleukin-6 szekrécióját csökkenti, így a gyulladásos folyamatokat az AMPK redukálja.

Az AMPK aktiválása az eNOS működését több úton keresztül is módosítja. Az AMPK gátlása humán köldökzsinórvénaendothelsejt-tenyészetben a NAD(P)H-oxidáz szintjét emelte, így növekedett az oxidatív stressz is. Az AMPK aktiválásával ellentétes hatást értek el [42]. A reaktív oxigéngyökök a NO hozzáférhetőségét gátolják, így az AMPK aktiválása ezen az úton is növeli az aktív NO mennyiségét. Az AMPK az arginin transzportját végző CAT- (y+) transzporter aktiválásával növeli az intracelluláris arginin koncentrációt, de ez nem elégséges a dohányzás okozta csökkenés kivédéséhez, csak a hatást mérsékli. Az AMPK overexpressziója, illetve aktiválása humán köldökzsinórvéna-endothelsejtekben magas, 30 mM glükóz okozta GTPCH I proteaszóma általi degradációját gátolja, így a BH4-szintézis emelkedik [43]. Emiatt a diabeteshez társuló praeclampsia kocká-

zata csökkenthető. A glükóz- és az FFA-szint csökkenése, az IRS1 és eNOS aktiválása egyaránt növeli a NO szintézisét. Az AMPK ismert sejtproliferáció-gátló hatását p53-aktiváláson és a hidroximetilglutaril-KoA-reduktáz (HMG-KoA-reduktáz) gátlásán keresztül fejti ki. A HMG-KoA-reduktáz, a koleszterin szintézisében kívül, a proliferációban fontos szerepet betöltő glikoproteinek, geranylilált és farnesilált fehérjék szintéziséhez is hozzájárul. A terhesség alatt igen intenzív sejtproliferáció zajlik, ezért az AMPK aktivációjának szerepe lehet a praeclampsia jellemző intrauterin és placenta-retardációban. Az AMPK és praeclampsia kapcsolatát sajnos még nem vizsgálták, ha sor kerül rá, valószínűleg nem lesz eredménytelen.

Megbeszélés

A praeclampsia az egyik legveszélyesebb terhesség okozta betegség, amelynek kóroktanában az elégtelen NO-szintézisnek jelentős szerepe van. A betegség placenta-hoz köthető, a placentaiban elsősorban az eNOS

izoenzim expresszálódik. A praeclampsia kialakulásához több eNOS-diszfunkció köthető. Az eNOS csökkent expressziója, a működéséhez szükséges kofaktor és szubsztrát hiánya, a BH4-affinitás csökkenése, az enzim működését szabályozó foszforiláció zavara egyaránt csökkent NO-szintézist okoz. A praeclampsia jelenleg biztosan még nem jelezhető előre. A magas rizikófaktorú terhes nők minél korábbi azonosítása lehetővé tenné a veszélyeztetettek szorosabb kontrollját. A praeclampsia és a NO kapcsolatának tanulmányozása több lehetséges markerre is felhívta a figyelmet. Sajnos, mind mellett áll pró és kontra érv is. A praeclampsia-asszociált polimorfizmusok előfordulnak egészséges terhesekben is, ugyanakkor csak a praeclampsias terheségek egy részében fordulnak elő. Még nem azonosítottak olyan polimorfizmust, ami egyértelműen a praeclampsiahoz köthető. Lehetséges, hogy nem ismert környezeti faktoroknak is szerepe van a betegség manifesztációjában a polimorfizmus hordozóinál. A mutációk és a környezeti faktorok kölcsönhatásának vizsgálatát megalapozhatja, hogy cardiovascularis betegségek tanulmányozásakor azt tapasztalták, hogy az eNOS E298D-polimorfizmus dohányzással, magas BMI-vel, trigliceridszinttel, LDL-koleszterinnel párosítva növeli a cardiovascularis kockázatot [44]. Jelentős szerepe lehet az FFA-nak is. Egészséges terheség alatt nő az FFA-szint, és ehhez képest tovább emelkedik praeclampsiaiban. Az egészséges terhesekhez viszonyítva a betegekben legalább 70%-kal magasabb a szérumban-FFA-szint [45]. Fontos szerepe van az FFA összetételének is. Praeclampsias mintákban a telített zsírsavak aránya nő, ami fokozott hypertensio-kockázattal jár együtt. A telítetlen zsírsavösszetétel is változik, szignifikánsan csökken az ω -3-zsírsav, emelkedik az ω -6/ ω -3 zsírsav arány [46]. Az emelkedett ADMA-szint jó markernek tűnik, mert szintje nem függ a vizsgált személy pillanatnyi állapotától, míg az FFA szintjét az étkezés-éhezés is befolyásolja. Az ADMA-szint – kompetitív gátlószer jellege miatt – az arginin koncentrációjának ismeretében szolgáltathat használható információt. Az arginin intracelluláris szintje lokálisan is csökkenhet, például az argináz expressziója vagy CAT1-diszfunkció miatt. Ezért nem a szérumban, hanem a szövetben lenne célszerű a szintjét mérni, de ez természetesen kivitelezhetetlen. Az említett potenciális markerek használhatósága ellen szól, hogy mérésük drága, speciális felszerelést igényelnek, szűrésre emiatt nem alkalmasak.

