

**A GENETIKAI ÉS KARDIOLÓGIAI VIZSGÁLATOK
JELENTŐSÉGE IgA NEPHROPATHIÁBAN**

Doktori (PhD) értekezés

Dr. Szelestei Tamás

II. sz. Belgyógyászati Klinika

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

A Doktori Iskola vezetője, programvezető:

Prof. Dr. Nagy Judit

Témavezetők:

Prof. Dr. Nagy Judit, Dr. Kovács Tibor

Pécs, 2006

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	2
RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	5
1. ÖSSZEFOGLALÁS	7
2. BEVEZETÉS	10
2.1. IgA nephropathia	10
Gyakoriság, epidemiológia	10
Etiopatogenezis	10
Klinikai tünetek	14
2.2. Genetikai tényezők szerepe IgA nephropathiában	15
2.3. Cardiovascularis betegségek IgA nephropathiában	17
3. HIPOTÉZIS ÉS CÉLKITŰZÉS	18
3.1. Uteroglobulin	18
3.2. Megsin	19
3.3. NOD2	20
3.4. Selectin	22
3.5. Glutation-peroxidáz és kataláz	23
3.6. Angiotensin konvertáló enzim (ACE)	27
3.6.1. Az ACE I/D polimorfizmus és az IgAN progressziója	27
3.6.2. A vérnyomás és a balkamra izomtömege	28
3.6.2. Az ACE I/D polimorfizmusa és a balkamra izomtömege	29
4. MÓDSZEREK	30
4.1. Betegek	30
4.2. Polimeráz láncreakció (PCR)	30
4.3. Genotipizálás	32
4.4. Ambuláns vérnyomás monitorozás (ABPM)	34
4.5. Echocardiográfia	34
4.6. Statisztikai analízis	35

5. EREDMÉNYEK	36
5.1. Az uteroglobin G36A génpolimorfizmusa	36
5.2. Megsin C2093T polimorfizmusa	40
5.3. A NOD2 gén G908R és 3020inC mutációi	42
5.4. Selectin gének polimorfizmusai	46
5.4.1. Selectin-E Y468H	46
5.4.2. Selectin-L A-642G	47
5.5. Antioxidáns enzimek (GPX-1 és CAT) polimorfizmusai	48
5.5.1. GPX-1 P197L	48
5.5.2. CAT C-262T	51
5.6. Az ACE gén I/D polimorfizmusa	54
5.6.1. Az ACE gén I/D polimorfizmusa és az IgAN progressziója	54
5.6.2. Vérnyomás és balkamra izomtömeg	55
5.6.3. Az ACE gén I/D polimorfizmusa és a balkamra izomtömeg	59
6. MEGBESZÉLÉS	60
6.1. Az uteroglobin gén G38A variációja és az IgAN	60
6.2. Megsin C2093T variációja és az IgAN	61
6.3. NOD2 és az IgAN	62
6.4. Selectin és az IgAN kialakulása	63
6.5. Antioxidáns enzimek (GPX-1 és CAT) és az IgAN	64
6.6. ACE gén I/D polimorfizmusa és az IgAN	65
6.6.1. Az ACE gén I/D polimorfizmusa és az IgAN progressziója	65
6.6.2. A vérnyomás és a balkamra hypertrophia paraméterei IgAN-ban	66
6.6.3. Az ACE gén I/D polimorfizmusa és a balkamra falainak vastagsága IgAN betegeknél	69
7. TÉZISEK	70
8. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ PUBLIKÁCIÓK	71
Eredeti közlemények	71
Kongresszusi összefoglalók	71
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	74

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ABPM	ambuláns vérnyomásmonitorozás
ADMA	aszimmetrikus-dimetilarginin
ACE	angiotenzin konvertáló enzim
ACEI	ACE gátló
AD	autoszomális domináns
ARB	angiotensin-receptor blockoló
CAT	kataláz
CI	megbízhatósági tartomány
DT	decelerációs idő
EDD	a balkamra végdiasztolés átmérője
EF	ejekciós frakció
ESD	a balkamra végszisztolés átmérője
GalNAc	N-acetil-galaktózamin
GFR	glomeruláris filtrációs ráta
GN	glomerulonephritis
GPX	glutation-peroxidáz
HPLC	nagynyomású folyadék-kromatográfia
Ig	immunglobulin
IgAN	IgA nephropathia
IL	interleukin
IVS	a kamrai szeptum vastagsága
LPS	lipopoliszacharid
LVM	balkamra izomtömeg

LVMi	balkamra izomtömeg index
NO	nitrogén monoxid
NOD2	nucleotid-kötő oligomerizációs domén 2
NOS	nitrogén monoxid szintetáz
NF-κB	nukleáris faktor-κB
OGTT	glukóztolerancia-teszt
OR	esélyhányados
PCR	polimeráz láncreakció
PDGF	platelet derived growth factor
PW	balkamra hátsó falának vastagsága
RAS	renin-angiotenzin rendszer
RFLP	restrikciós fragmenthossz polimorfizmus
SCr	szérum creatinin
SD	szórás
SELE	selectin-E
SELL	selectin-L
SELP	selectin-P
SNP	single nucleotide polymorphism (egy nukleotidot érintő polimorfizmus)
SOD	szuperoxid-dizmutáz
TGF	transzformáló növekedési faktor

1. ÖSSZEFOGLALÁS

Az IgA nephropathia (IgAN) a leggyakoribb primer krónikus glomerulonephritis (GN) forma világszerte. Amíg csak rövid idejű megfigyelések voltak az IgAN betegekről, addig jó indulatú betegségnek gondolták. A hosszú idejű megfigyelésre alapozott vizsgálatok azt igazolták, hogy a betegek 20-50%-a a diagnózis felállítása után 20 évvel vesepótló kezelésre szorul. Az IgAN betegekre jellemző még, hogy általában már a vesefunkció beszűkülése előtt magasvérnyomás alakul ki, ami a cardiovascularis betegségek egyik legfontosabb rizikótényezője. Krónikus vesebetegekben pedig a cardiovascularis betegségek sokkal gyakrabban fordulnak elő, mint a nem-vesebeteg egyénekben. IgAN-ban azonban ilyen jellegű vizsgálatokat még nem végeztek eredményeink közzlése előtt.

Bár a legtöbb esetben az IgAN nem öröklődő betegség, genetikai tényezőknek hatása lehet mind a betegség létrejöttére, mind a kórlefolyására. Olyan gének variációit vizsgáltuk, amelyekről feltételeztük, hogy szerepük lehet az IgAN etiopatogenezisében vagy prognózisában. Az uteroglobulin fibronectinhez kötődik, így megakadályozza az IgAN-ban a kóros depozitumokhoz vezető kollagén-fibronectin, IgA-fibronectin interakciót. Uteroglobulin hiányos egerekben IgAN-szerű vesebetegség jön létre. Az uteroglobulin G38A polimorfizmusát vizsgáltuk és a G allél és a GG genotípus szignifikánsan gyakoribb volt a progressziót mutató betegeknél, mint a stabil vesefunkciójú IgAN betegeknél.

A mesangium sejteknek kitüntetett szerepe van IgAN-ban. A megsin egy olyan fehérje, aminek a génje csak a mesangium sejtekben expresszálódik. Irodalmi adatok szerint a megsin expressziója IgAN-ban fokozódik. A megsint vizsgálva IgAN betegeknél és egészséges önkéntesekben polimorfizmust találtunk a megsin génjében (C2093T). A C allél gyakorisága IgAN betegeinkben 55%, egészségesekben 45,5% volt. A különbség nem

volt szignifikáns, de később kínai kutatók nagyobb esetszám mellett a hasonló különbséget szignifikánsnak találták.

Az IgAN időnként Crohn betegséggel társul. Minkét betegség patomechanizmusában szerepel az autoimmunitás, emiatt a betegek egy részében az immunszuppresszív kezelés hatásos lehet, bakteriális infekció pedig mindkettőben a betegség fellángolásához vezethet.

A NOD2 a monocyták intracellularis lipopoliszacharid receptora, izgalma gyulladáshoz vezet. A NOD2 gén mutációi Crohn betegségben gyakrabban fordulnak elő, mint egészségesekben. A közös tulajdonságok miatt vizsgáltuk IgAN betegekben a NOD2 gén mutációit. Eredményeink szerint a NOD2 mutációk gyorsíthatják a betegség kórlefolását.

A selectinek adhéziós molekulák, amelyeknek IgAN-ban is szerepük lehet a vesében létrejövő gyulladásban. Egy korábbi japán tanulmány azt mutatta, hogy a selectin polimorfizmusok erős kapcsolatban vannak az IgAN létrejöttével. Vizsgálataink magyar betegekben ezt nem tudták igazolni.

IgAN-ban az oxidatív stressznek is szerepe van a létrejövő károsodásokban. A szervezet az oxidatív stressz ellen az antioxidáns enzimekkel védekezik. A kataláz (CAT) és a glutation-peroxidáz-1 (GPX1) antioxidáns enzimek polimorfizmusait vizsgáltuk, feltételezve, hogy találunk olyan variációt, ami mellett betegség kórlefolása kedvezőbb. Hipotézisünket nem tudtuk megerősíteni.

A renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer aktivációja kedvezőtlen az IgAN lefolására, az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) gátlásával a betegség progressziója javítható. Az ACE gén I/D polimorfizmusának szerepét többen vizsgálták IgAN-ban, mi nem találtunk kapcsolatot sem a betegség létrejöttével, sem annak kórlefolásával.

Az IgAN-ban létrejövő hypertonia egyik következménye a balkamra hypertrophia létrejötte. Az IgAN-ban létrejövő hypertonia egyik jellegzetessége vizsgálataink alapján az éjszakai vérnyomáscsökkenés elmaradása. Normotenzív betegeinkben is kapcsolatot

találtunk az éjszakai vérnyomáscsökkenés elmaradása és a balkamra hypertrophia létrejötte valamint a diasztolés diszfunkció kialakulása között. Ez a kapcsolat a hypertóniás IgAN betegekben még erősebb volt.

2. BEVEZETÉS

2.1. IgA nephropathia

Gyakoriság, epidemiológia

Az IgAN a leggyakoribb primer krónikus GN forma világszerte [D'Amico G, 1987]. Ázsiában a primer GN-ek 30-50 %-ában, Dél-Európában 20-25 %-ában, Észak-Európában 10-20 %-ában, az USA-ban 5-10 %-ában találtak IgAN-t [Levy M, 1988], [Julian BA, 1988], [Maisonneuve P, 2000]. Klinikánkon baranyai felnőttek vesebiopsiájának 17,6 %-ában igazolódott IgAN [Vas T, 2006 szóbeli közlés]. Az adatok közötti jelentős eltérés egyik oka, hogy kisfokú vizeleteltérések esetén számos helyen nem készül vesebiopszia, illetve nem történnek szűrővizsgálatok a tünetszegény vizeletváltozások korai felismerésére. A gyakoriságban észlelt nagyfokú különbségért éghajlati és genetikai tényezők is felelősek lehetnek: pl. feketékben ritka, míg Zuni indiánokban gyakori az IgAN előfordulása [Jennette J, 1985], [Seedat YK, 1988].

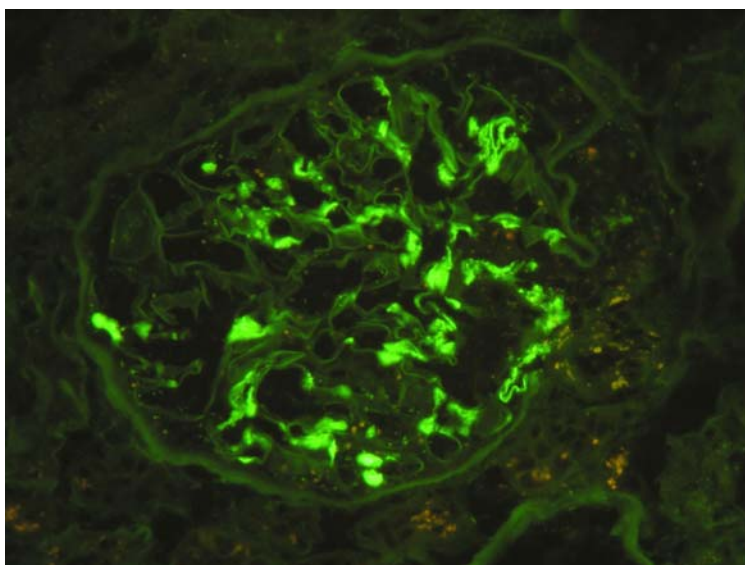
A betegség gyakoribb férfiakban, a férfi : nő arány 2-6 : 1, gondozott betegeinknél 4 : 1. A betegség felismerése általában 30 év körül történik.

Etiopatogenezis

Az IgAN leírása óta 38 év telt el és a nagyszámú kísérletes és humán megfigyelés dacára pontosan még mindig nem tisztázott a betegség patogenezeise [Berger J, 1968].

A betegségre jellemző, hogy a glomerulusokban, elsősorban a mesangiumban IgA rakódik le, amit gyakran C3, ill. időnként kisebb mennyiségben IgG, IgM lerakódása is

kísér [Nagy J, 1984]. A depozíció granulált jellegű, mely immunkomplexek jelenlétét valószínűsíti (**1. ábra**).



1. ábra. Az IgA nephropathia immunhisztológiai képe (Dr. Degrell Péter anyagából)

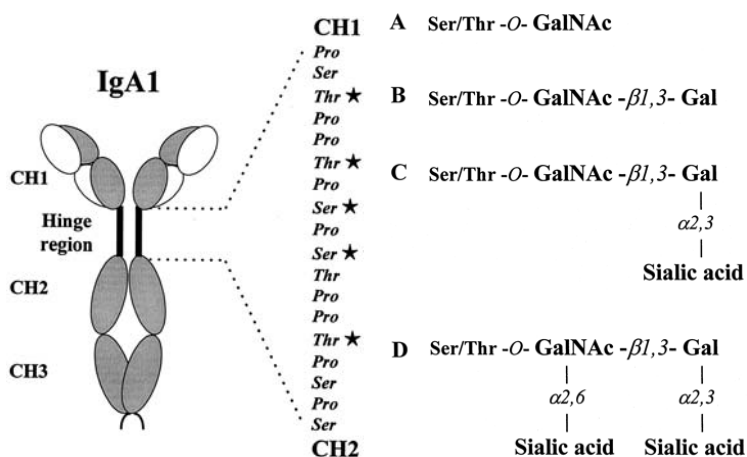
A glomerulusokban megfigyelhető lerakódás elsősorban polimer IgA₁-ből áll, a könnyűláncok közül lambda predominanciával. A szérumból izolált immunkomplexek polimer IgA₁-et, IgG-t, IgM-et és C3-t tartalmaznak. A kimutatható immunkomplexek antigén komponense több minden lehet: többek között bakteriális és vírus antigének, táplálkozási antigének (glutén, tejfehérjék) [Nagy J, 1984], [Coppo R, 1986], [Nagy J, 1988], [Kovacs T, 1996].

A nyálkahártya infekciókat okozó ágensek antigén szerepét valószínűsíti az is, hogy a betegség kezdeti tünetei illetve későbbi makrohaematurias exacerbációi gyakran alakulnak ki felsőlégúti, gasztrointesztinális vagy urogenitális infekciók után. Lehet azonban, hogy az IgA termelésének fokozódása esetenként nem antigén függő és a nagymennyiségű keringő polimer IgA tulajdonképpen alacsony affinitású „természetes“ antitest, melyet poliklonális B-sejt aktiváció miatt létrejövő fokozott IgA termelés okoz.

A betegek mintegy 50%-ában a szérum IgA szintje emelkedett. Keringésükben autoantitestek pl. IgA és IgG reumafaktor, különböző antinukleáris antitestek, endothel és

mesangiális sejtek elleni antitestek is előfordulnak, amelyeknek a patogenezisben játszott szerepe azonban még tisztázatlan [Goshen E, 1990]. Átmenetileg krioprecipitábilis immunkomplex természetű anyagok, elsősorban kriofibrinogén, ritkábban krioglobulin is kimutatható a betegek keringésében [Nagy J, 1987].

Az IgA immunglobulinnak két alosztálya van, az IgA₁ és az IgA₂. Az emberi IgA₁-nek speciális, az IgA₂-től eltérő szerkezete van. Az IgA₁ kapocs régiójában (hinge region) - mely az α₁ nehéz lánc része, prolin, serin és threonin tartalommal - normálisan négy-öt O-kötésű monoszaharid vagy oligoszaharid (O-glycan) van, melyekben a szerinhez N-acetilgalaktózamin (GalNAc) kötődik O-kötéssel, rajta pedig a szaharidák terminális részén egy galaktóz vagy szialsav van különböző kombinációkban (**2. ábra**).



2. ábra. Az IgA1 molekula kapocs régiója és O-glycanjai (Smith AC alapján)

A GalNAc galaktozilációját a β-1,3 galaktoziltranszferáz enzim végzi. IgAN-ban az IgA₁ keletkezése során a β-1,3 galaktoziltranszferáz enzim (feltételezeten funkcionális) károsodása miatt a galaktoziláció elmarad és a galaktóz helyett a GalNAc lesz a lánc utolsó cukor molekulája. Ez a kóros szerkezetű IgA₁ kevésbé stabil, és a receptorokhoz, szöveti fehérjékhez, lektinekhez való kötődése is megváltozik, mely elősegítheti a fokozott mesangiális lerakódását és csökkent clearance-ét. A GalNAc-végű kapocs régióval rendelkező IgA₁ a mesangiális sejtek GalNAc receptorához kötődhet vagy az extracelluláris mátrix fehérjékhez, elsősorban a fibronectinhez és a kollagén IV-hez. Tehát

úgy tűnik, hogy az IgA₁ glomeruláris lerakódását nem immunológiai mechanizmus okozza. A megváltozott szerkezetű IgA₁ csökkent clearance-ét az okozhatja, hogy kevésbé tud kötődni a máj aszialoglikoprotein receptoraihoz, melyek főleg galaktózt kötnek. A kevésbé galaktozilált IgA₁ másik IgA molekulákat és IgG-t is köthet, így makromolekulák keletkeznek, melyek ugyancsak kevésbé tudnak a máj aszialoglikoprotein receptoraihoz kötődni. Az így nagyobb mennyiségben a keringésben maradó IgA₁ molekulák valószínűbb, hogy eljutnak a mesangiumba és ott nagyobb arányban lerakódnak [Allen AC, 2000].

A nyálkahártya infekciók és a klinikai exacerbáció szoros kapcsolata a kóros IgA nyálkahártya eredetét valószínűsítette, azonban a vizsgálatok inkább a csontvelői plazmasejtes eredet mellett szólnak. Valószínűleg a mukóza-csontvelő tengely összehangolt IgA termelődést szabályozó működése hibás, és emiatt van az, hogy a nyálkahártyák antigén stimulációja a csontvelői immunkompetens sejtek fokozott IgA₁ termeléséhez vezet [van den Wall Bake AW, 1988]. A strukturálisan hibás IgA₁-et az antitest termelés feedback mehanizmusa nem érzékeli kellőképpen és valószínűleg ezért van az IgA túlprodukciónak.

