

OXIDATÍV STRESSZ ÉS GESZTÁCIÓS DIABÉTESZ

Horváth Eszter Mária

Semmelweis Egyetem, Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet, Budapest

A gesztációs diabétesz mellitusz (GDM), mely a szénhidrátháztartás terhesség során felismert zavara, a terhességek átlagosan 2-6%-át érinti. A GDM szövődményei egyaránt veszélyeztetik az anyát és a magzatot. Az anyai szövődmények között szerepel a magasabb metabolikus és kardiovaszkuláris kockázat a későbbi élet során, melyet egyes megfigyelések alapján az egészséges terhességek is növelhetnek.

Az emelkedett oxigén és nitrogén eredetű szabadgyökök termelése és a csökkent antioxidáns kapacitás az oxidatív-nirozatív stressz jellemzői. Az ilyen körülmények között kialakuló DNS törések aktiválják a sejtmagban található poli(ADP-ribóz)polimeráz enzimet (PARP), mely segíti a hiba kijavítását. A PARP NAD⁺ igényes működése miatt azonban túlaktiválódása a sejt energiaraktárainak kimerüléséhez, illetve a sejt nekrozisához vezethet. Ismert, hogy ezek a folyamatok fontos szerepet játszanak az inzulinrezisztencia, a 2-es típusú cukorbetegség és a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásában.

Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy az oxidatív-nirozatív stressz növekedése egészséges terhességben is megfigyelhető. Az oxigén eredetű szabad gyökök, illetve olyan gáz természetű molekulák, mint a nitrogén-monoxid (NO) és a kénhidrogén (H₂S) fontos szerepet játszanak a placentációban és a placenta alacsony vaszkuláris ellenállásának kialakításában. A placenta megnövekedett ellenállása akár előre is jelezheti a terhességi szövődmények, például a GDM későbbi kialakulását.

Ismert, hogy GDM-ben emelkedett oxidatív-nirozatív stressz és csökkent antioxidáns kapacitás figyelhető meg mind a placenta és a köldökzsinór szöveteiben, mind az anyai és magzati vérben. Ez az eltérés szerepet játszhat a betegség patogenezisében, illetve olyan korai szövődmények kialakulásában, mint a preeclampsia vagy intrauterin retardáció. GDM-ben alkalmazható antioxidáns terápiával kevés tanulmány foglalkozik, azonban az oxidatív stresszt csökkentő diéta hasznosnak bizonyult a betegség lefolyására.

Saját eredményeik alapján a nirozatív stressz és a PARP aktiváció az egészséges terhesség előrehaladtával nő, azonban GDM-ben a PARP aktiváció korábban és nagyobb mértékben jelentkezik. A PARP aktivitás emelkedése összefüggést mutat az orális glükóztolerancia teszt két órás értékével. Egy másik munkacsoport összefüggést talált a kialakult DNS törések magas szintje és a GDM kialakulásának kockázata között.

Ez felveti annak lehetőségét, hogy a terhesség korai időszakában mért emelkedett oxidatív-nirozatív stressz előre jelezheti a GDM későbbi kialakulását. A terhesség során jelentkező magas oxidatív-nirozatív stressz amellet, hogy olyan hosszabb távú elváltozásokat hozhat létre, mint az a. carotis communis intima:media arány megváltozása, a szülést követően is fennmaradhat. Így az emelkedett oxidatív stressz egyrészt a terhesség során indukált eltéréseken keresztül, másrészt fennmaradása esetén az azt követő folyamatokban való részvétele során szerepet játszhat a korábban GDM-ben szenvedő illetve multipara asszonyok magas metabolikus és kardiovaszkuláris kockázatának kialakulásában.

