

## Hepatikus osteopathia vizsgálatok

Korábbi vizsgálatainkat, és nemzetközi adatokat megerősítve bizonyítottuk, hogy az osteoporosis a magyarországi PBC-s betegekben gyakori, és önmagában is jelentős morbiditási tényező, amit jól mutat a csonttörések nagy aránya.

Az osteoblastok által termelt osteoprotegerin (OPG) megkötvén az osteoclastokat aktiváló endogén faktort, a RANKL-ot, gátolja a csontfaló sejtek differenciálódását és funkcióját. Mivel PBC-ben gyakori az osteoporosis, feltételezhető volt, hogy e csontvédő hatású anyag mennyisége csökken. Meglepetésre az ellenkezőjét találtuk.

PBC-s betegekben magas szérumszintű osteoprotegerin (OPG) és alacsony RANKL szintet mutattunk ki. A betegekben az osteoprotegerin szintje szignifikánsan magasabb volt az egészséges kontrollokhoz, valamint az osteopeniás, de egyébként egészséges nőkhöz képest ( $p < 0,0001$  mindkét összehasonlításban). A magas OPG szint nem mutatott összefüggést a csont ásványanyag-tartalmával.

Az eltérés lehet egy a csontvesztést kompenzáló reakció következménye, de mert az OPG emelkedést nem kísérte az osteocalcin növekedése, lehetséges, hogy az excesszív osteoprotegerin mennyiség nem csak az osteoblasztokból, hanem T- és B lymphocytákból és fibroblastokból is származik. Ezt a lehetőséget támasztja alá, hogy krónikus C hepatitisben is magas OPG szintet találtunk, ami nem mutatott összefüggést az osteocalcin és a csontlebontást jelző  $\beta$ -CTx szinttel. (*J Hepatol* 2003;38:395-400, IF:4,750)

Elsőként végeztünk csont ásványanyag-tartalom méréseket Wilson-kórban. Megállapítottuk, hogy a betegek több mint egyharmadában a BMD érték csökkent. Csont ultrahang vizsgálattal kisebb értékeket mértünk, ami a csont minőségének változására utal. Valószínű, hogy az eltérések oka az akkumulálódott réz toxikus hatása.

Új adatként kimutattuk, hogy Wilson-kórban a szérumszintű osteoprotegerin szintje magasabb, mint az egészségeseké, és magasabb, mint a nem Wilson-kóros, WHO kritériumok szerint osteopeniás egyénéké. Magasabbnak találtuk a fokozott csontreszorpcióra utaló  $\beta$ -CTx szintet, de az osteocalcin és RANKL szintben nem volt eltérés. A szérumszintű leptin szintben és a kalcium érzékelő receptor (CaSR) polimorfizmusban nem találtunk különbséget a Wilson betegek és az egészségesek között. (*J Bone Miner Res* 2002; 17: 1961-1967)

Újabb adatok szerint a genetikai faktoroknak nemcsak a csúcs csonttömeg elérésében, hanem a csontmetabolizmust befolyásoló számos faktor működésében és a PBC keletkezésében is

szerepe lehet. Ezért összesen hat olyan gén polimorfizmusát vizsgáltuk, amelyekről feltételezik, hogy szerepet játszanak a csontanyagcserében.

Kimutattuk, és egy második vizsgálatsorozatban megerősítettük, hogy a magyarországi PBC-s betegekben a D vitamin receptor (VDR) BsmI BB genotípus és a B allél gyakoribb. Elsőként közöltünk adatokat az ösztrogén receptor- $\alpha$  XbaI és PvuII polimorfizmusáról primer biliaris cirrhotikus betegekben. Az ER- $\alpha$  Pp és Xx genotípusokat gyakoribbnak találtuk magyarországi PBC-s betegekben, de nem találtunk különbséget az interleukin-1 receptor antagonist protein (IL-1RN VNTR) és az insulin-like growth factor-I (IGF-I) microsatellita repeat és a kalcium-érzékelő receptor (CaSR) A986S polimorfizmusban a betegek és egészséges kontroll személyek között. A PBC-s betegek csoportján belül az egyes génpolimorfizmusok gyakoriságában nem volt különbség aszerint, hogy a betegeknek volt-e osteoporosisuk vagy nem. (*Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14:1-8; *Orv Hetil* 2004; 145: 331-336)

Mivel az IGF-I polimorfizmus és a BMD között kapcsolatot találtunk, feltételezhető, hogy nem a kollagén I- $\alpha$ 1 (COLIA1), hanem a IGF-I és más genetikai és környezeti faktorok játszhatnak szerepet PBC-ben a BMD komplex szabályozásában. Korábbi tanulmánytól eltérően, az s allélt ritkábban találtuk PBC-ben, és annak jelenléte nem függött össze a csont ásványianyag tartalmával. Mindezek alapján úgy tűnik, hogy az általunk vizsgált génpolimorfizmusoknak nincs meghatározó szerepe a PBC-ben előforduló csontvesztésben. (*Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16:753-759)

