

OTKA Zárójelentés 2006: Beszámoló

OTKA szám: 37233

Genetikai és vasoaktív mechanizmusok, valamint az obesitás szerepének vizsgálata serdülők és adolescens korúak essentialis hypertóniájában

Oxidatív stress juvenilis essentialis hypertóniában. Juvenilis essentialis hypertóniában mértük az oxidatív stress azaz az antioxidáns/prooxidáns egyensúlyzavar biokémiai markereit. Az eredményeket összevetettük a testtömeg indexekkel (TTI) valamint az azonos TTI-ű kontrollokéval. A prospektív vizsgálat kezdetén a betegek (n:52) életkora 14.4 ± 3.1 év, a TTI 25.0 ± 6.9 kg/m², a kontrollok (n:48) életkora 14.3 ± 4.3 év, a TTI 24.4 ± 6.6 kg/m² volt. Mértük a plazma nitrit+nitrát (NO), a lipidperoxidáció végtermékeiként a malonyl dialdehid (MDA), a szabad thiolok és a glutathion redox rendszer koncentrációját. A hypertóniásokban a nitrátok plazmaszintje csökkent, a lipidperoxidáció végtermékeié fokozott volt. A plazma MDA/NO arány jelentősen fokozott volt a hypertóniásokban összehasonlítva az azonos TTI-ű kontrollokéval ($p < 0.001$). Ez az arány jól korrelált a szisztolés és a diastolés vérnyomásokkal a teljes betegpopulációban ($p < 0.001$). A hypertóniásokban a vörösvértestek szignifikáns glutathion depléciója az oxidált/redukált glutathion arány fokozódását eredményezte összehasonlítva az azonos TTI-et mutató kontrollokéval. Tehát a juvenilis essentialis hypertóniás gyermekekben és serdülőkben a TTI-től függetlenül is oxidatív stressz mutatható ki.

Thrombocytá aggregáció, vér viszkozitás és szérum lipidek hypertóniás és obez gyermekekben. 35 juvenilis essentialis hypertóniás gyermeket vizsgáltunk (8-17 év, medián 15.5 év). A testtömeg indexük (TTI kg/m²): 15 <25, 20 >25 volt. A 35 kontroll közül a TTI 20 esetben <25, 15 esetben >25 volt. A vizsgálat célja volt, hogy tanulmányozzuk az obesitás és a hypertónia szerepét külön-külön és együtt a thrombocytá aggregációra, a vér és a plazma viszkozításra, a plazma és a lipid koncentrációkra, a lipidperoxidációra és a nitrogén monoxid (NO) koncentrációra. Az obez gyermekekben (hypertóniás és kontroll) szignifikánsan magasabb volt az összkoleszterin és a triglicerid koncentráció. A HDL-koleszterin alacsonyabb volt az obezekben, mind a normál súlyú társaikban. A hypertenzív betegekben (obez és nem obez) a thrombocytá aggregáció fokozott, az NO szint csökkent volt, és e két érték szignifikánsan negatív korrelációt mutatott ($r: -0.553$ és -0.530 , $p < 0.01$). Mindemellett megfigyeltük, hogy az obez normotenzív betegekben a thrombocytá aggregáció fokozott. Szignifikáns pozitív korreláció volt a thrombocytá aggregáció és a TTI között ($p < 0.01$). A hypertóniás gyermekekben a plazma szabad thiolok csökkentek voltak függetlenül a TTI-től. Az obez hypertóniás betegekben fokozott volt a lipidperoxidáció, a vér és a plazma

viszkozitás. A multivariancia analysis szignifikáns kapcsolatot mutatott ki az obesitás és a hyperonía, a thrombocytá aggregáció és a thiol oxidáció között. Obez gyermekekben a fokozott thrombocytá aggregáció és az oxidatív stressz részt vesz a hypertónia pathogenesisében és a vascularis károsodás kialakulásában.