A gesztációs diabétesz mellitusz (GDM), mely a szénhidrát háztartás terhesség során felismert zavara, a terhességek átlagosan 2-6%-át érinti. Jelenleg Magyarországon a Magyar Diabetes Társaság ajánlásának megfelelően, az átlagos kockázatú várandós asszonyokat a terhesgondozás keretei között a 24-28. gesztációs héten szűrjük, standard módon elvégzett orális glükóz tolerancia teszt (OGTT) keretei között. A magas kockázatú anyákat korábban, a terhesség 16. hetében vizsgáljuk. A GDM diagnózisa kimondható, ha az OGTT terhelés után

két órával a vércukorszint eléri, vagy meghaladja a 7,8 mmol/l-t. A betegség kezelése elsősorban megfelelő diétával (140-160g szénhidrát bevitel naponta) történik, melynek hatását a testmozgás is elősegítheti. Azonban, ha ez nem elegendő, és az éhgyomri vércukorszint 5,3 mmol/l, az egy óras posztprandriális érték pedig 7 mmol/l felett marad, inzulin kezelés bevezetése indokolt [1]. A GDM rövid és hosszú távú szövődményei egyaránt veszélyeztetik az anyát és a magzatot. Magzati szövődmények lehetnek a jellegzetes diabéteszes főtópátia, fejlődési rendellenességek kialakulása, intrauterin retardáció. Az ilyen terhességekből született gyermekeknek nagyobb esélyük van az elhízásra és a diabétesz kialakulására. Az anyai szövődmények között szerepel a nagyobb számú szülési komplikáció, illetve a magasabb metabolikus és kardiovaszkuláris kockázat a későbbi élet során, melyet egyes megfigyelések alapján az egészséges terhességek is növelhetnek.

Az emelkedett oxigén és nitrogén eredetű szabad gyökök termelése és a csökkent antioxidáns kapacitás az oxidatív-nirozatív stressz jellemzői. A lipidperoxidok, mint az oxidált LDL és a malondialdehid (MDA) az oxidatív stressz termékei. A különböző nitrogén-monoxid-szintáz (NOS) izoformák által termelt nitrogén-monoxid (NO) képes a fehérjék cisztein maradékainak reverzibilis nitrozilációjára. A peroxinitrit, az egyik legreaktívabb oxidáns, a szuperoxid és a NO spontán reakciójában alakul ki, csökkentve ezzel a nitrogén-monoxid biológiai elérhetőségét. A fehérjék tirozin oldalláncainak irreverzibilis nitrációja (nitrotirozin: NT) a peroxinitrit és a hasonló reaktív nitrogén vegyületek jellemző reakciója [2]. E mellett a peroxinitrit és a hidroxil gyökök hatékonyan képesek DNS töréseket létrehozni. A DNS egyszálú törései a legfontosabb aktivátorai a sejtmagban található poli (ADP-ribóz) polimeráz enzimnek (PARP). A PARP szubsztrátként nikotinamid-adenin-dinukleotid⁺ (NAD⁺)-ot használ, melyből poli (ADP-ribóz) (PAR) polimereket épít és kapcsol magi fehérjékhez (PARáció), például a hisztonokhoz és önmagához. Az auto-PARáció kezdetben szükséges az aktivitás kialakulásához és fokozódásához, később azonban gátolja az enzim működését. A hisztonok PAR-ációja a DNS lánc elhajlításával segíti a DNS javító enzimek bekötődését a sérült szakaszhoz. Az enzim e mellett hozzájárul a javító enzimek toborzásához is. Olyan folyamatokban játszik szerepet, mint a DNS-javítás, a genom stabilitásának megőrzése és a génexpresszió szabályozása. NAD⁺ igényes működése miatt azonban túlaktiválódása a sejt energiaraktárainak kimerüléséhez, illetve a sejt nekrozisához vezethet [2-4].

Az oxigén eredetű szabad gyökök, illetve olyan gáz természetű molekulák, mint a nitrogén-monoxid és a kénhidrogén (H₂S) fontos szerepet játszanak a placentációban és a placenta alacsony vaszkuláris ellenállásának kialakításában. A placenta megnövekedett ellenállása akár előre is jelezheti a terhességi szövődmények, például a GDM későbbi kialakulását.

