

**A KRÓNIKUS VESEBETEGSÉG KÖZVETETT ÉS KÖZVETLEN
GYERMEKKORI OKAI**

Akadémiai doktori értekezés tézisei



Dr. Bereczki Csaba

Szegedi Tudományegyetem Gyermekgyógyászati Klinika

2022

1. BEVEZETÉS

2. A KRÓNIKUS VESEBETEGSÉGHEZ VEZETŐ GYAKORI OKOK

2.1. A gyermek- és serdülőkori elhízás és a hipertónia epidemiológiai kapcsolata Populáció alapú vizsgálatok

2.1.1. A túlsúly és elhízás előfordulási gyakorisága magyar gyermek- és serdülőkorú populációban

2.1.2. A magasvérnyomás-betegség prevalenciája túlsúlyos és elhízott magyar gyermek- és serdülőkorú populációban

2.1.3. Fit-Teszt vizsgálat

2.2. Az obezitás és a hipertónia hatása a fiatal érrendszerre „in vivo” vizsgálatok

2.2.1. Artériás funkció paraméterei – Arteriográf

2.2.2. A mikrocirkuláció vizsgálata - Lézer Doppler áramlásmérés

2.3. A gyermek- és serdülőkori hipertónia patogenezise

2.3.1. Oxidatív stressz és a hipertónia kapcsolata serdülőkorban

2.3.2. Eltérő patomechanizmus a serdülőkori esszenciális és obezitás indukálta hipertóniában

2.3.3. Genetikai meghatározottság serdülőkori esszenciális és obezitás indukálta hipertóniában

3. A KRÓNIKUS VESEBETEGSÉGHEZ VEZETŐ RITKA KÓRKÉPEK

3.1. Alport syndroma/VBMN - COL4A3, COL4A4, COL4A5 gének

3.2. Diffúz mesangialis sclerosis - PDSS2 gén

3.3. Oligomeganephronia - PAX2 gén

3.4. Atípusos haemolyticus uraemias syndroma – DGKE gén

4. AZ ÉRTEKEZÉS FŐBB MEGÁLLAPÍTÁSAI

„In extenso” közlemények összefoglalása

Köszönetnyilvánítás

1. BEVEZETÉS

A krónikus vesebetegség (CKD) és a végstádiumú vesebetegség (ESRD) világszerte növekvő egészségügyi probléma. Jelenleg becsült prevalenciája 13.4% (11.7-15.1%), ami folyamatosan emelkedik és ennek következtében több mint 5 millió ember vár veseátültetésre napjainkban. Az ebből a szempontból fokozott kockázatnak kitettek korai azonosítása és időben elkezdett terápiája csökkentheti a krónikus vesebetegség előfordulását és a kapcsolódó szövődmények kialakulását felnőttkorban. Az ismert tény, hogy az újszülött/gyermek vese működése nem teljesen azonos a felnőttével. Bár a gyermekkori vesebetegségekkel kapcsolatos ismereteink rohamosan gyarapodtak az elmúlt évtizedekben, ennek ellenére további kutatások (epidemiológiai, kórélettani és genetikai) szükségesek ezen állapotok későbbi/felnőttkori hatásaira vonatkozóan. Ezek közé tartozik - a mögöttes genetikai és anyai környezeti hatások mellett- az egyre gyakoribb civilizációs betegségek (elhízás, magasvérnyomás, diabétesz) veseműködésre gyakorolt hatásának jobb megértése.

Az élet első két évtizedében a krónikus vesebetegség kialakulásáért 45%-ban a vesék és a húgyutak veleszületett rendellenességei (CAKUT), 15%-ban a szteroid rezisztens *nephrosis syndroma* és 5%-ban a vese tisztás betegségei (ciliopátiák) felelősek, ezeket **direkt** hatásoknak tartjuk. Számos egyéb, **indirekt** hatás is befolyásolja a gyermekkori vesebetegségek kialakulását és annak progresszióját. A genetikai tényezők mellett epigenetikai és környezeti faktorok is felelősek a fejlődési rendellenességek kialakulásáért, a méhen belüli növekedési zavarért és a koraszülésért. Mind a CAKUT, mind a koraszülöttséghez társuló rövidebb vesefejlődési idő csökkenti a működő nefronok számát. Ez hajlamosíthatja a gyermeket a későbbi krónikus vesebetegségre, aminek progresszióját nagyban befolyásolja az elszenvedett akut vese károsodások száma, a magas vérnyomás, az elhízás vagy a cukorbetegség.

Akadémiai doktori értekezésemben vizsgálom a gyakori (gyermekkori hipertónia, elhízás) közvetett és a ritka (genetikai eredetű) betegségek direkt hatásását a későbbi krónikus vesebetegség kialakulására és progressziójára a Szegedi Tudományegyetem Gyermekgyógyászati Klinikán 1995 és 2022 között végzett és publikált vizsgálataim alapján. A dolgozat két fő fejezetre tagolódik a vizsgált betegségek előfordulási gyakorisága alapján:

- A KRÓNIKUS VESEBETEGSÉGHEZ VEZETŐ GYAKORI OKOK

A gyermek- és serdülőkori obezitás és hipertónia hatása az érrendszerre.

- A KRÓNIKUS VESEBETEGSÉGHEZ VEZETŐ RITKA KÓRKÉPEK

A gyermeknefrológia a genetikai diagnosztikus vizsgálatok fejlődésének tükrében.

2. A KRÓNIKUS VESEBETEGSÉGHEZ VEZETŐ GYAKORI OKOK

Ebben az alfejezetben a gyermekkori obezitás, a magasvérnyomás és a krónikus veseelégtelenség patofiziológiai alapjainak a tárgyalására térek át, munkacsoportunk 2003 és 2015 között közölt publikációi alapján. A 2002-ben megvédett PhD értekezésem is ezt a témát vizsgálta.

2.1. A gyermek- és serdülőkori elhízás és a hipertónia epidemiológiai kapcsolata

Populáció alapú vizsgálatok

Az elhízás a 21. század epidémiája, a túlsúlyos és elhízott gyermekek száma drámai ütemben emelkedik világszerte. A WHO 2016-os adatai szerint a túlsúly prevalenciája az 5-19 éves fiatalok között az 1975-ben meghatározott 4%-ról 2016-ra 18%-ra, míg az obezitás az 1975-ös 1% értékről, lányoknál 6, fiúknál 8%-ra nőtt. A túlsúly és az elhízás nem csak felnőttkorban, de már gyermekkori is az egyik legfőbb rizikófaktora a hipertóniának. A 18 éves kor alatt diagnosztizált hipertónia előfordulási gyakorisága az elmúlt 30 évben szignifikánsan emelkedett, prevalenciája napjainkban 2-4% között van.

Célkitűzések

- A túlsúly és az elhízás előfordulási gyakoriságának meghatározása a 3–18 éves korosztályban az életkor és a nemek függvényében és a magyar populációra jellemző reprezentatív mintában, és ezek összevetése a korábbi hazai és nemzetközi adatokkal.

Vizsgált populáció

A vizsgálatban 2015 és 2017 között, Szolnok város és környékének óvodáiból, általános- és középiskoláiból választott, 6824 egészséges, 3-18 év közötti életkorú gyermek és serdülő (3673 fiú 53,82%) vett részt. A fiúk és a lányok között az életkori megoszlás kiegyensúlyozott volt. A magasság és testsúly mérése a magyar gyermekgyógyászati irányelvnek megfelelően történt. A vizsgálat résztvevőit az életkor és nem szerinti BMI percentilis értékek alapján három csoportba osztottuk (normális – túlsúlyos – elhízott).

Eredmények és megbeszélés

A túlsúly és az elhízás előfordulási gyakoriságát az 1. táblázat mutatja. Vizsgálatunkban a fiúk 15,3%-a volt túlsúlyos, 11,1%-a elhízott, míg a lányok esetében 12,9% volt a túlsúly, és 7,1% az elhízás. A teljes populációt tekintve 14,3% a túlsúly, 9,2% az elhízás aránya. A túlsúly és az elhízás együttes előfordulási gyakorisága 23,5% volt, és a fiúknál gyakrabban (26,4%) alakult ki ez a kóros állapot, mint a lányoknál (20,0%) (fiúk vs. lányok $p < 0,05$). Európában az elhízás előfordulási gyakoriságának meghatározása céljából több nagy vizsgálatot végeztek, melyekben több mint 10 európai ország – köztük Magyarország – vett részt. A „HELENA” vizsgálatban a 12,5–17,5 éves korosztály felmérése történt 2002–2006 között, az „IDEFICS” tanulmányban a 2–9 éveseket vizsgálták 2006–2012 között, míg az „ENERGY” projektben a 10–12 éves korosztályt tanulmányozták 2010–2013 között. E három nagy vizsgálat igen jelentős időintervallumot, több mint 11 évet ölelt fel. Magyarországon Antal és munkacsoportja a méréseit a 2005/2006-os tanév első félévében végezte. A túlsúlyos és elhízott egyének száma folyamatosan emelkedik, mind a gyermekek, mind a felnőttek körében. 1975 és 2016 között a fiúk globális átlag BMI értéke 16,8 kg/m²-ről 18,5kg/m²-re emelkedett, lányoknál pedig 17,2 kg/m²-ről 18,6 kg/m²-re. A magyar átlag ezen belül a következőképpen alakult: fiúknál 16,8 kg/m²-ről 20,0 kg/m²-re, míg lányoknál 18,2kg/m²-ről 19,9 kg/m²-ra nőtt.

	Fiúk (n)	Arány (%)	Lányok (n)	Arány (%)	Összesen (n)	Arány (%)
Normál testsúlyú	3 474	73,6	3 124	80,0	6 598	76,5
Túlsúlyos	725	15,3	506	12,9	1 231	14,3
Elhízott	520	11,1	275	7,1	795	9,2
Elhízott + túlsúlyos	1 245	26,4	781	20,0	2 026	23,5
Mindösszesen	4 719		3 905		8 624	

1. táblázat A normál testsúlyú, túlsúlyos és elhízott egyének számának megoszlása nemenként a vizsgált populációban.

A korrekt összehasonlítás érdekében adatainkat a korábban közölt eredményekhez hasonlóan csoportosítottuk (3–9 évesek, 7–14 évesek). Minimális csökkenés figyelhető meg, mind a túlsúlyos, mind az elhízott csoportban a legkisebbek (3-9 év) körében, ahol a p-érték megközelíti a szignifikancia szintet. Ezzel ellentétben, szignifikáns csökkenés látható a másik korosztályban (7–14 éves), ahol mindkét nemből a túlsúly prevalenciája csökkent: 20 százalékról 15,3 százalékra ($p < 0,005$), és ugyanebben a korosztályban a normál testsúlyúak

aránya is szignifikánsan emelkedett: 72,7%-ról 76,4%-ra ($p < 0,001$). Az elhízott csoportban nem figyeltünk meg statisztikailag értékelhető változást ($p = 0,2$).

2.1.2. A magasvérnyomás-betegség prevalenciája túlsúlyos és elhízott magyar gyermek- és serdülőkorú populációban

Célkitűzés

- A túlsúlyhoz és elhízáshoz társult magasvérnyomás betegség prevalenciájának meghatározása a 3–18 éves korosztályban a reprezentatív mintában.
- A testtömegindex (BMI) kategória és a hipertónia prevalenciája közötti esetleges összefüggés meghatározása.

Vizsgált populáció és módszer

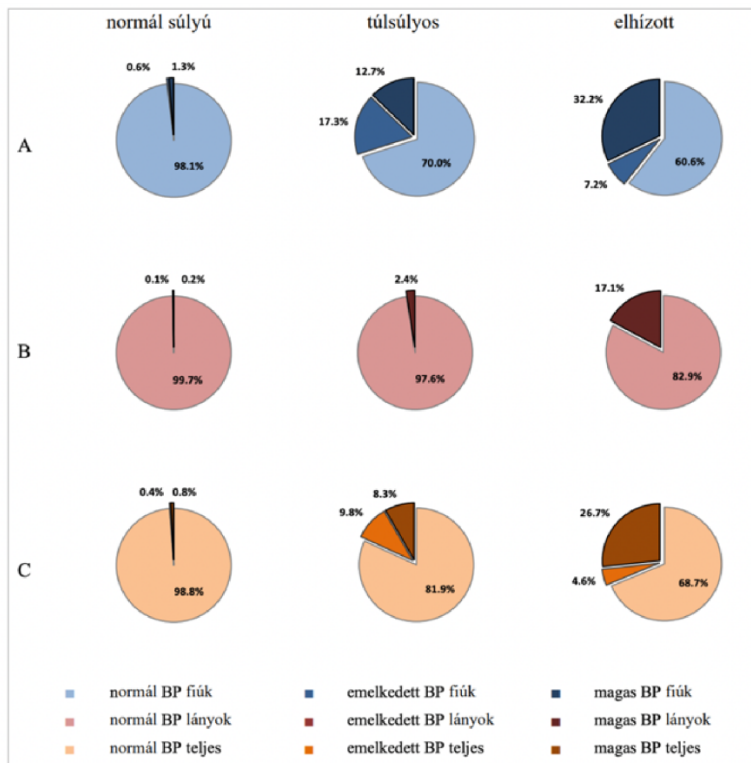
Vizsgálatunkban a túlsúly és az elhízás előfordulási gyakoriságának felméréséhez 2005. február 1. és 2018. március 31. között gyűjtöttünk adatokat ugyancsak Szolnok város óvodáiban, általános- és középiskolaiban. Összesen 8624 (4719 fiú, 54,71%) egészséges, krónikus betegségben nem szenvedő gyermek és serdülő vizsgálata történt. Az aktuális vérnyomás méréséhez validált oszcillometriás vérnyomásmérő műszert (Arteriográf, TensioMed Kft., Budapest) használtunk. Az emelkedett vérnyomás értékek további, pontosabb vizsgálata 24 órás vérnyomás monitorizálás (ABPM) segítségével történt. Az eredmények értékeléséhez az aktuálisan érvényes ABPM-referenciaértékeket használtuk. Magasvérnyomás-betegnek tekintettük azokat az egyéneket, akiknek az átlagos szisztolés és/vagy diasztolés vérnyomása a korra, nemre és testhosszra vonatkoztatott 95 percentilis érték feletti volt, és ennek háttérében szekunder ok nem igazolódott.

Eredmények és megbeszélés

A normál testsúlyú, túlsúlyos és elhízott csoportok antropometriai (súly, magasság, BMI) és vérnyomás (szisztolés és diasztolés) jellemzőit nem és életkor szerint vizsgáltuk. Az emelkedő életkor függvényében mindkét nemben, valamennyi súlycsoportban emelkedett a testsúly, a testmagasság, a BMI, a szisztolés és a diasztolés vérnyomás. A testsúly, a BMI és a szisztolés vérnyomás szignifikánsan magasabb volt a túlsúlyos és elhízott fiúkban és lányokban majdnem valamennyi korcsoportban a normál súlyúakhoz képest. A 1. ábra mutatja a normál súlyhoz, a túlsúlyhoz és az elhízáshoz társuló normál (<90 percentil életkor, nem és

testmagasság alapján), az emelkedett (90-95 percentil életkor, nem és testmagasság alapján) és a magas (>95 percentil életkor, nem és testmagasság alapján) vérnyomás előfordulási gyakoriságának százalékos megoszlását. Az ábráról leolvasható, hogy a normál súlyú fiúk 1,3%-a, a túlsúlyos fiúk 12,7%-a, az elhízott fiúk 32,2%-a (1/A. ábra), míg a normál súlyú lányok 0,2%-a, a túlsúlyos lányok 2,4%-a, az elhízott lányok 17,1%-a (1/B. ábra) bizonyult hipertóniásnak. Mind a túlsúlyos, mind az elhízott fiúk esetében szignifikánsan magasabb ($p < 0,0001$) a magasvérnyomás előfordulási gyakorisága a lányokéhoz képest. Az egyes súlykategóriák teljes populációját (fiúk, lányok együtt) tekintve a túlsúlyos egyének 8,3%-a, míg az elhízottak 26,7%-a volt hipertóniás (1/C. ábra).

