

**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, 2007

# 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 egyéneknél. IgAN-ban azonban ilyen jellegű vizsgálatokat még nem végeztek eredményeink közzételezése előtt. Bár a legtöbb esetben az IgAN nem örökítő betegség, genetikai tényezőknek hatása lehet mind a betegség létrejöttére, mind a kórlefolására. Olyan gének variációit vizsgáltuk, amelyekről feltételeztük, hogy szerepük lehet az IgAN etiopatogenezisében vagy prognózisában.

Az uteroglobulin fibronectinhez kötődik, így megakadályozhatja az IgAN-ban a káros 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 intracelluláris 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 kórlefolyását.

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 kórlefolyása kedvezőbb. Hipotézisünket nem tudtuk megerősíteni.

A renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer aktivációja kedvezőtlen az IgAN lefolyására, 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 kórlefolyásával.

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

## **2. BEVEZETÉS**

### **Genetikai tényezők szerepe IgA nephropathiában**

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
- egyetértő ikerpárokban IgAN egyidejű létrejöttét észlelték
- IgAN betegek családtagjaiban gyakrabban fordul elő haematuria vagy proteinuria
- számos helyen észlelték az IgAN családi halmozódását.

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

### **Cardiovascularis betegségek IgA nephropathiában**

A krónikus vesebetegek közel 50%-a meghal cardiovascularis betegségben mielőtt végstádiumú veseelégtelenségük kialakulna. A cardiovascularis betegségek gyakoriságát és jellegzetességeit azonban mindeztideig 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) egerekben az IgAN patológiai képe fejlődik ki. Az uteroglobulin hiányos egerek veséjében fibronectin-, kollagén- és IgA depozitumok rakódnak le. Az uteroglobinnak nagy az affinitása a fibronectinhez, azzal uteroglobulin-fibronectin heteromert képez, megakadályozva így a kollagén-fibronectin, IgA<sub>1</sub>-fibronectin interakciót, ami szükséges a kóros depozitumok lerakódásához. Az uteroglobulin foszfolipáz A<sub>2</sub>-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 kötőfehérjeként szolgál. Azt a hipotézist vizsgáltuk, hogy az uteroglobulin G38A polimorfizmusa kapcsolatot mutat az IgAN kialakulásával vagy kórlefolyásával.

#### **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 leírt 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 megin (mesangial cell-predominant serpin) nevet adták neki. IgAN betegek mesangiális sejtjeiben a megin nagyobb mértékben expresszálódik, mint egészségesek vagy más glomerulonephritisben szenvedő betegek mesangiális sejtjeiben. A megin transzgen egértörzsekben a mesangiális sejtek proliferációja és a mesangiális mátrix expressziója jött létre, amit immunglobulin depozíció kísér.

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

### 3.3. NOD2

Az IgAN és a Crohn betegség időnként társulnak egymással, ilyenkor szekunder IgAN-ról beszélünk. A Crohn betegség egy gyulladásoos bélbetegség, ami több hasonlóságot is mutat az IgAN-val:

- „autoimmunszerű” betegségek, amelyekben a steroid kezelés hatásos lehet
- bakteriális infekciókat követően jelentkeznek, melyek relapsust is kiválthatnak
- férfiakban gyakoribbak
- IgAN-ban a tonsillectomia, Crohn betegségben az appendectomia esetleges jótékony hatását vetették fel.

Több munkacsoport is leírta a Crohn betegség asszociációját a NOD2 gén mutációival. A NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2) kizárólag a monocytákban expresszálódik, a lipopoliszacharid (LPS) intracelluláris receptora, ami jelátvivőként a nucleáris faktor kappa-B (NFκB) aktivációjához és így gyulladáshoz vezet.

Az NFκB aktivációjának nagy szerepe van a vesebetegségek progressziójában is. 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.

Azt a hipotézist vizsgáltuk, hogy a - Crohn betegségben gyakrabban előforduló - NOD2 mutációknak az IgAN kialakulásában vagy kórlefolyásában 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. 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. 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 kapcsolatlanul öröklődnek (linkage disequilibrium). Az E-selectinben

(SELE) 2 SNP és az L-selectinben (SELL) 6 SNP asszociációt mutatott egy japán vizsgálatban az IgAN-val, még erősebb összefüggést kaptak, ha 3 SNP-ből képzett haplotípusokat vizsgálták.

