

dr. Vásárhelyi Barna

Magyar Tudományos Akadémia -
Semmelweis Egyetem I.sz. Gyermekgyógyászati Klinika
Gyermekgyógyászati és Nefrológiai Kutatócsoport

**Citokin-gén polimorfizmusok kapcsolata
koraszülöttek perinatális szövődésével**

TEMATIKUS OTKA PÁLYÁZAT

T-46086

ÉLETTUDOMÁNYOK

T/16

2004-2007

A perinatalis adaptáció óriási stresszt jelent minden újszülött számára. Nem véletlen, hogy 40 hétig készül erre a nagy eseményre: ekkorra lesz elég érett szervezete arra, hogy minden gond nélkül megküzdjön a perinatalis adaptáció kihívásaival. Az idő előtt született, különösen a nagyon kicsi, 1500 grammal vagy annál kisebb súlyú koraszülöttnél nem ez a helyzet, a megszületést követően ezért gyakorlatilag az összes szerv és szervrendszer működésében zavar jelentkezhet. A tüdőben a felületaktív surfactant hiánya respiratios distress (IRDS) kialakulásához vezet. A keringés nem tudja kielégíteni a megváltozott igényeket: gyakori a szívelégtelenség/shock, a szervek vérellátási zavara – ami fokozza az akut veseelégtelenség (ARF), és az újszülöttkori bélelhalás (enterocolitis necrotisans, NEC) kockázatát. Nem záródik időben a Botall-vezeték (PDA), ami tovább terheli a keringést, többletmunkát kívánva a szívtől. Nagyobb a kamraúri vérzés (IVH) veszélye. Gyakori a lokális és a szisztémás infectio (sepsis). Ez közvetlenül, illetve az ezzel szemben fellépő gyulladásos reakció révén közvetve is károsítja a parenchimás szerveket. A koraszülöttség nemcsak az első életnapok történéseit határozza meg: a subacut szövődmények, így a krónikus tüdőgyulladás (BPD), vagy a koraszülöttkori retinopathia (ROP) is gyakori szövődmény. Az epidemiologiai adatok és klinikai megfigyelések szerint azonban még a legéretlenebb kohorszban sem következik be feltétlenül mindenkinél minden szövődmény, ami jelzi, hogy a kockázatot öröklött hajlam befolyásolhatja.

Célkitűzés

Kutatómunkánk során azt kívántuk vizsgálni, hogy a perinatalis szövődmények kockázata alacsony születési súlyú koraszülöttek esetében összefügg-e, és ha igen, milyen mértékben olyan genetikai polimorfizmusok hordozásával, melyek befolyásolhatják a szervezet

- gyulladásos válaszkészségét;
- vazoregulációját;
- endokrin környezetét.

Külön elemeztük a kapcsolatot:

1. A perinatalis adaptációs zavarok és a renin-angiotenzin rendszer (RAS), és az ösztrogén receptor;
2. Az akut veseelégtelenség és a RAS, hősokk fehérje (HSP)-70, illetve a citokinek;
3. Az enterocolitis necrotisans és a citokinek; valamint a bakteriális jelfelismerő receptorok;
4. A lélegeztetés / bronchopulmonaris dysplasia és a citokinek, illetve az adhézions molekulák;
5. a retinopathia és a vascularis endothelialis növekedési faktor (VEGF), valamint nitrogén monoxid szintáz (eNOS) gének funkcionális polimorfizmusainak hordozása között.

Vizsgálatsorozatunkat három nagyobb csoport bevonásával végeztük. Legfeljebb 1500 gramm születési súlyú koraszülöttektől, súlyos retinopathias koraszülöttektől, illetve egészséges újszülöttektől az anyagcsereszűrés során megmaradt, szűrőpapírra szárított vérmintákból határoztuk meg 31 különböző funkcionális genetikai polimorfizmus hordozását. (etikai eng.sz: 16/2003, TUKÉB). A genotípust a klinikai adatokkal (szövődményállapotok jelenléte) vetettük össze. A kapcsolatokat a szövődmény kockázatát befolyásoló tényezőkre (születési súly és kor, ápolási adatok stb.) korrigáltuk.