Ismert, hogy a placenta bazális NO termelése fontos a humán főtoplacentális keringés alacsony vaszkuláris ellenállásának fenntartásában. A NO-t a főtoplacentális erek endotéliumának sejtjei termelik, melyek endoteliális és indukálható nitrogén-monoxid-szintázokat (eNOS, iNOS) expresszálnak. A NO vazodilatátor hatása mellett az alacsony érelenálláshoz angiogenezist fokozó hatása is hozzájárul [5, 6]. Az alacsony szintű NO termelés, illetve a mediátor csökkent biológiai hozzáférhetősége, valószínűleg részt vesz a *pre-eclampsia* (terhességi magas vérnyomás) és méhen belüli retardáció (IUGR) patogenezisében [5, 7]. Egyes NO-donorok a *pre-eclampsia* szekunder prevenciójában is szerepet kaphatnak [7, 8]. Ezzel ellentétben a GDM-et inkább a magas NO termelés jellemzi [6].

A H₂S termelésben szerepet játszó két fő enzim, a cisztation-béta-szintetáz (CBS) és a cisztation-gamma-liáz (CSE) jelenlétét igazolták humán intrauterin szövetekben és a placentában [9, 10]. A H₂S simaizom aktivitást moduláló hatása miatt szerepet játszhat szüléskor a méhizom-összehúzódások beindulásában [10]. *Pre-eclampsia*ban mind a CSE aktivitás, mind a plazma H₂S szintje csökkenést mutat [11]. Az intrauterin retardációt ugyancsak alacsony kénhidrogén szint jellemzi [12]. A H₂S a korai placentáció során a

vaszkularizáció elősegítésével szerepet játszhat a placenta alacsony érelleállásának kialakításában.

A fent említett gáz természetű mediátorok termelésének eltérései hozzájárulhatnak az oxidatív-nirozativ stressz kialakulásához, és fordítva; az oxidatív-nirozativ stressz befolyásolja a NO és a H₂S termelését és biológiai hozzáférhetőségét.

Ismert, hogy GDM-ben emelkedett oxidatív-nirozativ stressz és csökkent antioxidáns kapacitás figyelhető meg az anyai és magzati szövetekben. Ez az eltérés szerepet játszhat a betegség patogenezisében, illetve egyes szövődmények kialakulásában. Már 1998-ban leírták, hogy emelkedett proteolitikus aktivitás és MDA szint mérhető gesztációs diabéteszben szenvedő anyáktól és újszülöttjeiktől származó vörösvérsejtekben. Az anyákban mérhető MDA szint e mellett összefüggést mutatott a glikált hemoglobin szinttel [13]. Ezt az emelkedést később a lipidperoxidáció egyéb markereinek esetében - például 4-hidroxinonenal (4-HNE), TBARS (tiobarbitursav reaktív anyagok) és LOOH (lipid hidroperoxid) - is igazolták. E mellett emelkedett szérumhúgysavszintet, és ezzel korrigálva, csökkent teljes antioxidáns kapacitást írtak le GDM-ben. Hasonlóan az anyai vérhez a placenta szöveiben is emelkedett oxidatív stresszt találtak; magasabb volt a xantin-oxidáz expresszió, valamint magasabb MDA és 4-HNE szintek jellemzik a GDM-es placentát [14].

GDM-ben alkalmazott antioxidáns terápiával kevés tanulmány foglalkozik, azonban az oxidatív stresszt csökkentő diéta hasznosnak bizonyult a betegség lefolyására [15]. D-vitamin kezelés hatására javult ugyan a betegek metabolikus státusza (vércukor- és lipidszintek), azonban oxidatív stressz szintjük nem csökkent [16]. Ezzel ellentétben kettős vak klinikai vizsgálatban igazolták, hogy a D-vitamin és kalcium együttes adagolása már hatékonyan csökkenti az oxidatív stressz mértékét, és javítja az anyagcsere állapotát [17].

Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy az oxidatív-nirozativ stressz növekedése egészséges terhességben is megfigyelhető. Toescu és kollégái kimutatták, hogy a plazma hidroperoxidjainak mennyisége trimeszterről trimeszterre nő [18].