Az IgAN progressziójáért kevésbé valószínű, hogy önmagában a fokozott mértékben termelődő kóros szerkezetű IgA a felelős. Az elmúlt évek kutatásai kimutatták, hogy a mesangiális sejtek proliferációja során számos mediátor (elsősorban IL-6, PDGF, TGF-beta) keletkezik, melyek autokrin módon fokozhatják a sejtproliferációt, valamint az extracelluláris mátrix keletkezését [Wada J, 2003].

Az utóbbi években egyre több betegséget írtak le, melyek kapcsán az IgAN gyakrabban fordul elő. Ezeket a kórképeket egyesek szekunder IgAN néven különítik el, bár az ok-okozati összefüggés sokszor nem egyértelmű (**1. táblázat**).

Infekciók	Hepatitis B vírus, Cytomegalovírus, Epstein-Barr vírus, HIV, Yersinia enterocolica, Campylobacter jejuni, Haemophilus parainfluenzae
Szisztémás betegségek	Henoch-Schönlein szindróma, SLE, krioglobulinémia, Sjögren syndroma, Wegener granulomatosis
Rheumás betegségek	spondylitis ankylotica, rheumatoid arthritis, arthritis psoriatica
Májbetegségek	májcirrózis
Gastrointerstinalis betegségek	cöliákia, Crohn betegség
Malignómák	vesekarcinóma
Haematológiai betegségek	kevert cryoglobulinaemia, cyclikus neutropaenia, idiopathiás thrombocytopaenia
Bőrbetegségek	dermatitis herpetiformis, erythema nodosum

1. táblázat. Szekunder IgA nephropathiák (IgA nephropathiával társuló betegségek)

Közülük elsősorban a májcirrózis, a cöliákia, a vesekarcinóma, a Crohn betegség, valamint a szisztémás immunológiai betegségek (SLE, krioglobulinémia) mellett megfigyelhető IgAN gyakori [Amore A, 1994], [McCallum D, 1997], [Magyarlaki T, 1999], [Collin P, 2002].

Klinikai tünetek

A betegség leggyakrabban három klinikai tünetegyüttes valamelyikének formájában jelentkezik:

- makrohematuriás epizód

- gyakorság: 40-50%
- többnyire infekciót, tonsillectomiát vagy vakcinációt követő két napon belül lép fel
- mindössze egy-két napig tart
- néha enyhe deréktáji és ágyéki fájdalom kíséri

- a diagnózist gyakran részletes urológiai vizsgálat előzi meg

- *oligoszimptomás GN*

- gyakorisága: 30-40%
- mikroszkópos haematuria és/vagy enyhe proteinuria
- szűrő- vagy alkalmassági vizsgálaton veszik észre
- 30-40%-uk a diagnóziskor már hypertóniás

- *atípusos akut GN vagy nephrosis szindróma*

- gyakorisága: 10%
- a vesebiopsia egyértelmű indikációja miatt gyors diagnózis

2.2. Genetikai tényezők szerepe IgA nephropathiában

Általában az IgAN sporadikusan fordul elő és nem tekintik öröklődő betegségnek.

Van azonban néhány tény, ami a betegségben a genetikai tényezők szerepére utal:

- az IgAN prevalenciája nagy etnikai és földrajzi variációt mutat [Smith SM, 1985], [Jenette JC, 1985], [Wyatt RJ, 1987]
- egypetéjű ikerpárokban IgAN egyidejű létrejöttét észlelték [Sabatier JC, 1978], [Tolkoff-Rubin NE, 1978]
- már évtizedekkel ezelőtt megfigyelték, hogy az IgAN betegek családtagjaiban gyakrabban fordulnak elő vizeleteltérések (haematuria, proteinuria) [de Werra P, 1973]

- Olaszországban, Brescia környékén 10 „IgAN családot” is azonosítottak: 26 családtagnak volt biopsiával igazolt IgAN-ja és további 13 családtagnál lehetett a klinikai tünetek alapján GN-t feltételezni [Scolari F, 1999]. Kentuckyban írtak le egy nagy családot 14 IgAN beteggel és további 17 klinikailag GN-es családtaggal [Julian BA, 1985]. Ezeken kívül még számos helyen észlelték az IgAN családi halmozódását.

Az IgAN familiaris formájának gyakoriságát azért nehéz megbecsülni, mert a nephrológusok csak ritkán vizsgálják betegeik tünetmentes családtagjainak vizeletét, vesznek fel részletes családi anamnézist és rajzolják meg betegeik családfáját. Ugyancsak nehezítő körülmény, hogy a diagnózishoz vesebiopsia elvégzésére van szükség. IgAN családi előfordulására mindig gondolni kell, különösen akkor, ha élő donor segítségével tervezünk vesetranszplantációt.

Az eddigi családvizsgálatok autoszomális domináns (AD) öröklésmentet és alacsony penetranciát valószínűsítenek. Ugyanakkor több gén együttes hatása sem zárható ki biztonsággal.

Egyesek szerint a klinikai tünetek alapján nem lehet elkülöníteni egymástól az IgAN familiáris és nem familiáris formáját: nem találtak különbséget az életkorban, a klinikai tünetek megjelenésének és a vesebiopsia elvégzésének idejében, makrohaematuria előfordulásának gyakoriságában, a proteinuria mértékében, és a vesefunkció romlásának sebességében [Julian BA, 1988]. Mások vizsgálata szerint a familiáris formának rosszabb a prognózisa [Schena FP, 2002].

A familiaris IgAN genetikai vizsgálatát 24 olasz és 6 amerikai családon – 94 beteg és 48 egészséges családtagon - kezdték. Néhány kandidáns gén vizsgálata után a teljes genom vizsgálatát végezték. A linkage vizsgálat során egy 6,5 cM locust azonosítottak a 6-os kromoszómán (6q22-23), amit IGAN-1-nek nevezték el [Gharavi AG, 2000]. Az elmúlt

években, a klinikánkon gondozott betegek mintáinak segítségével is, sikerült a locus méretét csökkenteni, de a betegségért felelős gént még nem sikerült azonosítani [Gharavi AG, szóbeli közlés].

Munkánk megkezdésekor az IgAN genetikai hátteréről még csak elenyésző számú adat állt rendelkezésre.

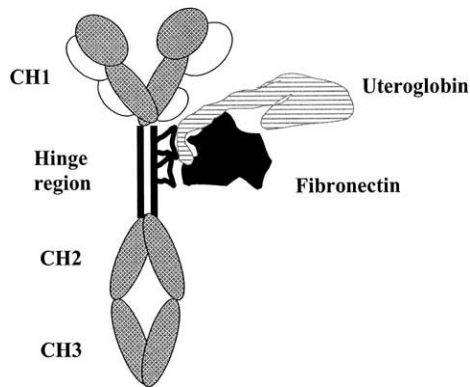
2.3. Cardiovascularis betegségek IgA nephropathiában

A krónikus vesebetegek közel 50%-a meghal cardiovascularis betegségben mielőtt végstádiumú veseelégtelenségük kialakulna. A cardiovascularis betegségek gyakoriságát és jellegzetességeit azonban mindezideig szinte csak végstádiumú, vesepótló kezelésben részesülő betegekben vizsgálták. Vizsgálataink megkezdésekor az IgAN betegek cardiális státusát ismertető közlemény még nem jelent meg, az eredményeinket összefoglaló cikk volt az első ezen témakörben.

3. HIPOTÉZIS ÉS CÉLKITŰZÉS

3.1. Uteroglobulin

Az uteroglobulin az IgAN egyik érdekes kandidáns génje, mert az uteroglobulin hiányos (knockout) és az antiszenz transzgén egerekben egyaránt az IgAN patológiai képe fejlődik ki [Zheng F, 1999]. Az uteroglobulin, ami több más néven is ismert (blastokinin, progesteron kötő fehérje, Clara sejt fehérje, retinol kötő fehérje), egy multifunkcionális fehérje, amit a mukózális epitélium választ ki és jelen van a vérben és a vizeletben is [Mukherjee AB, 1999]. Az uteroglobulin hiányos egerek veséjében fibronectin-, kollagén- és IgA depozitumok rakódnak le [Zhang Z, 1997]. Az uteroglobinnak nagy az affinitása a fibronectinhez, azzal uteroglobulin-fibronectin heteromert képez, megakadályozva így a kollagén-fibronectin, IgA₁-fibronectin interakciót, ami szükséges a kóros depozitumok lerakódásához (3. ábra).



3. ábra. *IgA₁-uteroglobulin-fibronectin*

Az uteroglobulin foszfolipáz A₂-vel is interferálhat, ami indirekt módon érinti a felületi adhéziós molekulák expresszióját, ami így szintén befolyásolhatja a depozitumok lerakódását. Az uteroglobinnak citokinszerű hatása is lehet, számos vegyület kötőfehérjéjeként szolgál. Egy uteroglobulin receptort is azonosítottak. A vesebetegségen

kívül az uteroglobinnal hiányos egerek malignus tumorokra és megnövekedett pulmonális oxigén toxicitásra is hajlamosak [Mukherjee AB, 1999]. Mivel az uteroglobinnak gyulladásgátló hatása van, ezért az asztmának is az egyik kandidáns génje. A 11-es kromoszóma uteroglobint is tartalmazó szakasza (locus) kapcsolatot (linkage) mutat az asztmával [Daniels SE, 1996]. Továbbá az uteroglobinnak G38A polimorfizmusa is kapcsolatot mutatott az asztmával: az AA genotípus gyakoribb volt az asztmásokban [Laing IA, 1998].

Azt a hipotézist vizsgáltuk, hogy az uteroglobinnak G38A polimorfizmusa kapcsolatot mutat az IgAN kialakulásával vagy kórlefordulásával.

3.2. Megsin

A mesangiális sejtek fontos szerepet játszanak a glomeruláris sejtek struktúrájának és funkciójának fenntartásában, az extracelluláris mátrix képzésében és lebontásában, illetve az immunkomplexek eltávolításában. Egy japán munkacsoport [Miyata T, 1998] mesangiális sejtek génexpresszióját hasonlította össze különböző sejtekével, hogy a mesangiális sejtekre specifikus gént illetve fehérjét találjon. Kimutattak egy 380 aminosavból álló fehérjét, ami csak a mesangiális sejtekben expresszálódik, a szerkezete (aminosav homológiája) arra utalt, hogy a szerin-proteáz inhibitor (serpin) családhoz tartozik. Ezért a megsin (mesangial cell-predominant serpin) nevet adták neki. A serpineknek szerepük van a véralvadásban, a fibrinolízisben, a mátrix képződésben és a gyulladásban. IgAN és diabeteses nephropathiás betegek mesangiális sejtjeiben a megsin nagyobb mértékben expresszálódik, mint egészségesek, minimal change nephrosis szindrómás és membranózus GN betegek mesangiális sejtjeiben [Suzuki S, 1999]. A megsin mRNS-pozitív sejtek aránya nagyobb volt azokban az IgAN betegekben, akiknél

kifejezett mesangiális sejtproliferációt mérsékelt mátrix szaporulat kísért, mint azokban, akiknél a mátrix expanzió súlyos volt [Suzuki S, 1999]. Annak érdekében, hogy a megsin patofiziológiai jelentőségét vizsgálják, megsin transzgén egértörzseket hoztak létre. A megnövekedett megsin expresszió mellett a mesangiális sejtek proliferációja és a mesangiális mátrix expressziója jött létre, amit immunglobulin (IgA, IgG és IgM) depozíció kísért, illetve növekedett a keringő immunkomplexek szintje [Miyata T, 1998]. A transzgén és a kontroll állatokban (40 hét után) a vesefunkció és az albuminuria nem különbözött. Ha azonban az állatok egyik veséjét eltávolították, akkor – a kontroll csoporttal szemben – a transzgén egerekben felgyorsult glomeruláris károsodás jött létre, amit proteinuria kísért [Onogi H, 2004].

Mindezek miatt feltételezhető, hogy a megsin génjének lehet olyan variációja, ami összefüggést mutat az IgAN létrejöttével vagy prognózisával. Célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk, hogy a megsin génnek van-e gyakori polymorphismusa, és hogy az hatással lehetett-e betegeinkben az IgAN kialakulására vagy kórlefolyására.

3.3. NOD2

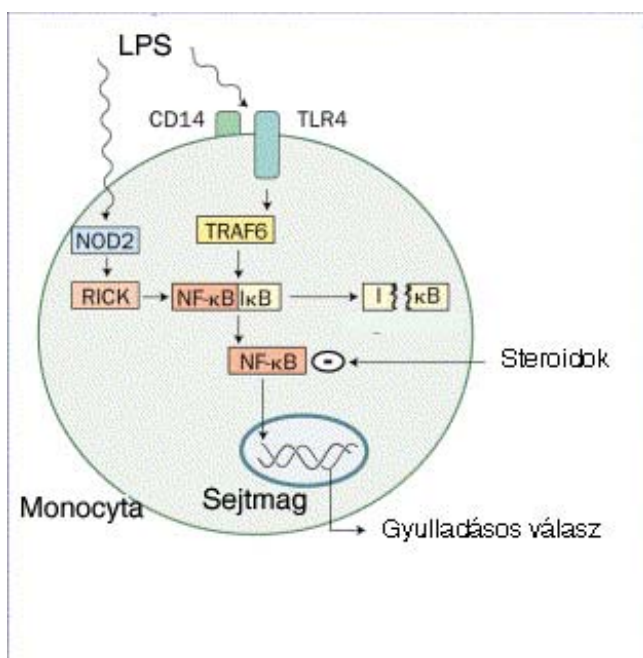
Ahogy azt a bevezetőben a secunder IgAN-nál említettük (**1. táblázat**), az IgAN és a Crohn betegség időnként társulnak egymással, illetve a Crohn betegség mellett észlelt IgAN-t is szekunder IgAN-nak tekintjük. A Crohn betegség egy gyulladósos bélbetegség, ami több hasonlóságot is mutat az IgAN-val:

- „autoimmunszerű” betegségek, amelyekben a szteroid kezelés hatásos lehet
- bakteriális infekciókat követően jelentkeznek, melyek relapsust is kiválthatnak
- mindkettőnek leírták öröklődő formáját, illetve a betegség egypetéjű ikrekben való előfordulását [Tysk C, 1988]

- férfiakban gyakoribbak
- IgAN-ban a tonsillectomia, Crohn betegségben az appendectomia esetleges jótékony hatását vetették fel.

Egyesek a Crohn betegség és az IgAN közös patomechanizmusát tételezik fel [Takemura T, 2002], bár a két betegség együttes előfordulása nem gyakori. A Crohn betegség genetikai hátterének linkage vizsgálata során több locust is leírtak, köztük az IBD1-et a 16-os kromoszómán (16p12-q13) [Hugot JP, 1996]. Több munkacsoport is leírta a Crohn betegség asszociációját a fenti locusban fekvő NOD2 gén mutációival [Ogura Y, 2001], [Hugot JP, 2001].

A NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2) vagy másnéven CARD15 (caspase recruitment domain – containing protein 15) kizárólag a monocytákban expresszálódik, a lipopoliszacharid (LPS) intracelluláris receptora, ami jelátvivőként a nucleáris faktor kappa-B (NFκB) aktivációjához és így gyulladáshoz vezet (**4. ábra**) [Van Heel DA, 2001].



LPS: lipopoliszacharid, TLR4: toll like receptor 4
 NOD2: nucleotid-kötő oligomerizációs domén 2,
 NFκB: nucleáris faktor kappa-B

4. ábra. NOD2: az LPS intracelluláris receptora monocytákban

Az NFκB aktivációjának nagy szerepe van a vesebetegségek progressziójában is [Klahr S, 2003]. A NOD2 azért lehet még különösen érdekes IgAN-ban, mert egy korábbi vizsgálat azt mutatta, hogy IgAN betegek monocytái sejt kultúrában, egészséges emberek sejtjeihez képest LPS-re fokozott citokin képzéssel reagálnak, ami arra utal, hogy az IgAN betegek monocytái különböznek az egészségesek monocytáitól [De Fijter JW, 1998].

Azt a hipotézist vizsgáltuk, hogy a - Crohn betegségben gyakrabban előforduló - NOD2 mutációknak az IgAN kialakulásában vagy kórlefolrásában is szerepük lehet.

3.4. Selectin

A selectinek adhéziós molekulák, amelyek szerepet játszanak az endothel sejtek és a fehérvérsejtek interakciójában, ami a fehérvérsejtek érpályából való kilépéséhez szükséges. Korábbi vizsgálatok azt mutatták, hogy a selectineknek is szerepe lehet IgAN-ban a fehérvérsejteknek az interstitiumban és a glomerulusban való akkumulációjában [Lai KN, 1994], [Adler S, 1999]. A selectinek három típusát különböztetjük meg: az E-selectin elsősorban a citokinek által aktivált endothel sejteken, az L-selectin a keringő leukocytákon, míg a P-selectin az aktivált endothel sejteken és a trombocitákon (platelets) expresszálódik. IgAN betegek vesebiopsiás mintáinak vizsgálata során az extraglomeruláris vascularis endothelsejtekben fokozott E- és P-selectin expressziót találtak, a glomerulusokat és az interstitiumot infiltráló fehérvérsejtek között az L-selectint expresszáló sejtek aránya volt nagy [Roy-Chaudhury P, 1996]. A E-, L-, és P-selectin gének az 1-es kromoszómán közvetlenül egymás mellett helyezkednek el (1q24-q25). Ebben a régióban számos SNP van, amelyek egymással csaknem teljesen kapcsoltan öröklődnek (linkage disequilibrium). Az E-selectinben 2 SNP és az L-selectinben 6 SNP

asszociációt mutatott egy japán vizsgálatban az IgAN-val, még erősebb összefüggést kaptak, ha 3 SNP-ből képzett haplotípusokat vizsgálták [Takei T, 2002].

Azt a hipotézist vizsgáltuk, hogy a selectin SNP-k - a japán betegekhez hasonlóan – a magyar betegekben is szerepet játszhatnak az IgAN kialakulásában.

3.5. Glutation-peroxidáz és kataláz

Egészséges esetben az élőlényekben egyensúlyi állapot alakul ki az oxigén szabadgyökök képződése és az azokat semlegesítő molekulák illetve enzimek (antioxidáns rendszer) működése között. Ez az egyensúly kedvezőtlenül változik, ha az oxigén szabadgyökök termelődése emelkedik és ezzel az antioxidáns rendszer nem tud lépést tartani.

Korábbi, részben saját vizsgálatok az oxidatív stressznek a szerepét vetették fel IgAN-ban és annak progressziójában [Turi, 1997], [Descamps-Latscha B, 2004]. Az IgAN betegek CML (N^ε-carboxymethyl-lysine) szintje, mely a leggyakrabban tanulmányozott AGE termék, szignifikánsan magasabb, mint az egészséges személyeké [Vas, 2005]. A TBARS (tiobarbitursav-reaktív anyag), mely az oxidatív stressz egyik ismert paramétere, szintén magasabb IgAN betegekben, mint az egészségesekben [Vas, 2005].

