

Z Á R Ó J E L E N T É S

Gyulladásos és oxidatív markerek és a HDL funkció közötti összefüggések vizsgálata

A kardiovaszkuláris halálozás hazánk vezető haláloka. Ennek megelőzése céljából nagy jelentősége van annak, hogy minél korábban felismerjük azokat a metabolikus kockázati tényezőket, melyek növelik a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásának esélyét. A metabolikus kockázati tényezők között jelentős szerepet játszanak a lipid- és szénhidrát anyagcsere zavarai, a viscerális típusú elhízás és az ezekhez társuló fokozott oxidatív stressz állapot. Bizonyított, hogy a krónikus gyulladás kulcsszerepet játszik az érlemezés kialakulásában. Jól ismert, hogy a szisztémás autoimmun betegségekben, krónikus vesebetegségben a krónikus gyulladás elősegíti az atherosclerosis folyamatát.

Ugyanakkor az egyes kockázati tényezőket szabályozó mechanizmusok még nem tisztázottak. Az utóbbi egy-két évtizedben ismerték fel a zsírszövet által termelt bioaktív fehérjék: az adipokinek lehetséges szabályozó szerepét a kóros anyagcsere állapotok kialakulásában. Ma úgy gondoljuk, az adipokinek jelenthetik a hiányzó láncszemet a központi idegrendszer, hormonális szabályozás, valamint a szöveti anyagcsere állapotok között.

Pályázatunkban célul tűztük ki a lipidadanyagcsere mennyiségi és minőségi jellemzését, az oxidatív stressz és a gyulladás markereinek, a szénhidrát anyagcserét jellemző paraméterek, egyéb kardiovaszkuláris biomarkerek vizsgálatát. Kapcsolatot kerestünk a gyulladás és oxidatív stressz markerek, valamint a szabályozásban potenciálisan részvevő adipokinek között olyan kórképekben, ahol a kardiovaszkuláris kockázat jelentősen emelkedett. Vizsgálatainkba ezért hiperkoleszterinémiás, elhízott nem diabeteses, vese transzplantáción átesett krónikus vesebetegségben szenvedő, szisztémás

autoimmun betegeket (SLE), valamint egészséges kontroll személyeket vontunk be.

Új kardiovaszkuláris biomarker végstádiumú vesebetegekben

A HDL-asszociált antioxidáns enzim, a paraoxonáz (PON1) megvédi az LDL-koleszterint az oxidációtól, ezáltal gátolja az atherosclerost. A PON1 enzim homocisztein tiolaktonáz (laktonáz) aktivitással is rendelkezik, hidrolizálja a homocisztein-tiolaktont, ami a homocisztein metabolizmusa során keletkezik. A PON1 laktonáz aktivitása révén megvédi a fehérjét a homociszteinilációtól, és így protektív faktorként hozzájárul az érlemezés elleni védelemhez. Korábban leírták, hogy a PON1 csökkent laktonáz aktivitása a kardiovaszkuláris megbetegedések prediktora. Munkacsoportunk korábban leírta, hogy mind hemodializált, mind vesetranszplantált betegekben az antioxidáns PON1 aktivitása csökkent, azonban a laktonáz aktivitást eddig még nem vizsgálták. Az OTKA pályázat támogatásával összefüggéseket kerestünk hemodializált (HD) és vesetranszplantált (TRX) betegekben valamint egészséges egyéneknél a laktonáz aktivitás és néhány kardiovaszkuláris rizikófaktor pl. homocisztein, cystatin C, és az endotél diszfunkcióhoz nagymértékben hozzájáruló aszimmetrikus dimetil-arginin között. A kontrolcsoporthoz képest mindkét betegcsoportban szignifikánsan kisebb laktonáz aktivitást mértünk és a HD csoportban alacsonyabb a laktonáz aktivitás a TRX csoporthoz képest. Szignifikáns negatív korrelációt mutattunk ki a laktonáz aktivitás és az ADMA, valamint a homocisztein szint között. Megállapítottuk, hogy a laktonáz aktivitás független prediktora a homocisztein szint. Vizsgálataink arra utalnak, hogy vesebetegekben a laktonáz aktivitás a kardiovaszkuláris rizikó új biomarkere lehet.