Ha a dohányzás hatásmechanizmusát megismerjük, idejétmúlttá válhatnak egyes praeclampsias magyarázó elméletek. Az sem valószínűtlen, hogy tényeken alapuló, hatásos prediktív módszert sikerül kidolgozni, a dohányzással együtt járó káros mellékhatások nélkül.

Kezelés és prevenció

Annak ellenére, hogy a NO-ot antihipertenzívumként alig több mint 20 éve azonosították, vérnyomáscsök-

kentő hatása miatt a medicinában már jó évszázada használnak NO-donor vegyületeket (nitroglicerin, Nitromint) angina pectoris megszüntetésére. A praeclampsia ellen kipróbált preventív és kezelési célú szerek többsége (C- és E-vitamin, kalcium, magnézium, arginin, α -metildopa, nifedipin stb.) kedvezően befolyásolják az eNOS működését, vagy a kieső NO hatását pótolhatják. Megjegyzendő, hogy egyes vérnyomáscsökkentők, mint például a NO-donor Na-nitroprusszid kontraindikáltak, mert ronthatják a placenta keringését és magzati károsodást okozhatnak. Az eNOS működését befolyásoló szerek közül a Ca^{2+} és a Mg^{2+} az enzim működéséhez szükséges. A Ca^{2+} -szupplementáció akkor hatásos, ha a napi bevétel nem haladja meg a 600 mg-ot. Nagy adag Mg^{2+} -mal a súlyos praeclampsia hatásait lehet mérsékelni, Ca^{2+} -antagonistaként az erek simaizomzatának összehúzódását gátolja, így a NO-hoz hasonlóan vérnyomáscsökkenést okoz. Az aszkorbinsav és E-vitamin antioxidáns hatásúak, védik az oxidációtól a BH4-et, sőt, visszaredukálják oxidált formáit is, így az enzim aktív dimerformájának a stabilizálásához járulnak hozzá. Az antioxidánsok a hatásos NO-szintet is segítenek emelni, mert megakadályozzák a NO átalakulását peroxinitritté. Az aszkorbát hatását a NO-donor vegyületeken keresztül is kifejti. Az albumin körülbelül 50%-a nitrozilált, a nitrozoalbumin a plazma jelentős felszabadítható NO-készletét jelenti. Az aszkorbát Cu^{2+} jelenlétében segíti nitrozoalbuminból a NO felszabadulását [47]. Praeclampsias plazmában a nitrozoalbumin aránya emelkedik, ami esetleges aszkorbathiánnal magyarázható. Az arginin az eNOS szubsztrátellátottságát javítja, az emelkedett ADMA-szint hatását is mérsékli. Az arginin több anyagcsereútban vesz részt, többek között a glutation szintéziséhez is szükséges. A glutation a káros oxidatív hatások ellen védi a szervezetet, és praeclampsiaiban jellemző a glutationszint csökkenése. Argininnel a glutation pótolható, ezzel az oxidatív stressz mérsékelhető. A pótláshoz kívülről bevitt arginin szükséges, mert szemiesszenciális aminosav. A terheség alatt az argininszintézis nem fedezi a szükségletet, ezért a tápláléknak tartalmaznia kell arginint. Argininszupplementáció (3 g/nap) csökkenti a praeclampsia gyakoriságát, de a vizsgálatok kis esetszámmal történtek, ezért nagyobb populáción is meg kell erősíteni, hogy a gyakorlatban rutinszerűen is használható legyen [48]. A vesefunkciók visszaállítását post partum argininkezelés nem segíti, a normalizáláshoz körülbelül tíz nap szükséges kezeléssel és a nélkül is. Praeclampsiaiban megfigyelhető a hyperhomocysteinaemia, ami megjelenhet B_{12} -vitamin- és foláthiányban is. A terheség alatt rutinszerűen adott vitaminkészítmények elegendő mennyiségben tartalmaznak B_{12} -vitamint és folatot, hiányukkal a praeclampsia gyakorisága nem nő szignifikánsan [49], ezért további adásuk nem javasolt. Az elégtelen NO-termelés hatásainak kivédése az eNOS-aktivitás emelése mellett NO adásával is megoldható. A NO gáz halmazállapotú, gyorsan metabolizálódik, emiatt közvetlen NO-