A glutation-peroxidázok (GPX) redukálják a lipid és a nem lipid hydroperoxidokat, miközben két molekula glutationt oxidálnak. Szelént tartalmaznak, ami szerepet játszik a katalitikus aktivitásukban. A GPX-1 a citoplazmában és a mitokondriumban, a GPX-2 a máj- és a vastagbélsejtek citoszóljában, a GPX-3 extracellulárisan a plazmában, a GPX-4 a heresejtekben intracelluláris membránhoz kötötten található. A GPX-1-nek egyetlen gyakori polimorfizmusa van: C593T, ami a 197. aminosav prolin/leucin (P197L)

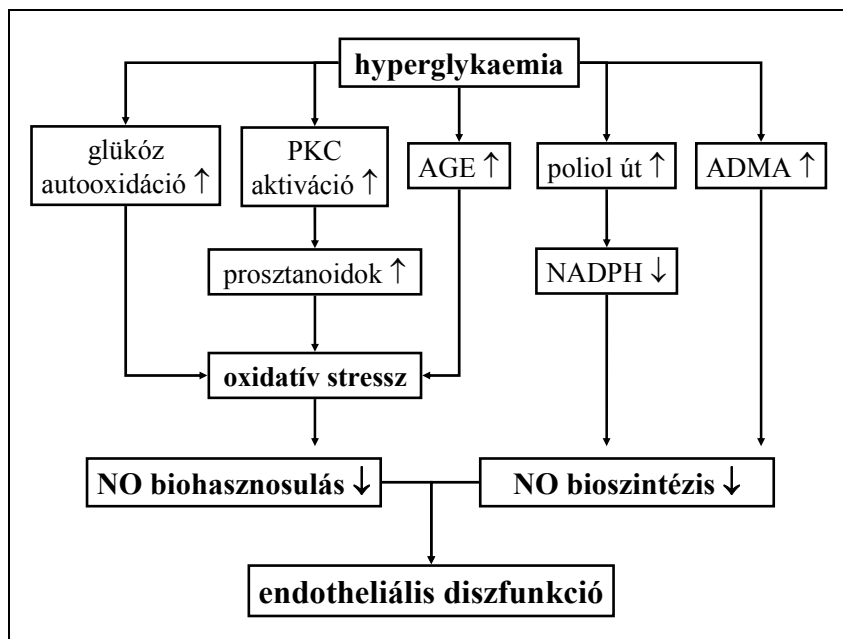
cseréjéhez vezet [Forsberg L, 1999]. Ennek a polimorfizmusnak hatása még nem ismert, de a fehérjében keletkező strukturális változásnak funkcionális jelentősége lehet.

Normális körülmények között GPX a legfontosabb antioxidáns enzimünk, de súlyos oxidatív stressz esetén a kataláznak (CAT) van a legnagyobb szerepe a sejtek védelmében. A CAT minden ismert élőlényben megtalálható enzim, ami a H_2O_2 -t H_2O -ra és O_2 -re bontja. A kataláz gén (CAT) exonjaiban nem találtak gyakori polimorfizmust, a promóter régióban a transzkripció kezdőhelye előtt 262 bázispárral, a promóter működését befolyásoló C/T szubsztitúciót írták le (C-262T) [Forsberg L, 2001]. A gén expressziója T allél esetén 50%-kal nagyobb, mint a C allél mellett. Egészséges önkéntesekben a vörösvértestek kataláz szintje is kapcsolatot mutat a C-262T variáció genotípusaival: TT>CT>CC [Forsberg L, 2001].

A szuperoxid-dizmutáz (SOD) is antioxidáns enzim, de génjének nem találtak gyakori polimorfizmusát.

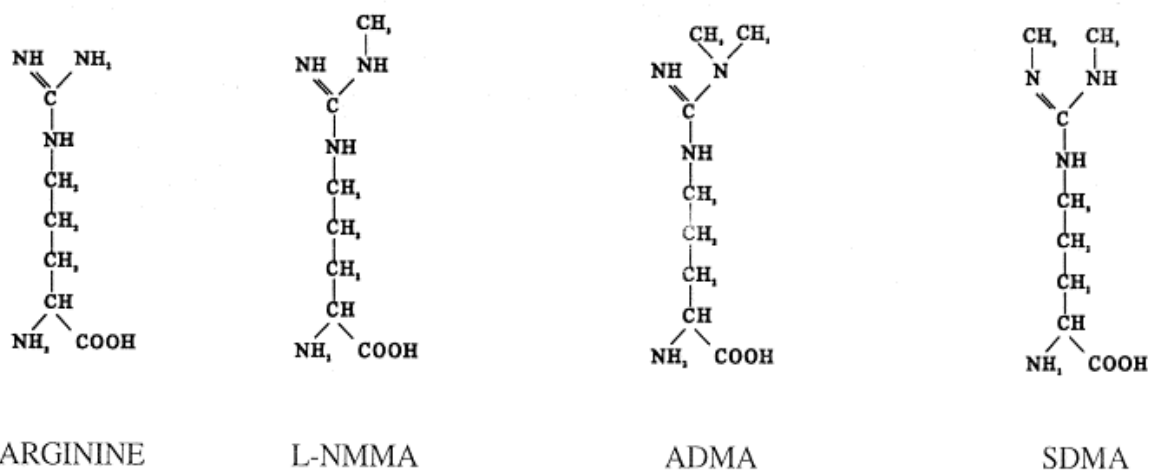
A metabolikus szindróma (hiperinulinémia és/vagy a cukoranyagcsere zavara, obezitás, magasvérnyomás, dyslipidaemia, magas húgysavszint stb.), illetve a háttérükben álló inzulinrezisztencia: az érlelmeszesedés rizikótényezői. Többen a metabolikus szindróma részének tekintik az endotheliális diszfunkciót is [McVeigh GE, 1992], [Williams SB, 1996]. Az endothel diszfunkciója elsősorban a protektív hatású nitrogénmonoxid (NO) termelődésének és hatásának csökkenésében nyilvánul meg. Az NO erős endogén vazodilatátor és segít a vaszkuláris homeosztázis fenntartásában: gátolja a trombocita aggregációt, a fehérvérsejtek migrációját és adhézióját, a simaizomsejtek proliferációját és migrációját, gátolja az adhéziós molekulák expresszióját és a szuperoxid anionok képződését. Hyperglykaemia esetén a glükóz autooxidációjából származó szuperoxid anionok, a proteinkináz C és foszfolipáz A_2 aktiváció hatására megjelenő arachidonsav metabolitok, valamint a létrejövő AGE termékek oxidatív stresszhez

vezetnek, ami gátolja az NO hatásának kifejlődését. Hyperglykaemia esetén aktiválódik a poliol anyagcsereút, ami az NO-szintézis kofaktorának, a NADPH-nak a csökkenéséhez vezet, illetve az NO-szintetáz (NOS) endogén gátlói szaporodnak fel (**5. ábra**) [Chan NN, 2002].



5. ábra. A hyperglykaemia endotheliális diszfunkcióhoz vezet

A metilált argininszármazékok közül az aszimmetrikus-dimetilarginin (ADMA) és az N^G-monometil-L-arginin (L-NMMA) gátolják a NOS-t, a szimmetrikus-dimetilarginin (SDMA) hatása ellentmondásos (**6. ábra**).



6. ábra. Metilált argininszármazékok szerkezeti képlete

Korábbi, 2-es típusú cukorbetegekben végzett vizsgálatunkban a GPX-1 P197L polimorfizmus szignifikáns kapcsolatot mutatott a metilált argininszármazékok szérumszintjével és a metabolikus paraméterek közül a HDL koleszterinnel, és közel szignifikáns kapcsolatot a trigliceriddel [Szelestei T, 2005].

A metabolikus szindróma előfordulása IgAN-ban is gyakori. 163 IgAN-s betegünkben a diagnózis felállításakor az egyes paraméterek előfordulása a következő volt:

		N (%)
Károsodott glükóz metabolizmus		15 (9,2)
Hypertonia	RR >140/90 Hgmm	57 (35,0)
Dyslipidaemia	Triglicerid >1,7 mmol/l	72 (44,2)
	Cholesterin >5,2 mmol/l	99 (60,7)
	LDL > 3,4 mmol/l	66 (40,5)
	HDL < 1,0 mmol/l	24 (14,7)
Obezitás	BMI >27 kg/m ²	57 (35,0)

Azt feltételeztük, hogy a GPX-1 P197L és a CAT C-262T polimorfizmusai - a különböző antioxidáns védelem miatt - hatással lehetnek az IgAN kórlefolására. Vizsgáltuk IgAN betegekben a GPX-1 P197L és a CAT C-262T polimorfizmusok és a metabolikus- valamint az oxidatív stressz paramétereinek közötti kapcsolatot.

3.6. Angiotensin konvertáló enzim (ACE)

3.6.1. Az ACE I/D polimorfizmus és az IgAN progressziója

A renin-angiotensin rendszer (RAS) aktivitása számos mechanizmuson keresztül hat a vesebetegségek progressziójára. Jól ismert tény, hogy az ACE gátlók IgAN-ban csökkentik a proteinuriát és lassítják a progressziót [Praga M, 2003], [Nagy J, 2005]. Az ACE egyrészt membránhoz kötve helyezkedik el a vaszkuláris endothel sejteken, másrészt szabadon kering a plazmában. A plazma ACE szint akár ötszörös interindividuális variációt mutathat, míg egy egyénben a szintje viszonylag állandó. Az ACE szint nagy variációjának kb. feléért az ACE gén 16. intronjában található Alu ismétlődésének megléte -inzerció (I)-, vagy hiánya -deléció (D)- felelős. Korábbi vizsgálatok IgAN-ban az I allél kedvező prognosztikai hatását írták le, míg ezt más tanulmányok nem tudták megerősíteni [Schena FP, 2001].

Vizsgálatunkban arra a kérdésre kerestünk választ, hogy az ACE gén I/D polimorfizmusa befolyásolja-e a magyar IgAN betegek kórlefolását.

3.6.2. A vérnyomás és a balkamra izomtömege

A magasvérnyomás egyik gyakori következménye a balkamra hypertrophia kialakulása, ami a cardiovascularis mortalitás független rizikófaktora [Savage DD, 1985]. A Framingham tanulmányban a cardiovascularis eredetű halálesetek csaknem felében már EKG-val is, az érzékenyebb echocardiographiával pedig szinte minden esetben balkamra hypertrophiát észleltek [Kannel WB, 1970], [Levy D, 1990]. Az utóbbi években széles körben elterjedt ambuláns vérnyomásmonitorokkal (ABPM) végzett vizsgálatok adatai szerint a célszervkárosodás mértéke szorosabb korrelációt mutat a 24 órán át követett vérnyomásparaméterekkel, mint az eseti vérnyomásméréssel nyert értékekkel [Drayer JIM, 1983]. Néhány tanulmány az éjszakai vérnyomásnak illetve az éjszakai vérnyomáscsökkenés elmaradásának tulajdonított kitüntetett szerepet [Palatini P, 1992], [Verdechia P, 1992], [Verdechia P, 1994], míg mások a nappali vérnyomásingadozás és a stressz-szituációkra adott vérnyomásválasz jelentőségét hangsúlyozták [Devereux RB, 1983], [Marabotti C, 1991], [Polonia J, 1992]. A balkamra hypertrophia és a hypertonia kapcsolatát vizsgáló tanulmányok metaanalízise szerint essentialis hypertoniában a balkamra hypertrophiáért a nappali és az éjszakai vérnyomás egyforma mértékben tehető felelőssé [Fagard R, 1995].

Ezt a kérdést krónikus GN-ben kialakuló magas vérnyomás esetében még nem vizsgálták. Tudtuk azonban, hogy krónikus GN-ben gyakran már a betegség korai fázisában emelkedik a vérnyomás, amelynek jellegzetessége az éjszakai vérnyomáscsökkenés elmaradása [Hayashi T, 1993], [Middekke M, 1991], [Morduchowicz G, 1993]. Gyakori a balkamra hypertrophia- és diasztolés funkciózavar kialakulása is [Johnstone LM, 1996], [Stefanski A, 1996].

Vizsgálatainkban a következő kérdésekre kerestük a választ: van-e kapcsolat a különböző ABPM-mel mérhető paraméterek, elsősorban az éjszakai vérnyomáscsökkenés

elmaradása és a balkamra hypertrophia valamint a diasztolés funkciózavar között normotensív és kezelt hypertóniás IgA nephropathiás betegekben.

3.6.2. Az ACE I/D polimorfizmusa és a balkamra izomtömege

Korábbi vizsgálatok azt mutatták, hogy az ACE gén I/D polimorfizmusa nincs hatással a vérnyomásra [Berge KE, 1994], viszont DD genotípus mellett gyakoribb a balkamra hypertrophia essentiális hypertóniában [Schunkert H, 1994]. A már vesepótló kezelésre szoruló uraemiás betegekben is a DD genotípus mellett gyakoribb a balkamra hypertrophia [Osono E, 1998], míg polycystás vesebetegekben ez az összefüggés nem figyelhető meg [Eccder T, 2003].

Arra a kérdésre kerestük a választ, hogy IgAN betegekben van-e összefüggés az ACE I/D polimorfizmus és a balkamra hypertrophia illetve egyéb kardiális paraméterek között.

4. MÓDSZEREK

4.1. Betegek

A vizsgálatainkban résztvevő 134 IgAN beteget a Pécsi Tudományegyetem II. sz. Belgyógyászati Klinikáján gondozzuk. A diagnózist minden esetben vesebiopsiával igazoltuk. A vizitek alkalmával anamnézis felvétel, fizikális vizsgálat, vizelet vizsgálat és creatinin clearance meghatározása is történt. A hagyományos laborvizsgálaton kívül vért vettünk DNS vizsgálathoz is.

A vizsgálatokat a PTE Regionális Kutatás-Etikai Bizottsága engedélyezte, arról a betegeket felvilágosítottuk, akik ahhoz írásban is hozzájárultak.

A betegek intézetünkben egységes kezelést kaptak. Törekedtünk a vérnyomás diétás és gyógyszeres normalizálására, amit majdnem minden esetben ACE gátlóval kezdtünk. Immunoszuppresszív szert csak nagyon ritkán kaptak a betegek. A betegeket kb. 3 havonta ellenőriztük. 24-órás gyűjtött vizeletből határoztuk meg a proteinuria mértékét, a vesefunkció meghatározása szérum creatinin és creatinin-clearance alapján történt. A progresszió vizsgálata azoknál a betegeknél történt, akiket már legalább 3 éve követtünk.

Az egészséges önkéntesek etnikailag hasonlóak voltak a betegekhez. Mindannyian beleegyezésüket adták a vizsgálatokba.

4.2. Polimeráz láncreakció (PCR)

A gének vizsgált variációit tartalmazó szakaszait polimeráz láncreakcióval amplifikáltuk. A reakciót Perkin-Elmer (Norwalk, CT) 9700 készülékkel végeztük. A PCR-t (általában) 15 µl végtérfogattal végeztük, ami a következőket tartalmazta: 50-100 ng DNS, 200 µmol/l minden nukleotidból, 5 pmol/l mindkét primerből, 10 mmol/l Tris-HCl (pH: 8.3), 50 mmol/l KCl, 1,5-4,5 mmol/l MgCl₂, 0,1 g/l zselatin, 50 g/l dimetil-szulfoxid, 0,6 egység AmpliTaq Gold DNS polimeráz. A kezdő denaturálás 95 °C-on 10 percig tartott, majd 35 ciklus következett a következő hőmérséklet profillal: 94 °C 15 másodperc, 51-66 °C 15

másodperc, 72 °C 30 másodperc; végül a reakciót 5 percig 72 °C zárta. A különböző PCR-ek priemer szekvenciáit a **2. táblázat**, az egyéb változóit a **3. táblázat** tartalmazza.

Uteroglobulin: G38A	5' primer: 5'-CAG TAT CTT ATG TAG AGC CC-3' 3' primer: 5'-CCT GAGAGT TCC TAA GTC CAG G-3'
Megsin: C2093T	5' primer: 5'- TTG TTG ACC TAT GAA GAT TTT AGA G -3' 3' primer: 5'- AAA CTT ATA AAC TAC ACA GCA TAT GA -3'
NOD2: G908R	5' primer: 5'- CCA CTC TGG GAT TGA GTG GT -3' 3' primer: 5'- GTG ATC ACC CAA GGC TTC AG -3'
NOD2: 3020inC	5' primer: 5'- TCT TCT TTT CCA GGT TGT CCA -3' 3' primer: 5'- CCT CAA AAT TCT GCC ATT CC -3'
SELE: Y468H	5' primer: 5'- GTG TTC CAG CTG TGA GAT GC -3' 3' primer: 5'- TCT ACC TTG GCA GGA AGG AA -3'
SELL: A-642G	5' primer: 5'- AGA GCA TGG GCT CTC TTC AG -3' 3' primer: 5'- GGT AAA TGG CCC TTG GAA AT -3'
GPX-1: P197L	5' primer: 5'- GCG GCC TGA AGG ATG CTG AT -3' 3' primer: 5'- GGC GCT AGG CAG GCC AAG AT -3'
CAT: C-262T	5' primer: 5'- GCG GCC TGA AGG ATG CTG AT -3' 3' primer: 5'- GGC GCT AGG CAG GCC AAG AT -3'
ACE: I/D	5' primer: 5'- CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT -3' 3' primer: 5'- GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T -3'

2. táblázat A PCR primerek szekvenciái

	Annealing hőmérséklet (°C)	MgCl ₂ koncentráció (mmol/l)	PCR termék hossza (bp)
Uteroglobin: G38A	58	2,5	258
Megsin: C2093T	51	2,5	256
NOD2: G908R	66	4,5	192
NOD2: 3020inC	62	3,5	194
SELE: Y468H	62	2,5	203
SELL: A-642G	61	3,5	207
GPX-1: P197L	58	2,5	258
CAT: C-262T	51	2,5	258
ACE: I/D	66	1,5	I: 490 D: 190

3. táblázat A PCR reakciók változói

4.3. Genotipizálás

Genotipizáláshoz két módszert használtunk:

4.3.1. Restriktációs fragment hossz polimorfizmus (RFLP)

A PCR termékeket (amplikonokat) olyan restriktációs endonukleázzal emésztettük, ami a gén egyik variációját hasította, míg a másikat nem. Az így nyert fragmenteket 3%-os agaróz gélen történt elektroforézissel választottuk szét. A restriktációs endonukleázokat és a hasítási helyeket a **4. táblázat** mutatja.