Alultáplált és elhízott hemodializált betegek atherosclerosis rizikójának összehasonlítása

A fehérjék metilációja során keletkező aszimmetrikus dimetil-arginin (ADMA) vesén keresztül történő eliminációja hemodializált betegekben károsodik, és

az NO szintetáz inhibitoraként hozzájárul az endothel dysfunkcióhoz. Korábbi tanulmányok emelkedett szérum leptin, adiponektin és ADMA koncentrációkat igazoltak krónikus vesebetegeknél.

Megvizsgáltuk, hogy milyen összefüggés van az atherosclerosisra szemben védő hatású PON1 aktivitás és az adiponektin, ill. a proatherogén leptin és ADMA koncentrációk között alultáplált és elhízott hemodializált betegekben. Emellett vizsgáltuk a PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitásának kapcsolatát, valamint az ADMA és a laktonáz aktivitás korrelációját.

Szignifikáns negatív korrelációt találtunk a PON1 aktivitás és a leptin valamint a CRP koncentrációk között. Szignifikáns negatív összefüggést mutattunk ki a CRP és az adiponektin szintek között. Mind az elhízott, mind a normál súlyú hemodializált betegek PON1 paraoxonáz és laktonáz aktivitása szignifikánsan kisebb volt az alultáplált csoporthoz képest. A PON1 laktonáz aktivitása szignifikáns inverz korrelációt mutatott az ADMA szinttel. Ez a korreláció kimutatható volt az alultáplált és normál súlyú csoportban, de az elhízottakban nem.

Vizsgálatainkból arra következtethetünk, hogy a kedvezőtlen leptin/adiponektin arány, a HDL antiatherogén funkciójáért nagymértékben felelős antioxidáns tulajdonságú PON1 enzim csökkent aktivitása az emelkedett CRP szinttel együtt elősegítheti az atherosclerosisra elhízott hemodializált vesebetegnél. Feltételezhető, hogy a hemodializált betegek tápláltsági állapota nagymértékben befolyásolja az endothel dysfunkciót és az antioxidáns védelmet.

A HDL antioxidáns kapacitásának jellemzésére szolgáló módszer kidolgozása

Akut és krónikus gyulladásos kórállapotokban az inflammatorikus citokinek pl. SAA jelentősen megváltoztatják a HDL összetételét, és ezzel a HDL elveszíti antiatherogén funkcióját és diszfunkcionálissá válik. Ez a diszfunkcionális HDL fontos szerepet játszik a fokozott érlemezésesedési hajlam kialakulásában

A HDL antioxidáns kapacitásának jellemzésére Magyarországon elsőként került beállításra erre szolgáló módszer, az LDL oxidatív rezisztenciáját jellemző lag-time mérése. Az LDL-hez adott hem oxidálja az LDL-t. Az LDL oxidatív rezisztenciáját a hem elfogyásának ideje jellemzi. A lag-time a maximális reakciósebesség eléréséig eltelt idő. Az LDL-hez adott, betegből izolált HDL - antioxidáns potenciáljával arányosan - a lag-time-ot lerövidíti (diszfunkcionális HDL) vagy megnyújtja (antiatherogén HDL)

Vizsgálataink eredményei a gyulladásnak az atherosclerosis pathobiológiájában betöltött szerepének tisztázása mellett hozzájárul a betegség jobb megértéséhez és gyakorlati klinikai alkalmazásai is lehetnek.

A chemerin, mint pro-inflammatorikus adipokin valamint a lipid szubfrakciók és az oxidatív markerek kapcsolatának vizsgálata elhízásban

A zsírszövet számos, gyulladásos folyamatokban szerepet játszó adipokint pl. chemerint termel, amelyek emelkedett szintje növeli a kardiovaszkuláris rizikót.

Fontos szerepet játszik a zsírsejtek érésében, befolyásolja a zsír- és glükóz homeosztázist, és mennyisége pozitívan korrelál több gyulladásos markerrel is. Az elhízás egy alacsony-fokú gyulladással járó állapot, ezért megvizsgáltuk a chemerin hatását a lipoprotein szubfrakciókra és a PON1 aktivitásra, mint antioxidáns markerre elhízott, nem diabéteszes betegekben.

A betegekben szignifikánsan magasabb szérumban chemerin szintet mértünk az egészséges kontrollhoz képest. Szignifikáns pozitív korrelációt detektáltunk a chemerin és a small, dense LDL között, míg a chemerin negatívan korrelált az átlagos LDL mérettel. Az elhízott betegekben a chemerin szint szignifikáns pozitív korrelációt mutatott az életkorral, a BMI-vel, a koleszterin szinttel, az LDL- koleszterinnel, az apoB mennyiségével, a leptin és a HgbA1C szintekkel, míg szignifikáns negatív összefüggést találtunk az apoA1, az adiponektin, a HDL-koleszterin és a PON1 aktivitással.