Az emelkedett vérnyomás aránya 0,6% volt a normál súlyú, 17,3% a túlsúlyos, 7,2% az elhízott fiúk között, ez az érték 0,1% a normális súlyú lányok között, míg a túlsúlyos és az elhízott lányok között ilyen nem találtunk. A teljes populációban az emelkedett vérnyomású egyének aránya 0,4% volt a normál súlyúak, 9,8% a túlsúlyosok és 4,6% az elhízottak csoportjában. Vizsgálatunk legfőbb eredményének azt tartjuk, hogy – legjobb tudomásunk szerint – elsőként közöltünk magyarországi adatokat nagy esetszámú kortárs gyermek- és serdülőpopuláció esetében túlsúlyhoz, elhízáshoz társuló elsődleges magasvérnyomás-betegség előfordulási gyakoriságáról. Kutatásunk egyedülálló a tekintetben is, hogy a hipertónia diagnózisát nem csupán az általános gyakorlat szerint elvégzett 3 egymást követő vérnyomásmérés alapján állítottuk fel, hanem komplex részletes kivizsgálást követően, ami magában foglalta az ambuláns vérnyomás monitorozást is. Vizsgálatunkban a magas vérnyomás előfordulási gyakorisága a teljes (fiú/lány) normál súlyú populációban 0,8%, a túlsúlyosban 8,3%, míg az elhízottak csoportjában 26,7% volt. Ez a gyakoriság lényegesen magasabb volt fiúknál a lányokéhoz képest, mind a normál súlyú (1,3% vs. 0,2%, $p < 0,0001$), mind túlsúlyos (12,7% vs. 2,4%, $p < 0,0001$) és az elhízott (32,2% vs. 17,1%, $p < 0,0001$) csoportokban is.



1. ábra A normál súlyhoz, a túlsúlyhoz és az elhízáshoz társuló normális, emelkedett és magas vérnyomás előfordulási gyakoriságának százalékos megoszlása fiúkban (A), lányokban (B) és a teljes populációban (C).

Eredményeink jó egyezést mutatnak a fent idézett két jelentős keresztmetszeti vizsgálat eredményeivel, különösen az elhízáshoz társuló hipertónia előfordulási gyakoriságának tekintetében (19% az amerikai és 21,6% a kínai vizsgálatban). A túlsúlyos csoportban ezek az arányszámok 10,8% az amerikai és 13,9% a kínai kutatásban. Bár a 3 érintett vizsgálat eredményei nagyságrendjüket tekintve nem különböznek lényegesen, a kismértékű eltéréseket a vérnyomásmérés módszertanában és a vizsgálatban résztvevők eltérő etnikai összetételében kereshetjük.

2.1.3. Fit-Teszt vizsgálat

Célkitűzés

A vizsgálat célja egy széleskörben és könnyen használható referencia adatbázis létrehozása volt, mely alapján képesek vagyunk korán kiszűrni a terhelésre adott kóros válasz alapján a kardiovaszkuláris szempontból rizikócsoportba tartozó gyermekeket. A fizikai terhelésre adott

túlzott vérnyomás emelkedés a szív- és érrendszeri betegségekre való hajlamot mutatja nemcsak.

Vizsgált populáció és módszer

A 8 évig tartó prospektív vizsgálat során elsőként állítottunk fel egy olyan adatbázist, amely normál súlyú 6-18 éves gyermek és serdülő nem laboratóriumi körülmények között végzett futástesztre adott vérnyomás és pulzus eredményét tartalmazza.

A túlsúly és az elhízás alapvetően befolyásolja a szív- és érrendszer vizsgálatának paramétereit, ezért a terhelésre adott reprezentatív adatbázis felállításakor csak a normál súlyúak kerültek elemzésre. A statisztikai értékelés során az összes mérési eredmény közül a WHO kritériumai (-2 és $+1$ SD z-score között) alapján határoztuk meg a további elemzésbe bevont normál súlyú vizsgálati populációt. Az így kialakult adatbázis a 10 894 diáknál 65 345 vizsgálat során felvett 1 173 342 adatpontot tartalmazza.

A Fit-Test egy populáció alapú terheléses vizsgálat, amelyben Hódmezővásárhely általános- és középiskolaiban 2007–2018 között minden tanév elején és végén valamennyi diák (életkor: 7-19 év) antropometriai, edzettség és állóképesség felmérése történt. Protokoll szerint a testméretek (testsúly, testmagasság) meghatározását követően a terhelést megelőzően nyugalmi pulzus és vérnyomás (SBP, DBP) került mérésre. Az életkorra meghatározott terhelést (futásteszt) követően 1, 5 és 10 perccel a pulzus és a vérnyomás újra mérésre került. A Fit-Test vizsgálatban 10 894 diák vett részt és ez szűrővizsgálatként mindenben megfelel a Wilson és Jungner kritériumoknak.

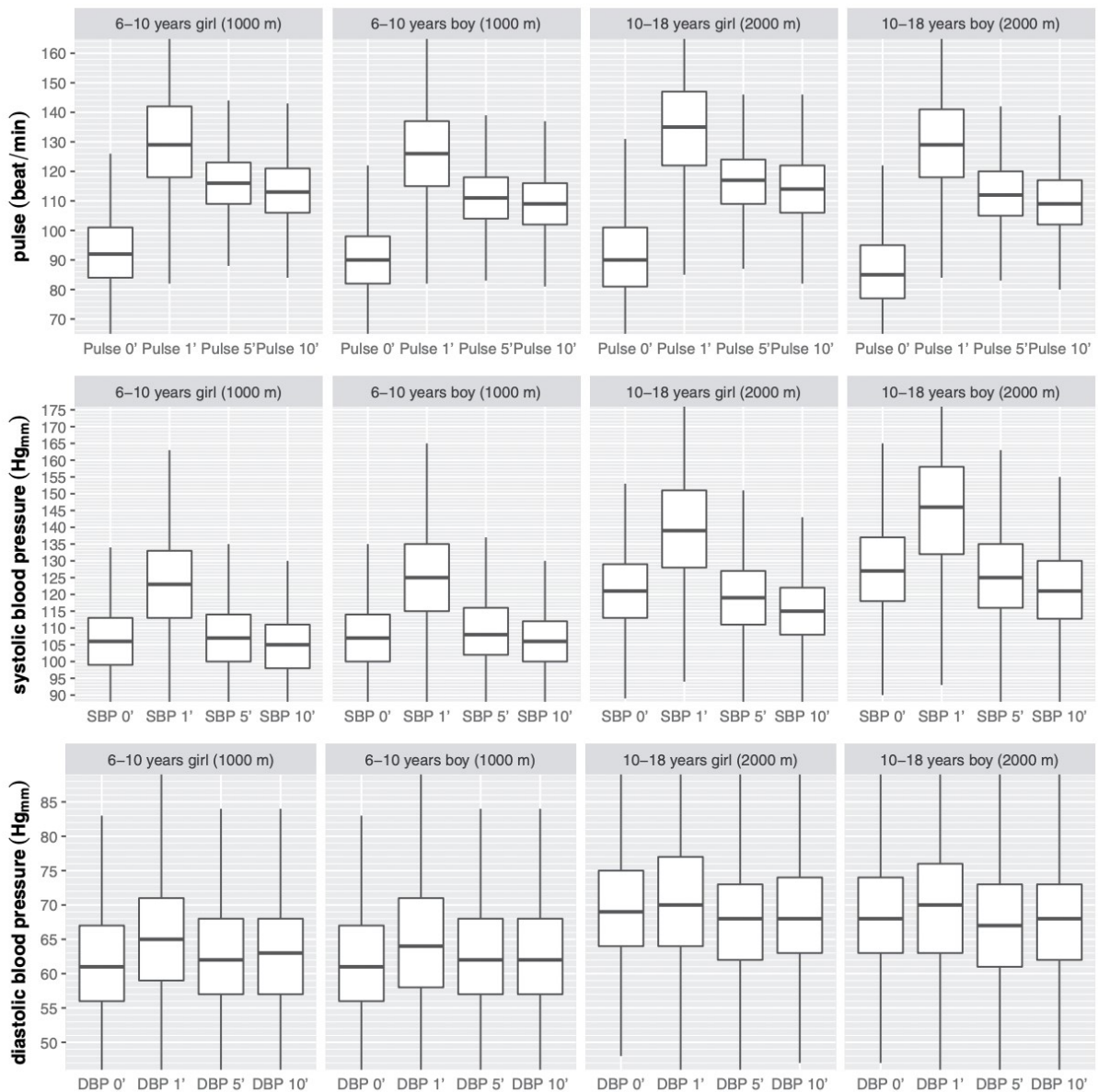
Eredmények és megbeszélés

Ajánlott cél érték - (1 perc) pulzus

A pulzus ajánlott célértéke és annak elérése segít felmérni, hogy a fizikai terhelés megfelelő volt-e egy adott diák vagy egy csoport esetében. A diákok ($n=26920$) 90%-ának pulzusszám emelkedése 11/perc és 79/perc között volt ($44,9 \pm 21,8$ /perc átlag \pm SD). A testmozgás során elért pulzusszámot életkor és a fizikai állapot szintje szerinti cél kategóriákba sorolhatjuk, mely az esetek túlnyomó többségénél a nem sportolók számára ajánlott céltartományban volt.

Megnyugvási pulzusszám

10 perc pihenést követően az ajánlott pulzus 10%-kal meghaladja a terhelés előtti értéket. A vizsgált populáció 16,5%-a teljesítette ezt a célt. 4,5% alacsonyabb pulzusszámot ért el, számukra a futás kevésbé volt megterhelő, míg 83,5% pulzusa azonban az elvártnál magasabb maradt ($p < 0,001$; átlag: $22,4 \pm 13,5$ /perc; átlag \pm SD). Ez úgy értelmezhető, hogy a tanulók többségének a DRT nagyobb terhelést jelentett, mint az, ami a tényleges edzettségi szintjüknek megfelelő.



2. ábra Fit-Teszt: DRT előtti és az azt követő hemodinamikai adatok a normál súlyú gyermekekben. Pulzus (P), szisztolés (SBP) és diasztolés vérnyomás (DBP) adatok a korcsoportok/futási távolság (6–10 és 10–18 év) és a nem alapján.

Terheléses vérnyomás

A DRT után 1 perccel a legtöbb gyermek vérnyomása jelentősen emelkedett, hasonlóan a pulzushoz. Az átlagos szisztolés vérnyomás növekedés: $20,8 \pm 16$ Hgmm ($p < 0,001$, $n = 26599$). A diákok 65% -nak a szisztolés vérnyomás emelkedése 10–40 Hgmm között volt közvetlenül a terhelés után. A diasztolés vérnyomás emelkedése ugyanazon méréseknél: $18,6 \pm 12$ Hgmm (átlag \pm SD).

Megnyugvási vérnyomás

A DRT előtt és 10 perccel futás után mért szisztolés vérnyomás értékek átlagos különbsége $5,8 \pm 12,2$ Hgmm (átlag \pm SD; $p < 0,001$) volt. Az elvárt mértékű vérnyomás csökkenés az esetek 61%-ban volt megfigyelhető. 17%-ban az értékek lényegében megegyeznek a terhelés előttivel, (a különbség < 2 Hgmm), és csak az esetek 22%-ban mutatnak magasabb értékeket, mint a kiindulási érték.

A terheléses és a megnyugvási vérnyomás értékek összehasonlítása életkor és nem szerint

A vizsgált 6 - 12 év közötti populációban a fiúk és a lányok átlagos vérnyomása közel azonos volt. A fiúk vérnyomása minimálisan (átlagosan < 2 Hgmm) volt magasabb. A nemek közötti különbség a terhelés hatására sem változott. 13 éves kortól a fiúk szisztolés vérnyomása jobban emelkedik mint a lányoké. A különbség meredeken és egyenletesen növekszik, amíg 17 éves korig eléri az átlagos 12 Hgmm-t. A terhelés hatására 13 éves korban a fiúk vérnyomása 4 Hgmm-el magasabb, és a különbség tovább növekszik 16 éves korig, amikor eléri a 14 Hgmm értéket. Hasonló trend figyelhető meg a megnyugvási vérnyomás esetén is. A fizikai terhelés hemodinamikai hatásának egyaránt van egyéni és populációs szintű népegészségügyi jelentősége. A vizsgált populáció magas megnyugvási pulzusszáma alapján túlzottnak ítélt terhelés ellenére a vérnyomás értékek a megnyugvási időszakban a kiindulási értékre, vagy az alá csökkentek. Ez a jelenség nemtől, életkortól és obezitás státusztól függetlenül igazolható. Ezzel diákpulációban is alátámasztottuk a felnőttkorban korábban igazolt evidenciát a fizikai terhelés vérnyomás csökkentő hatásáról. (2.ábra)

„Fit-Teszt” néven, fizikai terhelés hatásán alapuló, szív-érrendszeri szűrővizsgálati pilot projektet hoztunk létre. Ez az új megközelítés lehetőséget ad arra, hogy jobban megismerjük a fiatalkori terhelés érrendszeri hatásának és a későbbi manifesztálódó betegségeknek a kapcsolatát. A Fit-Teszt egy alacsony költségvetésű, teljes populációs szűrővizsgálat, amely könnyen illeszthető a meglévő iskolai és iskola-egészségügyi rendszerekbe.

További követéssel vizsgálatoknak kell igazolni, hogy a DRT, mint terheléses teszt alkalmas a maszkolt, prehipertóniás és hipertóniás betegek szűrésére, valamint a hipertónia kezelés hatásosságának monitorozására. Elsőként hoztunk létre nagy esetszámon alapuló, életkor és nemek szerinti adatbázist a normál testtömegű tanulók iskolai futástereszt során bekövetkező hemodinamikai változásairól. Meghatároztuk a populációspecifikus dinamikát és jelentős egyéni eltéréseket tapasztaltunk. Ez megoldást biztosít a fizikai és a kardiovaszkuláris fitness együttes értékelésére. Lehetővé teszi az érintett generáció egészségi állapotának és a rizikócsoporthoz folyamatos követését.

A gyermekkori mozgáshiány következményei ismertek, de kevés tudományos igényű vizsgálat zajlott ennek felnőttkori hatására vonatkozólag. Számos vizsgálatban igazolódott, hogy a terhelés közben és az azt követően mért vérnyomásváltozás diagnosztikusan hatékony, azonban ez ennek ellenére széleskörben még nem terjedt el. Ennek oka az, hogy egységes módszertan jelenleg nem áll rendelkezésre, aminek következtében validálásuk és elterjedésük is nehézségekbe ütközik. A népegészségügyi gyakorlatban kevés a könnyen, és a populáció széles körében használható terheléses vizsgálati módszer, amely a kardiopulmonális edzettségről ad megbízható adatokat. A jelenleg alkalmazott módszerek speciális körülményeket igényelnek és átengedő képességük igen alacsony. Irodalmi adatok alapján is a futástereszt jó alternatívája az egyéb terheléses teszteknek. A DRT pontossága szükségszerűen alacsonyabb mint a laboratóriumi méréseké. Az is ismert, hogy a hemodinamikai paraméterek az ergométer teszt során az ún. maximális aerob sebességgel (MAS) mutatnak szignifikáns korrelációt. DRT alatt a MAS az átlagos sebesség számításával jól megbecsülhető, így a futástereszt egyszerű módja a kardiopulmonális edzettség (vérnyomás, pulzus) vizsgálatának nem laboratóriumi körülmények között is.

A Fit-Teszt vizsgálat eredményei alapján is a DRT egyszerű, könnyen kivitelezhető szűrővizsgálat a korai kardiovaszkuláris prevencióban. A Fit-Teszt adatainak további bioinformatikai elemzése és a kiszűrt rizikócsoporthoz - elsősorban az elhízás - utánkövetése folytatódik. A referencia értékek meghatározása az első lépése ennek a populáció alapú szűrővizsgálatnak a validálásához, és ezáltal további adatok nyerhetők a felnőttkori kardiovaszkuláris betegségek gyermekkori kezdeteinek megértéséhez.