	Endonukleáz	A hasítás eredménye
Uteroglobulin: G38A	<i>Sau96I</i>	38G: 128 bp + 130 bp; 38A: 258 bp
Megsin: C2093T	<i>HaeIII</i>	C2093: 142 bp + 114 bp; 2093T: 256 bp
SELE: Y468H	<i>NlaIII</i>	CAT (468H): 135 + 68 bp; TAT (Y468): 203 bp
SELL: A-642G	<i>Van91I</i>	SELL A-642: 62 + 145 bp; SELL -642G: 207 bp

4. táblázat *A* restrikciós endonukleázok és hasítási helyeik

4.3.2. Miniszekvenálás

A miniszekvenálásnál a szekvenáló primer közvetlenül a polimorf nukleotid előtt végződik. Ahhoz, hogy a szekvenálás az első (polimorf) nukleotid beépülése után közvetlenül megszakadjon, először a PCR termékeket SAP enzimmel megtisztítottuk a megmaradt nukleotidoktól és ExoI enzimmel az egyszálú DNS-ektől (primer maradóktól). A miniszekvenálás a megtisztított PCR termékekhez adott szekvenáló primer és a fluoreszcensen jelölt dideoxinukleotidokat (ddNTPs) tartalmazó előregyártott szekvenáló kit (SNaPshot Multiplex Ready Reaction reagent - Applied Biosystems) segítségével történt: 25 ciklus a következő hőmérséklet profillal: 96 °C 10 másodperc, 56 °C 10 másodperc, 60 °C 30 másodperc. A képződött termékeket kapillárelektroforézissel (ABI 3100) vizsgáltuk tovább, a GeneScan program segítségével. A használt miniszekvenálási primerek szekvenciáit az **5. táblázat** mutatja.

NOD2: G908R	5'- CGT CAC CCA CTC TGT TGC -3'
NOD2: 3020inC	5'- TTT TTT TTT TTT TTT TTT GTG TCA TTC CTT TCA AGG G-3'
GPX-1: P197L	5'-TTT TTT TTT TTT TTT TCC CTG CTG TCT CAA GGG A -3'
CAT: C-262T	5'- TTT TTT TTC GCC CTG GGT TCG GCT -3'

5. táblázat *A miniszekvenálási primerek szekvenciái*

4.4. Ambuláns vérnyomás monitorozás (ABPM)

A betegek vérnyomását 24 órán át monitoroztuk a hordozható, oszcillometriás elven működő Meditech ABPM-02 típusú vérnyomás monitorral. A monitor programozását és a mérési adatok leolvasását IBM PC kompatibilis számítógéppel, a Meditech szoftver (ABPMBASE) segítségével végeztük. Nappal (06-tól 22 óráig) 15 percenként, éjszaka (22-06 óráig) 30 percenként mértük a betegek vérnyomását.

4.5. Echocardiográfia

A vérnyomás monitorozással közel egyidőben szívultrahang vizsgálatot végeztünk ATL Ultramark9 HDI készülékkel. Parasternalis hosszmetsetből mértük a balkamra végdiasztolés- (EDD) és végszisztolés átmérőjét (ESD), a kamrai szeptum- (IVS) és a hátsó fal vastagságát (PW). A balkamra izomtömeget (LVM) és az izomtömeg indexet (LVMi) a Penn konvenció szerint számoltuk ki [Devereux RB, 1986]:

$$LVM=1,04[(IVS + EDD + PW)^3 - EDD^3]-13,6 \text{ g}$$

(Egészséges referenciaérték férfiakban: $<134 \text{ g/m}^2$, nőkben: $<110 \text{ g/m}^2$) [Levy D, 1987]. A diasztolés funkció zavarát a mitrális E hullám csökkenése, az A hullám növekedése és a decelerációs idő (DT) megnyúlása alapján értékeltük, míg a szisztolés funkciót az ejekciós frakció (EF) alapján becsültük.

4.6. Statisztikai analízis

A statisztikai elemzést SPSS programmal végeztük (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL). Statisztikailag szignifikánsnak tekintettünk egy különbséget, ha p kisebb volt, mint 0,05. Normál eloszlás esetén a táblázatokban az adatokat átlag \pm szórás formátumban adtuk meg, a csoportok közötti különbséget T próbával és variancia analízissel vizsgáltuk. Nem-normál eloszlás esetén az adatokat medián (minimum-maximum) formátumban adtuk meg, a csoportok közötti különbséget Mann-Whitney U próbával vizsgáltuk.

5. EREDMÉNYEK

5.1. Az uteroglobin G36A génpolimorfizmusa

Az uteroglobin G36A polimorfizmusának vizsgálatát 110 IgAN betegnél végeztük el. Közülük 87 beteget a vizsgálat időpontjában már több, mint 3 éve követtünk.

A **6. táblázat** a legalább 3 évig követett, 56 nem progrediáló és 31 progrediáló beteg adatait mutatja. Szignifikáns különbséget találtunk a vesebiopsia idején mért szérum creatinin szintben és a követés során mért $1/\text{creatinin}$ egyenes meredekségében. Nem volt különbség a súlyos proteinuriát mutató betegek arányában, a vérnyomás értékekben, a gyógyszerigényben vagy az ACE gátló kezelés gyakoriságában a két csoport között. Az utolsó vizitkor mért vérnyomásértékek közötti különbség sem volt statisztikailag szignifikáns.

A **7. táblázat** az uteroglobin genotípusok és allél frekvenciák megoszlását mutatja az összes IgA nephropathiás betegben ($n=110$) és a kontroll személyekben. A táblázatban látható, hogy nem volt különbség az IgAN betegek és az egészségesek között. Mindkét csoportban érvényesült a Hardy-Weinberg szabály. Ezek az adatok azt mutatják, hogy az IgA nephropathiásokban nem gyakoribb egyik allél sem.

A **8. táblázat** a progressziót mutató és a nem progrediáló betegeket hasonlítja össze. A GG genotípus szignifikánsan nagyobb arányban fordul elő a progrediáló betegekben (OR 3.5; $p<0,006$). A G allél is gyakrabban fordult elő a progressziót mutató betegeknél (OR 2.6; $p<0,009$).

Az **9. táblázat** a GG genotípusú betegek klinikai és laboratóriumi adatait hasonlítja össze az AG plusz AA genotípusú betegekéivel. Ezekben az adatokban a vesebiopsia időpontjában nem volt szignifikáns különbség. Az utolsó vizit időpontjában

összehasonlított 1/creatinin egyenes hétszer meredekebb volt a GG genotípusú betegekben, de a különbség statisztikailag nem volt szignifikáns (p=0,08).

	Nem progrediálók (n=56)	Progrediálók (n=31)	p
Nem (nő/ffi)	8/23	18/38	NS
<i>A vesebiopsia időpontjában:</i>			
Életkor (év)	31,2±9,8	33,8±13,3	NS
Vérnyomás (Hgmm)			
Szisztolés	135,7±18,3	145,2±21,7	NS
Diasztolés	87,1±12,4	92,2±18,7	NS
Proteinuria > 1,5 g/nap	14 (25,0%)	11 (35,5%)	NS
SCr (µmol/l)	89,3±18,6	143,2±91,1	0,005
Hypertonia	39 (69,6%)	24 (77,4%)	NS
<i>Az utolsó vizit időpontjában:</i>			
SCr (µmol/l)	88±20,3	301±231,6	<0,001
1/creatinin (l/µmol /d) x10⁻⁸	17,9±72,0	-152,0±201,0	<0,001
Életkor (év)	44,1±11,6	44,7±15,0	NS
ACE inhibitor kezelés	37 (66,1%)	23 (74,2%)	NS
Antihypertensiv szerek száma			NS
0	17 (30,4%)	5 (16,1%)	
1	11 (19,6%)	9 (29,0)	
2	20 (35,7%)	7 (22,6%)	
3	7 (12,5%)	5 (16,1%)	
4	1 (1,8%)	4 (12,9%)	
6		1 (3,2%)	
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	132,0±13,2	138,8±16,9	NS
Diasztolés vérnyomás (Hgmm)	85,6±9,1	87,8±11,0	NS

*vérnyomás >140/90 Hgmm vagy antihypertensiv szer szedése

6. táblázat A legalább 3 évig követett IgAN betegek klinikai adatai

Genotípus	IgA Nephropathia (n=110)		Kontroll személyek (n=104)		p
	No.	%	No.	%	
GG	48	43,6	45	43,3	NS
AG	54	49,1	47	45,2	
AA	8	7,3	12	11,5	
Allél					
G	150	68,2	137	65,9	NS
A	70	31,8	71	34,1	

7. táblázat. Az uteroglobín polimorfizmus genotípus megoszlása és allélfrekvencia az IgAN betegekben és az egészséges kontrollokban

Genotípus	Nem progrediálók (n=56)		Progrediálók (n=31)		P	Rel. risk
	No.	%	No.	%		
GG	19	33,9	20	64,5	0,006*	3,54****
AG+AA	37	66,1	11	35,5		
Allél						
G	69	61,6	50	80,6	0,009**	2,60*****
A	43	38,4	12	19,4		

* $\chi^2=7,5$; ** $\chi^2=6,7$; ***CI 95% 1,4-8,37; ****CI 95% 1,24-5,18

8. táblázat. A G38A uteroglobín polimorfizmus genotípusai és allélfrekvenciák nem progrediáló és progrediáló IgA nephropathiás betegekben

	GG (n=48)	AG+AA (n=62)	p
Nem (nő/ffi)	15/33	22/40	NS
<i>A vesebiopsia időpontjában:</i>			
Életkor (év)	31,5±10,1	32,3±12,3	NS
Vérnyomás (Hgmm)			
Szisztolés	133,9±18,0	151,1±69,1	NS
Diasztolés	87,3±13,4	90,0±15,0	NS
Proteinuria > 1,5 g/nap	13 (27,1%)	15 (24,2%)	NS
SCr (μmol/l)	111±66,3	106±59,2	NS
Hypertonia	31 (64,6%)	46 (74,2%)	NS
<i>Az utolsó vizit időpontjában:</i>			
Életkor (év)	42,7±12,1	41,9±14,7	NS
SCr (μmol/l)	176±198,9	97±114,9	NS
1/creatinin (l/μmol /d) x10⁻⁸	-71,0±189,0	-9,9±105,0	0,08
ACEI	28 (58,3%)	40 (64,5%)	NS
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	131,2±15,1	133,2±14,6	NS
Diasztolés vérnyomás (Hgmm)	85,4±9,7	86,0±10,1	NS

*vérnyomás >140/90 Hgmm vagy antihypertensiv szer szedése

9. táblázat. *A különböző uteroglobin G38A genotípusú IgA nephropathiás betegek klinikai jellemzői*

5.2. Megin C2093T polimorfizmusa

Az **10. táblázat** mutatja a megin C2093T polimorfizmus genotípus és allél megoszlását az IgAN betegekben és az egészséges önkéntesekben. Sem a genotípusok eloszlásában, sem az allélok frekvenciájában nem volt különbség az IgAN betegek és az egészségesek között.

Genotípus	IgA Nephropathia (n=110)		Kontroll személyek (n=101)		p
	No.	%	No.	%	
CC	31	28,2	26	25,8	NS
CT	59	53,6	46	45,5	
TT	20	18,2	29	28,7	
Allél					
C	121	55,0	98	48,5	NS
T	99	45,0	104	51,5	

10. táblázat. *A megin polimorfizmus genotípus megoszlása és allélfrekvencia az IgAN betegekben és az egészséges kontrollokban*

Az **11. táblázat** mutatja a megsin C2093T polimorfizmus genotípus és allél megoszlását a progressziót mutató és a stabil vesefunkcióval rendelkező IgAN betegekben. Nem volt különbség a két betegcsoport adatai között, ami arra utal, hogy a megsin C2093T polimorfizmusa betegeinkben nem mutat összefüggést az IgAN kórlefolyásával.

Genotípus	Nem progrediálók (n=56)		Progrediálók (n=31)		p
	No.	%	No.	%	
CC	16	28,6	7	22,6	NS
CT	28	50,0	21	67,7	
TT	12	21,4	3	9,7	
Allél					
C	60	53,6	35	56,5	NS
T	52	46,4	27	43,5	

11. táblázat. *A megsin polimorfizmus genotípusai és allélfrekvenciák nem progrediáló és progrediáló IgA nephropathiás betegekben*

5.3. A NOD2 gén G908R és 3020insC mutációi

A mutáns NOD2 allélek (908R és 3020insC) gyakorisága nem különbözött az IgAN betegekben és az egészségesekben

- IgAN: 11/220 (5,0%)
- egészséges: 8/208 (3,8%) (NS)

Az **12. táblázat** a NOD2 mutáns alléllal rendelkező (NOD2 +) IgAN betegek klinikai adatait hasonlítja össze azoknak a betegeknek az adataival, akikben nem találtunk mutáns NOD2 allélt (NOD2 -).

IgAN betegek	NOD2 - (n=96)	NOD2 + (n=11)
<i>A biopsia idején</i>		
Életkor	31,8±11,6	25,6±9,6
Proteinuria (g/nap)	1,75±2,72	0,51±0,78
SCr (μmol/l)	111±65,4	77±17,8
<i>A vizsgálat végén</i>		
Életkor	44,1±14,1	39,0±11,1
Proteinuria (g/d)	0,7 (0,2-2,8)	0,9 (0,3-1,9)
SCr (μmol/l)	156±164,1	297±326,8
Követési idő (hó)	147,1±102,3	159,6±83,8

12. táblázat. *A mutáns NOD2 alléllal nem rendelkező és a mutáns NOD2 alléllal élő IgAN betegek klinikai adatai*

Nem volt statisztikailag szignifikáns különbség a két csoport adatai között. Amíg a több mint 12 éves követési idő alatt a NOD2 – csoportban a szérum creatinin a kiindulási értéknek csak az 1/3-ával nőtt, addig a NOD2 + csoportban a megfigyelési idő végére a creatinin szint csaknem 4 szerezére nőtt.

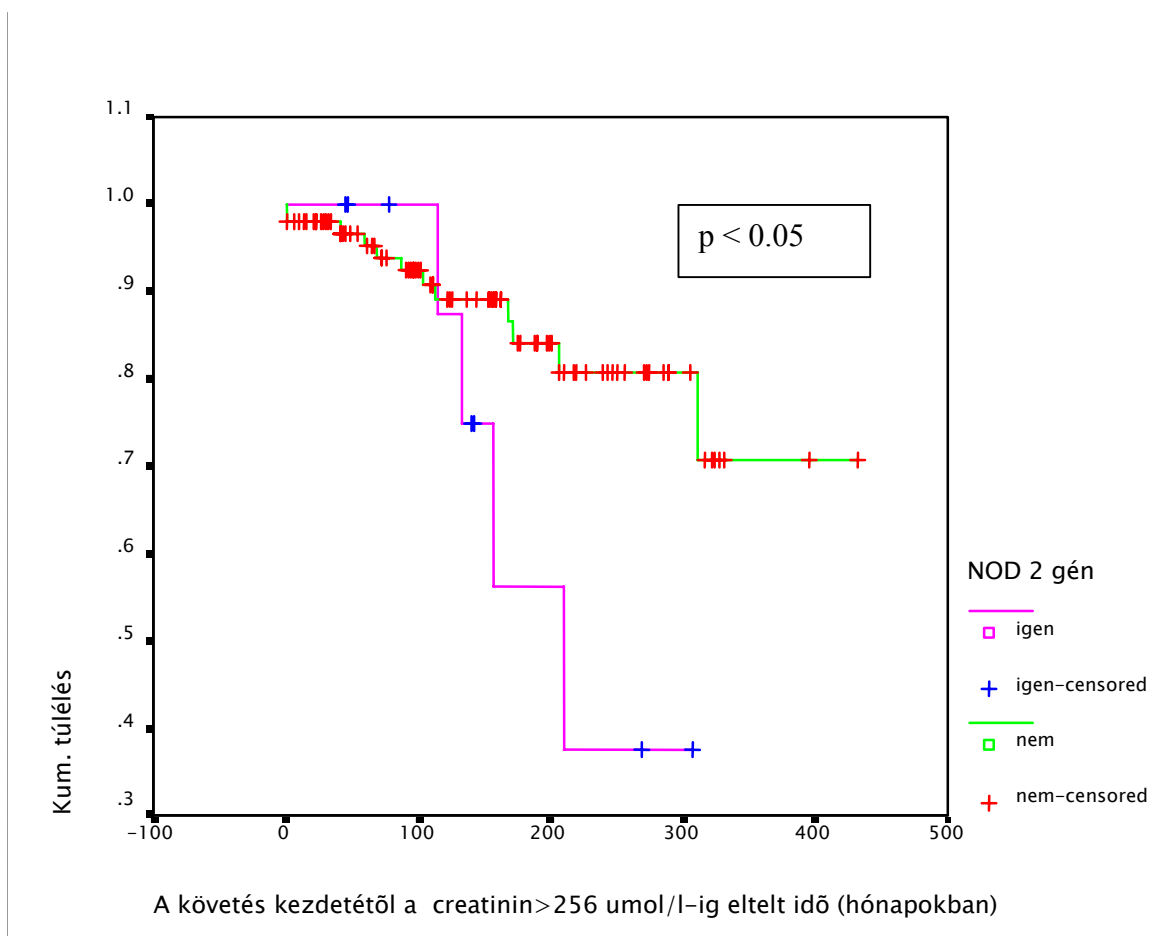
A vesetúlélését Kaplan-Meier analízissel vizsgálva szignifikáns különbséget találtunk mind 256 $\mu\text{mol/l}$ creatinin végponttal (**7. ábra**), mind 500 $\mu\text{mol/l}$ creatinin végponttal (**8. ábra**) számolva. A 256 $\mu\text{mol/l}$ creatinin szintet többnyire a „point of no return”-nek tekintik IgAN-ban [D'Amico G, 1993], [Scholl U, 1999].

