

PATOGENETIKAI VIZSGÁLATOK SERDÜLŐKORI ESSZENCIÁLIS HIPERTÓNIA B AN ÉS URÉMIÁBAN

**Az oxidatív stressz és
a renin-angiotenzin rendszer génpolimorfizmusainak szerepe**

Ph.D. értekezés tézisei

Dr. Papp Ferenc

Témavezetők:

Prof. Dr. Túri Sándor D.Sc. és Dr. Bereczki Csaba Ph.D.

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Gyermekgyógyászati Klinika

Szeged
2013

BEVEZETÉS

A gyermekkori primer vagy esszenciális hipertónia prevalenciája az elmúlt évtizedekben jelentősen nőtt, különösen a serdülők körében, az újabb vizsgálatok szerint a teljes gyermek populáció 3–5%-át érinti. A gyermekkori magas vérnyomás közegészségügyi jelentőségét elsősorban az adja, hogy a gyermek- és serdülőkorban észlelt magas vérnyomás értékek áttevődnek a felnőttkorra, ami felnőttkori hipertónia betegség kialakulásához vezet. Számos vizsgálat bizonyítja ugyanakkor, hogy a hipertóniás gyermekekben már kimutathatóak a hipertónia okozta célszerv-károsodások, mint a balkamra hipertrófia. A gyermekkori magas vérnyomás prevalenciájának növekedése nagyrészt az obezitás (kóros elhízás) gyakoriságának ugrásszerű növekedésével magyarázható. A világ számos országában, köztük az Európai Unió országaiban is, a túlsúlyos gyermekek aránya eléri a 30%-ot. Gyermekkorban az obezitás az elsődleges rizikótényező az esszenciális hipertónia kialakulásában és egyéb cardiovascularis rizikófaktorokkal is társulhat, mint dyslipidaemia, inzulinrezisztencia, 2-es típusú diabetes mellitus vagy balkamra hipertrófia.

Az esszenciális hipertónia és ennek obezitáshoz társuló formája komplex betegség. Kialakulásuk hátterében számos – részben különböző – patogenetikai tényező áll, közöttük fontos szerepe lehet a vizsgálataink tárgyát képező oxidatív stressznek, endothelialis diszfunkciónak és genetikai hajlamosító tényezőknek.

A szervezetben oxidatív stressz állapot a reaktív oxigén vegyületek fokozott képződése és/vagy az antioxidáns védekező rendszer csökkent működése következtében alakulhat ki. A reaktív oxigén vegyületek károsítják a különböző sejtalkotó molekulákat, többek között a lipideket, lipid peroxidációhoz vezetve. Az oxidatív stressz számos patológiás állapot és betegség kialakulásában játszhat szerepet, ezek közé tartozik a hipertónia is. Állatkísérletes modellek és humán vizsgálatok is fokozott oxidatív stressz állapotot igazoltak hipertóniában, az összefüggés azonban nem egyértelmű, az oxidatív stressz oka és következménye is lehet a hipertóniának. Az obezitás önmagában fokozott oxidatív stressz állapottal járhat.

Az endothelialis diszfunkció az endothel eredetű vasoconstrictív és vasodilatatív tényezők közötti egyensúly felborulásának a következménye, amely vasoconstrictióhoz vezet. Ezen túlmenően inflammációs és prothromboticus állapot is jellemzi. Kialakulásában az endothel eredetű vasodilatator nitrogén-oxid (NO) csökkenése és az oxidatív stressz kiemelt szerepet játszik. Hipertóniával való kapcsolatát számos vizsgálat alátámasztja.

Az esszenciális hipertónia poligénes betegség, kialakulása több gén és környezeti tényezők közös hatásának tulajdonítható. A renin-angiotenzin rendszer (RAS) alapvető szerepet játszik a vérnyomás szabályozásában. Génpolimorfizmusai a leggyakrabban vizsgált genetikai tényezők a hipertónia kialakulásával kapcsolatban. Az angiotenzinogén gén (AGT) M235T polimorfizmusa (metionin helyett treonin a 235-ös pozícióban) befolyással van az angiotenzinogén szintre. T allél jelenlétében az angiotenzinogén szint magasabb, amely elméletileg fokozott angiotenzin II (Ang II) képződéshez, ezáltal hipertóniához és egyéb cardiovascularis szövődményekhez vezethet. Az angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gén inzerációs/delációs (I/D) polimorfizmusa (egy 287 bázispár hosszúságú szekvencia megléte vagy hiánya) erősen meghatározza a keringő és szöveti ACE szintet. A D allél jelenléte növeli a szöveti ACE mennyiségét, ami fokozott vascularis Ang II termelődést okoz és hajlamosíthat hipertónia és egyéb cardiovascularis eltérések kialakulására. Az Ang II legtöbb hatása az 1-es típusú Ang II receptoron (AT1R) keresztül mediálódik. Az AT1R gén A1166C polimorfizmusának (adenin helyett citozin a 1166-os pozícióban a 3'-nemkódoló régióban) hipertóniával való kapcsolatát több vizsgálat alapján feltételezték.