inhaláció helyett időben elhúzódó hatású NO-donor vegyületeket alkalmaznak. A NO-pótlás egyik lehetőségét a nitroglicerinnel biztosítja, ami tüdőödéma esetén a választandó gyógyszer. A NO-donor nitroglicerinnel végzett munkák némelyike praeclampsia elleni védőhatásról számolt be. Nitroglicerinfúzió a praeclampsia mellett eclampsia és HELLP-szindróma esetén is hatásos lehet [50]. A fentiek ellenére nem végződtek a próbák teljes mértékben elfogadható eredménnyel, mert a nitroglicerinnel való kezelés mellékhatásaként fejfájás léphet fel, ami egyes esetekben a kezelés megszakításával járt.

Preventív és terápiás céllal a statinokkal való kezelésnek is lehet jövője. Statinokkal növelhető az eNOS aktivitása is. A hatás nem csak indirekt (például FFA-szint csökkentésével, az inzulinérzékenység növelésével), statinnal az eNOS közvetlenül is aktiválható. Nem publikált méréseink (Kecskeméti A., Kukor Z., Valent S.) szerint statinnal a placenta eNOS-aktivitása enyhén, körülbelül 25%-kal emelhető. Simvastatinnal és lovastatinnal a hem-oxigenáz expressziója is nő, emiatt több CO képződik, a CO pedig preventív hatással rendelkezik.

A dohányzás és a praeclampsia kapcsolatának tanulmányozása a lehetséges preventív és kezelési módok kidolgozásában is segítséget nyújthat. Az AMPK dohányzásban aktiválódik. Bár az AMPK szerepét még nem vizsgálták praeclampsziában, a kísérletek arra utalnak, hogy aktiválása több praeclampsia folyamat ellen védelmet jelenthet. Számos hatása közül kiemeljük, hogy az eNOS aktiválásával (FFA- és glükózsint csökkentése, BH4 mennyiségének és az intracelluláris argininszint emelése, Ser1177-foszforiláció) a vérnyomás normalizációja is a lehetőségek között szerepel. A praeclampsziára jellemző a hypoxia-reoxigenizáció, és az AMPK segíthet a placenta adaptációjában hypoxiás állapotban. Az oxigénhiányos állapot elviselését a glikolízis – ami egy nem oxigénigényes energiatermelő folyamat – serkentése elősegíti. Az AMPK specifikusan serkenti a glikolízist a placentális FFK2 aktiválásával a placentában. A dohányzás hatásmechanizmusában fontos szerepet tölt be a CO. Az elégtelen NO-mennyiséget részben helyettesítéssel pótolja, részben a szintézisét is elősegíti. A CO mint NO-pótló vegyület, több szempont miatt is figyelemre méltó. Hosszú a fél életideje, valamint rezisztens az oxidatív stresszel szemben, nem keletkezik a ONOO⁻-hez hasonló káros, reaktív anyag. Az előnyök mellett fel kell hívni a figyelmet arra is, hogy a CO erős mérgező. A CO inhalálható, de veszélyessége miatt szoros kontrollt, állandó orvosi felügyeletet kíván az alkalmazása. CO-donor vegyületet nem alkalmaznak terápiás célra, de a CO-szintézisért felelős hem-oxigenáz indukálása és ezzel a CO-szintézis növelése reális, megvalósítható cél lehet.