Végpont: creatinin 256 $\mu\text{mol/l}$ (point of no return)

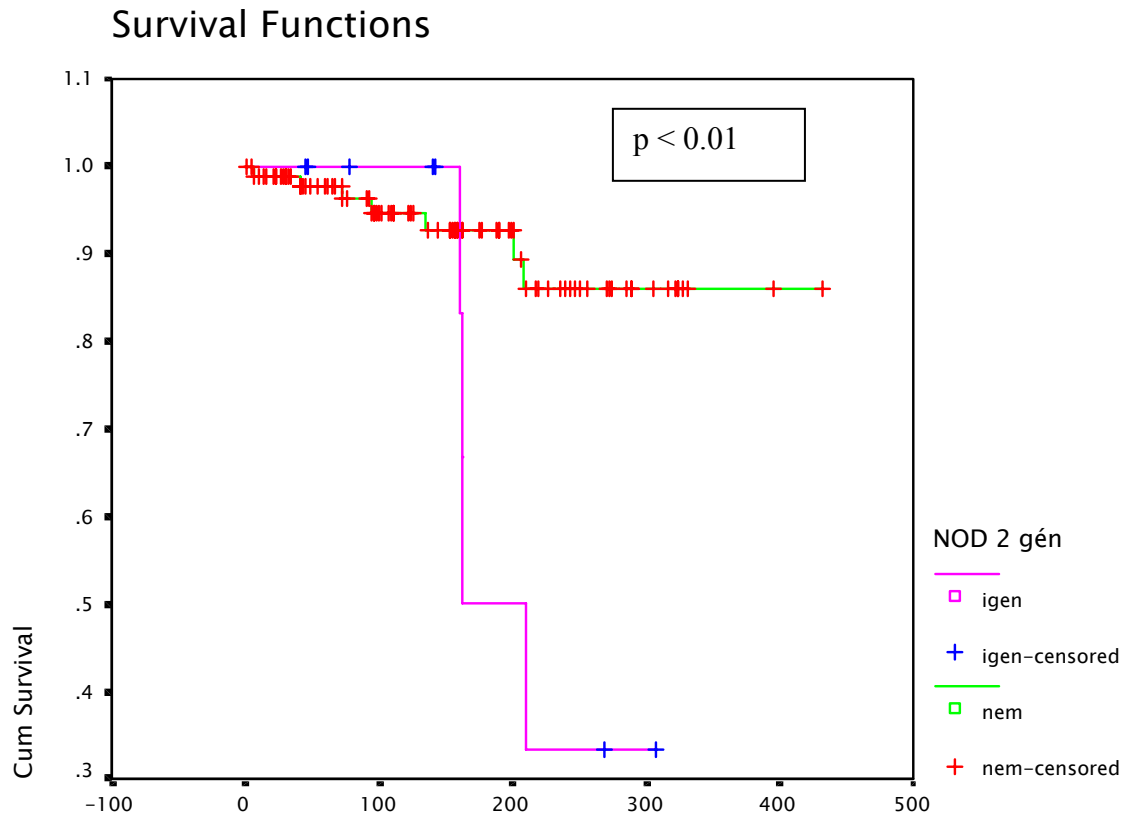
- NOD2 +: 214,7 \pm 30,6 hó (95% CI 154,8 – 274,7)
 - NOD2 -: 359,1 \pm 19,7 hó (95% CI 320,5 – 394,8)
- p < 0,05

Végpont: creatinin 500 $\mu\text{mol/l}$

- NOD2 +: 218,2 \pm 26,5 hó (95% CI 166,3 – 270,2)
 - NOD2 -: 390,8 \pm 14,9 hó (95% CI 361,6 – 420,0)
- p < 0,01



7. ábra. A mutáns NOD2 alléllal nem rendelkező és a mutáns NOD2 alléllal élő IgAN betegek Kaplan-Meier analízise. Végpont: creatinin 256 $\mu\text{mol/l}$



8. ábra. A mutáns NOD2 alléllal nem rendelkező és a mutáns NOD2 alléllal élő IgAN betegek Kaplan-Meier analízise. Végpont: creatinin 500 $\mu\text{mol/l}$

5.4. Selectin gének polimorfizmusai

5.4.1. *Selectin-E Y468H*

Az **13. táblázat** mutatja a selectin-E adhéziós molekula (SELE) génjének Y468H polimorfizmusának genotípus és allél megoszlását az IgAN betegekben és az egészséges önkéntesekben. Sem a genotípusok eloszlásában, sem az allélok frekvenciájában nem volt különbség az IgAN betegek és az egészségesek között. Szemben a Japánban észleltekkkel, magyar betegekben a SELE gén vizsgált polimorfizmusa nem függött össze az IgAN létrejöttével.

SELE gén Y468H polimorfizmusa az IgAN kórlefolyásával sem mutatott kapcsolatot.

Genotípus	IgA Nephropathia (n=102)		Kontroll személyek (n=104)		p
	No.	%	No.	%	
HH	61	59,8	63	60,6	NS
HY	38	37,3	39	37,5	
YY	3	2,9	2	1,9	
Allél					
H	160	78,4	165	79,3	NS
Y	44	21,6	43	20,7	

13. táblázat. *A SELE Y468H polimorfizmus genotípus megoszlása és allélfrekvencia IgAN betegekben és egészségesekben*

5.4.2. *Selectin-L A-642G*

Az **14. táblázat** mutatja a SELL gén A-642G polimorfizmusának genotípus és allél megoszlását az IgAN betegeinkben és az egészséges önkéntesekben. Sem a genotípusok eloszlásában, sem az allélok frekvenciájában nem volt különbség az IgAN betegek és az egészségesek között. Szemben a Japánban észleltekkkel, magyar betegeinkben a SELL gén vizsgált polimorfizmusa sem mutatott kapcsolatot az IgAN előfordulásával.

SELL gén A-642G polimorfizmus gyakorisága nem különbözött a különböző progresszót mutató IgAN betegeinkben.

Genotípus	IgA Nephropathia (n=102)		Kontroll személyek (n=104)		p
	No.	%	No.	%	
AA	65	63,7	70	67,3	NS
AG	35	34,3	32	30,8	
GG	2	2,0	2	1,9	
Allél					
A	165	80,9	172	82,7	NS
G	39	19,1	36	17,3	

14. táblázat. *A SELL A-642G polimorfizmus genotípus megoszlása és allélfrekvencia*

IgAN betegeinkben és egészségesekben

5.5. Antioxidáns enzimek (GPX-1 és CAT) polimorfizmusai

5.5.1. GPX-1 P197L

Az **15. táblázat** mutatja a glutation-peroxidáz (GPX-1) P197L polimorfizmus genotípus és allél megoszlását az IgAN betegekben és az egészséges önkéntesekben. Sem a genotípusok eloszlásában, sem az allélok frekvenciájában nem volt különbség az IgAN betegek és az egészségesek között: a vizsgált polimorfizmus nem mutat kapcsolatot az IgAN létrejöttével.

Genotípus	IgA Nephropathia (n=134)		Kontroll személyek (n= 112)		p
	No.	%	No.	%	
PP	81	60,4	55	49,1	NS
PL	43	32,1	48	42,9	
LL	10	7,5	9	8,0	
Allél					
P	205	76,5	158	70,5	NS
L	63	23,5	66	29,5	

15. táblázat. A GPX-1 P197L polimorfizmus genotípus megoszlása és allélfrekvencia az IgAN betegekben és az egészséges kontrollokban

Az **16. táblázat** mutatja a GPX-1 P197L polimorfizmus genotípus és allél megoszlását a progressziót mutató és a stabil vesefunkcióval rendelkező IgAN betegekben. Nem volt különbség a két betegcsoport adatai között: a GPX-1 gén P197L polimorfizmusa betegekben nem mutatott kapcsolatot az IgAN kórlefordulásával.

Genotípus	Nem progrediálók (n=84)		Progrediálók (n=28)		p
	No.	%	No.	%	
PP	51	60,7	18	64,3	NS
PL	26	31,0	9	32,1	
LL	7	8,3	1	3,6	
Allél					
P	128	76,2	45	80,4	NS
L	40	23,8	11	19,6	

16. táblázat. *A GPX-1 polimorfizmus genotípusai és allélfrekvenciák nem progrediáló és progrediáló IgA nephropathiás betegekben*

	P/P (n=44)	L/L + P/L (n=29)	P
BMI (kg/m ²)	24,5±4,2	27,3±4,9	<0,01
Éhgyomri vércukor (mmol/l)	5,2±0,7	5,2±0,8	NS
Vércukor OGTT 120' (mmol/l)	5,8±1,5	6,4±1,9	NS
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	130,9±19,6	133,9±15,9	NS
Diasztolés vérnyomás (Hgmm)	85,7±12,7	85,6±10,6	NS
Cholesterin (mmol/l)	5,6±1,8	5,2±1,7	NS
Triglycerid (mmol/l)	1,4 (0,5-5,4)	1,2 (0,5-4,9)	NS
HDL koleszterin (mmol/l)	1,4±0,4	1,1±0,3	<0,01
Húgysav (mmol/l)	337,1±115,8	367,6±107,2	NS
TBARS (μmol/l)	0,8 (0,4-3,0)	0,7 (0,1-2,6)	NS
AGE (a.u.)	2340,4±870,7	2049,9±597,6	NS
CML (ng/ml)	472,6±151,6	478,4±157,1	NS

Átlag ± standard deviáció.

Medián (minimum-maximum)

17. táblázat. *A különböző GPX-1 genotípusú IgAN betegek klinikai jellemzői*

A 17. táblázat a különböző GPX-1 genotípusú IgAN betegek klinikai jellemzőit mutatja. A metabolikus paraméterek közül a BMI és a HDL koleszterin tekintetében volt szignifikáns különbség: a PP genotípusú betegek BMI-je alacsonyabb, HDL szintje pedig magasabb. Az AGE termékek mennyisége és az oxidatív stressz mértékét jelző TBARS szintje nem különbözött a két csoportban.

5.5.2. CAT C-262T

Az **18. táblázat** mutatja a kataláz (CAT) C-262T polimorfizmus genotípus és allél megoszlását az IgAN betegekben és az egészséges önkéntesekben. Sem a genotípusok eloszlásában, sem az allélok frekvenciájában nem volt különbség az IgAN betegek és az egészségesek között: a vizsgált polimorfizmus nem függött össze az IgAN létrejöttével.

Genotípus	IgA Nephropathia (n=134)		Kontroll személyek (n=112)		p
	No.	%	No.	%	
CC	78	58,2	67	59,8	NS
CT	49	36,6	38	33,9	
TT	7	5,2	7	6,3	
Allél					
C	205	76,5	172	76,8	NS
T	63	23,5	52	23,2	

18. táblázat. A CAT polimorfizmus genotípus megoszlása és allélfrekvencia az IgAN betegekben és az egészséges kontrollokban

Az **19. táblázat** mutatja a CAT gén C-262T polimorfizmusának genotípus és allél megoszlását a progressziót mutató és a stabil vesefunkcióval rendelkező IgAN betegekben. Nem volt különbség a két betegcsoport adatai között: a vizsgált polimorfizmusnak betegeinkben nem volt kapcsolata az IgAN progressziójával.

Genotípus	Nem progrediálók (n=84)		Progrediálók (n=28)		p
	No.	%	No.	%	
CC	49	58,3	14	50,0	NS
CT	30	35,7	12	42,9	
TT	5	6,0	2	7,1	
Allél					
C	128	76,2	40	71,4	NS
T	40	23,8	16	28,6	

19. táblázat. A CAT C-262T polimorfizmus genotípusai és allélfrekvenciák nem progrediáló és progrediáló IgA nephropathiás betegekben

	C/C (n=41)	T/T + C/T (n=32)	P
BMI (kg/m ²)	25,6±4,6	25,6±4,8	NS
Éhgyomri vércukor (mmol/l)	5,1±0,7	5,3±0,7	NS
Vércukor OGTT 120' (mmol/l)	5,8±1,5	6,4±2,0	NS
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	132,8±19,3	131,2±16,8	NS
Diasztolés vérnyomás (Hgmm)	86,3±12,6	84,8±11,0	NS
Cholesterin (mmol/l)	5,6±1,7	5,3±1,5	NS
Triglycerid (mmol/l)	1,4 (0,5-5,4)	1,2 (0,5-4,5)	NS
HDL koleszterin (mmol/l)	1,3±0,4	1,3±0,3	NS
Húgysav (mmol/l)	325,3±120,7	379,8±94,9	<0,05
TBARS (μmol/l)	0,7 (0,2-2,6)	0,8 (0,1-3,0)	NS
AGE (a.u.)	2119,1±793,0	2361,3±755,2	NS
CML (ng/ml)	470,5±133,5	480,6±176,4	NS

Átlag ± standard deviáció.

Medián (minimum-maximum)

20. táblázat. *A különböző CAT genotípusú IgAN betegek klinikai jellemzői*

A **20. táblázat** a különböző CAT genotípusú IgAN betegek klinikai jellemzőit mutatja. A metabolikus paraméterek közül a húgysav tekintetében volt szignifikáns különbség: a CC genotípusú betegek húgysav szintje alacsonyabb. Az AGE termékek mennyisége és a TBARS szintje nem különbözött a két csoportban.

5.6. Az ACE gén I/D polimorfizmusa

5.6.1. Az ACE gén I/D polimorfizmusa és az IgAN progressziója

Az **21. táblázat** mutatja az ACE I/D polimorfizmus genotípus és allél megoszlását a progressziót mutató és a stabil vesefunkcióval rendelkező IgAN betegekben. Nem volt különbség a két betegcsoport adatai között. Vizsgált betegekben tehát az ACE gén I/D polimorfizmusa nem mutatott összefüggést az IgAN kórlefordulásával.

Genotípus	Nem progrediálók (n=56)		Progrediálók (n=31)		p
	No.	%	No.	%	
DD	19	33,9	8	25,8	NS
ID+II	37	66,1	23	74,2	
Allél					
D	69	61,6	34	54,8	NS
I	43	38,4	28	45,2	

21. táblázat. Az ACE I/D polimorfizmus genotípusai és allélfrekvenciák nem progrediáló és progrediáló IgA nephropathiás betegekben.

5.6.2. Vérnyomás és balkamra izomtömeg

A 24 órás vérnyomás monitorozás eredménye

Az **22. táblázat** a normotensív és a kezelt hypertóniás betegek vérnyomás méréseinek eredményeit és a normál értékeket mutatja. A kezelt hypertóniás betegek vérnyomása a normotensív betegeknél szignifikánsan magasabb volt. A normotensív betegek között nem volt olyan, akinek a nappali, vagy a 24 órás vérnyomás átlaga a normál értéket meghaladta volna, az éjszakai vérnyomásátlagok is csak egyetlen esetben voltak valamivel a normál érték felett. Beszűkült diurnális ritmust (diurnális index <10%) viszont 12-ből 5 esetben észleltünk.

Vérnyomás átlagok (Hgmm)	Normotensív (átlag±SD) n=12	Kezelt hypertóniás (átlag±SD) n=38	p	Normál érték (Hgmm)
24 órás szisztolés	106,6±33,4	124,6±23,3	<0,001	<130
24 órás diasztolés	67,4±21,8	81,2±15,3	<0,001	<80
nappali szisztolés	110,2±35,9	127,5±24,2	<0,001	<135
nappali diasztolés	70,3±23,5	84,4±16,6	<0,001	<85
éjszakai szisztolés	98,4±33,3	120,4±25,1	<0,001	<120
éjszakai diasztolés	56,2±24,0	75,9±15,6	<0,001	<75
Diurnális index (%)				
- szisztolés	9,8±6,7	5,5±8,8	<0,01	>10
- diasztolés	12,2±8,8	9,4±9,9	NS	>10

Átlag ± standard deviáció.

22. táblázat. Az ABPM-el mért vérnyomásátlagok elemzése normotensív és kezelt hypertóniás IgAN betegeknél (n=50)

A kezelt hypertóniás csoportban (n=38) 5 beteg (13,2%) nappali- és 12 beteg (31,6%) éjszakai szisztolés vérnyomás átlaga volt kórosan magas, míg a diasztolés

vérnyomásátlagoknál ez 13 (34,2%) illetve 21 (55,2%) volt. A diurnális ritmus az esetek több, mint a felében, 20 esetben (52,6%) beszűkült volt.

Az echocardiográfiás vizsgálat eredménye

Az echocardiográfiás vizsgálat eredményét a **23. táblázat** foglalja össze:

	Normotensív (<i>átlag±SD</i>) n=12	Kezelt hypertoniás (<i>átlag±SD</i>) n=38	p	Normál érték (Hgmm)
IVS (mm)	7,9±2,9	10,2±2,4	<0,001	<12
PW (mm)	8,0±2,9	10,1±2,5	<0,001	<12
EDD (mm)	48,6±16,5	50,5±10,0	NS	<53
ESD (mm)	31,4±11,5	33,0±8,2	NS	<40
LVMI (g/m²)	89,2±45,6	124,1±46,2	<0,01	nő <110; ffi <134
E/A	1,2±0,5	1,1±0,4	<0,01	>1
DT (ms)	158,7±79,8	174,7±46,7	NS	<180
EF (%)	58,9±20,0	62,3±14,0	NS	>55

Átlag ± standard deviáció.

23. táblázat. *Az echocardiográfiás vizsgálat eredménye normotensív és kezelt hypertoniás IgAN betegekben (n=50)*

A balkamra falainak vastagsága és a balkamra izomtömeg index a kezelt hypertoniás csoportban szignifikánsan nagyobb, az E/A érték a hypertoniás csoportban szignifikánsan kisebb volt, míg a DT értékek nem mutattak statisztikai különbséget. Mindkét betegcsoportnál normális üregméreteket és jó szisztolés balkamra funkciót találtunk, e tekintetben sem volt különbség a két csoport között. A normotensív betegek között nem találtunk balkamra hypertrophiát, míg 2 esetben kóros E/A és DT értékek alapján diasztolés funkciózavart véleményeztünk. A kezelt hypertoniás csoportban 17

betegnél (44,7%) találtunk balkamra hypertrophiát; diasztolés funkciózavart az E/A alapján 15 esetben (39,5%), a DT alapján pedig 13 esetben (34,2%) észleltünk.

A vérnyomás paraméterek és a balkamra izomtömeg index és a diasztolés funkció kapcsolata

A normotenzív betegekben (24. táblázat) a vérnyomás paraméterek nem mutattak összefüggést a balkamra izomtömeg index értékével, míg a diasztolés funkció romlása (amit az E/A és a DT alapján egyaránt igazoltunk) az éjszakai szisztolés vérnyomás átlaggal és a diasztolés diurnális index értékekkel mutatott korrelációt.

	IVS	PW	LVMI	E/A	DT	EF
Vérnyomás átlagok	r	r	r	r	r	r
24-órás szisztolés	0,18	0,18	0,31	-0,45	0,45	0,31
24-órás diasztolés	0,44	0,40	0,51	-0,64*	0,49	0,51
Nappali szisztolés	0,21	0,35	0,27	-0,46	0,34	0,27
Nappali diasztolés	0,52	0,50	0,45	-0,61*	0,38	0,45
Éjszakai szisztolés	0,29	0,23	0,29	-0,67*	0,65*	0,29
Éjszakai diasztolés	0,41	0,39	0,47	-0,43	0,43	0,47
Diurnális index						
szisztolés	-0,18	-0,08	-0,20	0,57	-0,67*	-0,2
diasztolés	-0,58*	-0,48	-0,48	0,86**	-0,70*	-0,48

* p<0,05 **p<0,01

24. táblázat. *A vérnyomás paraméterek és a balkamra funkció és izomtömeg index kapcsolata normotenzív IgAN betegekben (n=12)*

A kezelt hypertóniás betegekben (**25. táblázat**) a balkamra falvastagság az éjszakai vérnyomásátlagokkal és a diurnális index értékekkel, a diasztolés funkció pedig a diasztolés diurnális index értékével mutatott szignifikáns összefüggést, míg a nappali- és 24-órás vérnyomás értékekkel nem mutattak statisztikai kapcsolatot.