Saját vizsgálataink során a nirozativ stressz és PARP aktiváció szintjét hasonlítottuk össze egészséges és GDM-mel szövődött terhességekben a terhesség tizenhatodik hetétől. Eredményeink alapján egészséges terhességben az anyai keringő fehérvérsejtekben mind a nirozativ stressz, mind a PARP aktiváció növekszik a 16. héttől a terminusig. Mindkét paraméter szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a gesztációs héttel. GDM-ben a leukociták PARP aktivációja már a terhesség közepén magasabb volt az egészséges terhességhez képest, és a továbbiakban nem mutatott növekedést. E mellett a terhesség 16. és 23. hete között mérve pozitív összefüggést találtunk a szénhidrát-anyagcsere állapota (az orális glükóztolerancia teszt két órás értéke) és a keringő mononukleáris sejtek PARP aktivációja között. Érdekes megfigyelés volt, hogy azok a betegek, akiknél a legmagasabb PARP aktivációt tapasztaltuk terhességük során, a későbbiekben inzulinterápiára szorultak.

A placenta és köldökzsinór mintákban mért nirozativ stressz és PARP aktivitás, a terhesség végén az keringő anyai leukocitákban tapasztaltakhoz hasonlóan, nem különbözött a diétával kezelt GDM-es és a kontrollcsoport között. Míg az inzulinkezelés az anyai leukocitákban csökkentette ezeket a paramétereket, a placenta és a köldökzsinór szöveiben növelte őket.

Ezzel párhuzamosan egy másik munkacsoport az anyai DNS törések szintjét határozta meg a vizelet 8-hidroxi-deoxi-guanozin (8OHdG) mérésével. Eredményeik alapján a 20. gesztációs héten mért magas 8OHdG szint összefüggést mutat a GDM későbbi kialakulásával [19]. Mindez felveti annak lehetőségét, hogy a terhesség korai időszakában mért emelkedett oxidatív-nirozativ stressz előre jelezheti a GDM későbbi kialakulását.

A több, illetve sok gyermekes anyák esetében magasabb metabolikus és kardiovaszkuláris kockázattal lehet számolni. Az azonban, hogy ez az emelkedett rizikó a gyermekvállalás, vagy a gyermekneveléssel kapcsolatos életmódbeli és szociális-gazdasági változások következménye, még nem tisztázott. A terhesség során jelentkező magas oxidatív-nirozativ

stressz mellett, hogy olyan hosszabb távú elváltozásokat hozhat létre, mint az *a. carotis communis intima:media* arányának megváltozása, a szülést követően is fennmaradhat [20]. Mutlu és mtsai. kimutatták, hogy multipara asszonyok gyermekeinek köldökzsinórvérében magasabb teljes oxidáns státusz és oxidatív stressz index, valamint alacsonyabb teljes antioxidáns kapacitás mérhető [21]. Mindezek alapján az emelkedett oxidatív stressz egyrészt a terhesség során indukált eltéréseken keresztül, másrészt fennmaradása esetén az azt követő folyamatokban való részvétele során szerepet játszhat a korábban GDM-ben szenvedő illetve multipara asszonyok, valamint gyermekeik magasabb metabolikus és kardiovaszkuláris kockázatának kialakulásában.

Köszönetnyilvánítás: A kutatást a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