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**

Korábbi vizsgálatok az oxidatív stressznek a szerepét vetették fel az IgAN keletkezésében és progressziójában.

A glutation-peroxidázok (GPX) redukálják a lipid és a nem lipid hydroperoxidokat, miközben két molekula glutationt oxidálnak. A GPX-1-nek egyetlen gyakori polimorfizmusa van: C593T, ami a 197. aminosav prolin/leucin (P197L) cseréjéhez vezet.

Súlyos oxidatív stressz esetén a kataláznak (CAT) van a legnagyobb szerepe a sejtek védelmében. A CAT minden ismert élőlényben megtalálható enzim, ami a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-t H<sub>2</sub>O-ra és O<sub>2</sub>-re bontja. A kataláz gén (CAT) promóterének működését befolyásoló C/T szubsztitúciót írták le (C-262T). A gén expressziója T allél esetén 50%-kal nagyobb, mint a C allél mellett.

Korábbi, 2-es típusú cukorbetegségben 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. A metabolikus szindróma előfordulása IgAN-ban is gyakori.

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 illetve az oxidatív stressz paraméterei 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 a RAS gátlói IgAN-ban csökkentik a proteinuriát és lassítják a progressziót. 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.

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. 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.

Krónikus GN-ben gyakran már a betegség korai fázisában emelkedik a vérnyomás, amelynek jellegzetessége az éjszakai vérnyomáscsökkenés elmaradása. Gyakori a balkamra hypertrophia- és diasztolés funkciózavar kialakulása is.

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.

### **3.6.3. Az ACE I/D polimorfizmusa és a balkamra izomtömege**

Korábbi vizsgálatok azt mutatták, hogy az ACE gén I/D polimorfizmusa nincs kapcsolatban a vérnyomás értékével, viszont DD genotípus mellett gyakoribb a balkamra hypertrophia essentialis hypertóniában. A már vesepótló kezelésre szoruló uraemiás betegekben is a DD genotípus mellett gyakoribb a balkamra hypertrophia, míg polycystás vesebetegekben ez az összefüggés nem figyelhető meg.

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, Klinikai Központ II. sz. Belgyógyászati Klinikáján gondozzuk. A diagnózist minden esetben vesebiopsziával 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 betegek intézetünkben egységes kezelést kaptak. Törekedtünk a vérnyomás diétás és gyógyszeres normalizálására, amit majdnem minden esetben ACE gátlóval kezdtünk. Immunoszuppresszív szert csak nagyon ritkán, súlyos proteinuria esetén kaptak a betegek. A progresszió vizsgálata azoknál a betegeknél történt, akiket már legalább 3 éve követtünk.

Az egészséges önkéntesek etnikailag hasonlóak voltak a betegekhez.

### **4.2. Genotipizálás**

A gének vizsgált variációit tartalmazó szakaszait polimeráz lánc reakcióval amplifikáltuk. Genotipizáláshoz két módszert használtunk:

- Restrikciós fragment hossz polimorfizmus (RFLP)
- Miniszekvenálás

### **4.3. Ambuláns vérnyomás monitorozás (ABPM)**

A betegek vérnyomását 24 órán át monitoroztuk a hordozható, oszcillometriás elven működő Meditech ABPM vérnyomás monitorral.

### **4.4. Echocardiográfia**

A vérnyomás monitorozással közel egyidőben szívultrahang vizsgálatot végeztünk ATL Ultramark9 HDI készülékkel. A balkamra izomtömeget és az izomtömeg indexet a Penn konvenció szerint számoltuk ki:  $LVM=1,04[(IVS + EDD + PW)^3 - EDD^3]-13,6 g$

A diasztolés funkció zavarát a mitrális E hullám csökkenése, az A hullám növekedése és a decelerációs idő (DT) megnyúlása alapján értékeltük.