Legfontosabb felismeréseink:

1. A perinatalis adaptációs zavarok esetében (I – V. közlemények]

- keringési elégtelenséggel szemben a fokozott ACE-aktivitással járó genotípus véd;
- csak fiúkban a perinatalis adaptációs zavarokkal szemben a fokozott ösztrogén-hatás közvetítő ösztrogén-receptor polimorfizmus hordozása véd.
- a P és az L selectin, valamint VEGF SNP-k hordozása hat a perinatalis adaptációs zavarok kockázatára;
- a vizsgált inzulinszerű növekedési faktor SNP-nek nincs hatása a perinatalis zavarok veszélyére

2. Akut veseelégtelenség esetében (VI. közlemény)

- a kórképre hajlamosító genetikai variánsokat összefoglalva megállapítottuk, hogy erre a szövődményre hajlamosít az ischaemiás inzultusokkal szembeni sejtvédelmet biztosító 70 kD-os hősokk-fehérje csökkent szintézisével járó genotípus hordozás, illetve a fokozott gyulladásos hajlammal járó citokin-gén polimorfizmusok hordozása

3. Enterocolitis necrotisans esetében (VII-IX közlemények)

- a kórképre hajlamosító genetikai variánsokat összefoglalva megállapítottuk, hogy erre a szövődményre hajlamosít az antiinflammatoricus hatás fokozódásával járó interleukin 4 receptor alfa génpolimorfizmusa véd; az eltérő interleukin-12 és -18 szintekkel járó genotípus fokozza a betegség veszélyét és súlyosbítja a progressziót.

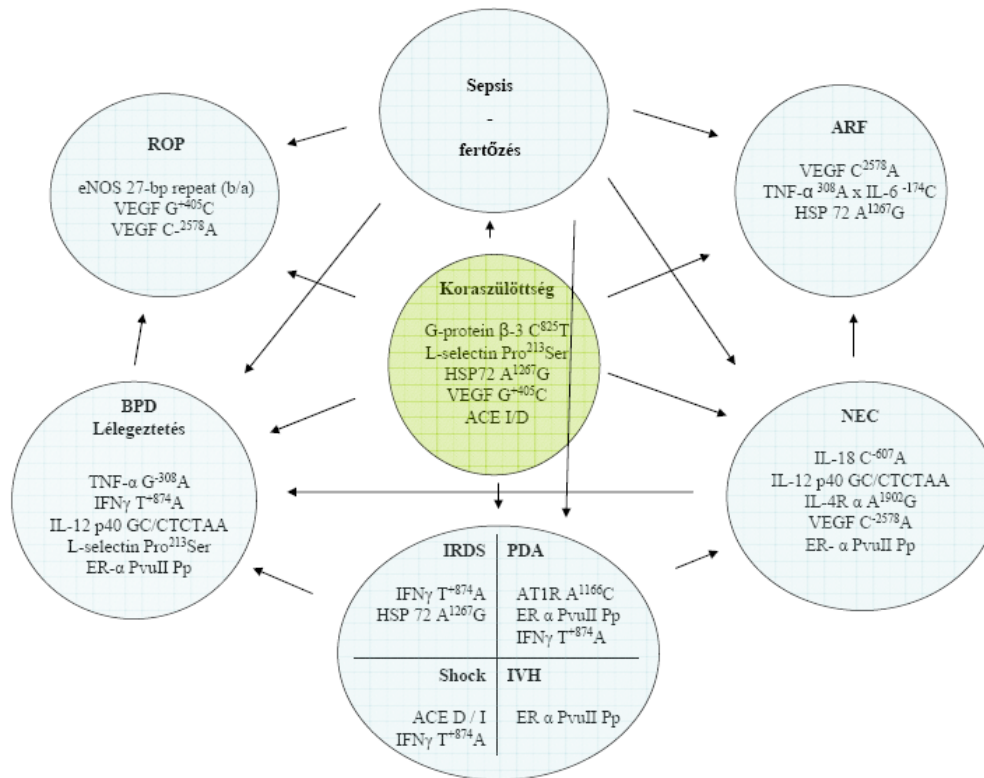
4. A lélegeztetés és a bronchopulmonaris dysplasia esetében (X-XIII. közlemények)

- egyes, a gyulladásos citokinek (tumor necrosis faktor- α , interleukin-12 és interferon- γ) termelését befolyásoló genetikai polimorfizmusok mellett nő a lélegeztetés hossza.