2.2. Az obezitás és a hipertónia hatása a fiatal érrendszerre „in vivo” vizsgálatok

Célkitűzések

- Az elhízás és a túlsúly egyéb befolyásoló faktoroktól (vérnyomás, életkor és nem) független hatásának vizsgálata az artériás funkcióra 3-18 éves gyermekeken és serdülőkön.
- A mikrovaszkuláris reaktivitás meghatározása fiatalkori esszenciális hipertónia esetén lézer Doppler áramlásmérés (LDF) módszerrel.
- A mikrovaszkuláris reaktivitás változások megállapítása fiatalkori esszenciális hipertónia, valamint túlsúly és elhízás esetén.

2.2.1. Artériás funkció paraméterei – Arteriográf

Vizsgált populáció és módszer

Az artériás funkció PWV_{ao} , Aix_{ao} , SBP_{ao} és SBP_{brach} mérése non-invazív okkluzív oszcillometriás elven működő eszközzel történt (Arteriográf[®], TensioMed Kft., Budapest, Magyarország). Szolnok város és környékének óvodáiból, általános- és középiskoláiból 6816 egészséges 3-18 év közötti életkorú gyermek és serdülő (3668 fiú, 53,81%) került a vizsgálatba bevonásra. A vizsgálatba bevont gyermekeket és serdülőket életkornak és nemnek megfelelő testtömeg indexük (BMI) alapján: Normál (N) - BMI < 90 percentil, Túlsúlyos (OW - overweight) - 90 percentil ≤ BMI < 98 percentil, és Elhízott (O – obese) - BMI ≥ 98 percentil csoportba osztottuk. A végleges statisztikai analízis (kontroll - N) vs. túlsúlyos (OW) n=91; kontroll (N) vs. elhízott (O) n=445) az így kialakított csoportok esetében történt.

Eredmények és megbeszélés

6816 gyermek és serdülő (fiúk 3,668; 53.8%) vett részt a vizsgálatban. A fiúk között 516 volt az OW (14,1%), 272 az O (7,4%), míg a lányoknál 395 (12,5%) volt az OW és 173 (5,5%) az O. A túlsúly és az elhízás előfordulása szignifikánsan magasabb volt a fiúknál (21,5%), mint a lányoknál (18%) (p < 0,001). A teljes vizsgált kohorsz 19,9%-a esetében (n = 1356) volt a BMI magasabb, mint az életkor és a nem szerinti 90 percentilis (pc), és résztvevők 80,1%-a (n = 5460) esetében volt normális (BMI < 90 pc).

Az átlagos pulzus és a karon mért szisztolés vérnyomás (SBP_{brach}) értékek párhuzamosan növekedést mutattak a BMI-kategóriák emelkedésével. A pulzus emelkedése az OW csoportban nem volt jelentős a kontrollhoz képest ($79,6 \pm 14,1$ /perc vs. $79,5 \pm 14,9$ /perc, NS). Az O csoportban azonban jelentősen nőtt a szívfrekvencia az N csoporthoz képest ($82,5 \pm 13,5$ /perc vs. $79,5 \pm 14,9$ /perc, $p < 0,0001$). Az átlagos pulzus értékek jelentősen különböztek az OW és az O csoportokban is ($79,6 \pm 14,1$ /perc vs. $82,5 \pm 13,5$ /perc, $p < 0,02$). Az átlagos SBP_{brach} OW és az O csoportban is magasabb volt a kontrollhoz (N) képest. (OW = $125,6 \pm 14,0$ Hgmm, O = $131,2 \pm 15,2$ Hgmm, N = $117,7 \pm 13,1$ Hgmm). A különbségek szignifikánsak voltak az egyes vizsgálati csoportok között ($p < 0,0001$). Az O csoportban szignifikánsan alacsonyabb volt az átlagéletkor ($11,8 \pm 3,6$ év), mint az OW csoportban ($12,7 \pm 3,8$ év) ($p < 0,001$). A nemek aránya azonos volt a vizsgált csoportokban. Az átlagos testmagasság közel azonos volt mind az OW, mind az O és a N csoportban, a különbség $0,8$ cm (NS, $p = 0,39$) és $1,6$ cm (NS, $p = 0,28$) volt. Nyilvánvaló, hogy az átlagos testtömeg szignifikánsan magasabb volt az OW és az O csoportokban, mint a kontrolloknál. Bár az O csoport átlagéletkora alacsonyabb volt, átlagos SBP_{brach} azonban magasabbnak bizonyult ($131,2 \pm 15,2$ Hgmm) összehasonlítva az OW csoporttal ($125,6 \pm 14,0$ Hgmm) ($p < 0,0001$). A három vizsgált paraméter közül csak az aorta augmentációs indexe mutatott különbséget. (N vs. OW: $p < 0,00001$ és N vs. O: $p < 0,00001$) Továbbá megfigyeltük az Aix_{ao} jelentős csökkenését az OW-ban, ami még jelentősebb az elhízottakban (O). A PWV_{ao} -hoz hasonlóan nem találtunk különbséget a centrális vérnyomás (SBP_{ao}) tekintetében sem az OW, sem pedig az O betegekben a megfelelően illesztett statisztikai elemzést alkalmazva. Az életkor, a nem, és a vérnyomás (SBP_{brach}) módosító hatásának megszűnése után az aorta pulzushullámterjedési sebessége (PWV_{ao}) szignifikánsan nem különbözött a vizsgált (OW és O) csoportokban a kontrollokhoz képest.

Aorta pulzushullámterjedési sebesség (PWV_{ao}): A „propensity score” statisztikai elemzés módszerével nem találtunk szignifikáns különbséget a PWV_{ao} értékekben a különböző súlykategóriák között. Ebben a témában közölt irodalmi adatok ezzel elletétben a PWV_{ao} emelkedését mutatták elhízott gyermekeknél és serdülőknél. A PWV_{ao} gyermekeknél és serdülőknél mért referenciaértékeit elemezve nyilvánvaló, hogy a PWV_{ao} medián percentilis görbéje lapos a három éves kor és a pubertás kezdete között, amelyet követően mindkét nemnél meredekebb növekedés látható. Ezért fontos, hogy a vizsgált betegek életkorának pontosan meg kell egyeznie a kontrollcsoportok életkorával a korrekt összehasonlíthatóság miatt. A közölt irodalmi adatok áttekintésekor a betegcsoportok és a kontrollok illesztése különbözött vagy az életkorban, vagy az SBP_{brach} -ben. Ismert, hogy PWV_{ao} jelentősen függ az

SBP_{brach} -tól, tehát minél magasabb az SBP_{brach} , annál magasabb a PWV_{ao} . Következésképpen, ezekben a vizsgálatokban a magasabb PWV_{ao} a megemelkedett SBP_{brach} -ból eredhetett.

Aorta Augmentációs Index (Aix_{ao}): Vizsgálatunkban az SBP_{brach} és a pulzus emelkedését tapasztaltuk a túlsúlyos csoportban. Az emelkedés még jelentősebb volt az elhízott gyermekek és serdülők esetén. Ez a megfigyelés magyarázható a szimpatikus idegrendszer fokozott aktivitásával, aminek következtében az anyagcsere, a pulzusszám és a stroke térfogat emelkedik. Wilkinson és munkatársai fordított lineáris kapcsolatot találtak a pulzusszám és Aix_{ao} között. Feltételezhető, hogy a megnövekedett szívteljesítmény és az ezzel párhuzamosan növekvő vérnyomás miatt az aortafal felé irányuló oldalirányú feszülés is megnő, az aorta kitágul, fala merevebbé válik, és ennek következtében a PWV_{ao} magasabb lehet. A megnövekedett SBP_{ao} kompenzálására a rezisztencia erek ellenállása (TPR) esik, és ennek hatására Aix_{ao} csökkenése is kimutatható. Vizsgálatunk jelentős számú gyermek és serdülő bevonásával elemezte az elhízás hatását az artériás funkció paramétereire. A megfelelően illesztett csoportokban, ahol ezáltal az egyéb módosító faktorok (életkor, nem, SBP_{brach}) kizárásra kerültek, az elhízás ebben az életkorban (3-18 év) még nem fokozza az érfali (aorta) falmerevséget. A kövérségnek nincs közvetlen kóros hatása az artériás funkció paramétereire. A gyermek- és serdülőkori obezitás esetében feltehetően a kompenzáló élettani folyamatok - a kis arteriolák megnyitása, a TPR csökkentése - egy ideig még képesek ellensúlyozni a kedvezőtlen hatásokat. A tartósan fennálló túlsúly hatására ezek a szabályozó mechanizmusok kimerülnek, a magasvérnyomás állandósul és más kóros állapotokkal (*hyperlipidaemia*, *diabetes mellitus*) együtt vezetnek a fiatal felnőttkorban az artériás funkció kóros értékeinek megjelenéséhez. Felnőtteknél már leírták a kapcsolatot a nagy és a kis artériák között (cross-talk), ahol a makrovaszkuláris változások súlyosbítják a kiserek eltéréseit, és ez fordítva is megfigyelhető volt.

2.2.2. A mikrocirkuláció vizsgálata - Lézer Doppler áramlásmérés

Módszer és betegek

Az „*in vivo*” nehezen megközelíthető rendszernek a nem invazív vizsgálatát végeztük el lézer Doppler áramlásmérés (Laser Doppler Flowmetry – LDF) segítségével. A módszer viszonylag nagy tér- és időbeli változékonysága miatt, a bazális fluxus meghatározása helyett jobban értékelhető a mikrocirkulációban a provokációs tesztekre adott válasz meghatározása. A provokációs tesztek formái, melyek kombinálhatóak :

- Termikus (helyi vagy szisztémás melegítés vagy hűtés),
- Gyógyszeres (vazoaktív gyógyszerek iontoforézissel történő beadása),

- Poszt-okkluzív reaktív hiperémia (PORH).

Doppler vizsgálatra 52 gyermek és serdülő (6-19 év) került, akik közül 33 gyermeknél a klinikai vizsgálatok az aktuális szakmai protokoll alapján az esszenciális hipertónia diagnózisát állították fel. A magas vérnyomás másodlagos okai (vese, renovaszkuláris, endokrin, kardiológiai vagy neurológiai) kizárásra kerültek. A kor és nem specifikus BMI normálértékei alapján a hipertóniás betegek közül 10 normális (lean hypertensive – LH), 13 túlsúlyos (overweight hypertensive - OWH) és 10 elhízott (obese hypertensive – OH) volt. 19 egészséges gyermek és serdülő - életkor és nem szerint illesztett - szolgált kontrollként.

Eredmények és megbeszélés

Az endotélium függő acetilkolin (ACH) iontoforézisét követően a perfúzió nem különbözött a betegcsoportokban és a kontrollokban. Ezzel ellenkezőleg, az endotélium független értágító - NaNP második dózisára adott válasza - lényegesen kisebb mértékben növelte a mikrovaszkuláris véráramlást a normál súlyú hipertóniás (LH) csoportban, mint a kontrolloknál. [482,5% (157,0–842,0%) vs. 847,0% (432,0–1708,0%); $p < 0,05$]. A harmadik NaNP-dózis után hasonló különbségeket láttunk az LH és az OBH csoportban a kontrollokhöz képest [797,5% (270,0–1100,0%) vs 1195,0% (674,0–1774,0%) és 744,0% (390,0–1207,0%) vs. 1195,0% (674,0–1774,0%), illetve mindkettő $p < 0,05$]. A 44 °C-ra történő helyi melegítés hatására a mikrovaszkuláris perfúzió relatív fluxus növekedése volt látható minden csoportban, az ACH hasonló relatív fluxusértéken érte el a plató fázist. A NaNP hatására szignifikánsan kisebb fluxusnövekedést észleltünk a LH és az OBH csoportokban a kontrollokhöz képest. [1257,0% (585,0–1 649,0%) vs 1870,0% (1029,0–2 970,0%) és 1188,0% (693,0–1815,0%) vs 1870,0% (1029,0–2970,0%); mindkettő $< 0,05$].

A vizsgálat idejében a témával foglalkozó irodalom véleménye megosztott volt abban kérdésben, hogy a mikrocirkuláció zavara, az oka vagy a következménye a hipertóniának.

Egyrészt, a hipertóniás betegek normális vérnyomású utódainak endoteliális funkciózavaráról számolnak be egyes közlemények, ami arra utal, hogy az endoteliális diszfunkció megelőzheti a magas vérnyomás kialakulását. Másrészt, a mikrovaszkuláris diszfunkció kialakulhat a megemelkedett vérnyomás következményeként. A „Cardiovascular Risk in Young Finns Study” a serdülőkorban meglévő hipertónia az endotélium dependens *a. brachialis* áramlás mediálta dilatációjának zavarát jósolta. Tudomásunk szerint a tanulmány megjelenésének idejéig elsőként vizsgáltuk a mikrocirkuláció funkcionális tulajdonságait LH, OWH és OBH

gyermekeknél és serdülőknél. Az ACH iontoforézisre és a lokális melegítésre adott mikrovaszkuláris válaszok nem csökkentek szignifikánsan a hipertóniás csoportokban (a BMI-től függetlenül) a kontrollokhoz képest. Ez a tény arra utal, hogy a fiatalkori esszenciális hipertónia patogenezisében az endotélium-függő mikrovaszkuláris reaktivitás károsodása nagyobb valószínűséggel következik be. Bár egyes közlemények alapján a nitrogén-oxid elérhetősége csökkent a hipertóniás serdülőknél, más vazoaktív mechanizmusok kompenzációs hatása miatt az endotélium-függő mikrovaszkuláris reaktivitás megmaradhat. Valószínűleg a prosztanoidok nagyobb mértékben járulnak hozzá az ACH-ra látott válaszához egészséges fiatal felnőtteknél, mint idősebb betegeknél. A Na-nitroprusszid iontoforézisre (endotélium-független dilatáció) adott válasz hasonló mértékben romlott az LH és az OBH csoportokban a kontrollokhoz képest, de ez a folyamat nem volt látható az elhízott hipertóniás betegeknél. Ez összhangban van azzal a hipotézissel, hogy az OWH-betegek kardiovaszkuláris kockázata kedvezőbb lehet, mint LH-társaiké, bár vannak ennek ellentmondó irodalmi adatok is. Érdekes megállapítás volt, hogy az ACH vagy az NaNP iontoforézis követő melegítés jellegzetes flux mintázatot követett. A helyi bőremelegedés kétfázisú választ vált ki: a kezdeti gyors csúcsnövekedést, amelyet a szenzoros afferens idegekből felszabaduló neurotranszmitterek közvetítenek, majd egy hosszan tartó plató fázis következik, amelyet túlnyomórészt nitrogén-oxid vált ki. Ez viszont felveti annak lehetőségét, hogy a helyi termikus hiperémia tesztet olyan eszközként használják, amellyel fel lehet mérni az endotélium-függő mikrovaszkuláris funkciót. Hasonló véráramlási mintázatot figyeltünk meg az ACH iontoforézis és helyi melegítést követően. Ettől különböző volt a NaNP iontoforézis és a helyi fűtésre adott együttes válasz, amelynek oka feltehetően az, hogy a NaNP clearance-e lassabb az ACH-hoz viszonyítva. Ez az idő-hatásgörbén is jól látható. Vizsgálatunkban ezt jelezte a melegítési szakasz kezdetén az NaNP iontoforézis helyén észlelt magasabb fluxusértékek. Az ACH és NaNP iontoforézis, valamint a lokális melegítésre adott mikrovaszkuláris válaszokat LH, OWH és OBH gyermekeknél és serdülőknél először vizsgáltuk. Kiderült, hogy az endotélium-függő vazorelaxáció nem gyengült szignifikánsan a hipertóniás csoportokban, szemben az LH és az OBH betegek endotélium-független értágulatának csökkenésével.

2.3. A gyermek- és serdülőkori hipertónia patogenezise

Céltűzések:

- Igazolható-e az a hipotézis, hogy a biokémiai és genetikai paraméterek alapján elkülöníthető a különböző eredetű magas vérnyomás gyermek- és serdülőkorban?