A renalis fibrosis vagy hegesedés a végső közös megjelenése a legtöbb krónikus vesebetegségnek, függetlenül az eredeti októl. A vese fibrosis egy progresszív folyamat, amely klinikailag krónikus veseelégtelenséghez, végül végstádiumú veseelégtelenséghez (ESRD) vezet. A vese fibrosis a vese szövetét érő krónikus sérülésre adott hibás sebgyógyulási folyamatként fogható fel, amely az extracelluláris mátrix fehérjéinek túlzott felhalmozódásához vezet, ez destruálja a vese szerkezetét, fibrosus hegek alakulnak ki, amely a veseparenchyma és a vesefunkció elvesztését okozza. A folyamat kialakulásában az Ang II-nek központi szerepe van. A RAS génpolimorfizmusai befolyásolhatják a szöveti Ang II szintet a vesében, ezáltal a fibrogenesis folyamatára is hatásuk lehet.

A VIZSGÁLATOK CÉLJA ÉS ALAPVETŐ KÉRDÉSEI

Feltételezésünk szerint bizonyos patogenetikai tényezők szerepe esszenciális hipertóniában erősebb vagy gyengébb lehet gyermekekben és serdülőkben, mint felnőttekben. Gyermekkorban a gyakori környezeti és egyéb rizikófaktorok, melyek hipertóniához vezetnek (alkoholfogyasztás, dohányzás, cukorbetegség, vérzsír eltérések) kevésbé vannak jelen. Ezért azt feltételeztük, hogy az oxidatív stressz, endothelialis diszfunkció és genetikai hajlamosító tényezők szerepe fontosabb lehet a

serdülőkori (juvenilis) esszenciális hipertónia megjelenésében, mint felnőttekben. Ezen túlmenően, a hipertóniához társuló és elsősorban felnőttkorra jellemző környezeti és cardiovascularis rizikófaktorok hiánya az oxidatív stressz és endothelialis diszfunkció pontosabb vizsgálatát teszi lehetővé a gyermekek és serdülők hipertóniájában és az észlelt eltérések kizárólag a hipertóniának tulajdoníthatóak.

Vizsgálataink célja volt 1) az oxidatív stressz és kapcsolódó endothelialis diszfunkció jelenlétének igazolása juvenilis esszenciális hipertóniában, a testtömeg index (BMI) figyelembe vételével, és 2) a RAS génpolimorfizmusainak meghatározása esszenciális hipertóniás serdülőkben és urémiás betegekben. Ennek megfelelően, a NO termelés végtermékeinek plazma koncentrációja (nitrit + nitrát, NO_x) és az oxidatív stressz szokásos markereinek, a lipid peroxidáció végtermékeinek és a szabad tiol csoportoknak a plazma koncentrációja került meghatározásra. Új paraméterként, a vörösvérsejtek (vvs-ek) glutation redox rendszerét is vizsgáltuk juvenilis esszenciális hipertóniásokban. A genetikai vizsgálatban a RAS három génpolimorfizmusát, az AGT gén M235T, az ACE gén I/D és az AT1R gén A1166C polimorfizmusait határoztuk meg hipertóniás serdülőkben, valamint végstádiumú veseelégtelenségben (ESRD) szenvedő gyermek és felnőtt betegekben.