A chemerin jelentős szerepet játszhat a lipoprotein metabolizmusban, azokban az elhízott betegekben, akikben a szénhidrát anyagcsere még nem

károsodott. A lipoprotein szubfrakciók megoszlásának ezen korai megváltozása és a fokozott oxidatív stressz hozzájárulhat az elhízott betegek korai érrelmeszesedéséhez és megnövekedett kardiovaszkuláris rizikójához.

Mieloperoxidáz koncentráció és paraoxonáz-1 aktivitás érrendszeri szövődményekkel rendelkező és nem rendelkező túlsúlyos hiperlipidémiás betegekben

A fehérvérsejtek aktivációja során a mieloperoxidáz (MPO) reaktív oxidatív gyököket, köztük hipoklórossavat termel, mely baktériumölő hatású, ugyanakkor elősegíti a citotoxikus és thrombogén oxidált lipidek képződését, és gátolja a vazodilatációt okozó nitrogén-monoxid termelődését. Korábbi vizsgálatok alapján az emelkedett szérum MPO szint az érrelmeszesedés egyik független rizikófaktorának bizonyult. Számos korábbi tanulmány kimutatta, hogy a HDL-hez kapcsolódó, antioxidáns hatású human paraoxonáz-1 (PON1) aktivitása csökken oxidatív stressz hatására, melyben a MPO-nak szintén meghatározó szerepe lehet.

Munkacsoportunk célul tűzte ki, hogy tanulmányozza az MPO koncentráció és a PON1 arilészteráz és paraoxonáz aktivitása közötti összefüggést vaszkuláris szövődménnyel rendelkező és nem rendelkező hiperlipidaemiás, lipidcsökkentővel nem kezelt túlsúlyos betegekben.

167 kezeletlen, hiperlipidémiás, túlsúlyos beteget vizsgáltunk. 41 beteg rendelkezett érrendszeri szövődményekkel, 126 beteg esetében érrendszeri szövődményt nem találtunk.

Az érrendszeri szövődménnyel rendelkező betegekben szignifikánsan magasabb össz-koleszterin, LDL-koleszterin, triglicerid, CRP, ADMA és MPO szinteket észleltünk a szövődménymentes betegekhez viszonyítva. Szignifikáns negatív korrelációt találtunk az MPO koncentráció és a PON-1 arilészteráz aktivitás között mind a teljes betegpopulációban, mind a vizsgált alcsoportokban. A MPO szint szignifikáns pozitív korrelációt mutatott az MMP-9 és a CD40L szintekkel. A PON-1 192 fenotípus allél frekvenciák

megoszlását vizsgálva nem volt szignifikáns különbség a vizsgált csoportok között.

Eredményeink alapján az MPO koncentrációja az érlelmeszesedés számos rizikófaktorával szoros kapcsolatban van, és e paraméterek párhuzamos vizsgálata érzékenyebb lehet az érlelmeszesedés progressziójának nyomon követésére, mint az egyes paraméterek külön értékelése.

Eredményeink közlése a *Clinical Biochemistry* című folyóiratban közlés alatt van.

Lipoprotein szubfrakciók megoszlásának és a HDL antioxidáns aktivitásának kapcsolata Smith-Lemli-Opitz szindrómában

A lipidanyagcsere zavarai részben genetikai, részben környezeti tényezők hatására jöhetnek létre, amelyek a szérum koleszterinszint kóros emelkedését vagy csökkenését okozzák. A Smith-Lemli-Opitz szindróma egy olyan öröklött koleszterinanyagcsere-betegség, ahol a koleszterinszintézis zavara miatt nem képződik elég koleszterin.