A csontfejlődés zavarát mutattuk ki kísérletes májcirrhosisban növekedésben lévő patkányokban. Bizonyítottuk, hogy a kísérletes májcirrhosist és a májrák kialakulását a csontnövekedés visszamaradása, csökkent csonttömeg és a csont mechanikai ellenállóképességének csökkenése kíséri. Új megfigyelésünk, hogy diethylnitrozamin adását követően 8 héten át adott phenobarbital adása során a csont növekedése és mechanikai ellenállóképessége átmenetileg növekszik. (*World J Gastroenterol* 2005; 11: 7169-7173)

Primer biliaris cirrhosisban, az obesitas (ob) gén által kódolt, újabb adatok szerint a májban a csillagsejtek által is termelt leptin szérumszintjét alacsonyabbnak, a solubilis leptin receptor szintjét pedig magasabbnak találtuk az egészséges kontrollokhoz képest. Összefüggés volt a szérumszint leptin és a testtömeg index (BMI) között, de nem találtunk összefüggést a

májparaméterekkel és az osteoporosisal. (*Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:923-928 IF:1,843)

### **Neuropathia vizsgálatok májbetegségekben**

Bizonyítottuk, és az elsők között közöltük, hogy az autonóm neuropathia primer biliaris cirrhosisban gyakori, és más nem-alkoholos májbetegségekben is kimutatható. Az autonóm neuropathia előfordulása és a korrigált QT távolság (QTc) megnyúlása közötti összefüggést nemcsak alkoholos és diabéteses betegekben, hanem primer biliaris cirrhosisban és egyéb idült májbetegségekben is bizonyítottuk. Adataink arra utalnak, hogy paraszimpatikus neuropathia is hozzájárul a QTc idő megnyúlásához, és hogy a paraszimpatikus károsodás jelei korábban, és súlyosabb mértékben jelentkeznek, mint a szimpatikus rendszeré. Felvetettük, hogy az autonóm neuropathiának szerepe lehet a májbetegségekben gyakori hiperdinamikus keringés és a portális hypertonia kialakulásában.

Új adatként kimutattuk, hogy a szenzoros károsodás nemcsak a myelinizált vastag rostokat, hanem a vékony szenzoros rostokat is érintheti PBC-ben. Új megfigyelésünk, hogy PBC enyhébb stádiumaiban, a hyperaesthesiára utalóan alacsonyabb az áramérzet küszöb, ami összhangban van azzal a feltételezésünkkel, hogy a betegségre jellemző bőrviszketést kiváltó faktorok hatásának felerősítésében a neuropathiának szerepe lehet, legalább is a korai fázisban. (*World J Gastroenterol* 2004;10:3039-3043 IF: 3,318)

Primer biliaris cirrhosisos betegekben bizonyítottuk, hogy a 24 órás szívfrekvencia variabilitás analízise érzékenyebb módszer az autonóm neuropathia kimutatására. Kimutattuk, hogy az autonóm diszfunkció a betegség súlyosságával és fennállásának idejével összefügg. (*World J Gastroenterol* 2004;10:3039-3043 IF: 3,318)

Wilson-kórban a nervus peroneuson az egészségesekhez képest magasabb áramérzet küszöbértékeket mértünk, ami arra utal, hogy a rézanyagcsere zavara a perifériás idegek működését is károsíthatja.

Cryoglobulinaemiával és súlyos fokú polyneuropathiával járó C hepatitis pegylált interferon és ribavirin kezelésre gyógyult esetét ismertettük (*Magyar Belorv Arch* 2004; 57:194-197).

## Genetikai vizsgálatok Wilson-kórban

Országos összefogás megszervezésével nemzetközi szempontból is jelentős számú, 87 Wilson-kóros beteg adatainak elemzésével megállapítottuk, hogy az első tünet és a betegség diagnózisa között átlagosan hosszú idő, évek telnek el. Munkacsoportunk tevékenysége is hozzájárult, hogy ez az idő ma már egyre rövidebb.

Magyarországon meghonosítottuk a Wilson-kór genetikai diagnosztikáját. A betegséget az ATP7B gén mutációja okozza. Kimutattuk, hogy a többi kelet- és közép-európai országhoz hasonlóan hazánkban is a H1069Q mutáció a leggyakoribb. Mivel ez a mutáció a betegek több, mint kétharmadában (73%) megtalálható, ezért kimutatása a diagnosztikának fontos eszköze. Wilson-kór gyanúja esetén először ezt a mutációt érdemes vizsgálni. A PCR vizsgálatot szekvenálással kiegészítve, összesen 18 mutációt mutattunk ki magyarországi betegeken, ami jól bizonyítja, hogy hazánk lakossága genetikai szempontból mennyire heterogén. Öt mutációt eddig csak török, olasz vagy albán betegekben írtak le. Lehetséges, hogy e mutációk magyarországi jelenléte a 150 éves török megszállás genetikai következménye. Három exonon összesen 5 új mutációt találtunk, amelyet eddig még nem közöltek. (*Orv Hetil 2003;144:2509-2515; Eur J Gastroenterol Hepatol 2006; accepted for publication, proof reading done*)