Köszönetnyilvánítás

A cikk írását a Semmelweis Egyetem (2008) és a Magyar Hypertonia Társaság (2008) kutatási támogatása tette lehetővé.

Irodalom

- [1] Stella, C. L., Sibai, B. M.: Preeclampsia: Diagnosis and management of the atypical presentation. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.*, 2006, 19, 381–386.
- [2] Roberts, J. M., Cooper D. W.: Pathogenesis and genetics of preeclampsia. *Lancet*, 2001, 357, 53–56.
- [3] Molnár, M., Süttő, T., Tóth, T. és mtsai: Prolonged blockade of nitric oxide synthesis in gravid rats produces sustained hypertension, proteinuria, thrombocytopenia, and intrauterine growth retardation. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1994, 170, 1458–1466.
- [4] Kukor, Z., Tóth, M.: Ca(2+)-dependent and Ca(2+)-independent NO-synthesizing activities of human primordial placenta. *Acta Physiol. Hung.*, 1994, 82, 313–319.
- [5] Kukor, Z., Mészáros, G., Hertelendy, F. és mtsai: Calcium-dependent nitric oxide synthesis is potently stimulated by tetrahydrobiopterin in human primordial placenta. *Placenta*, 1996, 17, 69–73.
- [6] Yildirim, A., Altinkaynak, K., Aksoy, H. és mtsai: Plasma xanthine oxidase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities and uric acid levels in severe and mild pre-eclampsia. *Cell. Biochem. Funct.*, 2004, 22, 213–217.
- [7] López-Jaramillo, P., Arenas, W. D., García, R. G. és mtsai: The role of the L-arginine-nitric oxide pathway in preeclampsia. *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.*, 2008, 2, 261–275.
- [8] Venardos, K., Zhang, W. Z., Lang, C. és mtsai: Effect of peroxynitrite on endothelial L-arginine transport and metabolism. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 2009, 41, 2522–2527.
- [9] Noris, M., Todeschini, M., Cassis, P. és mtsai: L-arginine depletion in preeclampsia orients nitric oxide synthase toward oxidant species. *Hypertension*, 2004, 43, 614–622.
- [10] Sankaralingam, S., Xu, H., Davidge, S. T.: Arginase contributes to endothelial cell oxidative stress in response to plasma from women with preeclampsia. *Cardiovasc. Res.*, 2010, 85, 194–203.
- [11] Savvidou, M. D., Hingorani, A. D., Tsikas, D. és mtsai: Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet*, 2003, 361, 1511–1517.
- [12] McBride, A. E., Silver, P. A.: State of the arg: protein methylation at arginine comes of age. *Cell*, 2001, 106, 5–8.
- [13] Böger, R. H., Diemert, A., Schwedhelm, E. és mtsai: The role of nitric oxide synthase inhibition by asymmetric dimethylarginine in the pathophysiology of preeclampsia. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 2010, 69, 1–13.
- [14] Maas, R.: Pharmacotherapies and their influence on asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Vasc. Med.*, 2005, 10, S49–S57.
- [15] Kukor, Z., Valent, S., Tóth, M.: Regulation of nitric oxide synthase activity by tetrahydrobiopterin in human placenta from normal and pre-eclamptic pregnancies. *Placenta*, 2000, 21, 763–772.
- [16] Gao, Y. T., Roman, L. J., Martásek, P. és mtsai: Oxygen metabolism by endothelial nitric-oxide synthase. *J. Biol. Chem.*, 2007, 282, 28557–28565.
- [17] Dhanjal, M. K., Owen, E. P., Anthony, J. A. és mtsai: Association of pre-eclampsia with the R563Q mutation of the beta-subunit of the epithelial sodium channel. *BJOG*, 2006, 113, 595–598.
- [18] Camilleri, R. S., Peebles, D., Portmann, C.: -455G/A beta-fibrinogen gene polymorphism, factor V Leiden, prothrombin G20210A mutation and MTHFR C677T, and placental vascular complications. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 2004, 15, 139–147.
- [19] Senden, I. P., de Groot, C. J., Steegers, E. A. és mtsai: Preeclampsia and the C282Y mutation in the hemochromatosis (HFE) gene. *Clin. Chem.*, 2004, 50, 973–974.
- [20] Stonck, F., Hafner, E., Metznerbauer, M. és mtsai: Absence of an association of tumor necrosis factor (TNF)-alpha G308A, interleukin-6 (IL-6) G174C and interleukin-10 (IL-10) G1082A polymorphism in women with preeclampsia. *J. Reprod. Immunol.*, 2008, 77, 85–90.