11 Smith-Lemli-Opitz szindrómás (SLOS) gyereket és 10 korban, nemből illesztett kontroll személyt vizsgáltunk. A koleszterin anyagcsere közti termékeként felszaporodó, könnyen oxidálódó 7-dehidrokoleszterin szintje kiemelkedően magas volt az SLOS betegek körében; míg az antioxidáns hatású, PON1 enzim aktivitása szignifikánsan alacsonyabb volt a betegcsoportban. A koleszterin, a HDL-C és LDL-C szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a SLOS csoportban. Az LDL szubfrakciók megoszlása a kis, sűrű, könnyen oxidálható LDL szubfrakciók irányába tolódik el a betegcsoportban. A HDL szubfrakciók vizsgálatakor az SLOS gyerekek esetében szignifikánsan nagyobb volt a nagy, kevésbé sűrű HDL szubfrakciók aránya a kontroll csoporthoz viszonyítva. Eredményeink alapján elmondható, hogy a lipoprotein szubfrakciók arányának kedvezőtlen irányba történő eltolódása fokozza az SLOS betegekben megfigyelhető endogén oxidatív stresszt. A csökkent PON1 arilészteráz aktivitással egyidejűleg magas 7DHC szintet mutattunk ki az SLOS betegek szérumában, amely szintén

hozzájárulhat a betegségben fennálló fokozott oxidatív stressz állapothoz. Megállapítható, hogy a szérumban PON1 aktivitás monitorozása hasznos, kiegészítő marker lehet az SLOS progressziójának jellemzésére.

HDL és LDL szubfrakciók vizsgálata és kapcsolatuk a gyulladásos és oxidatív paraméterekkel systemas lupus erythematosusban

A systemas lupus erythematosus (SLE) napjaink egyik legismertebb krónikus, gyulladásos autoimmun betegsége. Korábbi tanulmányok leírták, hogy az SLE-ben észlelt korai halálozásban az akcelerált atherosclerosis kiemelkedő szerepet játszik. Az atherogén dyslipidemia (megnövekedett összkoleszterinszint, emelkedett LDL-C, ill. csökkent HDL-C szint) és a túlzott lipid peroxidáció nagyban hozzájárul a habos sejtek képződéséhez és atheroma kialakulásához.

Célul tűztük ki a HDL és LDL szubfrakcióinak, valamint a paraoxonáz (PON1) enzim és a gyulladásos marker szérumban amyloid A (SAA) kapcsolatának vizsgálatát SLE-ben szenvedő betegekben. 51 SLE-s betegnél gyulladásos markerek (CRP, IL-6, SAA, MCP-1), betegségaktivitási index (SLEDAI), lipidek, és oxidatív markerek (oxLDL, sdLDL) szintjét határoztuk meg. Mértük a PON1 aktivitását és a hem-indukált LDL oxidáció során a HDL antioxidáns kapacitását. Gélelektroforézissel HDL és LDL szubfrakció mérés történt. A betegek adatait 49 egészséges kontroll adataival hasonlítottuk össze.

A CRP és a SAA szintje szignifikánsan magasabb SLE-ben. A betegekben atherogén dyslipidaemia részeként csökkent a HDL és fő apolipoproteinje az ApoA1 szintje, míg a triglicerid és az ApoB szintje magasabb, mint a kontroll csoportban. A csökkent összHDL mellett a HDL szubfrakciók is szignifikánsan csökkent mennyiséget mutattak, azonban a szubfrakciók megoszlása nem különbözött szignifikánsan a kontrollhoz képest. Az LDL szubfrakciók mennyiségében és százalékos arányában nem találtunk különbséget. A VLDL és az IDL frakciók százalékos arányai szignifikánsan magasabbak voltak SLE-ben, mely az emelkedett triglicerid értékekkel magyarázható. Bár oxLDL koncentrációjuk magasabb volt, nem találtunk szignifikáns különbséget a

csoporthoz képest a small, dense LDL előfordulásában. Az egészséges kontrollcsoporttal összehasonlítva, a betegekben a PON1 aktivitás és az HDL antioxidáns kapacitás egyaránt alacsonyabbnak bizonyult. Az oxLDL és a SAA koncentráció valamint az oxLDL és a SLEDAI között szignifikáns összefüggést észleltünk. A gyulladásos markerek, köztük az IL-6 és az MCP-1 szintje az HDL antioxidáns kapacitással negatívan, míg a PON1 aktivitás az HDL antioxidáns kapacitással pozitívan korrelált. A betegség aktivitási index (DAS) és a SAA szintje között pozitív korrelációt találtunk.

Vizsgálataink arra utalnak, hogy a HDL-hez kötött akut fázis fehérje (SAA) emelkedett szintje és a csökkent antioxidáns védelem hozzájárulhat az SLE-s betegek fokozott kardiovaszkuláris rizikójához. Eredményeink szerint a csökkenés hátterében nem a lipid szubfrakciós profil megváltozása áll. Az eredményeinket ismertető angol nyelvű közlemény bírálattal van a *Lipids in Health and Disease* című folyóiratban.