#### **4.6. Statisztikai analízis**

A statisztikai elemzést SPSS programmal végeztük (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL). Statisztikailag szignifikánsnak tekintettünk egy különbséget, ha  $p < 0,05$ . 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**

A GG genotípus szignifikánsan nagyobb arányban fordult elő a progrediáló IgAN betegekben, mint azokban akiknél nem romlott a vesefunkció (OR 3.5;  $p < 0,006$ ). A G allél is gyakrabban fordult elő a progressziót mutató betegekben (OR 2.6;  $p < 0,009$ ).

A progresszió mértékét jelző 1/creatinin egyenes hétszer meredekebb volt a GG genotípusú betegekben, mint az AG és AA genotípusú betegekben, de a különbség statisztikailag nem volt szignifikáns ( $p = 0,08$ ).

Az uteroglobin genotípusok és allél frekvenciák megoszlása nem különbözött az IgAN betegben és az egészséges személyekben.

### **5.2. Megsin C2093T polimorfizmusa**

Sem a genotípusok eloszlásában, sem az allélfrekvenciákban nem volt szignifikáns különbség az IgAN betegek és az egészségesek között vagy a progrediáló és nem progrediáló IgAN betegek között.

### **5.3. A NOD2 gén G908R és 3020inC mutációi**

A több mint 12 éves követési idő alatt a NOD2 mutációval nem rendelkező IgAN betegekben a szérum creatinin a kiindulási értéknek csak az 1/3-ával nőtt, a NOD2 mutációval élő betegekben a creatinin szint csaknem 4 szeresére nőtt.

A vesetúlélését Kaplan-Meier analízissel vizsgálva szignifikáns különbséget találtunk mind 256  $\mu\text{mol/l}$  creatinin végponttal ( $p < 0,01$ ), mind 500  $\mu\text{mol/l}$  creatinin végponttal ( $p < 0,01$ ). A 256  $\mu\text{mol/l}$  creatinin szintet többen a „point of no return”-nek tekintik IgAN-ban.

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

## **5.4. Selectin gének polimorfizmusai: SELE Y468H, SELL A-642G**

Egyik polimorfizmus sem mutatott kapcsolatot sem az IgAN létrejöttével, sem annak kórlefordulásával.

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

### **5.5.1. GPX-1 P197L**

A GPX-1 P197L polimorfizmus nem mutatott kapcsolatot sem az IgAN létrejöttével, sem annak kórlefordulásával.

A PP genotípusú IgAN betegek BMI-je alacsonyabb, HDL szintje pedig magasabb volt, mint az LL és PL genotípusú betegeké ( $p < 0,01$ ). Az AGE termékek mennyisége és az oxidatív stressz mértékét jelző TBARS szintje nem különbözött a különböző genotípusú csoportokban.

### **5.5.2. CAT C-262T**

A CAT C-262T polimorfizmus sem mutatott kapcsolatot sem az IgAN létrejöttével, sem annak kórlefordulásával.

A metabolikus paraméterek közül a húgysav tekintetében volt szignifikáns különbség: a CC genotípusú IgAN betegekben a húgysav szintje alacsonyabb, mint a CT és TT genotípusú betegekben ( $p < 0,05$ ). Az AGE termékek mennyisége és a TBARS szintje nem különbözött a különböző genotípusú csoportokban.

## **5.6. Az ACE gén I/D polimorfizmusa**

### **5.6.1. Az ACE gén I/D polimorfizmusa és az IgAN progressiója**

Az ACE I/D polimorfizmus genotípus és allél megoszlása nem különbözött a progressziót mutató és a stabil vesefunkcióval rendelkező IgAN betegekben.

### **5.6.2. Vérnyomás és balkamra izomtömeg**

*A 24 órás vérnyomás monitorozás eredménye*

A kezelt hypertoniás IgAN betegek minden vérnyomásparamétere (szisztolés – diasztolés; 24 órás – nappali – éjszakai) a normotensív betegekénél szignifikánsan

magasabb volt. A beszűkült diurnális ritmus (diurnális index <10%) gyakori volt a normotensív és a kezelt hypertóniás betegek között is.