	IVS	PW	LVMI	E/A	DT	EF
Vérnyomás átlagok	r	r	r	r	r	r
24-órás szisztolés	0,06	0,20	0,05	-0,11	0,23	0,02
24-órás diasztolés	0,02	0,18	-0,04	-0,04	0,18	0,13
Nappali szisztolés	-0,18	-0,10	-0,12	0,12	0,04	0,09
Nappali diasztolés	-0,19	-0,13	-0,20	0,23	-0,10	-0,01
Éjszakai szisztolés	0,41**	0,39*	0,29	-0,23	0,33*	0,10
Éjszakai diasztolés	0,42**	0,44**	0,26	-0,25	0,42**	0,11
Diurnális index						
Szisztolés	-0,54**	-0,54**	-0,42**	0,31	-0,31	-0,08
Diasztolés	-0,51**	-0,51**	-0,42**	0,36*	-0,37*	0,03

* p<0,05 **p<0,01

25. táblázat. *A vérnyomás paraméterek és a balkamra funkció és izomtömeg index kapcsolata kezelt hypertóniás IgAN betegekben (n=38)*

5.6.3. Az ACE gén I/D polimorfizmusa és a balkamra izomtömeg

A 26. táblázat mutatja az echocardiographiával mért balkamra paraméterek és az ACE I/D polimorfizmus közötti kapcsolatot. A septum is és a hátsó fal is vastagabb a DD genotípusú betegekben, mint az II genotípusú betegekben. A heterozygoták eredményei a két homozygota csoport értékei között vannak. A szignifikancia szintet el nem érő mértékben ugyanez észlelhető a balkamra izomtömeg index eredményeinél. A systolés funkciót jelző ejekciós frakció a DD genotípusú betegekben nagyobb, mint az II genotípusú betegekben.

	DD n=7	ID n=26	II n=6	II vs. DD p
IVS (mm)	11,39±2,2	10,2±1,9	8,17±1,2	<0,05
PW (mm)	11,7±2,0	9,8±1,9	9,0±1,3	<0,05
LVMI (g/m ²)	151,8±58,2	146,4±44,4	109,5±24,5	NS
E/A	1,0±0,3	1,1±0,3	1,2±0,5	NS
DT (ms)	208,4±74,2	172,2±42,0	180,6±20,1	NS
EF (%)	69,9±5,2	62,4±10,0	55,8±10,6	<0,05

Átlag ± standard deviáció.

26. táblázat. Az echocardiográfias vizsgálat eredménye a különböző ACE I/D genotípusú IgAN betegekben

6. MEGBESZÉLÉS

6.1. Az uteroglobin gén G38A variációja és az IgAN

Az uteroglobin lehetséges szerepére az hívta fel a figyelmemet, hogy az uteroglobin hiányos egerekben IgAN fejlődik ki [Zheng F, 1999]. Ezt azzal magyarázzák, hogy az uteroglobin a fibronectinnel heteromert képez, megakadályozva így a kollagén-fibronectin interakciót, ami szükséges a kóros depozitumok lerakódásához. Hatása van még a felületi adhéziós molekulák expressziójára és citokinként is funkcionál, ezzel szintén befolyásolhatja a betegség létrejöttét. Korábban az uteroglobint már asztmában vizsgálták. Leírták a gén G38A polimorfizmusát, és annak kapcsolatát az asztmával [Laing IA, 1998].

Az uteroglobin G38A polimorfizmusát elsőként vizsgáltuk IgAN-ban. Betegeinkben kapcsolatot mutatott az IgAN kórlefordulásával: a progresszív betegek között szignifikánsan gyakoribb volt a GG genotípus és a G allél. A génavariáció nem volt összefüggésben a betegség létrejöttével.

Egy nagyobb, Japánban utánunk végzett vizsgálat megerősítette eredményeinket: 239 IgAN beteget vizsgáltak, és ők is a GG genotípust találták rossz prognosztikai markernek [Narita I, 2002]. Az egészségesek és az IgAN betegek között nem találtak különbséget az uteroglobin polimorfizmus tekintetében. Koreai szerzők ugyancsak utánunk végzett vizsgálatában az A allél jelzett kedvezőtlen kórlefordulást ($p=0,03$) [Kim YS, 2001]. Egy másik japán vizsgálatban az AA genotípus gyakoribb volt IgAN betegekben, mint egészségesekben [Matsunaga A, 2002]. Ezt az utóbbi eredményt azonban nehéz értékelni, mivel az IgAN betegek genotípus eloszlása a nagy AA arány miatt eltért a Hardy-Weinberg egyensúlytól.

Egy további, később készült olasz tanulmányban 75 normális vesefunkciójú, 35 év

alatti, különböző mértékű proteinuriában szenvedő (62 beteg: > 1 g/nap, 13 beteg: < 1 g/nap) IgAN beteget, valamint egészséges kontrollokat vizsgáltak: a szérum-uteroglobulin fibronectinhez való kötődése nem különbözött a betegekben és az egészségesekben; az IgA fibronectinnel vagy collagén IV-el borított műanyag laphoz kötődése, az IgA-fibronectin komplexek mennyisége és az azokba beépült uteroglobulin mennyisége nagyobb (!) volt az IgAN betegekben [Coppo R, 2002]. A súlyosabb proteinuriájú betegekben az IgA jobban kötődött a collagén IV-hez és az IgA-fibronectin komplexekben kevesebb volt az uteroglobulin, mint azokban a betegekben, akiknek enyhébb volt a proteinuriája. Ezek alapján a humán IgAN-ban az uteroglobulin pontos szerepe illetve jelentősége még nem egyértelmű.

6.2. Megsin C2093T variációja és az IgAN

A megin csak - az IgAN-ban kiemelkedően fontos - mesangiális sejtekben expresszálódik [Miyata T, 1998]. A megin funkciója még nem volt ismert, amikor már lehetett tudni, hogy IgAN-ban a megin expressziója fokozott [Suzuki S, 1999].

A génnek az NCBI internetes adatbázisában található variációit teszteltük, olyan SNP-t kerestünk, ahol a ritkábbik allél gyakorisága legalább 30%. A C2093T polimorfizmus felelt meg a fenti elvárásnak. Elsőként vizsgáltuk megin génvariáció és az IgAN kapcsolatát: nem találtunk összefüggést sem a betegség kialakulásával, sem annak kórlefolyásával.

Kínai szerzők - módszerünket használva - nagyobb számú beteget és egészséges önkéntest vizsgáltak [Li YJ, 2004]. Míg a C2093 allél gyakorisága magyar IgAN betegekben 55%, magyar egészségesekben 48,5% volt; addig a kínai betegekben 70,7%, a kínai egészségesekben 62,9% volt. A mi vizsgálatunkban a tendencia hasonló volt, de a

különbség nem volt szignifikáns, a nagyobb esetszám mellett a kínai vizsgálatban a különbség statisztikailag szignifikáns volt. Eredményüket családvizsgálatokkal is megerősítették: heterozigóta szülőktől a betegek nagyobb valószínűséggel örökölték a C2093 allélt. A kínai munkacsoport egy közeli másik SNP-t is vizsgált: C2180T. A 2180T allél is kapcsolatot mutatott az IgAN-val. A C2093-2180T haplotípus még erősebb kapcsolatban volt az IgAN-val, mint az egyik vagy másik SNP.

Mivel a saját és a kínai vizsgálatok tendenciájukban hasonló eredményeket hoztak, további IgAN betegeket szeretnénk genotipizálni és meg akarjuk ismételni a statisztikai számításokat.

6.3. NOD2 és az IgAN

A NOD2 a monocyták LPS receptora, ami NF κ B aktivációhoz és gyulladáshoz vezet. A NOD2 mutációi Crohn betegségre hajlamosítanak. A Crohn betegség és az IgAN ismert kapcsolata és a két betegség közötti hasonlóságok (baktériumok, NF κ B szerepe) miatt vizsgáltuk a NOD2 mutációkat IgAN betegekben.

A mutáns allélek gyakorisága nem különbözött az IgAN betegekben és az egészségesekben, a vizsgált egyének között ismert Crohn beteg nem volt. Abban a 11 betegben, akikben NOD2 mutációt találtunk, rosszabb volt az IgAN kórlefolyása, mint a többi 96 betegben – bár a kicsi esetszám miatt a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns.

Eredményeink szerint a NOD2 mutációk gyorsíthatják a betegség kórlefolyását, talán azzal, hogy ezek betegek ugyanakkora LPS ingerre nagyobb gyulladással reagálnak.

Ennek még terápiás jelentősége is lehet, mivel a monocyták LPS kiváltotta NF κ B aktivációja statinokkal gátolható [Hilgendorff A, 2003].

Eredményeink még további megerősítést igényelnek, illetve magunk is tervezzük a NOD2 mutációk összehasonlítását gyulladásos markerekkel (hsCRP stb) IgAN-s betegeinkben.

6.4. Selectin és az IgAN kialakulása

Az IgAN kialakulásában a fehérvérsejteknek a glomerulusokban és az interstitiumban való lerakódásának is szerepe van [Adler, 1999], amelynek folyamatában a selectinek is résztvesznek [Chaudhury, 1996], [Kennel-De March, 1999]. Takei és munkatársai komplex betegségek vizsgálatához az egész genomon vizsgáltak SNP-eket. Az IgAN vizsgálatát az 1. kromoszómán egymás mellett elhelyezkedő három (E, P és L) selectin gén 34 SNP-jének (SELE: 13, SELL: 15, SELP: 6) vizsgálatával végezték [Takei, 2002]. Tanulmányukba 348 IgAN beteget és 408 egészséges önkéntest vontak be. A SELE 2, a SELL 6 polimorfizmusa mutatott asszociációt az IgAN-val. A SELE egy és a SELL két SPN-je csaknem komplett linkage disequilibriumban voltak, a sok elméleti lehetőség közül, csak két gyakori haplotípus előfordulását észlelték, amelyek közül az egyik nagyon szoros kapcsolatban volt az IgAN-val ($p=0,000016$). Egy későbbi vizsgálatukban igazolták, hogy az IgAN-val szoros kapcsolatot mutató haplotípushoz erősebb fehérvérsejt-endothélsajt interakció társul [Takei, 2006].

Mi a fenti 3 SNP-ből kettőt vizsgáltunk (az aminosav cserét okozó SELE polimorfizmust, és a SELL promóter régiójában lévő variációt) magyar IgAN betegeinkben és egészséges önkéntesekben. Egyik SNP sem mutatott asszociációt az IgAN-val: a

genotípusok és az allélfrekvenciák nem különböztek a betegekben és az egészségesekben. Eredményeinkből arra következtethetünk, hogy különbség lehet a japán és a magyar IgAN betegek betegségének genetikai háttere között.

Az egyetlen közölt japán vizsgálaton kívül, a selectin gének és az IgAN viszonyát vizsgáló egyéb tanulmány még nem jelent meg, ezért a kérdés további vizsgálata szükséges.

6.5. Antioxidáns enzimek (GPX-1 és CAT) és az IgAN

IgAN-ban oxidatív stressz és annak következményei mutathatók ki [Turi, 1997], [Vas, 2005]. Az oxidatív stresszre válaszként az IgAN-ban az antioxidáns enzimek expressziója fokozódik [Wang JS, 1997]. Az IgAN egy egérmódeljében fiatal állatok veséjében már a betegség korai stádiumában az antioxidáns enzimek aktivitásának növekedése figyelhető meg, ami az oxidatív stressznek a betegség patogenezisében való szerepét veti fel [Wang LN, 1996]. Az oxidatív stressznek szerepe van a vesebetegségek progressziójában is [Haugen E, 1999]. Az oxidált protein termékek kimutatása az IgAN korai prognosztikai markerének bizonyult [Descamps-Latscha B, 2004]. A krónikus vesebetegségek kórlefordása antioxidáns kezeléssel kezdvően befolyásolható [Vaziri ND, 2004].

Ezért vizsgáltuk antioxidáns enzimek polimorfizmusait IgAN-ban. Ezek közül a kataláz polimorfizmusáról (CAT C-262T) már ismert, hogy befolyásolja a gén expresszióját (T allél esetén 50%-kal nagyobb) [Forsberg L, 2001]. A GPX-1 gén ritka mutációi csökkent vörösvértest glutation-peroxidáz szintet és következményes hemolitikus anémiát okoznak. Egy svéd munkacsoport a GPX-1 génben egyetlen polimorfizmust talált, a létrejövő aminosav csere alapján ennek funkcionális jelentősége is feltételezhető

[Forsberg L, 1999]. A allél frekvenciák az ő vizsgálatukban hasonlóak voltak, mint a miénkben (P: ~70%, L: ~30%). Vizsgálatunkban a kataláz és glutathion-peroxidáz polimorfizmusok nem voltak kapcsolatban sem az IgAN kialakulásával, sem pedig annak progressziójával.

Vizsgáltuk a GPX-1 és CAT gének variációinak és a metabolikus- és oxidatív stressz paramétereinek kapcsolatát is az IgAN betegekben. A vizsgálat előzménye az volt, hogy 2-es típusú cukorbetegben a GPX-1 P197L polimorfizmus szignifikáns kapcsolatot mutatott a metilált argininszármazékok szérumszintjével és a metabolikus paraméterek közül a HDL koleszterinnel, és közel szignifikáns kapcsolatot a trigliceriddel [Szelestei T, 2005]. A IgAN betegekben a GPX-1 P197L polimorfizmus a BMI-vel és a HDL koleszterinnel mutatott szignifikáns kapcsolatot. A CAT -262T allélja mellett nagyobb a gén expressziója, így meglepő, hogy a CC genotípusú IgAN betegek húgysav szintje volt alacsonyabb.

A kataláznak és a glutathion-peroxidáznak a variációit még betegekben nem vizsgálták, így IgAN-ban szenvedő betegekben sem. Ezért eredményeinket másokéval egybevetni egyelőre nem tudjuk.

6.6. ACE gén I/D polimorfizmusa és az IgAN

6.6.1. Az ACE gén I/D polimorfizmusa és az IgAN progressziója

A RAS aktivációja több mechanizmuson keresztül is kedvezőtlenül befolyásolhatja az IgAN progresszióját, ami ACE gátlók és/vagy angiotensin-receptor blockolók (ARB) adásával kedvezően befolyásolható. Az ACE szint nagy interindividuális különbséget mutat, amiért nagyrészt a gén I/D polimorfizmusa felelős.

Az ACE I/D polimorfizmusát vizsgáltuk IgAN betegekben, de nem találtunk kapcsolatot a betegség kórlefordásával.

Az ACE gén I/D polimorfizmusa a leggyakrabban vizsgált genetikai variáció. Japán betegekben végzett vizsgálatok szerint a D allél és különösen a DD genotípus rossz prognosztikai faktor IgAN-ban, [Yoshida H, 1995], [Maruyama K, 2001], míg mások ezt nem erősítették meg [Suzuki S, 2000]. Olasz betegekben is leírták a kapcsolatot az I/D polimorfizmus és az IgAN kórlefordása között [Stratta P, 1999], míg mások ilyen kapcsolatot nem találtak [Scheda FP, 2001]. Több országban is összefüggést találtak az I/D polimorfizmus és az IgAN között: Angliában [Harden PN, 1995], az Amerikai Egyesült Államokban [Hunley TE, 1996], Kínában [Chen X, 1997], Finnországban [Syrjanen J, 2000] és Szingapúrban [Lau YK, 2002].

6.6.2. A vérnyomás és a balkamra hypertrophia paraméterei IgAN-ban

Krónikus glomerulonephritisben a betegség előrehaladásával párhuzamosan a vérnyomás emelkedik: kezdetben a normál értékhatárokon belül, majd a beteg hypertoniássá válik. A hypertonia és a balkamra hypertrophia kifejlődése között a hypertonia etiológiájától függetlenül direkt és folyamatos kapcsolat van [Post WS, 1994]. A krónikus glomerulonephritises betegeknek kialakuló secunder hypertonia első jele lehet a vérnyomás éjszakai csökkenésének elmaradása, melynek pathophysiologiai mechanizmusa, prognosztikai jelentősége a jelen vizsgálatok elvégzésekor még nem volt tisztázott. Normotoniás, normális vesefunkciójú IgAN betegek vérnyomása és balkamra falvastagsága -a normál értékeken belül- az egészséges kontroll személyekénél nagyobb [Stefanski A, 1996].

Vizsgálatunkban a normotoniás betegek csaknem felében már a vérnyomás diurnális ritmusa kórosan csökkent volt. Ez az akkori gyakorlat alapján nem indikált

önmagában antihypertensiv kezelést, pedig a diasztolés diurnális index értéke a normotensiv betegekben is szignifikáns kapcsolatot mutatott a kamrai szeptum vastagságával, és a diasztolés funkciót jellemző E/A és DT értékekkel és néhány alkalommal már diasztolés diszfunkciót is észleltünk.

A balkamra hypertrophia a krónikus veseelégtelenségben szenvedő gyermekekben és felnőttekben egyaránt gyakori szövődmény, amiben a hypertonián kívül az alábbi faktoroknak is szerepük lehet: anaemia, hypervolaemia, acidosis, hyperparathyreosis, emelkedett szérum creatinin szint, haemodialysált betegekben a Cimino fistula okozta emelkedett perctérfogat, illetve vesetranszplantáltakban az immunsuppressiv kezelés. A művesekezelt betegek halálozásában a balkamra hypertrophia erős, független meghatározó tényező [Silberberg JS, 1989].

Az ACE gátlók, az ARB-k és egyes – elsősorban nem-dihydropyridin típusú – calcium-csatorna blockolók a vérnyomás normalizálásán túl egyéb mechanizmusokon keresztül (többek között a sejtproliferáció gátlásával, az intraglomerularis nyomás csökkentésével) is mérséklék a proteinuria mértékét és lassítják a krónikus glomerulonephritisek progresszióját, ezért IgAN betegekben ezekkel a szerekkel kezdjük csökkenteni a vérnyomást. Az ACE gátló kedvező hatása még abban is megnyilvánul, hogy a hypertonia okozta balkamra hypertrophia mértékét csökkenti, illetve kialakulását lassítja, gátolja.

A hypertoniás IgAN betegek nappali vérnyomását a legtöbb esetben kielégítően tudtuk kezelni, valószínűleg ennek köszönhető, hogy vérnyomásparamétereik nem mutattak statisztikai kapcsolatot sem a balkamra falvastagsággal és izomtömeg index értékkel, sem a diasztolés funkciót jellemző paraméterekkel. Az ACE gátlók, bár a vérnyomás diurnális ritmusát nem változtatják meg, este adva gyengébb hatásúak, feltehetően az éjszakai alacsonyabb renin szint miatt. Az ACE gátlóktól tehát nem

várhatjuk a krónikus glomerulonephritisekben oly gyakran eltűnő diurnális ritmus helyreállítását. Ennek megfelelően, kezelt hypertoniás betegek több mint felében az éjszakai vérnyomás csökkenés elmaradása továbbra is fennmaradt. Vizsgálataink szerint e tény sajnos nincs minden következmény nélkül: kezelt hypertoniás betegekben az éjszakai vérnyomás, valamint az éjszakai vérnyomáscsökkenés elmaradását jelző kóros diurnális index szoros kapcsolatot mutatott a balkamra falvastagsággal és a diasztolés funkciót jelző paraméterekkel. Eredményeink azt mutatták, hogy a korán elkezdett ACE gátló kezelés és a nappali vérnyomás normalizálása sem védi ki a balkamra hypertrophia és diasztolés diszfunkció kialakulását, amit a kezelt hypertoniás betegek csaknem felében észleltünk.

Ezen eredményeink alapján ma már korán kiegészítjük az ACE gátló és/vagy ARB kezelést nem-dihydropyridin típusú calcium-csatorna blokkolóval IgAN betegekben.