A vizsgálatok fő kérdései a következők voltak:

1. A vérnyomás és a BMI között van-e összefüggés?
2. Végtermékeinek plazmakoncentrációja (nitrit és nitrát) alapján a NO termelés csökken-e gyermekkori hipertóniában? A NO termelés függ-e a BMI-től?
3. Juvenilis esszenciális hipertóniában megfigyelhetünk-e fokozott oxidatív stressz állapotot? Az oxidatív stressz és a vérnyomás között van-e összefüggés? Van-e kapcsolat az oxidatív stressz és a BMI között normotóniás és hipertóniás serdülőkben?
4. A RAS génpolimorfizmusainak lehet-e hatása a juvenilis esszenciális hipertónia kialakulására?
5. Van-e szerepe a RAS génpolimorfizmusainak a végstádiumú veseelégtelenség kialakulásában gyermek és felnőtt vesebetegekben?

BETEGEK

Az oxidatív stressz biokémiai vizsgálatában résztvevők klinikai jellemzői

Az oxidatív stressz biokémiai vizsgálata 52 serdülőkorú esszenciális hipertóniás betegben (életkor $14,4 \pm 3,1$ év, fiú/lány 37/15, BMI $25,0 \pm 6,9$ kg/m²; átlag \pm SD) és 48 megfelelő életkorú és testtömeg indexű normotóniás kontroll egyénben (életkor $14,3 \pm 4,3$ év, fiú/lány 20/28, BMI $24,4 \pm 6,6$ kg/m²) történt.

Hipertóniásnak azok minősültek, akiknek az 5 perces időközökkel háromszor egymás után mért vérnyomása meghaladta az életkornak, nemnek és testmagasságnak megfelelő 95 percentilis értéket. A hipertónia diagnózisa 24 órás ambuláns vérnyomásméréssel került megerősítésre, amely szerint a 24 órás szisztolés és/vagy diasztolés vérnyomás átlaga egyenlő vagy nagyobb, mint az életkornak, nemnek és testmagasságnak megfelelő 95 percentilis érték. A 24 órás vérnyomásmérésre oszcilometriás ambuláns vérnyomásmérő monitort használtunk (ABPM-04, Meditech Kft., Budapest). A vérnyomás regisztrálása nappal 15 percenként, éjszaka 30 percenként történt. A mért értékeket számítógépes program segítségével értékeltük (Medibase software) és 24 órás szisztolés és diasztolés átlagok formájában kerültek megadásra. Az endokrin, kardiológiai, neurológiai, renalis és renovascularis okok kizárásra kerültek. A betegeknél proteinuriát (vizelet fehérje > 300 mg/24 óra) és beszűkült vesefunkciót (kreatinin clearance < 80 ml/min/1,73 m²) sem észleltünk. A betegek még nem kaptak kezelést, normál étrenden voltak, kalória bevitelük és fizikai aktivitásuk a kontroll egyénékéhez hasonló volt. A betegek között nem volt dohányos, amit a vér karboxi-hemoglobin koncentrációval ellenőriztünk. A vérminták mindig ugyanabban az időpontban kerültek levételre (9 órakor). Húsz gyermek családjában fordult elő kezelt szülői magasvérnyomás-betegség.

A hipertóniás és a kontroll csoportot a BMI alapján egy normál (BMI < 25 kg/m²) és egy túlsúlyos (BMI > 25 kg/m²) alcsoportra osztottuk. Az obezitás és az oxidatív stressz kapcsolatának még pontosabb megítélésére az eredményeket sovány (BMI < 20 kg/m²), normál (BMI = 20–25 kg/m²), túlsúlyos (BMI = 25–30 kg/m²) és kövér (BMI > 30 kg/m²) csoportok szerint is elemeztük.

A rendelői szisztolés/diasztolés vérnyomás átlaga a nem túlsúlyos (BMI < 25 kg/m²) hipertóniás csoportban $153,4 \pm 9,7/89,4 \pm 9,4$ Hgmm volt, míg a túlsúlyos hipertóniásokban (BMI > 25 kg/m²) $154,4 \pm 9,6/89,7 \pm 8,4$ Hgmm. Ugyanezen csoportokban a 24 órás vérnyomás átlagok a következők voltak: $143,6 \pm 8,2/80,6 \pm 6,1$ Hgmm és $144,4 \pm 9,9/79,4 \pm 9,4$ Hgmm.

A szérum glükóz, koleszterin és triglicerid értékek szignifikánsan magasabbak voltak a túlsúlyos hipertóniásokban a nem túlsúlyos hipertóniásokhoz viszonyítva. A túlsúlyos kontroll csoportban csak a szérum koleszterin szint emelkedett szignifikánsan ($P < 0,05$).