A génmutáció vizsgálatok gyakorlati klinikai jelentősége különösen nagy az index beteg testvéreinek esetében, mert mindkét allél hibájának kimutatása biztos diagnózist jelent, és kezeléssel meg lehet előzni a tünetek jelentkezését. Mindezt számos beteg példájával bizonyítottuk. Egy kivételes családban a Wilson-kórt két egymás utáni generációban mutattuk ki, és a májtranszplantált fiúbeteg tünetmentes leánytestvéreben génmutáció vizsgálattal bizonyítottuk a betegséget. Haplotípus analízissel bizonyítottuk a vérrokonságot. (*Am J Med Genet 2002; 108:23-28; Am J Gastroenterol 2004; 99:2504-2505*)

Wilson-kórban végzett vizsgálataink megerősítik azt a gyakorlat számára szóló üzenetet, hogy minden tisztázatlan eredetű májbetegség, neurológiai és pszichiátriai tünet esetén gondolni kell e betegségre. A génmutáció vizsgálat értékes segítség a diagnosztikában.

## **Nociceptin vizsgálatok**

Új adatként kimutattuk, hogy a plazma nociceptin (N/OFQ) szint Wilson-kórban és PBC-ben is magasabb. Hepatocelluláris carcinómában szenvedő betegek vérében még magasabb, a normális 10-szeresét meghaladó nociceptin szintet találtunk. (*World J Gastroenterol 2004;10:42-45. IF:3,18*).

Állatkísérletben, patkányban létrehozott májrák esetén az állatok liquorában, plazmájában és a dagantszövetben is nagyobb N/OFQ koncentrációt mértünk, mint a kontroll állatokban. Humán hepatocelluláris carcinoma szövetben is nagyobb volt a nociceptin koncentráció, mint ugyanazon máj nem tumoros részében.

Adataink szerint a magas plazma N/OFQ szint a hepatocelluláris carcinoma egyik indikátora. Eredményeink alapján indított további vizsgálatok dönthetik majd el, hogy a tumor termeli-e a nociceptint, vagy csak valamilyen úton jelzést küld az agyba, ahol fokozódik a pre-nociceptin és nociceptin képzés. Mivel egyéb malignus daganatok esetén is kimutattuk a nociceptin szint emelkedését, lehetséges, hogy az nemcsak a májrákot, hanem a tumorgenezist kísérő általános jelenség, ezért eddigi eredményeink további kutatások kiindulópontjai lehetnek.

## **Metabolikus eltérések primer biliáris cirrhosisban**

Kimutattuk, hogy primer biliáris cirrhosisos betegek szérumában mind a dipeptidil peptidáz IV (DPPIV, CD26), mind a neutrális endopeptidáz aktivitása nagyobb, és a növekedés mértéke a betegség IV-ik stádiumában a legjelentősebb. Adataink szerint a DPPIV aktivitás a biliáris obstrukció és a PBC progressziójának egyik indikátora. Mivel patkányban kísérletesen létrehozott májcirrhosisban és krónikus C hepatitiszes betegek szérumában is magasabb CD26 aktivitást mértünk, felvetettük annak lehetőségét, hogy a PBC-s betegekben észlelt nagyobb érték lehet a betegségre jellemző fokozott T-sejt aktiváció következménye is.

Új adatként észleltük, hogy PBC-ben a vizelettel ürített, kreatininre vonatkoztatott cink mennyisége nagyobb, ami indirekt módon fokozott csontvesztésre utal.

Kimutattuk, hogy a szérumban alfa<sub>2</sub>-HS-glycoprotein (AHSG) szintje PBC-ben alacsonyabb az egészségesekéhez képest. Negatív összefüggést találtunk az AHSG szint és a betegség súlyossága között. (in: *Liver Cirrhosis New Research, 2005; Nova Science Publishers Inc, ed: T.M. Chen; pp 63-75.*)

Adataink szerint a magasabb HDL2 és a normális lipoprotein-a (Lp-a) szint és fenotípus megoszlás egyik magyarázata lehet annak, hogy PBC-ben nem fokozott az arteriosclerosis rizikója.

**Összefoglalva**, eredményeink hozzájárulhatnak a primer biliaris cirrhosis és a Wilson-kór, valamint e betegségek klinikai szempontból is fontos extrahepatikus szövődésének jobb megismeréséhez, a korai diagnózishoz és a megfelelő kezeléshez, ami a betegek életminőségét és túlélését is javíthatja. A nociceptinre vonatkozó megfigyeléseink azt a lehetőséget támogatják, hogy a tumormarkerekhez hasonlóan ez a paraméter egyes malignus folyamatok, köztük a primer hepatocelluláris carcinoma biokémiai indikátora lehet.