5. Retinopathia esetében (XIV-XVI közlemények)

- a vascularis endothelialis növekedési faktor fokozott expressziójával járó genotípus mellett nő a betegség kockázata

- a nitrogén-monoxid szintáz enzim funkcionális polimorfizmusai szintén összefüggnek a betegség veszélyével.



1. ábra: Genotípus-fenotípus asszociációs vizsgálataink eredményeinek összefoglalása az egyes szövődmények közti kapcsolat tükrében. Az egyes szövődményeket körrel jelöltem, ebben feltüntettem az általunk kimutatott és közölt genotípus-fenotípus kapcsolatokat. Az ábrán látható a szövődmények közötti kapcsolatok, illetve, hogy vannak olyan SNP-k, melyek több szövődmény kockázatát egyidejűleg közvetlenül, és/vagy egyéb szövődményállapotokon keresztül közvetve befolyásolják

Vizsgálatsorozatunk során több olyan elemre sikerült rámutatni, amelynek jelentősége lehet egy adott szövődmény kialakulásában, de a klinikai gyakorlatban eddig nem gondoltak rá. Ilyen az ösztrogén-receptorral szembeni érzékenységet befolyásoló SNP, illetve a RAS polimorfizmusok összefüggése a perinatalis adaptációs zavarokkal, a VEGF SNP-k perinatalis szövődményekkel való kapcsolata, illetve a TNF α és az IFN γ , valamint az IL-12 SNP-k lélegeztetés iránti igényvel való kapcsolata. Természetesen azt, hogy az asszociáció háttérben valóban funkcionális eltérés áll-e (amelyet terápiásan befolyásolni lehet), további vizsgálatok során kell igazolni. Mindenesetre genetikai polimorfizmus vizsgálataink a

gyógyszerfejlesztés, valamint a terápia optimalása szempontjából végzett klinikai vizsgálatok számára kiindulási alapot jelenthetnek.

Az eredmények másik hasznosítási területe a diagnosztika, pontosabban a szövődmény-predikció lehet.

Azt, hogy a genotípus-mintázat ismerete a megszületéskor mennyire segíti ezt a célt, egy újonnan kifejlesztett robusztus non parametrikus eljárással (random forest technikával) választ kerestünk arra a kérdésre is, hogy a beteg genotípusának ismerete a megszületéskor mennyire segítheti a különböző szövődmények szempontjából veszélyeztetett betegek azonosítását; azaz mely genetikai polimorfizmus-mintázatokat kell meghatározni ahhoz, hogy már a megszületéskor az egyes szövődményeket előre lehessen jelezni.

Összefoglaló elemzésünk (XVII. közlemény) során meghatároztuk azt, hogy az egyes SNP- k milyen mértékben segítik önmagukban a predikciót, illetve olyan SNP-mintázatokat állítottunk össze, amelyekkel megszületéskor a szövődmény-predikció pontossága fokozható.

Távlatok: koraszülöttek genotípusa és felnőttkori morbiditás?

Genetikai polimorfizmusokkal kapcsolatos vizsgálatainkat megelőzően a Semmelweis Egyetem I.sz. Gyermekgyógyászati Klinikán kimutattuk, hogy azoknál az egyébként panasz- és tünetmentes felnőtteknél, akik alacsony születési súllyal jöttek a világra, már fiatal felnőtt korban észlelhetők olyan tünetek, melyek jelzik a kardiovaszkuláris betegségek fokozott kockázatát. Kimutattuk, hogy a születési súllyal fordítottan a vérnyomás magasabb, csökken a glükóz tolerancia, nagyobb ütemű a csontátépülés. Méréseink szerint az eltérések hátterében a mellékvesekéreg túlműködése áll, mivel szoros kapcsolatot találtunk a megfigyelt eltérések és a kortizol szintek között. A perinatalis szövődmények és a genetikai háttér közti kapcsolat elemzésekor azonban felmerült: lehet, hogy a volt koraszülöttekben nagyobb gyakorisággal kialakuló időskori betegségek hátterében egy öröklött komponens (genetikai polimorfizmus) is szerepet játszik. Azaz, hogy egyes genetikai polimorfizmusok egyszerre fokozzák a koraszülöttség kockázatát és az időskori betegségek veszélyét.