- Megfigyelhető-e a fokozott oxidatív stressz a fiatalkori esszenciális hipertónia esetén?
- Van-e összefüggés az oxidatív stressz és a vérnyomás között?
- Van-e összefüggés az oxidatív stressz mértéke és az elhízás között hipertóniás serdülőkben?
- A renin-angiotenzin rendszer génjeinek polimorfizmusai befolyásolhatják-e a fiatalkori esszenciális hipertónia kialakulását?
- Van-e genetikai fogékonyság az endotél diszfunkció hátterében?

Betegek

2.3.1. Oxidatív stressz és a hipertónia kapcsolata serdülőkorban

1. vizsgálat

Az oxidatív stressz biokémiai vizsgálatában 52 hipertóniás beteg (átlagéletkor $14,4 \pm 3,1$ év, fiú/leány: 37/15) és 48, életkornak megfelelő normális vérnyomású kontroll (átlagéletkor $14,3 \pm 4,3$ év, fiú/leány 20/28) vett részt. A magas vérnyomás diagnózisa a szakmai protokolloknak megfelelően rendelői mérés és ambuláns vérnyomás monitorozással (ABPM) történt. A másodlagos (endokrin, kardiológiai, neurológiai, vese eredetű) magasvérnyomás kizárási kritérium volt. A vizsgálatok a hipertóniás csoportban a kezelés megkezdése előtt történtek. Húsz gyermek esetében a családi anamnézis pozitív volt magasvérnyomásra. BMI alapján mind a hipertóniás, mind a kontrollcsoportot normál ($< 25 \text{ kg/m}^2$) és túlsúlyos ($> 25 \text{ kg/m}^2$) alcsoportokra osztottuk. Annak érdekében azonban, hogy több információt szerezzünk a súlyállapot és az oxidatív stresszparaméterek közötti lehetséges kapcsolatáról, az alábbi tápláltsági kategóriákat alakítottuk ki a statisztikai elemzés szempontjából. BMI $< 20 \text{ kg/m}^2$ – normál, BMI = $20\text{-}25 \text{ kg/m}^2$ – túlsúlyos (overweight), BMI $> 30 \text{ kg/m}^2$ - elhízott (obese)

2. vizsgálat

A betegcsoportok megegyeznek a lézer Doppler áramlásmérés vizsgálatban korábban leírtakkal.

3. vizsgálat

A vizsgált serdülőket öt vizsgálati csoportra osztottuk: kontroll (n = 57), elhízott (n = 60), hipertóniás (n = 49), elhízott + hipertóniás (n = 79) és krónikus veseelégtelen (urémiás) (n = 20). Az elhízás definíciója: testtömeg-index (BMI) $>25 \text{ kg/m}^2$. A magas vérnyomás diagnózisa a 24 órás (ABPM) szisztolés és/vagy diasztolés átlagos vérnyomás alapján történt a nemzetközileg elfogadott normálértékek alapján, amikor a vérnyomás meghaladta az életkor, nem és magasság szerinti 95 percentilt.

2.3.2. Eltérő patomechanizmus a serdülőkori esszenciális és obezitás indukálta hipertóniában

A vizsgált serdülőket négy vizsgálati csoportra osztottuk: kontroll (n = 26), elhízott (n = 34), hipertóniás (n = 34) és elhízott + hipertóniás (n = 37). Az elhízás definíciója: testtömeg-index (BMI) $>25 \text{ kg/m}^2$. A magas vérnyomás diagnózisa 24 órás (ABPM) szisztolés és/vagy diasztolés átlagos vérnyomás, amely meghaladta az életkor, nem és magasság szerinti 95 percentilt a nemzetközileg elfogadott normálértékek alapján. A renális, renovaszkuláris, endokrin, kardiológiai és a neurológiai eredetű magasvérnyomás kizárásra került. Kontrollként az életkorhoz és a nemhez illesztett egészséges gyermekek és serdülők kerületek bevonásra. A hipertóniás betegek az ACEI-t (ramipril) naponta egyszer, $1,25\text{-}5 \text{ mg/m}^2/\text{nap}$ dózisban szájon keresztül kapták. Kizárásra kerültek a magasvérnyomás endokrinológiai, kardiológiai, neurológiai, vese (proteinuria $>300 \text{ mg}/24\text{h}$, eGFR $<80 \text{ ml}/\text{perc}/1,73 \text{ m}^2$) és renovaszkuláris eredetű esetei.

2.3.3. Genetikai meghatározottság serdülőkori esszenciális és obezitás indukálta hipertóniában

1. vizsgálat

A genetikai vizsgálatba 35 esszenciális hipertóniás serdülő (életkor $14,4 \pm 2,7$ év, fiú/lány 30/5) és 70 végstádiumú veseelégtelenségben szenvedő gyermek és felnőtt beteg (20 gyermek, életkor $14,9 \pm 3,1$ év, fiú/lány 9/11 és 50 felnőtt, életkor $48,7 \pm 18,7$ év, férfi/nő 23/27) került bevonásra. A génpolimorfizmusok populációs gyakoriságának megítélésére 130 egészséges véréadó kontroll (életkor $34,9 \pm 8,1$ év, férfi/nő 66/64, szisztolés/diasztolés vérnyomás $117,9 \pm 8,7/78,7 \pm 8,5 \text{ Hgmm}$) és 20 egészséges serdülő (életkor $13,2 \pm 1,2$ év, fiú/lány 10/10,

szisztolés/diasztolés vérnyomás $109 \pm 6,5/71 \pm 5,9$ Hgmm) vizsgálata történt. A genetikai vizsgálatba bevont hipertóniásoknál a diagnózis felállítása a biokémiai és ABPM vizsgálat alapján történt. A betegek napi szisztolés/diasztolés vérnyomás átlaga $135,4 \pm 7,4/72,4 \pm 7,7$ Hgmm volt (ABPM). A hipertóniás betegeknél a BMI 30 kg/m^2 alatt volt, valamint szérumban koleszterin és triglicerid szintjük is a normál tartományba esett.

2. vizsgálat

A serdülők négy vizsgálati csoportba kerültek BMI és vérnyomás értékeik alapján: elhízott (BMI >25) (n = 55), hipertóniás (ABPM átlagos nappali SBP és DBP >95 percentil életkor, nem és testmagasság alapján) (n = 50), elhízott + hipertóniás (n = 80) és kontroll (n = 81). Az összes esetben a veseműködés normál tartományban volt (eGFR $>80 \text{ ml/perc/1,73 m}^2$). A renális, renovaszkuláris, endokrin, kardiológiai és a neurológiai eredetű magasvérnyomás kizárásra került. Kontrollként az életkorhoz és a nemhez illesztett egészséges gyermekek és serdülők kerületek bevonásra.

Módszerek

Endoteliális nitrogén-oxid szintáz (eNOS)

Nitrogén-oxid végtermékek a plazmában (nitrit + nitrát, NO_x)

A nitritet és a nitrátot egyidejűleg határoztuk meg HPLC módszerrel.

eNOS gén polimorfizmus

A *eNOS4b/a* polimorfizmus (27-bp tandem repeat - a allél: 4x, b allél: 5x repeat) meghatározása PCR módszerrel történt.

Plazma lipidperoxidok, malondialdehid (MDA)

A lipid peroxidáció a lipidek szabad oxigén gyökök (ROS) által okozott oxidatív degenerációja. A LPO-t generáló szabadgyökök mennyiségi meghatározására a lipid peroxidáció során keletkező malondialdehid (MDA) koncentráció mérését alkalmazzák világszerte.

Plazma szabad tiol csoportok

A tiolok (glutathion, cisztein, homocisztein) szerves kénvegyületek, amelyek szénnel kötött tiol (szulfhidril-SH) csoportot tartalmaznak. A szabad tiol csoportok plazmaszintjét spektrofotometriás módszerrel határoztuk meg.

Glutation redox rendszer (GSH/GSSG)

GSSG és GSH mérése enzimátikus „recycling” és spektrofotometriás (412 nm) méréssel történt. A vörösvérsejtek redukált glutation, valamint az oxidált/redukált glutation (GSSG/GSH) redox hányadosa megbízható paramétere az oxidatív egyensúly felborulásának endoteliális működészavarban (a GSH koncentráció csökken, a GSSG/GSH arány nő). A GSSG és GSH + GSSG koncentrációk meghatározása szeparáltan, Boda és munkatársai által leírt módszerrel történt teljes vér hemolizátumból, az értékek hemoglobin tartalomra vonatkoztatva kerültek megadásra.

Új paraméterként az ún. „GSH stabilitás” vizsgálatot is elvégeztük, in vitro oxidatív stressz alkalmazásával. A vérminta acetilfenil-hidrazinnal (AFH) történő inkubációja után megismételtük a GSH meghatározást és a visszamaradt GSH arányát számoltuk. A hányados a vörösvértestek oxidatív hatás elleni védekezőképességét jelzi, arra utalva, hogy milyen mértékben sikerül fenntartani a GSH szintet az AFH terhelés során. A károsodott vörösvértestek GSH szintje jelentősen esik, a reziduális GSH arány csökken.

A szuperoxid-dizmutáz (SOD) aktivitás

A szuperoxid-dizmutáz az endogén enzimátikus antioxidáns rendszer részét képezi. Az enzimaktivitás mérése Matkovics és munkatársai által módosított Misra és Fridovich módszer alapján történt.

A kataláz (CAT) aktivitás

A H_2O_2 -t a CAT bontja le a szervezetben vízre és oxigénre, így meggátolja a H_2O_2 toxikus metabolitokká történő alakulását. A CAT aktivitást Beers és Sizer módszerével spektrofotometriával (240 nm-es hullámhosszon) vizsgáltuk az enzim H_2O_2 bontó képességével.

Xantin-oxidáz (XO)

A XO aktivitását a xantinból képződő húgysav mennyiségével mértük. (HPLC)

Plazma alfa-tokoferol

Plazma alfa-tokoferol szint meghatározása HPLC-vel történt

Paraoxonáz-1 (PON-1)**PON-1 aktivitás**

A PON-aktivitást arilészteráz vizsgálatban mértük.

PON1 gén polimorfizmus

A genetikai vizsgálatok a genomiális DNS hagyományos izolálása után PCR módszert alkalmaztunk.

Endothelin-1 (ET-1)

Plazma Endothelin-1 (ET-1) szint

A ET-1 szintjét ELISA módszerrel (Biomedica, Ausztria) mértük.

Endotelin 1 gén (end1) polimorfizmus

A *end1* génben a G5665T SNP vizsgálata történt 2 allél specifikus PCR módszerrel, melyet munkacsoportunk fejlesztett ki.

Plazma leptin és leptin receptor

A plazma leptin szint meghatározása ELISA módszerrel történt. A leptin receptor kvantitatív mérésére a plazmában kettős monoklonális szendvics ELISA módszert használtunk.

Renin-Angiotenzin Rendszer (RAS)

Angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) aktivitás

A módszer egy kinetikus spektrofotometriás módszer, amely az ACE és a FAPGG (Furylacryloyl-phenylalanyl-glycyl-glycine) közötti kémiai reakción alapul.

ACE gén polimorfizmus

Az ACE gén I/D polimorfizmus meghatározását egy korábban közölt módszer alapján polimeráz láncreakcióval (PCR) végeztük.

AGT gén polimorfizmus

Az AGT gén M235T polimorfizmus meghatározása LightCycler technológiával történt.

AT1R gén polimorfizmus

Az AT1R gén A1166C polimorfizmus meghatározásához szintén LightCycler technológiát alkalmaztunk, az előbbi módszert optimalizáltuk erre a polimorfizmusra.

Eredmények és megbeszélés

2.3.1. Oxidatív stressz és a hipertónia kapcsolata serdülőkorban

1. vizsgálat

Hipertóniás betegeknél a BMI szignifikáns pozitív korrelációt mutatott mind a szisztolés, mind a diasztolés vérnyomással ($r = 0,581$ és $r = 0,542$, $n = 52$, $p < 0,001$). Kifejezett csökkenés a plazma NO_x koncentrációban csak a normál testsúlyú ($\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$) hipertóniásokban figyelhető meg a normál testsúlyú kontroll egyénekhez képest ($p < 0,01$). A plazma NO_x a túlsúlyos csoportokban is alacsonyabb volt, függetlenül a hipertóniától, de a csökkenés mértéke nem érte el a szignifikáns szintet. A plazma NO_x koncentráció nem mutatott

szignifikáns korrelációt sem a BMI-vel, sem a vizsgált oxidatív stressz paraméterekkel. A plazma MDA koncentráció csak a túlsúlyos hipertóniásokban ($\text{BMI} > 25 \text{ kg/m}^2$) emelkedett szignifikánsan a túlsúlyos kontroll egyénekhez képest ($p < 0,01$). A normál BMI-vel rendelkező hipertóniásokban ($\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$) plazma MDA emelkedést nem észleltünk. A szabad tiolok plazma koncentrációja a normál vérnyomású túlsúlyos csoportban kifejezett csökkenést mutatott a nem túlsúlyos kontroll csoporthoz képest (181 ± 24 vs. $215 \pm 35 \mu\text{mol/l}$, $p < 0,001$; átlag \pm SD). A hipertóniás túlsúlyosokban a csökkenés mértéke enyhébb volt a sovány hipertóniásokhoz képest (199 ± 30 vs. $209 \pm 38 \mu\text{mol/l}$, nem szignifikáns). A szabad tiolok plazma koncentrációjának csökkenése érzékeny jele a túlsúlyhoz társuló enyhe pro-oxidáns állapotnak, főképp a nem hipertóniás elhízottaknál. A GSH szint az összes hipertóniás csoportban szignifikánsan csökkent a kontroll csoportokhoz képest, függetlenül a BMI-től ($p < 0,05$ a $\text{BMI} < 20$ és $> 30 \text{ kg/m}^2$ csoportokban, $p < 0,01$ a $\text{BMI} 20\text{--}25 \text{ kg/m}^2$ csoportban és $p < 0,001$ a $\text{BMI} 25\text{--}30 \text{ kg/m}^2$ csoportban). Az *in vitro* oxidatív behatást követően a reziduális GSH-ban fokozatos csökkenés figyelhető meg a BMI függvényében, amely bizonyos metabolikus tényezők lehetséges hatását jelzi a GSH stabilitására.

A nem obez ($\text{BMI} < 30 \text{ kg/m}^2$) hipertóniás betegekben további szignifikáns csökkenés mutatkozott az azonos BMI-vel bíró kontrollokhoz képest [$p < 0,05$ a $\text{BMI} 25\text{--}30 \text{ kg/m}^2$ csoportban, $p < 0,01$ a $\text{BMI} < 20 \text{ kg/m}^2$ csoportban és $p < 0,001$ a $\text{BMI} 20\text{--}25 \text{ kg/m}^2$ csoportban]. A szignifikáns GSH csökkenés a BMI-vel arányos GSSG növekedéssel együtt erősen emelkedett GSSG/GSH redox arányt eredményez a hipertóniás betegekben a kontroll csoportokhoz képest ($p < 0,05$ a $\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$ csoportban és $p < 0,001$ a $\text{BMI} < 30 \text{ kg/m}^2$ csoportokban). A GSSG/GSH arány és a vérnyomás között azonban szignifikáns kapcsolat nem volt kimutatható. A MDA/ NO_x hányados (mint a fokozott lipid peroxidáció egyik jelzője) szignifikánsan emelkedett minden hipertóniás csoportban a BMI-től függetlenül ($p < 0,05$ a $\text{BMI} < 20$ és $25\text{--}30 \text{ kg/m}^2$ csoportokban, $p < 0,01$ a $\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$ csoportban és $p < 0,001$ a $\text{BMI} 20\text{--}25 \text{ kg/m}^2$ csoportban). Ezen felül, a MDA/ NO_x hányados a szisztolés és a diasztolés vérnyomással is szignifikáns korrelációt mutatott a teljes vizsgált populációban ($r = 0,525$ és $r = 0,492$, $n = 100$, $p < 0,001$). Az oxidatív stressz paraméterek egyike sem korrelált szignifikánsan a BMI-vel.