Hemoxygenáz-1 expresszió hemodializált fiatal urémiás betegekben

Az oxidatív stressz fontos szerepet játszik a végstádiumú veseelégtelenségben szenvedő (ESRD), hosszú ideje hemodializált (HD) betegek cardiovascularis szövődményeinek kialakulásában. A hemoxygenáz-1 (HO-1) gátolja a gyulladással kapcsolatos folyamatokat véd az oxidatív stressz szemben és az endotheliális károsodástól. Vizsgálatunkban tanulmányoztuk, hogy hogyan alakul a HO-1 expresszió az egyes HD kezelések után. 17 fiatal urémiás betegen közvetlenül a HD előtt és után, majd 48 órával ezt követően kompetitív reverz transzkriptáz PCR módszerrel mértük a HO-1 indukciót. Ugyancsak meghatároztuk a hemolízis indikátorainak a hemoglobinnak és a bilirubinnak a koncentráció változását, a ferroxidáz aktivitást és az oxidált glutathion szintet, mint az oxidatív stressz markerét, valamint a homocysteinnek, az atherosclerosis független rizikó faktorának a koncentrációját. A HD-program hosszától függően szignifikáns különbségek voltak a HO-1 expresszióban. A rövid ideje HD kezelt betegekben (n:7, median 19 hónap) egy fokozott HO-1 expressziót észleltünk, amely nem fokozódott a kezelés során. A régóta HD-kezelt (n:10, median 97 hónap) betegekben az alapérték csökkent. Ezekben a betegekben a HD kezelések vörösvértest károsodást és 1-5-szörös HO-1 expresszió emelkedést idéztek elő. A régi HD betegekben minden HD kezelés oxidatív stresszt is jelent a HO-1 expresszió down-regulációja mellett, amelyek hozzájárulnak a korai atherosclerosis gyorsított progressziójához.

Paraoxonáz polimorfizmus és oxidatív stressz obez és hypertóniás serdülőkben

A paraoxonáz (PON1) enzim antioxidáns hatású, a plazmában a HDL-hez kapcsolódva védi az LDL-t az oxidációtól. A PON1 aktivitást és a Q192R genetikai polimorfizmus összefüggését vizsgáltuk az oxidatív stressz markerek változásával essentialis hypertóniás (EH), obezitas indukálta hypertóniás (OH) és hemodializált uraemiás (HD) betegekben életkor (C) és testsúly szerinti kontrollokhoz (OC) viszonyítva.

A hypertóniás betegek gyógyszeres kezelés előtt vettek részt a vizsgálatban, EH (n=60), OH (n=77). A HD uraemiás betegek dialízis előtti mintáit dolgoztuk fel (n=32).

A PON1 aktivitást a paraoxon hidrolízis mérésével, a QR polimorfizmust *real time PCR* módszerrel határoztuk meg. Az oxidatív stressz mértékét a lipid peroxidáció (MDA) és a NO anyagcsere végtermékeinek (NO_x) koncentrációjával, a vörösvértest GSH szintekkel

jellemeztük, míg a plazma homocystein és cystein szintek az atherogenezis risk faktorai. Meghatározásuk HPLC, ill. fotometriás módszerekkel történt.

A relative oxidative stress (MDA/NO_x) a legkifejezettebb a HD és OH betegkben volt. A PON1 RR genótípusa OH betegek között gyakoribb volt mint a többi betegcsoportban (6/77 vs 1/56, 2/60, 2/53, 1/32 a C, EH, OC, HD) és a PON1 aktivitás is csökkent ezekben a betegekben. Az atherogenesis risk faktora a HD betegekben volt a legmagasabb, de OH betegekben is jelentősen emelkedett, és szoros negatív korrelációt mutattak ($r=-0.767$; ill. -0.860) az NO_x értékekkel.

Obezitás indukálta hypertoniás betegekben a kifejezetten emelkedett oxidatív stressz együttjárt a vasculáris megbetegedésekre hajlamosító RR genótípus gyakoribb jelenlétével, és az atherogenezis rizikó faktorainak emelkedett szintjével. Eredményeink arra is utalnak, hogy a PON1 aktivitás és polimorfizmus meghatározása a korai atherogenezis kialakulásának jelzésére alkalmas.

Eltérő patomechanizmus a serdülőkori essentialis és obesitas indukálta hypertoniában

A serdülőkorúak obezitása a vascularis betegségek, így a hypertonia kialakulásának rizikófaktora. Kérdés, hogy azonos-e a patomechanizmus az essentialis és az obezitás okozta hypertonia esetén.

Vizsgálatunk célja volt az endothelium diszfunkció biokémiai jellemzése essentialis és obezitás indukálta hypertoniás serdülőkbekben.

Összehasonlítottuk az endothelin diszfunkció jeleit, a plazmában mérhető NO végtermékek koncentrációját (NO_x), a relatív oxidatív stressz mértékét (MDA/NO_x), az endothelin/big endothelin szinteket (End/bEnd), valamint az ACE és a xantinoxidáz (XO) aktivitás értékeket essentialis (EH, n= 20) és obezitás indukálta hypertoniás (OH, n= 31) betegek plazma mintáiban a hypertenzió kezelése előtt és 1 hónappal az ACE gátló kezelés után. Ezen adatokat életkorban megfelelő kontroll (K, n= 25) és obez (O, n=33) serdülőkbekben mért értékekkel hasonlítottuk össze. Az obezitás kialakulásában jelentős szerepet játszó leptin és leptin receptor szinteket is meghatároztuk.