Ezt a hipotézist több vizsgálati eredményünk is alátámasztja.

Egyrészt, több esetben kiderült, hogy egyes genetikai polimorfizmusok jelenléte koraszülötteknél gyakoribb. Ilyen pl. HSP72 ¹²⁶⁷GG, az L-selectin ²¹³Ser, vagy a VEGF ⁺⁴⁰⁵CC genotípus. Vannak vizsgálatok arra vonatkozóan, hogy ezek a genotípusok felnőttkori betegségekre hajlamosítanak. Különösen a perinatalis adaptációs zavarok esetében a RAS

elemeinek a polimorfizmusa védő hatást fejtett ki: azaz az ACE D allél hordozóknál a keringési elégtelenség, az AT1R ¹¹⁶⁶CC genotípus esetén pedig a PDA volt ritkább. Ezek a gyermekek tehát várhatóan könnyebben tudnak adaptálódni az extrauterin élethez. A könnyebb adaptációnak viszont megvan az ára, amit később kell megfizetni: ezekről a genetikai polimorfizmusokról ugyanis számos vizsgálat igazolta, felnőtt korban fokozzák a kardiovaszkuláris betegségek veszélyét. Persze, azt, hogy az igen kissúlyú koraszülöttek egészségi állapota idős korban a perinatalis időszakban szerepet játszó genetikai polimorfizmusok jelenlétével hogyan függ össze, nem lehet ma még megmondani. A perinatologiai ellátás az utóbbi két évtizedben lett olyan színvonalú, hogy a koraszülött gyermekek többsége átvészeli ezt az időszakot. A válaszra még egy fél évszázadot kell várni. Bízunk benne, hogy az akkori eredmények most bemutatott megfigyeléseinket fogják igazolni.

Közlemények

- I. Nobilis A, Szabó M, Kocsis I, Sulyok E, Tulassay T, Vásárhelyi B: Angiotensin-converting enzyme DD genotype is preventive against circulatory failure in very low-birth-weight neonates, *Acta Paediatrica*, 2006; 95:747-750
- II. Derzbach L, Treszl A, Vannay Á, Balogh Á, Vásárhelyi B, Tulassay T, Rigó J: Gender dependent association between perinatal morbidity and estrogen receptor- α PvuII polymorphism *Journal of Perinatal Medicine* 2005; 33:461-462.
- III. Derzbach L, Bokodi G, Treszl A, Vásárhelyi B, Nobilis A, Rigó J: Selectin polymorphisms and perinatal morbidity in low birth weight infants *Acta Paediatrica*, 2006;95:1213-1217
- IV. Bányász I, Bokodi G, Vásárhelyi B, Treszl A, Derzbach L, Szabó A, Tulassay T, Vannay Á: Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in perinatal complications. *European Cytokine Network*, 2006;17:266-270
- V. Balogh A, Treszl A, Vannay A, Vásárhelyi B. A prevalent functional polymorphism of insulin-like growth factor system is not associated with perinatal complications in preterm infants. *Pediatrics*. 2006;117:591-592 (levél)
- VI. Vásárhelyi B, Tóth-Hejn P, Treszl A, Tulassay T. Genetic polymorphisms and risk for acute renal failure in preterm neonates. Mini-review. *Pediatric Nephrology* 2005;20:132-135.
- VII. Treszl A, Tulassay T, Vásárhelyi B: Genetic basis for necrotizing enterocolitis – risk factor and their relations to genetic polymorphisms. *Frontiers in Biosciences* 2006;11:570-580
- VIII. Szebeni B, Szekeres R, Rusai K, Vannay Á, Veres G, Treszl A, Arató A, Tulassay T, Vásárhelyi B: Genetic polymorphisms of CD14, toll-like receptor 4, and caspase-

recruitment domain 15 are not associated with necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Journal Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2006; 42: 27-31