A genetikai vizsgálatban résztvevők klinikai jellemzői

A genetikai vizsgálatban 35 esszenciális hipertóniás serdülőnél (életkor $14,4 \pm 2,7$ év, fiú/lány 30/5) és 70 végstádiumú veseelégtelenségben szenvedő gyermek és felnőtt betegnél (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 sor a RAS génpolimorfizmusainak meghatározására. A génpolimorfizmusok populációs gyakoriságának megítélésére 130 egészséges normotóniás véradói kontroll (életkor $34,9 \pm 8,1$ év, férfi/nő 66/64, szisztolés/diasztolés vérnyomás $117,9 \pm 8,7/78,7 \pm 8,5$ Hgmm) és egy iskolai szűrőprogram keretében 20 egészséges normotóniás 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 vizsgálatnál ismertett definíciók és klinikai kivizsgálási protokoll szerint történt. A betegek 24 órás szisztolés/diasztolés vérnyomás átlaga $135,4 \pm 7,4/72,4 \pm 7,7$ Hgmm volt. A hipertóniás betegeknél a BMI 30 kg/m^2 alatt volt, valamint szérum koleszterin és triglicerid szintjük is a normál tartományba esett.

A végstádiumú veseelégtelenségben (ESRD) szenvedő betegeknél a veleszületett nefrológiai betegségek, myeloma multiplex és malignus betegségek kizárásra kerültek. Az eredeti nefrológiai diagnózisok megoszlása a felnőtt ESRD csoportban az alábbi volt: krónikus pyelonephritis 31, IgA nephropathia 6, focalis segmentalis glomerulosclerosis 5, membranoproliferatív glomerulonephritis 6, rapidan progrediáló glomerulonephritis 2 eset. A gyermek ESRD csoportban krónikus pyelonephritis reflux nephropathiával 12, tubulointerstitialis nephritis 2, membranoproliferatív glomerulonephritis 3, focalis segmentalis glomerulosclerosis 2 és rapidan progrediáló glomerulonephritis 1 esetben állt a krónikus veseelégtelenség háttérében. A betegek rutin bikarbonát hemodialízis kezelésben részesültek. Az ESRD betegek dialízis előtt mért szérum koleszterin és triglicerid értékei enyhe emelkedést mutattak a laboratóriumi referencia értékekhez képest.

A vizsgálatok a SZTE Tudományetikai Bizottságának jóváhagyásával történtek. A vizsgálatokhoz a résztvevők vagy szüleik hozzájárultak.

MÓDSZEREK

Biokémiai módszerek

Plazma nitrogén-oxid végtermékek (nitrit + nitrát, NO_x)

A nitrogén-oxid (NO) csökkenés az egyik legfontosabb tényező az endothelialis diszfunkció kialakulásában. A NO a vérben és a szövetekben nitritté és nitráttá oxidálódik. Ezen végtermékek plazma koncentrációjának összege (nitrit + nitrát, NO_x) gyakran használatos a NO termelés *in vivo* megítélésére, amely az endothelialis diszfunkció mértékét is jelzi. A plazma nitrit és nitrát koncentráció meghatározása egyidejűleg, anion-cserélő nagynyomású folyadékkromatográfia (HPLC) módszerrel történt.

Plazma lipid peroxidok meghatározása malondialdehidként

A lipid peroxidáció a lipidek reaktív oxigén gyökök hatására bekövetkező oxidatív módosulása. A folyamat során számos melléktermék keletkezik, mint a malondialdehid (MDA), amelyek gyakran használt markerei az oxidatív stressz állapotnak. A plazma lipid peroxidokat MDA-ként tiobarbitursavval HPLC módszerrel határoztuk meg.

Plazma szabad tiol csoportok

A tiolok, mint a glutation, cisztein és homocisztein, kéntartalmú szerves vegyületek, amelyek tiol (szulfhidril) csoportot tartalmaznak, és az intra- és extracelluláris antioxidáns védekező rendszer jelentős részét képezik. A plazmában szabad és fehérjéhez kötött tiol csoportok vannak jelen. A plazma szabad tiolok hasznos jelzői az oxidatív stressz állapotnak, oxidatív behatásra csökkenéssel reagálnak. Plazma koncentrációjukat spektrofotometriás módszerrel határoztuk meg.