2. vizsgálat

A HDL koleszterin plazmaszintje szignifikánsan nagyobb volt az LH csoportban ($p < 0,01$) és szignifikánsan alacsonyabb az OBH betegekben ($p < 0,01$). A plazma triglicerid szintek az

OWH ($p < 0,05$) és az OBH betegekben ($p < 0,01$) emelkedettek voltak a kontrollokhoz képest. Az OBH csoportban mért plazma HDL koleszterin ($p < 0,01$) és triglicerid szintek ($p < 0,05$) szignifikánsan magasabbak voltak a sovány hipertóniás (LH) csoporthoz képest. Az LDL koleszterin értékekben nem volt különbség a csoportok között. A teljes vér oxidált/redukált glutation hányadosok (GSSG/GSH) szignifikánsan ($p < 0,001$ vs. kontrollok) emelkedettek voltak mindhárom betegcsoportban. Az OBH alanyok esetén mért GSSG/GSH hányadosok magasabbak ($p < 0,05$) voltak az LH értékeknél. A CAT aktivitás emelkedett volt az OWH betegekben ($p < 0,05$). A vérzsírokhoz (triglicerid + teljes koleszterin) normalizált plazma alfa-tokoferol és az MDA koncentrációja, valamint az SOD aktivitása nem különbözött szignifikánsan a vizsgálati csoportokban. Az endotél dependens mikrovaszkuláris reaktivitás nem mutat szignifikáns csökkenést normál testsúlyú, túlsúlyos és obez hipertóniás serdülőkből. Ez arra utal, hogy a fiatalkori esszenciális hipertónia patogenezisében az endotél dependens mikrovaszkuláris reaktivitás romlása a vérnyomás emelkedését követően, és nem azt megelőzően alakulhat ki. Az endotél független vazodilatáció szignifikánsan kisebb az LH és az OBH csoportokban a kontrollokhoz képest, ellentétben az OWH betegekkel tapasztaltakkal. A mikrovaszkuláris reaktivitás nem korrelál az oxidatív markerek szintjével, bár az oxidatív stressz fokozódása mindhárom hipertóniás csoportban igazolható.

3. vizsgálat

Az anyagcsere paraméterek koncentrációja hasonló volt a kontrolloknál és az esszenciális hipertóniában szenvedő betegeknek, míg a plazma koleszterin szintje az elhízott és elhízott hipertóniás csoportokban egyaránt emelkedést mutatott ($p < 0,05$). Az elhízott hipertóniás betegeknek a plazma triglicerid és a vércukorszint szignifikánsan ($p < 0,05$) magasabb volt. Az urémiás hipertóniában szenvedő betegeknek a plazma koleszterin ($p < 0,01$) és a triglicerid ($p < 0,01$) koncentrációja, valamint a szérum kreatinin szint ($p < 0,001$) szignifikánsan magasabb volt a kontrollhoz képest. A plazma NO_x koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt ($p < 0,001$) mind a négy betegcsoportban a kontroll csoporthoz viszonyítva. A MDA koncentráció szignifikánsan magasabb volt az urémiás hipertóniás ($p < 0,001$) és az elhízott hipertóniás ($p < 0,05$) betegeknek a kontrollokhoz képest. A MDA/ NO_x arány, amelyet az oxidatív stressz és az endoteliális funkciózavar közötti kapcsolat markereként tartunk számon, szignifikánsan magasabb volt az elhízásban ($p < 0,05$), az urémiás hipertóniában ($p < 0,001$), a magas vérnyomásban ($p < 0,01$) és az elhízás okozta magas vérnyomásban ($p < 0,01$) szenvedő betegeknek. A GSH szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a magas vérnyomásban szenvedő

betegeknél ($p < 0,001$) és az elhízáshoz társult magasvérnyomásban ($p < 0,05$), mint a kontrollcsoportban, míg a GSSG-szint szignifikánsan magasabb volt ($p < 0,01$) az urémiás hipertóniás csoportban. A GSSG/GSH arány is jelentősen megnőtt ($p < 0,05$) ugyanebben a betegcsoportban a kontrollokhoz viszonyítva. A plazma cisztein koncentrációja szignifikánsan magasabb volt a magas vérnyomásban szenvedő betegeknél ($p < 0,001$) és az elhízás okozta magas vérnyomásban ($p < 0,001$), mint a kontrollcsoportban. A plazma homocisztein szintje kontrollokhoz viszonyítva csak az urémiás csoportban volt lényegesen magasabb ($p < 0,001$). A Q192R polimorfizmus genotípus-gyakorisága 63% QQ, 35% QR és 2% RR (Q = 80,5, R = 19,5) volt a kontrollokban, 65% QQ, 30% QR és 5% RR (Q = 80, R = 20) az urémiás hipertóniás betegeknél, 50% QQ, 45% QR és 5% RR (Q = 72,5, R = 27,5) az elhízott betegeknél, 51% QQ, 45% QR és 4% RR (Q = 73,5, R = 26,5) a hipertóniás betegeknél, és 52% QQ, 40% QR és 8% RR (Q = 72, R = 28) az elhízott hipertóniás betegeknél. Nem volt szignifikáns különbség a Q192R polimorfizmus allélfrekvenciájában az elhízásban, urémiás hipertóniában, esszenciális hipertóniában vagy elhízás okozta hipertóniában szenvedő betegekben a kontroll csoporthoz képest. Hasonlóképpen nem volt szignifikáns különbség e csoportok között a Q192R polimorfizmus genotípus-eloszlásában sem.

Hasonlóan a korábbi irodalmi adatokhoz, kimutattuk a kapcsolatot a Q192R polimorfizmus és Paraoxonáz1 aktivitása között. A QQ genotípusok alacsonyabb enzim aktivitással rendelkeztek, de magasabb lipid peroxidációs védelmet nyújtottak, mint az RR genotípusok. Mackness és munkatársai által egészséges kaukázusi egyéneknél jelentett PON1 Q192R genotípus és allélfrekvenciák (55,3% Q / Q, 35,1% Q / R és 9,6% R / R) nem különböztek az általunk végzett vizsgálat eredményétől. Jelentős csökkenés enzim aktivitásban ($p < 0,001$) csak az urémiás betegeknél volt megfigyelhető. Az enzim aktivitás a PON1 gén Q192R polimorfizmusától függetlenül csökkent krónikus veseelégtelen hemodializált betegekben, ezért valószínűleg az enzimaktivitás fontosabb meghatározója a szív- és érrendszeri betegségekre való hajlamnak, mint maga a Q192R polimorfizmus. A szervezetben a homocisztein oxidációja révén toxikus szabadgyökök (pl. homocisztein-tiolakton) keletkeznek, ezek endotél diszfunkcióhoz vezetnek, melynek következtében a nitrogén-monoxid (NO) metabolizmus is károsodik. A Paraoxonáz1 enzim homocisztein tiolaktonáz aktivitással is rendelkezik, melyeknek károsodása fontos szerepet játszik krónikus veseelégtelenségben a lipid anyagcsere kedvezőtlen változásában. Irodalmi adatok alapján ismert, hogy a plazma MDA koncentrációja jelentősen megnövekedett hemodialízisben részesülő urémiás és felnőtt hipertóniás betegeknél. Csak hemodialízisben részesülő betegeinknél figyeltünk meg jelentősen megemelkedett MDA-szintet, míg a többi csoportban

az MDA-koncentráció nem emelkedett szignifikánsan. A lipidperoxidok a paraoxonáz enzim szubsztrátjai és egyben inhibitorai is, ezért a megemelkedett MDA-koncentráció összefügghet az urémiás-hipertóniás betegek csökkent PON1 aktivitásával. A lipid peroxidok által gátolt enzim kevesebb védelmet nyújt az LDL oxidációja ellen. A Paraoxonáz enzim állapota és a vizsgált biokémiai paraméterek (NO_x , MDA, GSH, GSSG, cisztein és homocisztein) szintjei egymástól függetlenül kapcsolódnak az emelkedett vérnyomáshoz a vizsgált hipertóniás csoportokban. A lipid peroxidok és a homocisztein megemelkedett szintje, valamint a csökkent enzim aktivitás együttesen hozzájárulhat a kardiovaszkuláris szövődmények fokozott kockázatához krónikus veseelégtelenségben. Az urémiás, az elhízás okozta és az esszenciális hipertóniás betegeknél is megnövekedett az oxidatív stressz szintje. Az elhízott betegeknél mérsékelt módon ugyan, de észlelhető pro- és antioxidáns egyensúly felborulása, amely endoteliális diszfunkcióval és csökkent antioxidáns védelemmel jár együtt.

2.3.2. Eltérő patomechanizmus a serdülőkori esszenciális és obezitás indukálta hipertóniában

A plazma szabad tiolok koncentrációja kezdetben szignifikánsan csökkent az elhízott ($p < 0,001$), a hipertóniás ($p < 0,01$) és az elhízott-hipertóniás ($p < 0,001$) csoportokban. Az ACEI terápiát követően a magas vérnyomásban szenvedő betegeknél tovább csökkent a plazmamentes tiol szint ($p < 0,001$). A plazma leptin és a leptin receptor szintje az elhízás markerei. A plazma leptin szintje szignifikánsan magasabb ($p < 0,01$), míg a plazma leptin receptorok szintje szignifikánsan alacsonyabb volt ($p < 0,001$) elhízott betegeknél, akár magas vérnyomásban, akár anélkül, a ramipril-kezelés előtt és után. Mindhárom betegcsoportban a NO_x plazma koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt ($p < 0,01$) mint a kontrollcsoportban. A ramipril-terápiát követően a plazma NO_x koncentrációja hipertóniás betegeknél tovább csökkent ($p < 0,001$), míg az elhízott-hipertóniás csoportban visszatért a normál szintre. A plazma MDA-koncentráció magasabb volt a hipertóniás ($0,5 \pm 0,12 \mu\text{mol/l}$) és az elhízott-hipertóniás ($0,53 \pm 0,31 \mu\text{mol/l}$) betegeknél, míg az elhízott ($0,4 \pm 0,15 \mu\text{mol/l}$) betegeknél ez a kontrollokhoz képest csökkent ($0,46 \pm 0,16 \mu\text{mol/l}$).

A ramipril kezelést követően az MDA-koncentráció nem változott a hipertóniás csoportban ($0,5 \pm 0,22 \mu\text{mol/l}$), míg az elhízott hipertóniás betegeknél kissé megemelkedett ($0,56 \pm 0,20 \mu\text{mol/l}$). Az oxidatív stressz és az endoteliális reakció közötti kapcsolat markere, a MDA/ NO_x aránya szignifikánsan magasabb volt a magas vérnyomás ($p < 0,05$) és az obez-hipertónia ($p < 0,05$) esetében, mint a kontrollokban. A gyógyszert követően a MDA/ NO_x emelkedett a

hipertóniás csoportban, de csökkent az elhízott-hipertóniás csoportban. Az ACE aktivitása szignifikánsan megemelkedett ($p < 0,05$) magas vérnyomásban szenvedő betegeknél. A ramipril-terápiát követően ebben a csoportban normalizálódott az enzimaktivitás, míg az jelentősen csökkent ($p < 0,001$) az elhízással összefüggő hipertóniás csoportban. A XO aktivitása szignifikánsan alacsonyabb volt ($p < 0,05$) mind a ramipril kezelés előtt, mind után a hipertóniás csoportban. A kezelés előtt az enzimaktivitás szignifikánsan megemelkedett ($p < 0,05$) az elhízott-hipertóniás csoportban, de a kezelésre adott válaszként normalizálódott. A nitrogén-oxid (NO) végtermékek (NO_x) plazmakoncentrációja szignifikánsan csökkent a hipertóniás nem túlsúlyos betegeknél. A túlsúlyos hipertóniás és a túlsúlyos kontroll csoportokban a plazma NO_x szintén alacsonyabb volt, de a csökkenés mértéke nem érte el a szignifikáns szintet. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a plazma NO_x csökkenéssel jellemzett endoteliális diszfunkció fontosabb tényező lehet az esszenciális hipertónia kialakulásában sovány betegeknél, de jelenléte obezitásban és obezitáshoz társuló hipertóniában is kimutatható.

A lipid peroxidok (MDA) emelkedett és a szabad tiol csoportok enyhén csökkent plazma koncentrációja volt megfigyelhető a túlsúlyos hipertóniás betegeknél. A vörösvértestek csökkent redukált glutation (GSH) és emelkedett oxidált glutation (GSSG) koncentrációja következtében észlelhető emelkedett GSSG/GSH arány és a lipid peroxidok/NO végtermékek arányának (MDA/ NO_x) emelkedése volt látható az összes hipertóniás csoportban. Ezek az eredmények erős bizonyítékkal szolgálnak az oxidatív stressz jelenlétére serdülőkori esszenciális hipertóniában. Továbbá, a MDA/ NO_x hányadosként jellemzett oxidatív stressz szignifikáns korrelációt mutatott mind a szisztolés, mind a diasztolés vérnyomással. Az oxidatív stressz még fokozottabb a túlsúlyos hipertóniásokban, mint a normál testsúlyú hipertóniás betegeknél. A plazma szabad tiolok csökkenése és a vörösvérsejtek GSSG koncentrációjának emelkedése az elhízásban az oxidatív stressz jelenlétére utal a vérnyomás emelkedésétől függetlenül. Adataink arra engednek következtetni, hogy az oxidatív stressz kóroki tényező lehet a fiatal korban kezdődő magasvérnyomás betegségben, beleértve az elhízáshoz társuló formát is.

2.3.3. Genetikai meghatározottság serdülőkori esszenciális és obezitás indukálta hipertóniában

1. vizsgálat

A genotípus eloszlásban és allélgyakoriságban nem volt különbség a gyermek és felnőtt kontroll csoportok között, így egységes kontroll csoportot alakítottunk ki. A genotípus megoszlás a kontroll csoportban a Hardy-Weinberg egyensúlynak megfelelő volt. Az AGT gén MT genotípusa szignifikánsan gyakrabban fordult elő serdülőkorú (juvenilis) esszenciális hipertóniában, mint a kontroll csoportban [$n = 26/35$ (74%) vs. $n = 75/150$ (50%), $P < 0,02$, OR 2,9]. Az AGT gén egyéb genotípusainak, valamint az ACE és AT1R gének genotípusainak gyakoriságában nem találtunk szignifikáns különbséget a hipertóniás és a kontroll csoport között. Csak az ACE gén II genotípusának előfordulási gyakorisága mutatott egy gyenge, nem szignifikáns emelkedést. Az allélgyakoriságban egyik polimorfizmus sem volt különbség a hipertóniás és a kontroll csoport között. Az AGT gén MT genotípusa és az ACE gén DD genotípusa szignifikánsan gyakrabban fordult elő a gyermek ESRD betegcsoportban a kontroll csoporthoz viszonyítva [MT $n = 16/20$ (80%) vs. $n = 75/150$ (50%), $P < 0,02$, OR 4,0; DD $n = 9/20$ (45%) vs. $n = 33/150$ (22%), $P < 0,05$, OR 2,9]. A DD genotípus előfordulása a felnőtt ESRD csoportban is magasabb volt, de nem szignifikáns. Az AT1R génpolimorfizmus genotípus megoszlása az ESRD csoportokban megegyezett a kontroll csoport genotípus megoszlásával. A CC genotípus a felnőtt ESRD csoportban valamivel gyakoribb volt, de ennek mértéke nem volt szignifikáns. A gyermek ESRD csoportban az ACE gén D allélja szignifikánsan gyakrabban fordult elő a kontroll csoporthoz képest (0,65 vs. 0,50, $P < 0,05$). Az M235T és A1166C polimorfizmusok allélgyakorisága nem különbözött az ESRD csoportokban a kontroll csoporthoz képest. Az angiotenzinogén gén (AGT) M235T polimorfizmus MT genotípusa gyakrabban fordult elő serdülő esszenciális hipertóniásokban a kontroll csoporttal összehasonlítva, amihez azonban a TT genotípus és T allél előfordulási gyakoriságának emelkedése nem társult. A T allél jelenléte nem tekinthető egyértelmű rizikótényezőnek esszenciális hipertónia kialakulásában. Ezen túlmenően nem tudtunk kimutatni egyéb kapcsolatot a renin-angiotenzin rendszer génpolimorfizmusai és a juvenilis esszenciális hipertónia között. Ebből az a következtetés vonható le, hogy feltehetően a RAAS génvariációinak nincs szignifikáns hatása az esszenciális hipertónia kialakulására serdülőkből. Ezen génpolimorfizmusok juvenilis esszenciális hipertóniában betöltött pontos szerepének tisztázásához további vizsgálatok szükségesek nagyobb betegpopulációban.