Vizsgálatunk óta több tanulmányt is közöltek, amelyekből megállapítható, hogy eredményeink nem csak IgAN betegekben igazak: ugyanezt észlelték akkor is ha az azotaemia oka polycystás vesebetegség [Martinez-Vea A, 2000], egyéb glomerulonephritis [Stefanski A, 1996], albuminuriával járó hypertonia vagy 2-es típusú cukorbetegség [Nakano S, 1998] volt, vagy ha vesetranszplantáción átesett betegeket vizsgáltak [McGregor DO, 2001], [Covic A, 1996]. A leszűrődött tanulságok széles körben elfogadottakká váltak, vizsgálatunkra is hivatkozik a Kidney Disease Outcomes Quality Initiative hypertoniáról és annak kezeléséről szóló ajánlása [K/DOQI, 2004].

6.6.3. Az ACE gén I/D polimorfizmusa és a balkamra falainak vastagsága IgAN betegekben

Essentialis hypertoniában többen leírták az ACE I/D polimorfizmus és a balkamra falvastagsága közötti kapcsolatot [Schunkert H, 1994], [Saeed M, 2005]. Ezt az összefüggést a dializált uraemiás betegekben is észlelték [Osono E, 1998], míg polycystás vesebetegekben nem találták ezt az összefüggést [Ecdet T, 2003]. A D allél mellett nagyobb mennyiségben van jelen az ACE enzim, így több angiotensin-II és több aldosteron képződik. Mindkettőnek közvetlen szerepe van a balkamra hypertrophia létrejöttében. DD genotípusú IgAN betegek balkamrájának fala vastagabb, mint az II genotípusú betegeké. A DD genotípusú betegek ejekciós frakciója nagyobb, mint az II genotípusú betegeké. Hasonlóan a vesékben létrejövő hyperfiltrációhoz a „jobb” systolés funkció sem feltétlenül kedvező.

A genetikai polimorfizmusok vizsgálatát sok kritika érte az utóbbi időben. Olyan bonyolult folyamatokban, mint az IgA nephropathia kialakulása és kórlefordyása, rengeteg tényezőnek van szerepe. Ha ezekből kiragadunk egyet, és azt izoláltan vizsgáljuk, nem mindig sikerül annak jelentőségét észrevennünk. Ráadásul ezek a tanulmányok nem közvetlen hatásokat, hanem asszociációkat vizsgálnak. Ezért törekedni kell a nagy esetszámra, a genetikailag is homogén betegcsoportokra és a vizsgálatokat célszerű több populáción is megismételni. Nem kell tehát azon csodálkoznunk, hogy amit mások találtak, azt mi nem mindig tudtuk megerősíteni, illetve, hogy a mi általunk talált asszociációk másoknál nem mindig voltak megfigyelhetőek.

7. TÉZISEK

- I. Az uteroglobin G38A polymorphismusa kapcsolatot mutat az IgAN kórlefordulásával, de nem nem függ össze a betegség létrejöttével.
- II. Megerősítettük a megsin C2093T génvariáció létezését, leírtuk annak gyakoriságát magyar betegekben. A megsin C2093 allél gyakorisága magyar IgAN betegekben 55%, magyar egészségesekben 48,5%, a különbség betegekben nem volt statisztikailag szignifikáns.
- III. A NOD2 gén mutációit hordozó IgAN betegekben a betegség prognózisa rosszabb.
- IV. A selectin gének variációi magyar IgAN betegekben sem a betegség létrejöttével, sem annak prognózisával nem mutatnak kapcsolatot.
- V. A GPX-1 P197L és a CAT C-262T SNP-k nem mutatnak kapcsolatot az IgAN kórlefordulásával, de a metabolikus paraméterek közül összefüggést mutatnak a BMI-vel, a HDL koleszterinnel, illetve a húgysavval.
- VI. Az ACE I/D polimorfizmus betegekben nem mutatott kapcsolatot az IgAN létrejöttével vagy prognózisával.
- VII. Hipertóniás és normotenzív IgAN betegekben is gyakori a vérnyomás éjszakai csökkenésének elmaradása, ami kapcsolatot mutat a balkamra izomtömeg nagyságával és a diasztolés diszfunkció meglétével.
- VIII. Az ACE DD genotípusú IgAN betegekben a balkamra falai vastagabbak, mint az II genotípusú betegekben.

8. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ PUBLIKÁCIÓK

Eredeti közlemények

1. **Szelestei T**, Kovács T, Barta J, Nagy J: Éjszakai hypertonia, bal kamra hypertrophia és diasztolés funkciózavar IgA nephropathias betegekben *Magy Belorv Arch* 1998; 51: 23-9.
2. **Szelestei T**, Kovacs T, Barta J, Nagy J: Circadian blood pressure changes and cardiac abnormalities in IgA nephropathy. *Am J Nephrol* 1999; 19: 546-51.
3. **Szelestei T**, Bähring S, Kovács T, Vas T, Salamon C, Busjahn A, Luft FC, Nagy J: Association of a uteroglobin polymorphism with rate of progression in patients with IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2000; 36: 468-73.
4. **Szelestei T**, Bähring S, Kovács T, Vas T, Salamon Cs, Busjahn A, Luft FC, Nagy J: Uteroglobin gén polymorphismus és az IgA nephropathia progressziója *Hypertonia és Nephrológia* 2002; 6: 245-9.

Kongresszusi összefoglalók

1. **Szelestei T**, Barta J, Kovács T, Nagy J: Circadian blood pressure changes and left ventricular hypertrophy in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: A75.
2. **Szelestei T**, Barta J, Kovács T, Nagy J: Early cardiac abnormalities in normotensive and treated hypertensive IgA nephropathy patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: A77

3. **Szelestei T**, Vas T, Kovacs T, Nagy J: ACE inhibitor therapy, renal function and cardiac changes in IgA nephropathy: 32 months follow up. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: A67.
4. **Szelestei T**, Mo R, Aydin A, Dahm S, Busjahn A, Omvik P, Luft FC, Lund-Johansen P: Genetic variations and predisposition to essential hypertension: The Bergen Blood Pressure Study. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: A2542
5. **Szelestei T**, Vas T, Bähring S, Kovács T, Luft FC, Nagy J: NOD2 and the rate of progression in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2002; Suppl 1: T76
6. **Szelestei T**, Kovács T, Ghosh M, Vas T, Nagy J: Variants of selectin genes do not influence the development of IgA nephropathy in Hungarian patients.
10th International Symposium of IgA Nephropathy. 2004. Saint Etienne, Franciaország

Más témában megjelent könyvfejezet és közlemények

1. Nagy J, **Szelestei T**: Antiglomerulus basalis membran betegségek. In: Rosivall L, Kiss I (szerk): *Nephrologia. Elmélet és klinikum, dialysis, transplantatio*. Medintel Könyvkiadó, 2003; pp. 555-560.
2. **Szelestei T**, Kovács T, Magyarlaki T, Nagy J: Interstitial nephritis and retinitis pigmentosa. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2421.
3. Vas T, Kovács T, **Szelestei T**, Csiky B, Nagy J: A rövid és hosszú hatású antihypertensiv szerek összehasonlító vizsgálata IgA nephropathias betegekben. *Orv Hetil* 1999; 140: 1991-5.
4. Müller D, Ankermann T, Stephani U, Kirschstein M, **Szelestei T**, Luft FC, Willnow TE: Holoprosencephaly and low molecular weight proteinuria: the human homologue of murine megalin deficiency. *Am J Kidney Dis* 2001; 37: 624-8.

5. Busjahn A, Aydin A, Uhlmann R, Krasko C, Bähring S, **Szelestei T**, Feng Y, Dahm S, Sharma AM, Luft FC, Lang F: Serum- and glucocorticoid-regulated kinase (SGK1) gene and blood pressure. *Hypertension* 2002; 40: 256-60.
6. **Szelestei T**, Bähring S, Wagner Z, Aydin A, Molnár GA, Kocsis B, Nagy J, Wittmann I: Serum levels of L-arginine analogs and glutathione peroxidase and catalase gene variants in Type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetic Med*, 2005; 22: 356-7.
7. **Szelestei T**, Wagner Z, Molnár GA, Tamaskó M, Wagner L, Kocsis B, Markó L, Mohás M, Laczy B, Nagy J, Wittmann I: L-arginin-analógok szérumszintje, valamint a glutation-peroxidáz és kataláz gének variációi 2-es típusú cukorbetegekben. *Magy Belorv Arch.* 2005; 58: 7-10.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm Prof. Dr. Nagy Juditnak, hogy munkatársának fogadott és nehezebb időszakaimban is bízott bennem. Köszönöm, hogy az IgA nephropathia általa megkezdett és nagy lelkesedéssel vezetett vizsgálatában részt vehetek. Köszönöm, hogy igazi mesterként karolt fel bennünket, jelölt ki nekünk irányt, adott cikkeket a kezünkbe és mutatott be világnagyságoknak. Köszönöm, hogy jó hangulatú klinikát teremtett, hogy nagyságával nem nyomott agyon bennünket, hogy kezdőként is kíváncsi volt a véleményünkre. Köszönöm, hogy „problémás” betegeinkkel bármikor mehetünk hozzá segítségért, és hogy nem akar dönteni helyettünk. Köszönöm neki a betegágnál és a „tudományban” is az egyszerű, logikus gondolkodást. Köszönöm, hogy elküldött Luft Professzorhoz Berlinbe.

Köszönöm utódjának, dr. Wittmann Istvánnak, hogy a nephrológia mellett egy új szakmát, a diabetológiát tanulhattam tőle. Köszönöm, hogy az antioxidáns enzimekkel való foglalkozásra biztatott és a gondozott cukorbetegeit vizsgálhattam.

Köszönöm másik témavezetőmnek, dr. Kovács Tibornak a barátságát, a példáját és a kitartó és sokrétű segítségét.

Köszönöm a legendás Prof. Dr. Friedrich C. Luftnak, hogy mellette lehettem. Ha mindenből százszor jobb lennék, talán hasonlítanék rá.

Köszönöm dr. Sylvia Bähringnek, hogy tanított a genetikai vizsgálatok alapjaira. Köszönöm, hogy a nagy reményű - de kudarccal végződő - kutatásokban vigasztalt és biztatott. Köszönöm a berlini munkacsoportból Atakan Aydin, Hussam Al-Kateb, Astrid Mühl, és Regina Uhlmann segítségét.

Köszönöm dr. Vas Tibornak a statisztikai számításokat és dr. Meenakshi Ghoshnak a selectin polimorfizmusok genotipizálását.

Köszönöm dr. Barta Józsefnek, hogy az echocardiographiára tanított, és az általa megkezdett munkát folytathattam.

Köszönöm dr. Degrell Péter, dr. Pintér István, dr. Sebők Judit, dr. Wagner László, dr. Wagner Zoltán nagytekintélyű nephrológus barátaimnak, hogy naponta tanulhatok tőlük és otthon érezhetem magam közöttük.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Adler S, Brady HR: Cell adhesion molecules and the glomerulopathies. *Am J Med.* 1999; 107:371-86.
2. Allen AC, Feehally J: IgA1 glycosylation and the pathogenesis of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 2000; 35:551-6.
3. Amore A, Coppo R, Roccatello D, Piccoli G, Mazzucco G, Gomez-Chiarri M, Lamm ME, Emancipator SN: Experimental IgA nephropathy secondary to hepatocellular injury induced by dietary deficiencies and heavy alcohol intake. *Lab Invest.* 1994; 70:68-77.
4. Berge KE, Berg K: No effect of insertion/deletion polymorphism at the ACE locus on normal blood pressure level or variability. *Clin Genet.* 1994; 45:169-74.
5. Berger J, Hinglais N: Les depots intercapillaires d'IgA-IgG. *J Urol Nephrol (Paris).* 1968; 74:694-5.
6. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, Smieja M, Cambien F, Meyer J, Lackner KJ; AtheroGene Investigators: Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2003; 349: 1605-13.
7. Chan NN, Chan JC: Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a potential link between endothelial dysfunction and cardiovascular diseases in insulin resistance syndrome? *Diabetologia.* 2002; 45:1609-16.
8. Chen X, Liu S, Ye Y, Xu Q: Association of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism with the clinico-pathological manifestations in immunoglobulin A nephropathy patients. *Chin Med J (Engl).* 1997; 110:526-9.

9. Collin P, Syrjanen J, Partanen J, Pasternack A, Kaukinen K, Mustonen J: Celiac disease and HLA DQ in patients with IgA nephropathy. *Am J Gastroenterol.* 2002; 97:2572-6.
10. Coppo R, Basolo B, Rollino C, Roccatello D, Martina G, Amore A, Piccoli G: Dietary gluten and primary IgA nephropathy. *N Engl J Med.* 1986; 315:1167-8.
11. Coppo R, Chiesa M, Cirina P, Peruzzi L, Amore A; European IgACE Study Group: In human IgA nephropathy uteroglobin does not play the role inferred from transgenic mice. *Am J Kidney Dis.* 2002; 40:495-503.
12. Covic A, Goldsmith DJA, Georgescu GC, Ackrill P: Relationships between blood pressure variability and left ventricular parameters in hemodialysis and renal transplant patients. *Nephrology* 1998; 4:87-94.
13. D'Amico G: The commonest glomerulonephritis in the world: IgA nephropathy. *Quart J Med.* 1987; 64:709-727.
14. D'Amico G, Ragni A, Gandini E, Fellin G: Typical and atypical natural history of IgA nephropathy in adult patients. *Contrib Nephrol.* 1993; 104:6-13.
15. Daniels SE, Bhattacharya S, James A, Leaves NI, Young A, Hill MR, Faux JA, Ryan G, le Souef PN, Lathrop GM, Musk AW, Cookson WO: A genome-wide search for quantitative trait loci underlying asthma. *Nature.* 1996; 383:247-50.
16. De Fijter JW, Daha MR, Schroeijers WE, van Es LA, Van Kooten C: Increased IL-10 production by stimulated whole blood cultures in primary IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol.* 1998; 111:429-34.
17. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, Cardoso C, Noel LH, Guerin AP, London GM, Jungers P: Early prediction of IgA nephropathy progression: proteinuria and AOPP are strong prognostic markers. *Kidney Int.* 2004; 66:1606-12.

18. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, Reichek N: Echocardiographic assesment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol.* 1986; 57:450-8.
19. Devereux RB, Pickering TG, Harshfield GA, Kleinert HD, Denby L, Clark L, Pregibon D, Jason M, Kleinert B, Borer JS, Laragh JH: Left ventricular hypertrophy in patients with hypertension: importance of blood pressure response to regulary recurring stress. *Circulation.* 1983; 68:470-6.
20. Drayer JIM, Weber MA, DeYoung JL: BP as a determinant of cardiac left ventricular muscle mass. *Arch Intern Med.*1983; 143:90-2.
21. Ecdet T, McFann KK, Raynolds MV, Schrier RW: No effect of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on disease progression and left ventricular hypertrophy in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Nephrol.* 2003; 23: 466-70.
22. Fagard R, Staessen JA, Thijs L: The relationships between left ventricular mass and daytime and night-time blood pressures: a meta-analysis of comperative studies. *J Hypertens.* 1995; 13:823-9.
23. Forsberg L, de Faire U, Morgenstern R: Low yield of polymorphisms from EST blast searching: analysis of genes related to oxidative stress and verification of the P197L polymorphism in GPX1. *Hum Mutat.* 1999; 13:294–300.
24. Forsberg L, Lyrenas L, de Faire U, Morgenstern R: A common functional C-T substitution polymorphism in the promoter region of the human catalase gene influences transcription factor binding, reporter gene transcription and is correlated to blood catalase levels. *Free Radic Biol Med.* 2001; 30:500-5.
25. Galla JU: IgA nephropathy. *Kidney Int.* 1995; 47:377
26. Gharavi AG, Yan Y, Scolari F, Schena FP, Frasca GM, Ghiggeri GM, Cooper K,

- Amoroso A, Viola BF, Battini G, Caridi G, Canova C, Farhi A, Subramanian V, Nelson-Williams C, Woodford S, Julian BA, Wyatt RJ, Lifton RP: IgA nephropathy, the most common cause of glomerulonephritis, is linked to 6q22-23. *Nat Genet.* 2000; 26:354-7.
27. Goshen E, Livne A, Nagy J, Sarov I, Shoenfeld Y: Antinuclear autoantibodies in sera of patients with IgA nephropathy. *Nephron.* 1990; 55:33-6.
28. Harden PN, Geddes C, Rowe PA, McIlroy JH, Boulton-Jones M, Rodger RS, Junor BJ, Briggs JD, Connell JM, Jardine AG: Polymorphisms in angiotensin-converting-enzyme gene and progression of IgA nephropathy. *Lancet.* 1995; 345:1540-2.
29. Haugen E, Nath KA: The involvement of oxidative stress in the progression of renal injury. *Blood Purif.* 1999; 17:58-65.
30. Hayashi T, Shoji T, Kitamura E: Circadian blood pressure pattern in patients with chronic glomerulonephritis. *Nippon Jinzo Gakkai Shi.* 1993; 35:233-7.
31. Hilgendorff A, Muth H, Parviz B, Staubitz A, Haberbosch W, Tillmanns H, Holschermann H: Statins differ in their ability to block NF-kappaB activation in human blood monocytes. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2003; 41:397-401.
32. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G: Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature.* 2001; 411:599-603.
33. Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugerie L, Naom I, Dupas JL, Van Gossum A, Orholm M, Bonaiti-Pellie C, Weissenbach J, Mathew CG, Lennard-Jones JE, Cortot A, Colombel JF, Thomas G: Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature.* 1996; 379:821-3.