#### *Az echocardiográfiás vizsgálatok eredménye*

A balkamra falainak vastagsága és a balkamra izomtömeg index a kezelt hypertóniás csoportban szignifikánsan nagyobb, az E/A érték a hypertóniás csoportban szignifikánsan kisebb volt. A bal kamra hypertrophia és a diasztolés funkciózavar a normotensív betegek között ritka, a kezelt hypertóniás betegekben pedig gyakori volt. Mindkét betegcsoportnál normális üregméreteket és jó szisztolés balkamra funkciót találtunk.

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

A normotensív betegekben 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 vérnyomással és a diasztolés diurnális index értékekkel mutatott korrelációt.

A kezelt hypertóniás betegekben 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.

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

A septum is és a hátsó fal is vastagabb a DD genotípusú IgAN 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.

## **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. Az uteroglobin G38A polimorfizmusát elsőként vizsgáltuk IgAN-ban. Betegeinkben kapcsolatot mutatott az IgAN kórlefolyásával: a progrediáló betegek között szignifikánsan gyakoribb volt a GG genotípus és a G allél. Egy nagyobb, Japánban utánunk végzett vizsgálat megerősítette eredményeinket: 239 IgAN beteget vizsgáltak, és ők is a GG genotípust találták rossz prognosztikai markernek. Más távolkeleti vizsgálatok egyéb eredményre jutottak. Így az IgAN-ban az uteroglobin 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. A megin funkciója még nem volt ismert, amikor már lehetett tudni, hogy IgAN-ban a megin expressziója fokozott. 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. 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, illetve más populációkon végzett vizsgálatok is hasonló eredményre jutottak.

### **6.3. NOD2 és az IgAN**

A NOD2 a monocyták LPS receptora, ami NF $\kappa$ 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 $\kappa$ B szerepe) miatt vizsgáltuk a NOD2 mutációkat IgAN betegekben. Azokban a betegekben, akikben NOD2 mutációt találtunk, rosszabb volt az IgAN kórlefolyása, bár a kicsi esetszám miatt a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns. Eredményeink szerint a NOD2 mutációk gyorsíthatják a betegség kórlefolyását, talán azzal, hogy ezek a betegek ugyanakkora LPS ingerre nagyobb gyulladással reagálnak. Eredményeink még további megerősítést igényelnek.

#### **6.4. Selectin és az IgAN**

Az IgAN kialakulásában a fehérvérsejteknek a glomerulusokban és az interstitiumban való lerakódásának is szerepe van, amelynek folyamatában a selectinek is résztvesznek. Japán szerzők 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. A selectin gének 3 polimorfizmusa által meghatározott haplotípus mutatott asszociációt az IgAN-val ( $p=0,000016$ ). Igazolták, hogy az IgAN-val szoros kapcsolatot mutató haplotípushoz erősebb fehérvérsejt-endothélsejt interakció társul. Mi a fenti 3 SNP-ből kettőt vizsgáltunk magyar IgAN betegekben és egészséges önkéntesekben. Egyik SNP sem mutatott asszociációt az IgAN-val. Eredményeinkből arra következtethetünk, hogy különbség lehet a japán és a magyar IgAN genetikai háttere között.

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

IgAN-ban oxidatív stressz és annak következményei mutathatók ki. Az oxidatív stresszre válaszként az IgAN-ban az antioxidáns enzimek expressziója fokozódik. Az oxidatív stressznek szerepe van a vesebetegségek progressziójában is. Az oxidált protein termékek kimutatása az IgAN korai prognosztikai markerének bizonyult. A krónikus vesebetegségek kórlefolyása antioxidáns kezeléssel kezdve befolyásolható. Ezért vizsgáltuk antioxidáns enzimek polimorfizmusait IgAN-ban. 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 cukorbetegségben 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. Az 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 sem IgAN-ban, sem más betegségben még nem vizsgálták. 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 RAS gátlók adásával kedvezően befolyásolható. Az ACE I/D polimorfizmusát vizsgáltuk IgAN betegekben, de nem találtunk kapcsolatot a betegség kórlefolásával. Az ACE gén I/D polimorfizmusa a leggyakrabban vizsgált genetikai variáció: több tanulmány szerint a D allél és különösen a DD genotípus rossz prognosztikai faktor IgAN-ban, míg mások ezt nem erősítették meg.