2.vizsgálat

Endothelin-1

Szignifikáns ($p < 0,05$) különbség látható a ET-1 gén G+5665T (Lys198Asn)G/T heterozigóta genotípusban a hipertóniás betegekben ($n=50$, G/G 50%, G/T 46% és T/T 4%, allél frekvencia:

G 73%, T 27%) a kontrollokhöz viszonyítva (n=81, G/G 62%, G/T 30% és T/T 8%, allélfrekvencia: G 77%, T 23%). Nem volt szignifikáns különbség ET-1 G+5665T (Lys198Asn) polimorfizmus genotípus eloszlásában a kontroll csoport, az obez (n=55, G/G 53%, G/T 40% és T/T 7%, allél frekvencia: G 73%, T 27%), valamint az obez hipertóniás (n=80, G/G 55%, G/T 39% és T/T 6%, allél frekvencia: G 74%, T 26%) csoportok között. Összefüggés volt kimutatható azonban a BMI és az obezitás (obez és obez hipertóniás n=135) között. A BMI magasabb értéke esetén G/G genotípus aránya csökkent, míg a G/T emelkedett. Súlyos elhízásban (BMI>30) G/T genotípus szignifikánsan gyakoribb volt ($p<0.05$) együtt az obez és az obez hipertóniás csoportban (n=79, G/G 48%, G/T 44% és T/T 8%, allél frekvencia: G 70%, T 30%) mint a kontrollokból (n=81, G/G 62%, G/T 30% és T/T 8%, allél frekvencia: G 77%, T 23%).

eNOS gén polimorfizmusok

eNOS T-786C polimorfizmus

A genotípus eloszlásban eNOS T-786C polimorfizmust vizsgálva nem volt különbség a betegcsoportok és a kontrollok között. Nem találtunk szignifikáns összefüggést a plazma NO_x szintje és a T/T ($38.3\pm 2.8 \mu\text{M}$), T/C ($40.8\pm 2.6 \mu\text{M}$) vagy a C/C ($41.3\pm 4 \mu\text{M}$) genotípus között. Ugyancsak nem volt kapcsolat a genotípus (T/T, T/C, C/C) és a vérnyomás szisztolés (T/T 130 ± 14.24 Hgmm, T/C 129.5 ± 15 Hgmm, C/C 132 ± 16 Hgmm) és a diasztolés (T/T 79 ± 10 Hgmm, T/C 76 ± 11 Hgmm, C/C 79 ± 15 Hgmm) értékei között.

eNOS „intron 4 27-bp repeat” polimorfizmus

Gyenge, nem szignifikáns különbség volt a genotípus eloszlásban és az allél frekvenciában az eNOS intron 4 27-bp repeat polimorfizmus tekintetében a hipertóniás, az obez hipertóniás és a kontroll csoportok között. Nem volt szignifikáns kapcsolat a genotípus és a plazma NO_x - b/b ($49.15\pm 16.86 \mu\text{M}$), b/a ($46.2\pm 20.95 \mu\text{M}$) és a/a ($43.17\pm 21.05 \mu\text{M}$) - koncentrációja között, annak ellenére, hogy a beteg csoportokban (obez, hipertóniás és obez hipertóniás) a plazma NO_x szignifikánsan alacsonyabb volt.

Vizsgálatunk alapján a renin-angiotenzin rendszer génpolimorfizmusainak nincs jelentős szerepe a serdülőkori esszenciális hipertónia kialakulásában. A renin-angiotenzin rendszer bizonyos génpolimorfizmusai (ACE I/D polimorfizmus és angiotenzinogén M235T polimorfizmus) befolyásolhatják a végstádiumú veseelégtelenség kialakulását gyermekkori krónikus vesebetegségekben. Az angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gén I/D polimorfizmusa és az AGT gén M235T polimorfizmusa szignifikáns kapcsolatot mutatott a gyermekkori végstádiumú veseelégtelenséggel, a D allél és DD genotípus gyakrabban fordult

elő ebben a betegcsoportban. A DD genotípus jelenléte genetikai rizikótényező lehet a vese parenchyma károsodásra, a vesehegesedésre és a krónikus vesebetegség kialakulására gyermekkorban, az azt kiváltó októl függetlenül. Az AGT gén MT genotípusa, amely gyakoribb volt a gyermekkorú végstádiumú veseelégtelen betegekben, hozzájárulhat a krónikus veseelégtelenség progressziójához. A krónikus vesebetegség progressziójára hajlamosító fenti genetikai mintázat a felnőtt betegekben nem volt kimutatható.

Vizsgálataink alapján az ET1 gén G+5665T (Lys198Asn) polimorfizmusa az egyik felelős genetikai faktor lehet mind az esszenciális, mind az elhízáshoz társuló magasvérnyomás patogenezisében. Nem találtunk szignifikáns kapcsolatot eNOS gén vizsgált polimorfizmusai és a plazma NO_x szintek között. Úgy tűnik, hogy az eNOS szerepet játszik a vérnyomás szabályozásában, de nem a fő tényezője, hanem inkább annak egy finom szabályozója serdülőkorban.

3. A KRÓNIKUS VESEBETEGSÉGHEZ VEZETŐ RITKA KÓRKÉPEK

Célkitűzések

Indirekt genetikai vizsgálat – kapcsoltsági marker vizsgálatok

- Vesebiopsziával igazolt vékony bazális membrán *nephropathiás*, ill. egy *Alport syndromás* betegek családjában a Col(IV)A3/A4 gének, valamint a Col(IV)A5 gén öröklődésmenetének vizsgálata mikroszatellita markerekkel annak kimutatására, hogy melyik gén mutációjához köthető a hematuria szegregálódása és a morfológiai eltérések megjelenése.

Direkt genetikai vizsgálatok – újgenerációs szekvenálás (NGS) módszerével

- Az indirekt genetikai módszerrel nem megoldott 14 COL IV *nephropathiás* családban és 3 betegben az újgeneráció szekvenálás módszerével a kóroki mutáció azonosítása (magyar AS/VBMN kohorsz). Az AS és a VBMN klinikai jellemzőinek és vitatott öröklődésmenetének (AR, AD) molekuláris genetikai szintű megértése és részletes leírása.
- A PDSS2 gén mutációja miatt kialakult CoQ10 hiány és SRNS vese szövettani bemutatása.

- PAX2 mutáció által okozott morfológiai eltérések leírása OMN-ben normál veseméret mellett.
- Nemzetközi kohorsz részeként a DGKE mutáció gyermekkori megjelenésének (fenotípus - genotípus) klinikai jellemzése.

Betegek

3.1. Alport syndroma / VBMN - COL4A3, COL4A4, COL4A5 gének

Két familiáris VBMN-es és egy AS-es családot vizsgáltunk. A kórismét a klinikai tünetek, a családfa, valamint VBMN-ban 14 hematuriás és 10 nem hematuriás családtag vizsgálatát végeztük el kapcsoltsági analízissel.

3.2 Diffúz mesangialis sclerosis - PDSS2 gén

A mutáció vizsgálat egy többszervi elégtelenségben meghalt SRNS fiú csecsemő és szülei DNS-én történt.

3.3. Oligomeganephronia - PAX2 gén

Oligomeganephronia diagnózisa egy fiatal felnőttél (krónikus vesebetegség CKD3b stádium - CKD3b) került meghatározásra.

3.4. Atípusos haemolyticus uraemias syndroma – DGKE gén

DGKE mutáció azonosítása egy 2 éves kisdéd esetében történt.

A genetikai vizsgálatok minden esetben az érvényes magyar genetikai törvény (2008. évi XXI. törvény a humángenetikai adatok védelméről, a humángenetikai vizsgálatok és kutatások, valamint a biobankok működésének szabályairól) és a vizsgálatok kutatásaitikai engedélyeinek birtokában történtek.

Módszerek

Indirekt genetikai vizsgálat

3.1. Alport syndroma / VBMN - COL4A3, COL4A4, COL4A5 gének

Az indirekt genetikai kapcsoltsági analízis maradt azoknak a családoknak az egyetlen vizsgálati módszere, ahol a családi mutáció nem ismert, de több beteg és egészséges családtag vizsgálata lehetővé teszi a beteg fenotípus és a vizsgált markerek egyrészének együtt öröklődésének vizsgálatát. A hematuria szegregálódásának nyomon követésére kapcsoltsági analízist végeztünk egy-egy gén polimorfikus STR markerével.

Direkt genetikai vizsgálatok

3.1. Alport syndroma/VBMN - COL4A3, COL4A4, COL4A5 gének

A genetikai vizsgálatához egy általunk tervezett (Ion AmpliSeq™ Designer version 4.2.1) Alport/VBMN panelt használtunk, amely tartalmazza a COL4A3-4-5 gének exonjaira specifikus primereket. A minták szekvenálása IonTorrent 316 chip-en történt. Összesen 17 (14 család + 3 egyedi eset) beteg került panelünkre, majd a detektált variánsokat a betegek további 55 családtagjában Sanger szekvenálással ellenőriztük.

3.2. Diffúz mesangialis sclerosis - PDSS2 gén

Illumina TruSight One klinikai exom szekvenálás történt, amely magában foglalta CoQ10 szintézisben érintett géneket (COQ2, COQ4, COQ6, COQ7, COQ8A, COQ8B [ADCK4], COQ9, PDSS1, PDSS2, ADCK1, ADCK2, ADCK5, COQ3, COQ10A, COQ10B, FDXR, FDX2, ATPX, BRAF, ETFDH), valamint azokat, amelyek a korai (infantil) *nephrosis syndroma*-ért felelősek (ACTN4, ARHGAP24, CD2AP, CFH, CUBN, DGKE, INF2, ITGA3, ITGB4, KANK1, LAMB2, LMX1B, MYH9, MYO1E, NPHS1, NPHS2, PLCE1, PTPRO, SCARB2, SMARCAL1, TRPC6, WT1).

3.3. Oligomeganephronia - PAX2 gén

Illumina TruSight One klinikai exom szekvenálás történt,

3.4. Atípusos haemolyticus uraemias syndroma – DGKE gén

A komplement rendszer biokémiai és genetikai vizsgálatai a Semmelweis Egyetem Füst György Komplement Diagnosztikai Laboratóriumában Prohászka Zoltán segítségével történtek MLPA (multiplex ligációfüggő próbaamplifikálás) technikával.

A beteg genomiális DNS-éből polimeráz láncreakciót követően DNS szekvenálással vizsgáltuk: a komplement H-faktor fehérje génjének teljes kódoló régióját (*CFH*; 1-9, 11-23 exonok), a komplement I-faktor fehérje génjének teljes kódoló régióját (*CFI*; 1-13 exonok), a membrán kofaktor protein génjének teljes kódoló régióját (*CD46*; 1-14 exonok), a komplement B-faktor fehérje génjének teljes kódoló régióját (*CFB*; 1-18 exonok), a komplement C3 fehérje génjének teljes kódoló régióját (*C3*; 1-41 exonok), a trombomodulin fehérje génjének teljes kódoló régióját (*THBD*; 1 exon), a diacilglicerol-kináz epszilon fehérje génjének teljes kódoló régióját (*DGKE*; 2-12 exonok) és az exonokat határoló intronikus szekvenciákat.

Bioinformatikai elemzés

A kapott variánsok bioinformatikai kiértékelését első lépésben a CLC Bio, Torrent Suite 4.2 és Illumina VariantStudio programokkal végeztük. A munkacsoportunk által szekvenált 150

klínikai exom, és a konzorciális partnerek által szekvenált mintákat anonimizáltan, egy egységes (a genom koordinátákon alapuló) bioinformatikai pipeline-nal analizáltuk újra. A feldolgozott szekvencia adatokból egy genetikai variáns adatbázist készítettünk, amelyből lekérdezhető a konzorcium által vizsgált mintákban előforduló magyar populáció specifikus és egyéb, már ismert variánsok. A létrehozott adatbázis lehetővé teszi a ritka variánsok azonosítását, a diagnosztikai célú genetikai vizsgálatok (NGS alapú exom, klínikai exom szekvenálás) pontosabb kiértékelését. Az adatbázis beteg adatokat nem tartalmaz.

Szövevény

A klínikai rutin eljárásnak megfelelően, radiológus által UH-vezérelt biopsziás pisztollyal (16G tű) perkután mintavétel történt a vese alsó pólusából. A vesebiopszia során nyert szövet feldolgozása egyrészt fagyasztást, másrészt formalin fixálást követően történt.

Eredmények és megbeszélés

3.1. Alport syndroma / VBMN - COL4A3, COL4A4, COL4A5 gének

Indirekt genetikai vizsgálat

Korai vizsgálataink célja az volt, hogy a VBMN-s és az AS-s betegek és családtagjaik STR marker vizsgálatával a diagnózishoz tartozó genetikai hátteret megismerhessük. Három család vizsgálatát végeztük el. A két VBMN-s család közül az egyikben klasszikus autoszomális domináns öröklődésmenetet igazoltunk a kettes kromoszóma Col(IV)A3 markereivel. Megfigyeléseink megerősítették az irodalmi adatokat, melyek szerint a hematuria a VBMN-es családokban általában a Col(IV)A3/Col(IV)A4 génekkel szegregálódik (öröklődik). A vizsgált nagy VBMN-s családban a hematuria „nem szegregálódásnak” több oka lehet: pl. a hematuria inkomplett penetranciája, véletlenszerű hematuria több családtagnál vagy új gén lokusz érintettsége. Amennyiben a Col(IV)A3/A4 génmutációs vizsgálataink nem igazolnak családi génmutációt, vizsgálni kell az egyéb lehetséges okokat is. A GBM másik fő komponense a laminin hasonló ontogenetikai cserén megy keresztül. A laminin A,B1,B2 kicserélődik A,S,B2-re a Col(IV)A1,A1,A2 Col(IV)A3,A4,A5 váltással párhuzamosan. Ezt a folyamatot is alapvetően befolyásolhatják a laminin gén mutációk.

Az AS-es családban két tény is felhívta a figyelmet arra, hogy az AS-es lány betegsége valószínűleg autoszomális recesszív öröklődésű. Az egyik tény az, hogy mindkét szülő hematuriája ismert volt már. A másik pedig a markervizsgálatok eredménye, mely szerint mindkét leány ugyanazt az anyai X-kromoszómát örökölte az apai X mellé, és az egyik „csak” hematuriás, a másik viszont AS. Az X-kromoszómán lévő Col(IV)A5 gén mutációja esetén a

mindössze hematuriás apa és fia betegsége súlyosabb kellene, hogy legyen. Természetesen mindezt a Col(IV)A3/A4/A5 génmutációs analízisnek kell alátámasztania.

Az X kromoszómához kötött *Alport syndroma*-s betegek új („*de novo*”) mutációjának aránya kb. 15%. Az AR *Alport szindróma* 1:50000 gyakorisága és a Hardy-Weinberg-egyenlet alapján a Col(IV)A3/A4 génmutáció populációs gyakorisága kb. 1:120, tehát a lakosság kb. 1%-a heterozigóta hordozó (VBMN) AR *Alport syndroma*-ra. Mindez alátámasztja a familiáris hematuria korrekt családvizsgálatának és diagnosztikájának fontosságát. A jövőben a genetikai analízisnek döntő és megkerülhetetlen diagnosztikus szerepe lesz az AS és a VBMN elkülönítésében. A direkt mutációs analízis azonban a genetikai heterogenitás miatt nagy kihívás volt a molekuláris genetikusok számára a 2000-es évek legelején. Több gén, valamint ugyanazon gén sok, különböző típusú mutációjának meghatározásáról volt szó. Ezek a gének nagyméretűek és 52, 48, 51 exon-t tartalmaznak. A közlemény idejéig leírt mutációk közül csak néhány fordult elő több mint egyszer a vizsgált családokban, így egyre több új mutációt ismerhettünk meg. A VBMN-s családban a hematuria „nem szegregálódásnak” több oka lehet, például a hematuria tulajdonság inkomplett penetranciája, véletlenszerű hematuria több családtagnál, vagy új génlókusz esetleges érintettsége.