- [21] *Chen, L. K., Huang, C. H., Yeh, H. M.*: Polymorphisms in the endothelial nitric oxide synthase gene may be protective against preeclampsia in a Chinese population. *Reprod. Sci.*, 2007, *14*, 175–181.
- [22] *Fairchild, T. A., Fulton, D., Fontana, J. T. és mtsai*: Acidic hydrolysis as a mechanism for the cleavage of the Glu(298) → Asp variant of human endothelial nitric-oxide synthase. *J. Biol. Chem.*, 2001, *276*, 26674–26679.
- [23] *Doshi, A. A., Ziolo, M. T., Wang, H. és mtsai*: A promoter polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with reduced mRNA and protein expression in failing human myocardium. *J. Card. Fail.*, 2010, *16*, 314–319.
- [24] *Bhatnagar, S., Bhattacharjee, J., Vaid, M. és mtsai*: Inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene polymorphism in pre-eclampsia: a pilot study in North India. *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.*, 2007, *47*, 477–482.
- [25] *Lai, Y. L., Aoyama, S., Nagai, R. és mtsai*: Inhibition of L-arginine metabolizing enzymes by L-arginine-derived advanced glycation end products. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 2010, *46*, 177–185.
- [26] *Huang, P. L.*: eNOS, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2009, *20*, 295–302.
- [27] *Xiao-Yun, X., Zhuo-Xiong, C., Min-Xiang, L. és mtsai*: Ceramide mediates inhibition of the AKT/eNOS signaling pathway by palmitate in human vascular endothelial cells. *Med. Sci. Monit.*, 2009, *15*, BR254–BR261.
- [28] *Couloubaly, S., Deloménie, C., Rousseau, D. és mtsai*: Fatty acid incorporation in endothelial cells and effects on endothelial nitric oxide synthase. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2007, *37*, 692–699.
- [29] *Ness, R. B., Zhang, J., Bass, D. és mtsai*: Interactions between smoking and weight in pregnancies complicated by preeclampsia and small-for-gestational-age birth. *Am. J. Epidemiol.*, 2008, *15*, 427–433.
- [30] *Miller, E. C., Cao, H., Wen, S. W. és mtsai*: The risk of adverse pregnancy outcomes is increased in preeclamptic women who smoke compared with nonpreeclamptic women who do not smoke. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2010, *203*, 334.e1–334.e8.
- [31] *Wikström, A. K., Stephansson, O., Cnattingius, S.*: Tobacco use during pregnancy and preeclampsia risk: effects of cigarette smoking and snuff. *Hypertension*, 2010, *55*, 1254–1259.
- [32] *England, L. J., Levine, R. J., Mills, J. L. és mtsai*: Adverse pregnancy outcomes in snuff users. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2003, *189*, 939–943.
- [33] *Tóth, M., Kukor, Z., Valent, S.*: Chemical stabilization of tetrahydrobiopterin by L-ascorbic acid: contribution to placental endothelial nitric oxide synthase activity. *Mol. Hum. Reprod.*, 2002, *8*, 271–280.
- [34] *Valent, S., Tóth, M.*: Activation energy determinations suggest that thiols reverse autooxidation of tetrahydrobiopterin by a different mechanism than ascorbate. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 2006, *38*, 1786–1793.
- [35] *Lowe, E. R., Everett, A. C., Lee, A. J. és mtsai*: Time-dependent inhibition and tetrahydrobiopterin depletion of endothelial nitric-oxide synthase caused by cigarettes. *Drug Metab. Dispos.*, 2005, *33*, 131–138.