### **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. 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.

Vizsgálatunkban a normotoniás betegek csaknem felében már a vérnyomás diurnális ritmusa kórosan csökkent volt. Ez az akkori gyakorlat alapján nem indikált önmagában antihypertensív kezelést, pedig a diasztolés diurnális index értéke a normotensív betegekben is szignifikáns kapcsolatot mutatott a kamrai szeptum vastagságával, és a diasztolés funkciót jellemző paraméterekkel.

A hypertóniás IgAN betegek nappali vérnyomását a legtöbb esetben kielégítően tudtuk kezelni, valószínűleg ennek köszönhető, hogy vérnyomásparamétereik nem mutattak statisztikai kapcsolatot sem a balkamra falvastagságával, izomtömegével sem diasztolés funkciójával. 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 hypertóniás betegeink több mint felében az éjszakai vérnyomás csökkenés elmaradása továbbra is fennmaradt. Vizsgálataink szerint e tény sajnos nincs minden következmény nélkül: kezelt hypertóniás betegeinkben 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.

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, egyéb glomerulonephritis, albuminuriával járó hypertonia vagy 2-es típusú cukorbetegség volt, vagy ha vesetranszplantáción átesett betegeket vizsgáltak. A leszűrődött tanulságok széles körben elfogadottakká váltak, vizsgálatunkra is hivatkozik a Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI) hypertóniáról és annak kezeléséről szóló ajánlása.

### **6.6.3. Az ACE gén I/D polimorfizmusa és a balkamra falainak vastagsága IgAN betegeknél**

Essentialis hypertóniában többen leírták az ACE I/D polimorfizmus és a balkamra falvastagsága közötti kapcsolatot. Ezt az összefüggést a dializált uraemiás betegeknél is észlelték, míg polycystás vesebetegekben nem találták ezt az összefüggést. 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 betegeink 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 kórlefordása, 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 mutatott az IgAN kórlefolyasával, 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 a két csoport között nem volt statisztikailag szignifikáns.
- III. A NOD2 gén mutációit hordozó IgAN betegekben a betegség prognózisa rosszabb volt.
- IV. A selectin gének variációi magyar IgAN betegekben sem a betegség létrejöttével, sem annak prognózisával nem mutattak kapcsolatot.
- V. A GPX-1 P197L és a CAT C-262T SNP-k nem mutattak kapcsolatot az IgAN kórlefolyasával, de a metabolikus paraméterek közül összefüggést mutattak a BMI-vel, a HDL koleszterinnel, illetve a húgysavval.
- VI. Az ACE I/D polimorfizmus betegeinkben nem mutatott kapcsolatot az IgAN létrejöttével vagy prognózisával.
- VII. Hipertóniás és normotenzív IgAN betegekben is gyakori a vérnyomás éjszakai csökkenésének elmaradása, ami kapcsolatot mutatott a balkamra izomtömeg nagyságával és a diasztolés diszfunkció meglétével.
- VIII. Az ACE DD genotípusú IgAN betegekben a balkamra falai vastagabbak voltak, 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. (IF: 0,937)
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. (IF: 3,646)
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 idézhető abstractok

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 publikációk**

### **Könyvfejezet**

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.

### **Eredeti közlemények**

1. **Szelestei T**, Kovács T, Magyarlaci T, Nagy J: Interstitial nephritis and retinitis pigmentosa. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2421. (letter)
2. 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.
3. 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. (IF: 3,614)
4. 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. (IF: 5,013)
5. **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. (letter)
6. **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 cukorbetegben. *Magy Belorv Arch.* 2005; 58: 7-10.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm Nagy Judit Professzornőnek, 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 mehettünk hozzá segítségért, és hogy nem akart dönteni helyettünk. Köszönöm neki a betegágnál és a „tudományban” is az egyszerű, logikus gondolkodást. Köszönöm, hogy elküldött Luft Professzorhoz Berlinbe.

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

Köszönöm másik témavezetőmnek, dr. Kovács Tibornak a barátságát, a példáját és a kitaró 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 vígasztalt 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 tanulhattam tőlük és otthon érezhettem magam közöttük.