Míg a genetikai mutációs szűrés módszerei technikai kivitelezésüket és eredményességüket illetően újabb fejlődésen nem mentek át, addig az indirekt megközelítés, a genetikai kapcsoltsági analízis maradt a molekuláris genetikai diagnosztika eszköze. Ezzel nyilván sokkal kevesebb diagnosztikus információhoz juthattunk, de lehetővé tette az érintett családokban a genetikai tanácsadást, az esetleges magzati diagnosztikát (pl. korai *Alport syndroma* esetén), ill. annak véleményezését, hogy ki lehet közülük vesedonor.

Tehát időre volt szükség, hogy a IV-es típusú kollagén *nephropathiák* diagnosztikájában a morfológiai vizsgálatok kiegészítésére, a klinikai lefolyás nyomon követése mellett, a molekuláris genetikai diagnosztika is teret nyerjen. Különösen gyermekkorban jelentett problémát az AS és a VBMN elkülönítése. Bár elősegíthette az XD és AR *Alport syndroma* diagnózisát a vesebiopsziás minták Col(IV) alfa-láncokra történő immunhisztokémiai vizsgálata, hagyományos szövettani módszerekkel ennek is megvoltak a korlátai. Voltak olyan betegek, akik a Col(IV) láncokra a kontrolloktól megkülönböztethetetlen expressziót mutattak annak ellenére, hogy patogén mutációkat találtak náluk a Col(IV)A3/A4 vagy A5 génekben.

Direkt genetikai vizsgálatok

Az elmúlt évtized közepén a paralel szekvenálási technikák elterjedésével a szegedi Genetikai Diagnosztikai Laboratóriumban is már rendelkezésre álló NGS módszerrel újra analizáltuk a

magyar AS/VBMN kohorszot. Ezt megelőzően a 66 mintát tartalmazó magyar kontroll csoportban (nem AS/VBMN) azonosítottunk a COL4A3, COL4A4 és a COL4A5 génekben 21, olyan populáció specifikus, nem szinonim SNP variációt, melyeket korábban már publikáltak. Erre azért volt szükség, hogy a patogén mutációkat és a nem patogén variációkat a magyar betegek mintáiban könnyebben el tudjuk különíteni.

Általában a meglévő orvosi dokumentáció (családfa) hiányossága és az elvégzett klinikai és szövettani vizsgálatok alapján a VBMN és az AS különböző öröklődésű típusai (autoszomális, X kromoszómához kötött) között - elsősorban a kisebb létszámú családokban - nehéz teljes biztonsággal különbséget tenni.

A magyar AS/VBMN kohorsz az NGS AmpliSeq panel segítségével megismételt vizsgálattal azonosított 37 genetikai variációt összehasonlítottuk a publikus adatbázisokkal (LOVD, dbSNP, HGMD, University of Utah Alport adatbázis). A 37-ből 14 akkor még nem publikált és 3 már publikált mutációt találtunk, ami minden esetben kórokinak bizonyult. A 17 esetből 10 volt X kromoszómához kötött öröklődésű (8 különböző COL4A5 mutáció). Az 5 VBMN betegben 3 esetben 3 különböző COL4A3 és 2 -ben pedig 2 különböző COL4A4 mutáció volt kóroki. Összefoglalva, Magyarországon először sikeresen beállítottunk egy költséghatékony NGS módszert (Custom AmpliSeq panel + bioinformatikai kiértékelés) a COL4A3-A4-A5 gének szimultán vizsgálatára, amely alkalmas az SNP-k és kisebb „inzerció és deléció” (INDELEK) vizsgálatára. A 17 kiválasztott AS eset mindegyikében megtaláltuk a tünetekért felelős mutációt/mutációkat.

Eredményeink alapján úgy véljük, hogy:

- Az *Alport syndroma* egy olyan spektrum betegség, melynek a fenotípus megjelenése a COL4A3/A4/A5 fehérjék által létrejött helyesen működő tripla hélix mennyiségétől függ.
- A spektrum egyik végpontja az FBH/VBMN, másik végpontja az *Alport syndroma*.
- A komplex, több génhez köthető betegségeknel a klinikai exom szekvenálás eredményesebbnek bizonyult a célzott gén szekvenálásokhoz képest.

3.2. Diffúz mesangialis sclerosis - PDSS2 gén

A gyermeknefrológia irodalomban közleményünk megjelenéséig három, PDSS2 gén mutációja miatt kialakult SRNS beteg klinikai leírása történt meg. Egy esetben sem közölték a vese szövettani vizsgálatának eredményét. Fenotípus-genotípus elemzésünk alapja a

részletes klinikai megfigyelés, az újgenerációs szekvenálás és annak bioinformatikai elemzése, valamint a vese részletes hisztológiai leírása volt.

A többszervi elégtelenségben meghalt SRNS fiú csecsemő esetében felmerült a veleszületett anyagcserebetegségek közül az energiatermelés (CoQ10) zavarának lehetősége. Az SRNS mellett a jellemző fenotípus jelek voltak: *sensori-neuralis* halláscsökkenés, késlekedő motoros fejlődés, *hypertrophias cardiomyopathia*, *retinitis pigmentosa*, *hypothyreosis*, izomhipotónia és laktát acidózis. A genetikai (NGS) vizsgálat 2 új, eddig nem leírt PDSS2 mutációt igazolt. Az egyik heterozigóta misszensz mutációt c.485A>G/p.His162Arg a PDSS2 gén 3-as exonjában azonosítottuk, mely gén kóroki mutációi ismertén a mitokondriális ATP termelés hibáját (Coenzim Q10 deficiencia) okozzák. Az általunk kidolgozott és alkalmazott algoritmusokkal egy másik heterozigóta 2923 bp hosszúságú deléciót észleltünk a PDSS2 gén utolsó (8.) exonjában, amely annak egy jelentős részét érintette.

A több mint 120 000 kromozómát tartalmazó ExAC adatbázis egyik mutációt sem tartalmazta, és nem voltak megtalálhatók a rendelkezésünkre álló populációs (magyar) 400 kontroll minta között sem. Mindkét mutáció a nagymértékben evolúciósan konzervált és esszenciális poliprenil-szintáz doménban található, amely az 58–397. aminosavak által definiált fehérje domén.

A posztmortem elvégzett vese szövettani vizsgálat a *diffúz mesangialis sclerosis* (DMS) képét mutatta. A vesetok alatt a kéregben a glomerulusok éretlen (fötális) képet mutattak. A mélyebb rétegekben a glomerulusok érettebbek voltak, és az elváltozások három jellegzetes típusát mutatták:

- Mezangiális mátrix felszaporodása, helyenként enyhe mezangiális sejt dúsággal.
- Glomeruláris bazális membrán (GBM) megvastagodás, mely helyenként kettős kontúrúvá is vált, melyet a mezangium jelentős kiszélesedése kísért (trikróm: kék, ezüst: pozitív). Ez a folyamat a kapilláris gomolyag elzáródásához vezetett. A kóros területeket megnagyobbodott podociták borították.
- Néhány glomerulus összezsugorodott, szerkezetét elvesztette. Ezeket epiteliális sejtekből álló korona vette körül.

A tubulusok kitágultak, de cisztás elváltozást nem mutattak. A glomeruláris elváltozásokat enyhe gócos intersticiális fibrózis és tubuláris atrófia kísérte.

A glomerularis epiteliális sejtek, a podociták és a parietális epiteliális sejtek nem reagáltak a AE1/AE3 citokeratin koktéllal.

Immun fenotipizálással (WT1, PAX2, Ki67) a főtális típusú glomerulusokban podociták citoplazmája egyenletes WT1 festődést mutat, ezzel szemben a kollabált kapillárisokat borító epiteliális sejtek WT1 negatívak. Ki-67 proliferációs marker generalizált nukleáris pozitivitást mutat a vizeleti térrel érintkező sejtekben. Nukleáris PAX2 pozitívitas látható a heges glomerulusokat borító epiteliális és a Bowman-tok sejtjeiben.

Az eset komplett fenotípus-genotípus analízise, amely magában foglalta az irodalomban eddig nem leírt szövettani elváltozásokat is, jelentősen kiegészítette a tudásunkat a PDSS2 gén mutációja által okozott *podocyta mitochondriopathia*-ról. Leírásra került két új, eddig nem ismert patogén mutáció, mely mindkét esetben a poliprenil-szintáz domént érintette. Ezek a mutációk egy súlyos, letális, csecsemőkorban manifesztálódó szisztémás veleszületett anyagcsere betegséghez (energia termelés zavara, CoQ10 hiány) vezettek.

Esetünkben a nagy dóziszú CoQ10 kezelés eredménytelen volt, amely vagy a gyógyszer gyenge biológiai hasznosulásának, vagy a betegség progresszív befolyásolhatatlan természetének volt betudható. A genetikai vizsgálatok eredményének ismeretében az anya következő várandóságakor prenatális genetikai vizsgálat történt korion-boholy mintából, amely a magzat egészséges voltát igazolta.

3.3. Oligomeganephronia - PAX2 gén

Fiatal felnőttél (krónikus vesebetegség CKD3b stádium - CKD3b) először szövettani, majd az eredmény ismeretében genetikai vizsgálat történt évek óta tartó nem nefrotikus mértékű proteinúria és a GFR lassú, de fokozatosan csökkenése miatt. A vesebiopszia idején ultrahangos vizsgálattal a vesék normális méretűek voltak és fokozott ultrahang mintázatot mutattak. A vesebiopszia fénymikroszkópos szövettani elemzése alapján 10-ből 3 glomerulus teljesen elhegesedett, 2 *FSGS* elváltozást mutatott és 7 glomerulus nyitott volt. Mind az *FSGS* mind a nyitott glomerulusok az átlagosnál nagyobbak tűntek.

A biopsziás mintában az átlagos glomerulus sűrűség (1.14/mm²) és glomerulus átmérő (280 μm) meghatározása történt. A kontroll normál értékek: glomerulus sűrűség átlag: 3.5/mm² (1.2– 8.1/mm²) glomerularis átmérő 201 ± 28 μm (átlag + SD). Ezek alapján a OMN hipopláziás vesék nélküli diagnózisa került felállításra. A minta ultrastukturális vizsgálata nem mutatott teljes podocita lábnyúlvány fúziót, ezért az *FSGS* elváltozások másodlagosan alakultak ki, a szignifikánsan csökkent nefron szám miatt adaptív hiperfiltrációs folyamat részeként. Ezt követően a minta vizsgálata PAX2 protein expresszióra megtörtént. Egyértelmű pozitívitas volt kimutatható a proximális tubulusban. A disztális tubulus sejtjei azonban alig,

vagy egyáltalán nem mutattak festődést. A podociták és a mezangiális sejtek magjai negatívak, míg a parietális sejtek csak enyhén pozitívak, részben negatívak, hol alig pozitívak, hol negatívak voltak. A kontrollokban a PAX2 festődés hasonló mintázatot mutatott, kivéve a proximális tubuláris és a parietális sejtek egyértelmű pozitivitását. Genetikai analízisünk egy új PAX2 mutációt mutatott, mely felelős a nefrogenezis zavaráért, mely esetünkben a szövettanilag igazolt lényegesen csökkent nefron számban nyilvánult meg.

A 4. exonban azonosított nukleotid eltérés nonszensz mutációhoz - időelőtti STOP kódon létrejöttéhez – vezetett. Az eltérés egy evolúciósan konzerválódott páros domént érint (exon 2– 4, aminosavak 16–142, DNS kötődésért felelős és az oktapeptid domént - exon 5, aminosavak 185– 192, melynek szerepe a célgének transzaktivációjának gátlása). A mutációnak a gén működésben játszott szerepe nem teljesen ismert. A The Human Gene Mutation Database alapján a páros és az oktapeptid domain közötti nonszensz mutációk az FSGS genotípussal kapcsolhatóak össze, hasonlóan a mi betegünkben talált mutációhoz (p.Gln144Ter).

3.4. Atípusos *haemolyticus uraemias syndroma* – DGKE gén

Az atípusos *haemolyticus uraemias syndroma* (aHUS) komplex betegség, aminek kialakulásában számos különböző ok állhat és vezethet a *thromboticus microangiopathia* (TMA) kialakulásához. A diacilglicerol kináz epszilon (DGKE) fontos szerepet játszik az arachidonsav (AA) jelátviteli rendszerben az AA foszforilációján keresztül, gátolja a protein kináz C aktivációját (PKC).

A DGKE leírását (2013) követően az első nemzetközi DGKE kohorszban vettünk részt, melynek célja, ennek az új *aHUS* altípusnak a fenotípus-genotípus analízise volt. A vizsgálatban 10 recesszív DGKE mutáció azonosítása történt 8 családban. Betegünk 6.1 azonosítóval szerepel az adatbázisban. A 2 éves kisdéd felvételekor a vezető tünetek a *nephroso-nephritis*-re jellemzőek voltak, amelyet sápadtság, enyhe *icterus* kísért. Laboratóriumi vizsgálataiból kiemelendő: *anaemia*, *thrombocytopenia*, emelkedett LDH szint, normális eGFR. Vizeletvizsgálata nefrotikus mértékű proteinuriát, mikroszkópos hematuriát mutatott. A klinikai és laboratóriumi adatok alapján vesebiopszia elvégzésére került sor, ami a TMA típusos képét mutatta. A TMA komplement diagnosztikája megtörtént, ami nem igazolta sem a klasszikus, sem az alternatív út regulációjának zavarát. C3 komplement szintje a normál tartományban volt, az ADAMTS 13 aktivitás mérsékelten csökkent. Az elkezdett nagy dózisú szteroid terápia és sorozat plazmaferezis eredménytelen

volt. A gyermekkori aHUS protokollnak megfelelően ezt követően C5 gátló eculizumab-ot kezdtünk adni, ami lényeges terápiás eredményt (klinikai, laboratóriumi) nem hozott.

Az adatok ismételt áttekintése alapján a gyermekkori *aHUS* ultraritka, genetikai okai kerültek célkeresztbe. A genetikai vizsgálat alapján a beteg heterozigóta formában hordoz egyrészt egy korábban nem leírt deléciót a DGKE gén 3-as exonjában (c.559_559delA), ami leolvasási keret eltolódást és a diacilglicerol-kináz ϵ fehérje 193-as aminosav pozíciójában korai stop-kódot eredményez (p.I187Ffs*6). Másrészt heterozigóta formában hordoz egy szubsztitúciót a DGKE gén 6-os exonjában (c.966G>A), amely a fehérje 322-es pontján korai stop-kódon létrejöttét eredményezi (p.W322X). Ezt a mutációt korábban kimutatták *aHUS*-ban szenvedő betegekben homozigóta illetve compound heterozigóta formában, valamint egészséges egyéneknél 0,02 %-os előfordulási gyakorisággal heterozigóta formában. Mindezek alapján mindkét azonosított DGKE mutációnak valószínűsíthetően kóroki szerepe van az *aHUS* patomechanizmusában. Irodalmi adatok alapján a DGKE mutációkhoz kapcsolt *aHUS* recesszív módon öröklődik, ezzel összhangban a szülők vizsgálata alapján azt találtuk, hogy a két mutáció két külön kromoszómán, azaz kettős transz heterozigóta formában van jelen a betegben. A közlemény megjelenéséig az irodalomban 44 beteg (27 családból) leírása történt meg. 10 családban volt rokonházasság (a mi esetünkben nem). Homozigóta mutáció 17 családban, kettős heterozigóta (mi esetünkben is) pedig 10 családban volt kimutatható, ami összesen 23 különböző mutációt jelent. A *DGKE nephropathia* felismerése lehetővé tette azoknak az *aHUS/MPGN* esetek egy részének a megértését, amelyeket korábban nem tudtunk besorolni. A fenotípust tekintve a DGKE, mind klinikai megjelenésében, mind szövettanában heterogén glomeruláris betegség. Az alacsony esetszám miatt a fenotípus-genotípus korreláció gyenge. A megfelelő terápia hiányában (a konvencionális formák eredménytelenek) a betegek lassan krónikus (CKD) majd végstádiumú veseelégtelenség stádiumába jutnak. A szélesedő fenotípus spektrum alapján komplex betegséggel állunk szemben, és sok kérdés vár még megválaszolásra. A jelen kohorsz segíti a DGKE betegség felismerését, megértését és a kimenetel jobb meghatározását.