References

- [1] *Jermendy, G., Gaál, Z., Gerő, L., et al.* A diabetes mellitus kórismézése, a cukorbetegség kezelése és gondozása a felnőttkorban. A Magyar Diabetes Társaság Irányelve 2014. (Recommendations of the Hungarian Diabetes Association). *Diabetologia Hungarica* 2014,22
- [2] *Brownlee, M.* Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001,414:813-820
- [3] *Garcia Soriano, F., Virag, L., Jagtap, P., et al.* Diabetic endothelial dysfunction: the role of poly(ADP-ribose) polymerase activation. *Nat Med* 2001,7:108-113
- [4] *Pacher, P., Liaudet, L., Soriano, F. G., Mabley, J. G., Szabo, E., Szabo, C.* The role of poly(ADP-ribose) polymerase activation in the development of myocardial and endothelial dysfunction in diabetes. *Diabetes* 2002,51:514-521
- [5] *Kulandavelu, S., Whiteley, K. J., Bainbridge, S. A., Qu, D., Adamson, S. L.* Endothelial NO synthase augments fetoplacental blood flow, placental vascularization, and fetal growth in mice. *Hypertension* 2013,61:259-266
- [6] *Guzman-Gutierrez, E., Arroyo, P., Salsoso, R., et al.* Role of insulin and adenosine in the human placenta microvascular and macrovascular endothelial cell dysfunction in gestational diabetes mellitus. *Microcirculation* 2014,21:26-37
- [7] *Johal, T., Lees, C. C., Everett, T. R., Wilkinson, I. B.* The nitric oxide pathway and possible therapeutic options in pre-eclampsia. *Br J Clin Pharmacol* 2013,
- [8] *Schleussner, E., Lehmann, T., Kahler, C., Schneider, U., Schlembach, D., Groten, T.* Impact of the nitric oxide-donor pentaerythryl-tetranitrate on perinatal outcome in risk pregnancies: a prospective, randomized, double-blinded trial. *J Perinat Med* 2014,;1-8
- [9] *Patel, P., Vatish, M., Heptinstall, J., Wang, R., Carson, R. J.* The endogenous production of hydrogen sulphide in intrauterine tissues. *Reprod Biol Endocrinol* 2009,7:10-7827-7-10
- [10] *You, X. J., Xu, C., Lu, J. Q., et al.* Expression of cystathionine beta-synthase and cystathionine gamma-lyase in human pregnant myometrium and their roles in the control of uterine contractility. *PLoS One* 2011,6:e23788

- [11] Wang, K., Ahmad, S., Cai, M., et al. Dysregulation of hydrogen sulfide producing enzyme cystathionine gamma-lyase contributes to maternal hypertension and placental abnormalities in preeclampsia. *Circulation* 2013,127:2514-2522
- [12] MacKay, D.S., Brophy, J. D., McBreairty, L. E., McGowan, R. A., Bertolo, R. F. Intrauterine growth restriction leads to changes in sulfur amino acid metabolism, but not global DNA methylation, in Yucatan miniature piglets. *J Nutr Biochem* 2012,23:1121-1127
- [13] Kamath, U., Rao, G., Raghothama, C., Rai, L., Rao, P. Erythrocyte indicators of oxidative stress in gestational diabetes. *Acta Paediatr* 1998,87:676-679
- [14] Lappas, M., Hiden, U., Desoye, G., Froehlich, J., Hauguel-de Mouzon, S., Jawerbaum, A. The role of oxidative stress in the pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal* 2011,15:3061-3100
- [15] Asemi, Z., Samimi, M., Tabassi, Z., Sabihi, S. S., Esmailzadeh, A. A randomized controlled clinical trial investigating the effect of DASH diet on insulin resistance, inflammation, and oxidative stress in gestational diabetes. *Nutrition* 2013,29:619-624
- [16] Asemi, Z., Hashemi, T., Karamali, M., Samimi, M., Esmailzadeh, A. Effects of vitamin D supplementation on glucose metabolism, lipid concentrations, inflammation, and oxidative stress in gestational diabetes: a double-blind randomized controlled clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2013,98:1425-1432
- [17] Asemi, Z., Karamali, M., Esmailzadeh, A. Effects of calcium-vitamin D co-supplementation on glycaemic control, inflammation and oxidative stress in gestational diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Diabetologia* 2014,57:1798-1806
- [18] Toescu, V., Nuttall, S. L., Martin, U., et al. Changes in plasma lipids and markers of oxidative stress in normal pregnancy and pregnancies complicated by diabetes. *Clin Sci (Lond)* 2004,106:93-98
- [19] Qiu, C., Hevner, K., Abetew, D., Enquobahrie, D. A., Williams, M. A. Oxidative DNA damage in early pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus: A pilot study. *Clin Biochem* 2011,44:804-808
- [20] Humphries, K.H., Westendorp, I. C., Bots, M. L., et al. Parity and carotid artery atherosclerosis in elderly women: The Rotterdam Study. *Stroke* 2001,32:2259-2264
- [21] Mutlu, B., Bas, A. Y., Aksoy, N., Taskin, A. The effect of maternal number of births on oxidative and antioxidative systems in cord blood. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012,25:802-805