34. Hunley TE, Julian BA, Phillips JA 3rd, Summar ML, Yoshida H, Horn RG, Brown NJ, Fogo A, Ichikawa I, Kon V: Angiotensin converting enzyme gene polymorphism: potential silencer motif and impact on progression in IgA nephropathy. *Kidney Int.* 1996; 49:571-7.
35. Jennette JC, Wall SD, Wilkman AS. Low incidence of IgA nephropathy in blacks. *Kidney Int.* 1985; 28:944-50.
36. Jiang JL, Li NS, Li YJ, Deng HW: Probucol preserves endothelial function by reduction of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *Br J Pharmacol* 2002; 135:1175–82.
37. Johnstone LM, Jones CL, Grigg LE, Wilkinson JL, Walker RG, Powell HR: Left ventricular abnormalities in children, adolescent and young adults with renal disease. *Kidney Int.* 1996. 50:998-1006.
38. Julian BA, Quiggins PA, Thompson JS, Woodford SY, Gleason K, Wyatt RJ: Familial IgA nephropathy. Evidence of an inherited mechanism of disease. *N Engl J Med.* 1985; 312:202-8.
39. Julian BA, Waldo FB, Rifai A, Mestecky J: IgA nephropathy, the most common glomerulonephritis worldwide: a neglected disease in the United States? *Am J Med.* 1988; 84:129-132.
40. Julian BA, Woodford SY, Baehler RW, McMorrow RG, Wyatt RJ: Familial clustering and immunogenetic aspects of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 1988; 12:366-70.
41. Kannel WB, Gordon T, Castelli WP, Margolis JR: Electrocardiographic left ventricular hypertrophy and risk of coronary heart disease: the Framingham Study. *Ann Intern Med.* 1970; 72:813-22.
42. Kennel-De March A, Bene MC, Renoult E, Kessler M, Faure GC, Kolopp-Sarda

- MN: Enhanced expression of L-selectin on peripheral blood lymphocytes from patients with IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol.* 1999; 115:542–6.
43. Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI): K/DOQI clinical practice guidelines on hypertension and antihypertensive agents in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis.* 2004; 43(Suppl 1):S1-290.
 44. Kim YS, Kang D, Kwon DY, Park WY, Kim H, Lee DS, Lim CS, Han JS, Kim S, Lee JS: Uteroglobin gene polymorphisms affect the progression of immunoglobulin A nephropathy by modulating the level of uteroglobin expression. *Pharmacogenetics.* 2001; 11:299-305.
 45. Klahr S, Morrissey J: Progression of chronic renal disease. *Am J Kidney Dis.* 2003; 41(3 Suppl 1):S3-7.
 46. Kovacs T, Kun L, Schmelzner M, Wagner L, Davin JC, Nagy J: Do intestinal hyperpermeability and the related food antigens play a role in the progression of IgA nephropathy? I. Study of intestinal permeability. *Am J Nephrol.* 1996; 16:500-5.
 47. Lai KN, Wong KC, Li PK, Lai CK, Chan CH, Lui SF, Chui YL, Haskard DO: Circulating leukocyte-endothelial adhesion molecules in IgA nephropathy. *Nephron.* 1994; 68:294-300.
 48. Laing IA, Goldblatt J, Eber E, Hayden CM, Rye PJ, Gibson NA, Palmer LJ, Burton PR, Le Souëf PN: A polymorphism of the CC15 gene is associated with an increased risk of asthma. *J Med Genet.* 1998; 35:463-7.
 49. Lau YK, Woo KT, Choong HL, Zhao Y, Tan HB, Cheung W, Yap HK: ACE gene polymorphism and disease progression of IgA nephropathy in Asians in Singapore. *Nephron.* 2002; 91:499-503.
 50. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP: Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham heart

- study. *N Engl J Med.* 1990; 322: 1561-6.
51. Levy D, Savage DD, Garrison RJ: Echocardiographic criteria for left ventricular hypertrophy: The Framingham Heart Study. *Am J Cardiol.* 1987; 59:956-62.
 52. Levy M, Berger J: Worldwide perspective of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 1988; 12:340-347.
 53. Li YJ, Du Y, Li CX, Guo H, Leung JC, Lam MF, Yang N, Huang F, Chen Y, Fang JQ, Maxwell PH, Lai KN, Wang Y: Family-based association study showing that immunoglobulin A nephropathy is associated with the polymorphisms 2093C and 2180T in the 3' untranslated region of the *Megsin* gene. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15:1739-43.
 54. Magyarlaki T, Kiss B, Buzogany I, Fazekas A, Sukosd F, Nagy J: Renal cell carcinoma and paraneoplastic IgA nephropathy. *Nephron.* 1999; 82:127-30.
 55. Maisonneuve P, Agodoa L, Gellert R, Stewart JH, Buccianti G, Lowenfels AB, Wolfe RA, Jones E, Disney AP, Briggs D, McCredie M, Boyle Pet: Distribution of primary renal diseases leading to end-stage renal failure in the United States, Europe, and Australia/New Zealand: results from an international comparative study. *Am J Kidney Dis.* 2000; 35:157-65.
 56. Marabotti C, Genovesi-Ebert A, Palombo C, Giaconi S, Ghione S: Casual, ambulatory and stress blood pressure: relationship with left ventricular mass and filling. *Int J Card.* 1991; 31:89-96.
 57. Martinez-Vea A, Valero FA, Bardaji A, Gutierrez C, Broch M, Garcia C, Richart C, Oliver JA: Left ventricular hypertrophy in hypertensive patients with autosomal dominant polycystic kidney disease: Influence of blood pressure and humoral and neurohormonal factors. *Am J Nephrol* 2000; 20:193-200.
 58. Maruyama K, Yoshida M, Nishio H, Shirakawa T, Kawamura T, Tanaka R,

- Nakamura H, Iijima K, Yoshikawa N: Polymorphisms of renin-angiotensin system genes in childhood IgA nephropathy. *Pediatr Nephrol.* 2001; 16:350-5.
59. Matsunaga A, Numakura C, Kawakami T, Itoh Y, Kawabata I, Masakane I, Suzuki T, Suzuki M, Goto T, Itoh K, Hayasaka K: Association of the uteroglobin gene polymorphism with IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 2002; 39:36-41.
60. McCallum D, Smith L, Harley F, Yiu V: IgA nephropathy and thin basement membrane disease in association with Crohn disease. *Pediatr Nephrol.* 1997; 11:637-40.
61. McGregor DO, Olsson C, Lynn KL: Autonomic dysfunction and ambulatory blood pressure in renal transplant recipients. *Transplantation* 2001; 71:1277-81.
62. McVeigh GE, Brennan GM, Johnston GD, McDermott BJ, McGrath LT, Henry WR, Andrews JW, Hayes JR: Impaired endothelium-dependent and independent vasodilatation in patients with type 2 [non-insulin-dependent] diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1992; 35:771-6.
63. Middeke M, Klüglich M, Holzgreve H: Circadian blood pressure rhythm in primary and secondary hypertension. *Chronobiol Int.* 1991; 8: 451-453.
64. Miyata T, Inagi R, Nangaku M, Imasawa T, Sato M, Izuhara Y, Suzuki D, Yoshino A, Onogi H, Kimura M, Sugiyama S, Kurokawa K: Overexpression of the serpin megsin induces progressive mesangial cell proliferation and expansion. *J Clin Invest.* 2002; 109:585-93.
65. Miyata T, Nangaku M, Suzuki D, Inagi R, Uragami K, Sakai H, Okubo K, Kurokawa K: A mesangium-predominant gene, megsin, is a new serpin upregulated in IgA nephropathy. *J Clin Invest.* 1998; 120:828-36.
66. Morduchowicz G, Zabłudowski J, Wittenberg C, Winkler J, Boner G: Ambulatory blood pressure monitoring assessment of blood pressure control in hypertension

- associated with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 1993; 8:1169-71.
67. Mukherjee AB, Kundu GC, Matile-Selvaggi G, Yuan C-J, Mandal AK, Chattopadhyay S, Zheng F, Pattabiraman N, Zhang Z: Uteroglobin: A novel cytokine? *Cell Mol Life Sci*. 1999; 55:771-87.
 68. Nagy J, Ambrus M, Paal M, Trinn C, Burger T: Cryoglobulinaemia and cryofibrinogenaemia in IgA nephropathy: a follow-up study. *Nephron*. 1987; 46:337-42.
 69. Nagy J, Brasch H, Deak G, Samik J, Sule T, Trinn C, Burger T: IgA glomerulonephritis: light microscopic and immunohistological studies. *Acta Morphol Hung*. 1984; 32:143-54.
 70. Nagy J, Kovacs T, Wittmann I: Renal protection in IgA nephropathy requires strict blood pressure control. *Nephrol Dial Transplant*. 2005; 20: 1533-9.
 71. Nagy J, Scott H, Brandtzaeg P: Antibodies to dietary antigens in IgA nephropathy. *Clin Nephrol*. 1988; 29:275-9.
 72. Nagy J, Uj M, Szucs G, Trinn C, Burger T: Herpes virus antigens and antibodies in kidney biopsies and sera of IgA glomerulonephritic patients. *Clin Nephrol*. 1984; 21:259-62.
 73. Nakano S, Fukuda M, Hotta F, Ito T, Ishii T, Kitazawa M, Nishizawa M, Kigoshi T, Uchida K: Reversed circadian blood pressure rhythm is associated with occurrences of both fatal and nonfatal vascular events in NIDDM subjects. *Diabetes* 1998; 47:1501-6.
 74. Narita I, Saito N, Goto S, Jin S, Omori K, Sakatsume M, Gejyo F: Role of uteroglobin G38A polymorphism in the progression of IgA nephropathy in Japanese patients. *Kidney Int*. 2002; 61:1853-8.
 75. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran

- T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nunez G, Cho JH: A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001; 411:603-6.
76. Onogi H, Inagi R, Nangaku M, Ueda Y, Miyata T, Kurokawa K: Accelerated glomerular injury in hemi-nephrectomized transgenic mice of mesangial cell-predominant serpin, megsin. *Nephron Exp Nephrol*. 2004; 96:127-33.
 77. Osono E, Kurihara S, Hayama N, Sakurai Y, Ohwada K, Onoda N, Takeuchi M, Tomizawa T, Komaba Y, Hashimoto K, Matsunobu S, Yoneshima H, Iino Y: Insertion/deletion polymorphism in intron 16 of the ACE gene and left ventricular hypertrophy in patients with end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis*. 1998; 32: 725-30.
 78. Palatini P, Penzo M, Racioppa A, Zugno E, Guzzardi G, Anaclerio M, Pessina AC: Clinical relevance of nighttime blood pressure and daytime blood pressure variability. *Arch Intern Med*. 1992; 152:1855-60.
 79. Polonia J, Martins L, Bravo-Faria D, Macedo F, Coutinho J, Simoes L: Higher left ventricle mass in normotensives with exaggerated blood pressure responses to exercise associated with higher ambulatory blood pressure load and sympathetic activity. *Eur Heart J*. 1992; 13:(Suppl A) 30-6.
 80. Post WS, Larson MG, Levy D: Impact of left ventricular structure on the incidence of hypertension. The Framingham Heart Study. *Circulation*. 1994; 90:179-85.
 81. Roy-Chaudhury P, Wu B, King G, Campbell M, Macleod AM, Haites NE, Simpson JG, Power DA: Adhesion molecule interactions in human glomerulonephritis: importance of the tubulointerstitium. *Kidney Int*. 1996; 49:127-34.
 82. Sabatier JC, Ducret F, Colon S, Genin C, Berthoux FC: Intercapillary glomerulonephritis with IgA deposits in 2 HLA identical brothers. *J Urol Nephrol*

(Paris). 1978; 84:672-5.

83. Saeed M, Saleheen D, Siddiqui S, Khan A, Butt ZA, Frossard PM: Association of angiotensin converting enzyme gene polymorphisms with left ventricular hypertrophy. *Hypertens Res.* 2005; 28: 345-9.
84. Savage DD, Garrison RJ, Castelli WP, Kannel WB, Anderson SJ, Feinleib M: Echocardiographic left ventricular hypertrophy in the general population is associated with increased 2-year mortality, independently of standard coronary risk factors - the Framingham Study (abstract). *AHA Council Cardiovasc Epidemiol Newslett.* 1985; 37:33.
85. Schena FP, Cerullo G, Rossini M, Lanzilotta SG, D'Altri C, Manno C: Increased risk of end-stage renal disease in familial IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13:453-60.
86. Schena FP, D'Altri C, Cerullo G, Manno C, Gesualdo L: ACE gene polymorphism and IgA nephropathy: an ethnically homogeneous study and a meta-analysis. *Kidney Int.* 2001; 60:732-40.
87. Scholl U, Wastl U, Risler T, Braun N, Grabensee B, Heering P, Schollmeyer P, Zauner I, Stein G, Funfstuck R, Keller F: The "point of no return" and the rate of progression in the natural history of IgA nephritis. *Clin Nephrol.* 1999; 52:285-92.
88. Schunkert H, Hense HW, Holmer SR, Stender M, Perz S, Keil U, Lorell BH, Riegger GA: Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med.* 1994; 330:1634-8.
89. Scolari F, Amoroso A, Savoldi S, Mazzola G, Prati E, Valzorio B, Viola BF, Nicola B, Movilli E, Sandrini M, Campanini M, Maiorca R: Familial clustering of IgA nephropathy: further evidence in an Italian population. *Am J Kidney Dis.* 1999; 33:857-65.

90. Seedat YK, Nathoo BC, Parag KB, Naiker IP, Ramsaroop R: IgA nephropathy in blacks and Indians of Natal. *Nephron*. 1988; 50:137-41.
91. Smith SM, Tung KS: Incidence of IgA-related nephritides in American Indians in New Mexico. *Hum Pathol*. 1985; 16:181-4.
92. Stefanski A, Schmidt KG, Waldherr R, Ritz E: Early increase in blood pressure and diastolic left ventricular malfunction in patients with glomerulonephritis. *Kidney Int*. 1996; 50:1321-6.
93. Stratta P, Canavese C, Ciccone G, Barolo S, Dall'Omo AM, Fasano ME, Mazzola G, Berutti S, Fop F, Curtioni ES, Piccoli G: Angiotensin I-converting enzyme genotype significantly affects progression of IgA glomerulonephritis in an Italian population. *Am J Kidney Dis*. 1999; 33:1071-9.
94. Stuhlinger MC, Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin TL, Cooke JP, Reaven GM, Tsao PS: Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA*. 2002; 287:1420–6.
95. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR Jr, Lerman A: Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation*. 2000; 101:948–54.
96. Suzuki D, Miyata T, Nangaku M, Takano H, Saotome N, Toyoda M, Mori Y, Zhang S-Y, Inagi R, Endoh M, Kurokawa K, Sakai H: Expression of megsin in mRNA, a novel mesangium-predominant gene, in the renal tissues of various glomerular diseases. *J Am Soc Nephrol*. 1999; 10:2606-13.
97. Suzuki S, Suzuki Y, Kobayashi Y, Harada T, Kawamura T, Yoshida H, Tomino Y: Insertion/deletion polymorphism in ACE gene is not associated with renal progression in Japanese patients with IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2000; 35:896-903.

98. Syrjanen J, Huang XH, Mustonen J, Koivula T, Lehtimäki T, Pasternack A: Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and prognosis of IgA nephropathy. *Nephron*. 2000; 86:115-21.
99. Szelestei T, Bähring S, Wagner Z, Aydin A, Molnár GA, Kocsis B, Nagy J, Wittmann I: Serum levels of L-arginine analogs and glutathione peroxidase and catalase gene variants in Type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetic Med*, 2005; 22:356-7
100. Takei T, Hiraoka M, Nitta K, Uchida K, Deushi M, Yu T, Nitta N, Tsuchiya K, Yumura W, Nihei H, Nakamura Y, Yoshida M: Functional impact of IgA nephropathy-associated selectin gene haplotype on leukocyte-endothelial interaction. *Immunogenetics*. 2006; 58: 355-61.
101. Takei T, Iida A, Nitta K, Tanaka T, Ohnishi Y, Yamada R, Maeda S, Tsunoda T, Takeoka S, Ito K, Honda K, Uchida K, Tsuchiya K, Suzuki Y, Fujioka T, Ujiie T, Nagane Y, Miyano S, Narita I, Gejyo F, Nihei H, Nakamura Y: Association between single-nucleotide polymorphisms in selectin genes and immunoglobulin A nephropathy. *Am J Hum Genet*. 2002; 70:781-6.
102. Takemura T, Okada M, Yagi K, Kuwajima H, Yanagida H: An adolescent with IgA nephropathy and Crohn disease: pathogenetic implications. *Pediatr Nephrol*. 2002; 17:863-6.
103. Tolckoff-Rubin NE, Cosimi AB, Fuller T, Rublin RH, Colvin RB: IgA nephropathy in HLA-identical siblings. *Transplantation*. 1978; 26:430-3.
104. Turi S, Nemeth I, Torkos A, Saghy L, Varga I, Matkovics B, Nagy J: Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in glomerular diseases. *Free Radic Biol Med*. 1997; 22:161-8.
105. Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, Floderus-Myrhed B: Ulcerative colitis and Crohn's

- disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins: a study of heritability and the influence of smoking. *Gut* 1988; 29:990-6.
106. van den Wall Bake AW, Daha MR, Evers-Schouten J, van Es LA: Serum IgA and the production of IgA by peripheral blood and bone marrow lymphocytes in patients with primary IgA nephropathy: evidence for the bone marrow as the source of mesangial IgA. *Am J Kidney Dis.* 1988; 12:410-4.
 107. Van Heel DA, McGovern DP, Jewell DP: Crohn's disease: genetic susceptibility, bacteria, and innate immunity. *Lancet.* 2001; 357:1902-4.
 108. Vas T, Wagner Z, Jenei V, Varga Z, Kovacs T, Wittmann I, Schinzel R, Balla G, Balla J, Heidland A, Nagy J: Oxidative stress and non-enzymatic glycation in IgA nephropathy. *Clin Nephrol.* 2005; 64:343-51.
 109. Vaziri ND: Roles of oxidative stress and antioxidant therapy in chronic kidney disease and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2004; 13:93-9.
 110. Verdecchia P, Porcellati C, Borgioni C, Ciucci A, Battistelli M, Guerrieri M, Gatteschi M, Zampi I, Santucci A, Santucci C, Reboldi G: Ambulatory blood pressure An independent predictor of prognosis in essential hypertension. *Hypertension.* 1994; 24:793-801.
 111. Verdecchia P, Schillaci G, Boldrini F, Guerrieri M, Porcellati C: Sex, cardiac hypertrophy and diurnal blood pressure variations in essential hypertension. *J Hypertens.* 1992; 10:683-92.
 112. Wada J, Sugiyama H, Makino H: Pathogenesis of IgA nephropathy. *Semin Nephrol.* 2003; 23:556-63.
 113. Wang JS, Ger LP, Tseng HH: Expression of glomerular antioxidant enzymes in human glomerulonephritis. *Nephron.* 1997; 76:32-8.
 114. Wang LN, Fukui M, Shou I, Yaguchi Y, Funabiki K, Horikoshi S, Shirato I, Tomino

- Y: Detection of antioxidant enzyme activities in renal tissues of early stage IgA nephropathy in ddY mice. *J Clin Lab Anal.* 1996; 10:394-8.
115. de Werra P, Morel-Maroger L, Leroux-Robert C, Richet G: Glomerulonephritis with diffuse IgA deposits in the mesangium. Study of 96 adult cases. *Schweiz Med Wochenschr.* 1973; 103:761-8.
116. Williams SB, Cusco JA, Roddy M-A, Johnstone MT, Creager MA: Impaired nitric oxide-mediated vasodilatation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol.* 1996; 27:567-74.
117. Wyatt RJ, Rivas ML, Julian BA. Regionalization in hereditary IgA nephropathy. *Am J Hum Genet.* 1987; 41:36-50.
118. Yoshida H, Mitarai T, Kawamura T, Kitajima T, Miyazaki Y, Nagasawa R, Kawaguchi Y, Kubo H, Ichikawa I, Sakai O: Role of the deletion of polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in the progression and therapeutic responsiveness of IgA nephropathy. *J Clin Invest.* 1995; 96:2162-9.
119. Zhang Z, Kundu GC, Yuan CJ, Ward JM, Lee EJ, DeMayo F, Westphal H, Mukherjee AB: Severe fibronectin-deposit renal glomerular disease in mice lacking uteroglobin. *Science.* 1997; 276:1408-12.
120. Zheng F, Kundu GC, Zhang Z, Ward J, DeMayo F, Mukherjee AB: Uteroglobin is essential in preventing immunoglobulin A nephropathy in mice. *Nat Med.* 1999; 5:1018-25.