Összefoglalva, az elmúlt években a tudásunk a genetikailag meghatározott vesebetegségekről igen sokat gyarapodott. Meghatározásra kerültek egyes ritka/ultraritka állapotok háttérben álló gének és mutációik, ami lehetővé tette ezen betegségek jobb kórleletani megértését és ahol lehet, oki terápiák bevezetését. A legnagyobb áttörést az elmúlt 10 évben az NGS klinikai diagnosztikában való elterjedése jelentette. A hagyományos Sanger az SNP-k, illetve a primer párok közé eső kisebb deléció/inzerció analízisére alkalmas, míg az NGS ezen felül lehetővé

teszi a nagyobb delécio és strukturális variánsok indikációját is, amelyet a töréspont meghatározása után Sanger szekvenálással célzottan bizonyíthatunk.

4. AZ ÉRTEKEZÉS FŐBB MEGÁLLAPÍTÁSAI

- I. Egy nagyszámú gyermek- és serdülőkorú mintában meghatároztuk a túlsúly prevalenciáját, nemek és életkor szerinti eloszlását, valamint kapcsolatát a magasvérnyomás betegséggel.
- II. Egy alacsony költségvetésű, teljes populációs szűrővizsgálat (Fit-Teszt) segítségével elsőként hoztunk létre életkor és nemek szerinti nagy adatbázist, a normál testtömegű tanulók iskolai futásteszt során bekövetkező hemodinamikai változásairól.
- III. A Fit-Teszt megoldást biztosít a fizikai és a kardiovaszkuláris fitness együttes értékelésére. Lehetővé teszi a gyermek és serdülő populáció egészségi állapotának felmérését és a rizikócsoportok folytatólagos ellenőrzését. Alkalmas a maszkolt-, a pre- és a tartós hipertóniás betegek szűrésére és az vérnyomáscsökkentő kezelés hatásának monitorozására, ezért széleskörű alkalmazását javasoljuk.
- IV. Nagy esetszámú kohorszban vizsgáltuk a túlsúly és az elhízás hatását az artériás funkció paramétereire. Megállapítottuk, hogy a túlsúly és az elhízás gyermek- és serdülőkorban nem járt fokozott aortamerevséggel.
- V. Vizsgálataink szerint az endotél-dependens mikrovaszkuláris reaktivitás nem mutat szignifikáns csökkenést normál testsúlyú, túlsúlyos és obez hipertóniás serdülőkben. Az endotél-független vazodilatáció szignifikánsan kisebb a sovány és az elhízott csoportokban a kontrollokhoz képest, ellentétben a túlsúlyos betegeknél tapasztaltakkal. A mikrovaszkuláris reaktivitás nem korrelál az oxidatív stressz markereinek szintjével.
- VI. Az endoteliális diszfunkció szerepet játszhat a serdülőkori esszenciális hipertónia kialakulásában, elsősorban normál testsúlyú betegeknél, de jelenléte kimutatható obezitásban és obezitáshoz társuló esszenciális hipertóniában is.
- VII. Juvenilis esszenciális hipertóniában fokozott oxidatív stressz jelenléte igazolható a testsúlytól függetlenül. Az obezitás önmagában (hipertónia nélkül) fokozott oxidatív stressz állapottal jár.

- VIII. Az endoteliális diszfunkció a hipertóniás betegek minden típusában jelen van, de a vasoaktív mediátorok és az enzimaktivitások szintje eltérő.
- IX. Az ACEI (ramipril) terápia különböző módon befolyásolta a mediátorok és az enzimaktivitás szintjét, összhangban a serdülők esszenciális és elhízással összefüggő magas vérnyomásának különböző patomechanizmusával.
- X. Az esszenciális hipertóniában szenvedő betegeknél a nitrogén-monoxid biológiai elérhetősége és az ACE aktivitás, míg elhízással összefüggő hipertóniában a magas leptin, az NO szint, az ET-1 koncentráció, valamint az XO aktivitás lehet fontos kóroki tényező.
- XI. Vizsgálatunk alapján a renin-angiotenzin rendszer és eNOS génpolimorfizmusainak nincs jelentős szerepe a serdülőkori esszenciális hipertónia kialakulásában. A RAAS bizonyos génpolimorfizmusai befolyásolhatják a végstádiumú veseelégtelenség kialakulását gyermekkori krónikus vesebetegségekben.
- XII. Genetikai vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy az Endothelin-1 gén G+5665T (Lys198Asn) polimorfizmus szerepet játszik a serdülőkori magasvérnyomás kialakulásában, Alport szindrómások mindegyikében megtaláltuk a tünetekért felelős mutációkat, két új PDSS2 mutációt írtunk le podocita mitochondriopathiában.
- XIII. Elsőként írtuk le a PAX2 gén páros és oktapeptid doménjében levő nonszensz mutáció klinikopatológiai következményeit normál méretű vesében.
- XIV. Az első nemzetközi kohorsz tagjaként leírtuk a DGKE gén és az aHUS kapcsolatának fenotípus-genotípus vonatkozásait.

Az értekezésben felhasznált „*in extenso*” közlemények összesített listája a megjelenés időrendjében (MTMT alapján):

Közlemények és a hivatkozások teljes közhiteles listájának internetes elérhetősége:

https://vm.mtmt.hu/search/slist.php?AuthorID=10029804&cite_type=4&la_on=1&url_on=1&ty_on=1&orderby=3D1a

Összes felhasznált közlemény száma: 20

Összes idézettség: 217

Összes független idézettség: 203

Legmagasabb független idézettségű közlemény: 58

Q1/D1 minősített közlemény: 6

Első/utolsó szerző: 7

1. S Túri, A Friedman, Cs **Bereczki**, F Papp, J Kovács, E Karg, I Németh.
Oxidative stress in juvenile essential hypertension
Journal of Hypertension; 21:145-152. (2003) Q2
Nyilvános idéző összesen: 62 Független: 58 Független: 4
2. F Papp, A L Friedman, Cs **Bereczki**, I Haszon, E Kiss, E Endreffy, S Túri
Renin-angiotensin gene polymorphism in children with uremia and essential hypertension
Pediatric Nephrology;18(2):150-4. (2003) Q2
Nyilvános idéző összesen: 20 Független: 20 Független: -
3. Endreffy E, Ondrik Z, Kemény E, Vas Z, Maróti Z, Lencse G, **Bereczki C**, Haszon I, Túri S, Iványi B.
IV-es típusú kollagén nephropathiák: a vékony bazális membrán nephropathiától z Alport-szindrómáig
Orvosi Hetilap: 146 52 pp 2647-2653 (2005) Q3
Nyilvános idéző összesen: 3 Független: 3 Független: -
4. A Baráth, S Túri, I Németh, Cs **Bereczki**, B Gellén, I Haszon, P Monostori
Different pathomechanisms of essential and obesity-associated hypertension in adolescents
Pediatric Nephrology; 21(10):1419-25. (2006) Q2
Nyilvános idéző összesen: 17 Független: 14 Független: 3
5. Baráth A, Németh I, Karg E, Endreffy E, **Bereczki C**, Gellén B, Haszon I, Túri S.
Roles of paraoxonase and oxidative stress in adolescents with uraemic, essential or obesity-induced hypertension
Kidney Blood Press Res.;29(3):144-51. (2006) Q2
Nyilvános idéző összesen: 23 Független: 23 Független:-

6. A Baráth, E Endreffy, Cs Bereczki, B Gellén, B Szücs, I Németh, S Túri
Endothelin-1 gene and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in adolescents with juvenile and obesity-associated hypertension
 Acta Physiologica Hungarica ;94(1-2):49-66. (2007) Q4
 Nyilvános idéző összesen: 17 Független: 17 Fügő:-

7. Monostori P, Baráth A, Fazekas I, Hódi E, Máté A, Farkas I, Hracskó Z, Varga IS, Sümegi V, Gellén B, Bereczki C, Túri S.
Microvascular reactivity in lean, overweight, and obese hypertensive adolescents.
 European Journal of Pediatrics 169(11):1369-74 (2010) Q2
 Nyilvános idéző összesen: 14 Független: 14 Fügő:-

8. Endreffy E, Ondrik Z, Iványi B, Maróti Z, Bereczki C, Haszon I, Györke Z, Worum E, Németh K, Rikker C, Ökrös Z, Túri S
Collagen type IV nephropathy: genetic heterogeneity examinations in affected Hungarian families
 Mol Cell Probes. 25(1):28-34 (2011) Q3
 Nyilvános idéző összesen: 5 Független: 4 Fügő: 1

9. Hidvégi, Erzsébet ; Jakab, Andrea ; Illyés, Miklós ; Cziráki, Attila ; Bereczki, Csaba
Az artériás funkció non-invazív vizsgálata túlsúlyos és elhízott gyermekek és serdülők körében
 CARDIOLOGIA HUNGARICA 46 : F pp. 53-54. , 2 p. (2016)

10. Kovács G, Kalmár T, Endreffy E, Ondrik Z, Iványi B, Rikker C, Haszon I, Túri S, Sinkó M, Bereczki C, Maróti Z.
Efficient Targeted Next Generation Sequencing-Based Workflow for Differential Diagnosis of Alport-Related Disorders
 PLOS ONE 11 3 e0149241. 14 p. (2016) Q1
 Nyilvános idéző összesen: 8 Független: 8 Fügő: -

11. Azukaitis K, Simkova E, Majid MA, Galiano M, Benz K, Amann K, Bockmeyer C, Gajjar R, Meyers KE, Cheong HI, Lange-Sperandio B, Jungraithmayr T, Fremeaux Bacchi V, Bergmann C, Bereczki C, Miklaszewska M, Csuka D, Prohaszka Z, Gipson P, Sampson MG, Lemaire M, Schaefer F
The Phenotypic Spectrum of Nephropathies Associated with Mutations in Diacylglycerol Kinase ϵ
 Journal of the American Society of Nephrology 28 : 10 pp. 3066-3075. (2017) Q1
 Nyilvános idéző összesen: 29 Független: 23 Fügő: 6

12. Jakab Andrea Emese dr. , Illyés Miklós dr. , Attila Cziráki dr. , Csaba Bereczki dr., Hidvégi Erzsébet Valéria dr.
A túlsúly és elhízás előfordulási gyakorisága Szolnokon 3-18 éves populációban
 Gyermekgyógyászat; 69., 107-112 (2018)

13. Jakab AE, Hidvégi EV, Illyés M, Cziráki A, Bereczki C.
Prevalence of Overweight and Obesity in Hungarian Children and Adolescents.
 Ann Nutr Metab.;72(4):259-264. (2018) Q1
 Nyilvános idéző összesen: 2 Független: 2 Fügő: -

- 14.** Havasi K, Katona M, **Bereczki Cs.**
A sokarcú hypertonia. Új szemléletű iskolai szűrővizsgálat, mint cardiovascularis prevenció modell
 Gyermekgyógyászat 69., 26-32. (2018)
- 15.** Iványi B, Rácz GZ, Gál P, Brinyiczki K, Bódi I, Kalmár T, Maróti Z, **Bereczki C**
 Diffuse mesangial sclerosis in a PDSS2 mutation-induced coenzyme Q10 deficiency
 Pediatric Nephrology;33(3):439-446. (2018) Q1
 Nyilvános idéző összesen: 10 Független: 10 Független: -
- 16.** Jakab AE, Hidvégi EV, Illyés M, Cziráki A, Kalmár T, Maróti Z, **Bereczki C.**
A magasvérnyomás-betegség prevalenciája túlsúlyos és elhízott magyar gyermek- és serdülőkorú populációban
 Orvosi Hetilap;161(4):151-160 (2020) Q4
 Nyilvános idéző összesen: 2 Független: 2 Független: -
- 17.** Jakab AE, Hidvégi EV, Illyés M, Cziráki A, Kalmár T, Maróti Z, **Bereczki C.**
Childhood Obesity: Does it Have Any Effect on Young Arteries?
 Frontiers In Pediatrics: 8 389. 10 p. (2020) Q1
 Nyilvános idéző összesen: 2 Független: 2 Független: -
- 18.** K. Havasi; Z. Maróti; A. Jakab; I. Raskó; T. Kalmár and **Cs. Bereczki**
Reference values for resting and post exercise hemodynamic parameters in a 6–18 year old population
 Sci. Data 7, 26 (2020). D1
- 19.** László Bitó, Tibor Kalmár, Zoltán Maróti, Sándor Turkevi-Nagy, **Csaba Bereczki,**
 Béla Iványi
PAX2 Mutation-Related Oligomeganephronia in a Young Adult Patient
 Case Reports in Nephrology and Dialysis (2296-9705): 10 3 pp 163-173 (2020) Q3
 Nyilvános idéző összesen: 1 Független: 1 Független: -
- 20.** Hidvégi EV, Jakab AE, Lenkey Z, **Bereczki C,** Cziráki A, Illyés M.
Updated and revised normal values of aortic pulse wave velocity in children and adolescents aged 3-18 years
 Journal of Human Hypertension 35(7):604-612. (2021) Q2
 Nyilvános idéző összesen: 2 Független: 2 Független: -

Köszönetnyilvánítás

Az értekezés nem jöhetett volna létre korábbi - néhai Megyeri Pál, néhai Kovács József, Pintér Sándor Professzor Úr, Haszon Ibolya - és jelenlegi - Jakab Dániel, Sinkó Mária - munkatársaim, a szegedi gyermekgyógyász - nefrológus csapat tagjai és nővérei, néhai Csípő Ildikó, Iványi Judit, Balogh Judit - nélkül. Mindenek előtt azonban, a betegeknek és szüleiknek szeretném kifejezni hálámat.

A gyermekgyógyászat iránti elkötelezettségemhez az első impulzust néhai Boda Domokos és néhai Túri Sándor Professzorok jelentették. Boda Professzor Úr erős, karizmatikus személyisége mai napig példaként szolgál számomra.

Túri Professzor Úr ismertetett meg a gyermeknefrológia és kutatás alapjaival, sok éven keresztül megtiszteltetés volt vele együtt dolgozni.

A gyermeknefrológia mai napig egyik „parnasszusa” a londoni Great Ormond Street Children’s Hospital, ahol néhai Martin Barratt és Mike Dillon Professzoroktól tanulhattam, ami a mai napig meghatározó nemcsak a betegek ellátásában, de a tudományhoz való viszonyomban is.

Klinikusként a kutatólaborban dolgozó munkatársak nélkül a tudományos munka igen nehéz, szinte lehetetlen, ezért soha nem csökkenő hálával tartozom Endreffy Emőke, Németh Ilona és Karg Eszter Tanárnőknek, valamint Prohászka Zoltán Professzor Úrnak, Kalmár Tibornak és Maróti Zoltánnak, Baráth Ákosnak valamint Monostori Péternek és Rác Gábornak a kutató- és genetikai laborban végzett kiemelkedő és pótolhatatlan munkájukért.

Végzett és jelenlegi PhD hallgatóim közül Havasi Katalinnak, Papp Ferencnek és főképpen Jakab Andreának tartozom külön köszönettel az értekezéshez nyújtott elvülhetetlen segítségükért.

Ez a disszertáció nem jött volna létre Raskó István és Iványi Béla Professzor Urak kitartó és kritikus segítségével nélkül.

Nem utolsó sorban köszönöm feleségemnek és gyermekeimnek, hogy mindig biztosították a nyugodt, biztos hátteret munkámhoz.