Glutation redox rendszer biokémiai vizsgálata

A redukált glutation (GSH) millimoláris intracelluláris koncentrációban van jelen és a szervezet minden sejtjének antioxidáns védelmet nyújt. Oxidatív stressz hatására a GSH oxidált glutationná (glutation-diszulfid, GSSG) alakul, amely folyamatosan GSH-vá redukálódik vissza a glutation reduktáz enzim hatására NADPH felhasználásával. A keringő vvs-ek, melyek az endothelialis felszínnel szoros kapcsolatban vannak, szintén millimoláris koncentrációban tartalmaznak GSH-t. Membránjuk permeábilis az oxidatív ágensekre, így antioxidáns védelmet nyújtanak a környezetüknek. A vvs-ek enzim rendszerei hatékonyan alakítják vissza a GSSG-t GSH-vá és

megfelelő mennyiségű NADPH-t biztosítanak. A vvs-ek GSH koncentrációja, valamint a GSSG/GSH redox hányados megbízható paramétere az oxidatív egyensúly felborulásának endothel diszfunkcióban (a GSH koncentráció csökken, a GSSG/GSH arány nő). A GSSG és GSH + GSSG koncentrációk meghatározása szeparáltan, egy igen érzékeny és specifikus 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 acetilfenilhidrazinnal (AFH) történő inkubációja után megismételtük a GSH meghatározást és a visszamaradt GSH arányát számoltuk. A hányados a vvs-ek oxidatív hatás elleni védekezőképességét jelzi, arra utal, milyen mértékben sikerül fenntartani a GSH szintet az AFH terhelés során; a károsodott vvs-ek GSH szintje jelentősen esik, a reziduális GSH arány csökken.

A renin-angiotenzin rendszer génpolimorfizmusainak meghatározása

A genetikai vizsgálatokhoz a genomiális DNS izolálása hagyományos fenol/kloroform extrakcióval történt perifériás fehérvérsejtekből. Az ACE gén I/D polimorfizmus meghatározását egy korábban közölt módszer alapján polimeráz láncreakcióval (PCR) végeztük. A reakcióban egy inzercióra specifikus primer is alkalmazásra kerül a heterozigóták biztos azonosítására, a forward és reverse primerek mellett. Az AGT gén M235T polimorfizmus meghatározása LightCycler technológiával történt, korábban közölt metodika szerint. A módszernél real time PCR amplifikációt követően a különböző genotípusok detektálása olvadáspont analízissel történik. Az AT1R gén A1166C polimorfizmus meghatározásához szintén LightCycler technológiát alkalmaztunk; az előbbi módszert optimalizáltuk erre a polimorfizmusra.

Statisztika

A vizsgálatokban résztvevők klinikai adatai átlag \pm standard deviáció formában kerültek megadásra. Statisztikai analízishez parametrikus (varianciaanalízis, Tukey teszt és Student *t* teszt) és nem parametrikus (Wilcoxon rank teszt, khi-négyzet teszt) módszereket használtunk. Ha a variancia mértéke a csoportpárok között szignifikánsan eltért ($P < 0,05$ az *F* tesztben), az átlagok összehasonlítására Welch tesztet (*d* próba) használtunk, a *t* teszt helyett. Az egyes paraméterek közötti összefüggéseket lineáris regresszióval és a korrelációs együttható meghatározásával vizsgáltuk.

A genotípusok megoszlása %-os gyakoriságban került kifejezésre és esélyhányados értékeket (odds ratio, OR) is számoltunk. A genetikai vizsgálat során a Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés megállapítása khi-négyzet teszttel történt Yates korrekcióval. Szignifikánsnak a $P < 0,05$ értéket tekintettük minden statisztikai vizsgálatban.

EREDMÉNYEK (a vizsgálatok fő kérdéseinek megfelelően)

1. Hipertóniás betegeknél a BMI szignifikáns pozitív korrelációt mutatott mind a szisztolés, mind a diasztolés vérnyomással ($r = 0,581$ és $r = 0,542$, $n = 52$, $P < 0,001$).
2. 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.
3. 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 normotóniás 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 arányban fokozatos csökkenés figyelhető meg a BMI függvényében, amely bizonyos metabolikus tényezők potenciális hatását jelzi a GSH stabilitásra. A nem obez ($\text{BMI} < 30 \text{ kg/m}^2$) hipertóniás betegekben további szignifikáns csökkenés mutatkozott az azonos BMI-vel bíró kontroll egyénekhez képest ($P < 0,05$ a $\text{BMI} 25\text{--}30 \text{ kg/m}^2$ csoportban, $P < 0,01$ a

BMI < 20 kg/m² csoportban és $P < 0,001$ a BMI 20–25 kg/m² csoportban). A szignifikáns vvs 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 BMI > 30 kg/m² csoportban és $P < 0,001$ a BMI < 30 kg/m² 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, BMI-től függetlenül ($P < 0,05$ a BMI < 20 és 25–30 kg/m² csoportokban, $P < 0,01$ a BMI > 30 kg/m² csoportban és $P < 0,001$ a BMI 20–25 kg/m² 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.