A NO_x értékek csökkenése a hypertoniás betegekben (EH, OH) kifejezett, de az O betegekben is mérhető, és a kezelése során nem változik. Az End szintek jelentős emelkedése csak az OH betegekben jellemző, EH esetén a bEnd szintek csökkenése figyelhető meg. Az ACE aktivitás O és EH betegekben magas, és a kezelés során csökkent, OH betegekben a XO aktivitás magas és jelentős csökkenést mutat a kezelés során. A Lept emelkedés és a Lrec jelentős csökkenése az O és az OH csoportban jellegzetes.

Az endothelin diszfunkció a különböző eredetű (EH, OH) hypertoniás betegekben egyaránt kimutatható, de az End, bEnd, ACE és XO aktivitás értékében az EH és OH betegekre jellemző eltérések vannak, ami különböző patomechanizmusra utal.

A steroid dependens nephrosis szindróma levamisol kezelésével szerzett tapasztalatok

A vizsgálat célja a gyakran recidíváló nephrosis szindrómás (NS) betegekben a levamisol terápia preventív hatásának vizsgálata volt. 60 hónapos vizsgálati periódus alatt 34 beteget (21 fiú, 13 lány) vizsgáltunk. Átlag életkoruk a diagnózis idején 5.1 ± 3.4 év. A vizsgálatba vétel kritériuma a 4/12 hónap recidíva volt. A levamisolt 2 mg/kg/nap dózisban alkalmaztuk. Folyamatosan ellenőriztük a fehérvérsejt számot, a legfontosabb vizelet és vesefunkciós értékeket, a kreatinin clearance-t. A vizsgálat alóli kizárás kritériumának a 3 G/l alatti fehérvérsejt számot tekintettük, ekkor a kezelést felfüggesztettük.

A diagnózis felállításának idején a fehérjeürítés 4.4 ± 2.4 gramm/nap, a kreatinin clearance 101.51 ± 30.8 volt. A betegek relapszusainak száma a levamisol kezelés bevezetése előtt 4.4 ± 2.4 . Az aktuális relapszust steroiddal kezeltük, majd ezt követően a steroid adását a levamisol kezeléssel egészítettük ki. A levamisol terápia elindítása előtt a proteinuria 2.9 ± 1.7 gramm/nap volt, a kezelés befejeztekor 0.14 ± 0.21 gramm/nap. A levamisol adása alatt 0.32 ± 0.46 recidívát észleltünk 12 hónap alatt. 23 beteg egyáltalán nem recidívált, 10 betegnél 1/12 hó, 1 betegnél 2/12 hó recidíva jelentkezett. Az átlagos terápiás időtartam 17.0 ± 7 hónap volt. A leghosszabb kezelés 36, a legrövidebb 5 hónapig tartott.

Az 5 esetben előforduló átmeneti leucopenián kívül egyéb mellékhatást nem észleltünk. A levamisol terápia felfüggesztése után két évvel 6 betegnél jelentkezett recidíva, 28 beteg teljes remisszióban maradt.

Eredményeink alapján a levamisol teljesen kivédte a recidívát a betegek 67.6 %-ában, 32.3%-ban pedig a kumulatív prednisolon dózist csökkent.

A levamisol tehát tapasztalataink alapján eredményesen alkalmazható a gyakran recidíváló idiopátiás nephrosis szindrómás betegek recidíva számának csökkentésében és a steroid kumulatív adagjának csökkentésében.

A steroid rezisztens nephrosis szindróma cyclosporin kezelésével szerzett tapasztalatok

A vizsgálat célja a cyclosporin kezelés hatásának felmérése volt steroid rezisztens idiopátiás nephrosis szindrómás (INS) gyermekeken. 60 hónapos periódus alatt 18 beteget (11 fiú/7 lány) vizsgáltunk, átlagéletkoruk a diagnózis idején 9 ± 5.4 . Valamennyi esetben a kezdő terápia prednisolon volt, majd az ismételt relapszusok során 12/18 cyclophosphamid, 4/18 Leukeran, 4/18 azathioprin, 3/18 mycophenolate mofetil, 3/18 esetben levamisol kezelés is

történt. Ezek eredménytelensége esetén kezdtük el a cyclosporin adását 3-5 mg/kg/nap adagban.

A betegek szövettani megoszlása az alábbi volt: 6/18 FSGS, 4/18 IgM NP, 3/18 lupus NP, 3/18 MPGN, 2/18 MNP. A kezelés során a betegek éhgyomri gyógyszer szintjét 100-200 ng/ml, a csúcshintet 800-1000 ng/ml között tartottuk. A diagnózis felállításakor a fehérjeürítés 5.5 ± 3.6 g/nap volt. A cyclosporin kezelés kezdetekor a betegek átlagéletkora 13.8 ± 6.4 év, a fehérjeürítés 4.506 ± 2.54 g/nap, az endogén kreatinin clearance 87.5 ± 32.4 volt.