- [36] *Wagner L., Laczy B., Cseh J. és mtsai*: Cigarettafüst okozta elváltozások az endothelsejtekből. *Hypertonia és Nephrologia*, 2010, *14*, 117–164.
- [37] *Chung, H. T., Choi, B. M., Kwon, Y. G. és mtsai*: Interactive relations between nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO): heme oxygenase-1/CO pathway is a key modulator in NO-mediated antiapoptosis and anti-inflammation. *Methods Enzymol.*, 2008, *441*, 329–338.
- [38] *Underner, M., Peiffer, G.*: Interpretation of exhaled CO levels in studies on smoking. *Rev. Mal. Respir.*, 2010, *27*, 293–300.
- [39] *Abmed, A., Cudmore, M. J.*: Can the biology of VEGF and haem oxygenases help solve pre-eclampsia? *Biochem. Soc. Trans.*, 2009, *37*, 1237–1242.
- [40] *Arias, H. R., Richards, N. D., Ghafoori, M. E. és mtsai*: Role of non-neuronal nicotinic acetylcholine receptors in angiogenesis. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2009, *41*, 1441–1451.
- [41] *Hwang, J. T., Kwon, D. Y., Yoon, S. H.*: AMP-activated protein kinase: a potential target for the diseases prevention by natural occurring polyphenols. *N. Biotechnol.*, 2009, *26*, 17–22.
- [42] *Wang, S., Zhang, M., Liang, B. és mtsai*: AMPK α 2 deletion causes aberrant expression and activation of NAD(P)H oxidase and consequent endothelial dysfunction in vivo: role of 26S proteasomes. *Circ. Res.*, 2010, *106*, 1117–1128.
- [43] *Wang, S., Xu, J., Song, P. és mtsai*: In vivo activation of AMP-activated protein kinase attenuates diabetes-enhanced degradation of GTP cyclohydrolase I. *Diabetes*, 2009, *58*, 1893–901.
- [44] *Rios, D. L. S., D'Onofrio, L. O., Souza, J. K. és mtsai*: Smoking-dependent and haplotype-specific effects of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms on angiographically assessed coronary artery disease in Caucasian- and African-Brazilians. *J. Hum. Hypertens.*, 2005, *19*, 233–240.
- [45] *Villa, P. M., Laivuori, H., Kajantie, E. és mtsai*: Free fatty acid profiles in preeclampsia. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2009, *81*, 17–21.
- [46] *Mehendale, S., Kilari, A., Dangat, K. és mtsai*: Fatty acids, antioxidants, and oxidative stress in pre-eclampsia. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 2008, *100*, 234–238.
- [47] *Gandley, R. E., Tyurin, V. A., Huang, W. és mtsai*: S-nitrosoalbumin-mediated relaxation is enhanced by ascorbate and copper: effects in pregnancy and preeclampsia plasma. *Hypertension*, 2005, *45*, 21–27.
- [48] *Rytlewski, K., Olszanecki, R., Korbut, R. és mtsai*: Effects of prolonged oral supplementation with L-arginine on blood pressure and nitric oxide synthesis in preeclampsia. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2005, *35*, 32–37.
- [49] *Ray, J. G., Laskin, C. A.*: Folic acid and homocyst(e)ine metabolic defects and the risk of placental abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss: A systematic review. *Placenta*, 1999, *20*, 519–529.
- [50] *Cetin, A., Yurtcu, N., Guvenal, T. és mtsai*: The effect of glyceryl trinitrate on hypertension in women with severe preeclampsia, HELLP syndrome, and eclampsia. *Hypertens. Pregnancy*, 2004, *23*, 37–46.

(Kukor Zoltán dr.,
Budapest, Tűzoltó u. 37–47., 1094
e-mail: zoltan.kukor@eok.sote.hu)