4. 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 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 tekintetében sem volt különbség a hipertóniás és a kontroll csoport között.

5. 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 szignifikánsan. 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 alléja 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.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK (a vizsgálatok fő kérdéseinek megfelelően)

1. A BMI szignifikáns pozitív korrelációt mutatott mind a szisztolés, mind a diasztolés vérnyomással a hipertóniás betegeknél.

2. 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 endothelialis diszfunkció fontosabb tényező lehet az esszenciális hipertónia kialakulásában sovány betegeknél, de jelenléte obezitásban és obezitáshoz társuló hipertóniában is kimutatható.

3. A malondialdehidként (MDA) jellemzett lipid peroxidok emelkedett és a szabad tiol csoportok enyhén csökkent plazma koncentrációja a túlsúlyos hipertóniás betegeknél, a vvs-ek 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 az összes hipertóniás csoportban erős bizonyítékkal szolgálnak az oxidatív stressz jelenlétére serdülőkori esszenciális hipertóniában. Továbbá, az MDA/NO_x hányadosként jellemzett oxidatív stressz szignifikáns korrelációt mutatott mind a szisztolés, mind a diasztolés vérnyomással. Az oxidatív stressz kifejezettebbnek tűnt a túlsúlyos hipertóniásokban, mint a normál testsúlyú hipertóniás betegeknél.

A plazma szabad tiolok csökkenése és a vvs-ek GSSG koncentrációjának emelkedése a normotóniás túlsúlyos egyéneknél az oxidatív stressz jelenlétére utalnak obezitásban, hipertóniától függetlenül. Adataink arra engednek következtetni, hogy az oxidatív stressz patogenetikai tényező lehet juvenilis esszenciális hipertóniában, beleértve az obezitáshoz társuló hipertóniát. Az obezitás önmagában egy pro-oxidáns állapot, amely fokozhatja az oxidatív stressz mértékét, ha hipertóniával társul.

4. Az angiotenzinogén gén (AGT) M235T polimorfizmusának MT genotípusa gyakrabban fordult elő serdülő esszenciális hipertóniásokban, mint a normotóniás egyéneknél, ehhez azonban a TT genotípus és T allél előfordulási gyakoriságának emelkedése nem társult. Így, a T allél jelenléte nem tekinthető egyértelmű rizikótényezőnek esszenciális hipertóniára. Ezen túlmenően, nem tudtunk kimutatni egyéb kapcsolatot a renin-angiotenzin rendszer (RAS) génpolimorfizmusai és a

juvenilis esszenciális hipertónia között. Összességében azt a következtetést vontuk le, hogy a RAS génvariációinak nincs szignifikáns hatása az esszenciális hipertónia kialakulására serdülőkből. Ezen génpolimorfizmusok juvenilis esszenciális hipertóniában betöltött pontos szerepének tisztázásához további vizsgálatok szükségesek nagyobb betegpopulációban.

5. Az angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gén I/D polimorfizmusa és az AGT gén M235T polimorfizmusa szignifikáns kapcsolatot mutatott a gyermekkori végstádiumú veseelégtelenséggel (ESRD). A D allél és DD genotípus gyakrabban fordult elő ebben a betegcsoportban. A DD genotípus jelenléte genetikai rizikótényező lehet a veseparenchyma károsodásra, vesehegesedésre és ESRD kialakulására gyermekekben, az eredeti vesebetegségtől függetlenül. Az AGT gén MT genotípusa, amely gyakoribb volt a gyermekkori ESRD betegekben, hozzájárulhat a krónikus veseelégtelenség progressziójához. A gyermekkori ESRD kialakulására hajlamosító genetikai tényezőket a felnőtt betegekben nem tudtuk kimutatni.