- IX. Bokodi G, Treszl A, Kovács L, Tulassay T, Vásárhelyi B. Dysplasia: A review. *Pediatric Pulmonology*. 2007; 42 :952-961
- X. Bokodi G, Treszl A, Derzbach L, Balogh Á, Vásárhelyi B The association of the carrier state of the tumor necrosis factor-alpha (TNFalpha) (-308)A allele with the duration of oxygen supplementation in preterm neonates. *European Cytokine Network*, 2005;16:78-80.
- XI. Bokodi G, Derzbach L, Bányász I, Tulassay T, Vásárhelyi B: The association of interferon.gamma T+874A and interleukin-12 p40 promoter CTCTAA/GC polymorphism with the need for respiratory support and perinatal complications in low birth weight neonates. *Archives of Diseases in Childhood*, 2007; 92: F25-29
- XII. Bokodi G, Derzbach L, Vásárhelyi B: Deletion allele of angiotensin-converting enzyme *Journal of Pediatrics*, 2006;149:579.
- XIII. Vannay Á, Dunai Gy, Bányász I, Szabó M, Vámos R, Treszl A, Tulassay T, Vásárhelyi B. Association of genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor and risk for proliferative retinopathy of prematurity. *Pediatric Research* 2005;57:396-398.
- XIV. Balogh Á, Derzbach L, Vannay Á, Vásárhelyi B: Lack of association between insulin-like growth factor I receptor G+3174A polymorphism and retinopathy of prematurity *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2005; 14: 1-4.
- XV. Bányász I, Bokodi G, Vannay Á, Szebeni B, Treszl A, Vásárhelyi B, Tulassay T, Szabó A: Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor and angiotensin 2 in retinopathy of prematurity. *Current Eye Research*. 2006;31:685-90
- XVI. Rusai K, Vannay Á, Szebeni B, Borgulya G, Fekete A, Vásárhelyi B, Tulassay T, Szabó AJ: Endothelial nitric oxide synthase gene T-786C and 27-bp repeat gene polymorphisms in retinopathy of prematurity, *Molecular Vision*, in press
- XVII. Treszl A, Kaposi A, Hajdú J, Szabó M, Tulassay T, Vásárhelyi B: The extent that genotype information may add to the prediction of disturbed perinatal adaptation: none, minor or major? *Pediatric Research*, in press PMID: 17805198

Fenti közlemények az OTKA pályázat témájához szorosan kapcsolódnak. Az OTKA-pályázat segítségével beállított módszereket egyéb vizsgálatok során is alkalmaztuk: ezek eredményeit mutatja be a jelentésben megadott többi közlemény.

További, a felsőoktatásban hasznosult eredmények:

Az OTKA-pályázat ideje alatt, a pályázat során kapott eredményeket felhasználva az alábbi munkatársak védtek meg PhD fokozatukat:

dr. Bokodi Géza: Genetikai polimorfizmusok szerepe a bronchopulmonális dysplasia és a perinatális tüdőkárosodás kialakulásában, 2007. április 25.

dr. Derzbach László: Szelektin és ösztrogén-receptor génpolimorfizmusok jelentősége parinatális gyulladásban, praeclampsiában, 2007 március 23

dr. Pászthy Beáta: A gyermek- és serdülőkori anorexia nervosa pszichoszomatikus jellemzői, 2007 június 28

dr. Szabó Miklós: A vasháztartás és az extracelluláris antioxidáns rendszer összefüggése újszülöttekben és koraszülöttekben, 2005. május 4

dr. Szőnyi László: Alfa-1-antitripszin hiány jelentősége gyermekkori májbetegségekből és más immun-pathomechanizmusú kórképekben, 2007 november 22

dr. Treszl András: Citokin génpolimorfizmusok jelentősége a kissúlyú koraszülötteket érintő perinatális szövődmények kialakulásában 2005. július 5.