A kezelés során 18 betegből 11 esetben teljes remissziót értünk el, kreatinin clearance értékük jelenleg 90.7 ± 43.1 , proteinuriájuk 0.16 ± 0.22 g/nap. Parciális remissziót 4 esetben észleltünk (proteinuria < 2,0 g/nap). Kreatinin clearance értékük jelenleg 83.3 ± 23 fehérjeürítésük 0.48 ± 0.09 g/nap. Három beteg esetében javulás nem mutatkozott, vagy betegségük progrediált. Egyikük krónikus haemodialízis programba került, egy másik peritoneális dialízist követően vesetranszplantáción esett át. A cyclosporin kezelés befejezése utáni egy évben 6 betegnek volt recidívája, 12 betegnek nem. Mellékhatásként vesefunkcióromlás, gingiva hyperplasia, hirsutismus (2/18), neurológiai eltérés (1/18) esetben jelentkezett.

Eredményeink alapján a cyclosporin terápia alkalmazásával FSGS esetén 4/6, SLE-ben 2/3, MPGN esetén 3/3, MGN esetén 2/2, IgM NP esetében 4/4 betegnél értünk el javulást. Tehát a terápia rezisztens NS eseteinkben 11/18 betegnél teljes remissziót, 5/18 esetben részleges remissziót értünk el, és a kezelés befejezése utáni egy évben 12/18 esetben a recidíva nem következett be.

Angiotenzinogén (ANG), angiotenzin convertáló enzim (ACE), angiotenzin II. 1 receptor (ATII1R) gén krónikus veseelégtelenségen és juvenilis essentialis hypertóniában

18 krónikus urémiás és hypertóniás (KHY), 13 juvenilis essentialis hypertóniás beteg (JEHT) és 23 kontroll gyermek ANG, ACE és ATII1R gén polimorfizmusát vizsgáltuk. A vérnyomást ABPM monitorral regisztráltuk és mint 24 órás középnyomást értékeltük (MABP). Az utóbbi érték 117 ± 3.1 volt a KHY és $100,6 \pm 2.7$ a Hgmm volt a JEHT a szemben a kontrollokéval (81.4 ± 1.9). Az ANG genotípusban és az allel frekvenciában nem volt szignifikáns különbség a betegek és a kontrollok között. Az ACE génre vonatkozóan a DD genotípus szignifikánsan gyakoribb volt a KHY csoportban, mint a kontrollokban (<0.05). Az ACE ID genotípus szignifikánsan ritkábban fordult elő, mint a kontrollokban. Az ATII1R AC genotípusa szignifikánsan gyakoribb, az AA genotípus pedig szignifikánsan ritkább volt, mint a

kontrollokban ($<0.05, < 0.05$). Ennek alapján úgy tűnik, hogy a magasabb szöveti és keringő ACE szinttel járó DD genotípus szerepet játszik a veseparenchyma progresszív károsodásának kialakulásában. Másrészt a az ATIII1R AC genotípusa predisponáló tényező lehet a JEHT kifejlődésében.

A renin-aldosteron rendszer gén-polimorfizmusa primer vesico-ureteralis refluxban. Az angiotenzinogén (ATG) gén M235T-, az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) gén A1166C- és az angiotenzin II 1-es típusának (AT1) génpolimorfizmusát vizsgáltuk 77 primer vesico-ureteralis refluxban (VUR) szenvedő és 80 egészséges kontroll gyermekben. 38 VUR betegnek alacsony fokozatú (I-III.) és 39-nek magas fokozatú (IV-V.) refluxa volt. 43 betegben vese hegesedés volt kimutatható. Az ACE gén polimorfizmust polymeráz lánc reakcióval, az ATG és az AT1 gén polimorfizmust light cyclor technológiával mutattuk ki. A vesehegesedést mutató gyermekekben a DD polimorfizmus szignifikánsan gyakoribb (44%) volt, mint a kontrollokban (22,5%, $p<0.05$) és a vese hegesedést nem mutató betegekben (21%, $p<0.05$). A vese hegesedéssel társult VUR betegekben szignifikánsan gyakoribb volt a D allél, mint az I (D allél 0.53, I allél 0.47 $p<0.05$), míg a hegesedést nem mutató betegekben ez fordítva volt (D allé 0.4, I allél 0.6 $p<0.05$). Az ATG és az AT1 gén megoszlása nem mutatott különbséget a hegesedéssel társult és a hegesedéssel nem társult VUR csoportok között.