Az értekezés főbb megállapításai

- I. Az endothelialis diszfunkció szerepet játszhat a serdülőkori esszenciális hipertónia kialakulásában, elsősorban normál testsúlyú betegekben, de jelenléte kimutatható obezitásban és obezitáshoz társuló esszenciális hipertóniában is.**
- II. Juvenilis esszenciális hipertóniában fokozott oxidatív stressz állapot igazolható, a testsúlytól függetlenül. Az obezitás önmagában (hipertónia nélkül) fokozott oxidatív stressz állapottal jár.**
- III. Vizsgálatunk alapján a renin-angiotenzin rendszer génpolimorfizmusainak nincs jelentős szerepe a serdülőkori esszenciális hipertónia kialakulásában.**
- IV. A renin-angiotenzin rendszer bizonyos génpolimorfizmusai (ACE I/D polimorfizmus és angiotenzinogén M235T polimorfizmus) befolyásolhatják a végstádiumú veseelégtelenség kialakulását gyermekkori krónikus vesebetegségekben.**

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálával és köszönettel tartozom Dr. Túri Sándor Professzor úrnak, aki megismertette velem a nefrológia tudományos és klinikai területeit, irányította kutatási tevékenységemet és mindvégig támogatott. Nagyon köszönöm Dr. Bereczki Csabának az iránymutatást, tudományos és klinikai tanácsait és folyamatos támogatását. Nagyon hálás vagyok Dr. Haszon Ibolyának az évek során nyújtott sok segítségért és bátorításért.

Köszönetet mondok minden társszerzőmnek és munkatársamnak, akik segítettek a laboratóriumi és klinikai munkámat, különösen Dr. Endreffy Emőke, Dr. Németh Ilona, Dr. Karg Eszter, Dr. Sümegi Viktória, Dr. Baráth Ákos, Dr. Monostori Péter, Dr. Wittmann Gyula és Dr. Rác Gábor. Köszönet a laboratórium munkatársainak a kiváló technikai segítségért, elsősorban Csípő Ildikónak, Horváth Csillának, Fábiánné Nagy Ágotának és Szécsi Ilonának. Szintén köszönet illeti a Gyermek Művese Állomás munkatársait.

Külön köszönöm kollégámnak és barátomnak Dr. Gellén Balázsnak a támogatást és a hasznos tanácsokat.

A családom kitartó támogatása, türelme és segítése nélkül ez a munka nem jöhetett volna létre.

Közlemények

Az értekezés alapjául szolgáló eredeti közlemények

F Papp, AL Friedman, Cs Bereczki, I Haszon, É Kiss, E Endreffy, S Túri. Renin-angiotensin gene polymorphism in children with uremia and essential hypertension. *Pediatric Nephrology* 2003; 18:150–154. [IF: 1,219]

S Túri, A Friedman, Cs Bereczki, **F Papp**, J Kovács, E Karg, I Németh. Oxidative stress in juvenile essential hypertension. *Journal of Hypertension* 2003; 21:145–152. [IF: 3,572]

Az értekezés témájához kapcsolódó egyéb közlemények

Cs Bereczki, S Túri, I Németh, É Sallai, Cs Torday, E Nagy, I Haszon, **F Papp**. The roles of platelet function, thromboxane, blood lipids and nitric oxide in hypertension of children and adolescents. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2000; 62:293–297. [IF: 1,226]

I Haszon, AL Friedman, **F Papp**, Cs Bereczki, S Baji, T Bodrogi, É Károly, E Endreffy, S Túri. ACE gene polymorphism and renal scarring in primary vesicoureteric reflux. *Pediatric Nephrology* 2002; 17:1027–1031. [IF: 1,420]

I Haszon, **F Papp**, M Bors, Cs Bereczki, S Túri. Platelet aggregation, blood viscosity and serum lipids in hypertensive and obese children. *European Journal of Pediatrics* 2003; 162:385–390. [IF: 1,157]

Túri S, Haszon I, **Papp F**, Bereczki Cs, Endreffy E, Németh I. A juvenilis esszenciális hipertónia patomechanizmusa. *Hypertonia és Nephrologia* 2001; 5:131–136.

Papp F, Haszon I, Kovács J, Bors M, Németh I, Bereczki Cs, Túri S. Thrombocyta aggregáció, vér viszkozitás és szérum lipidek alakulása hipertóniás és obes gyermekekben. *Transzfúzió* 2004; 37:3–12.