

Az egyszerű gyermekkori elhízás genetikai háttere és következményei

Doktori (PhD) értekezés tézisei

dr. Csernus Katalin

Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Gyermekklinika

Témavezető: Prof. Dr. Molnár Dénes

2015

Rövidítések:

ADRB3 – β_3 -adrenoreceptor

ALT – alanin-aminotranszferáz

ANOVA – variancia-analízis (analysis of variance)

AST – aszpartát-aminotranszferáz

BMR – alap-anyagcsere (basic metabolic rate)

CI – konfidencia-intervallum (confidence interval)

del/ins – deléció/inszerció

HOMA – homeostasis model assessment

IGR – károsodott glukóz-anyagcsere szabályozás (impaired glucose regulation)

NAFLD – nem-alkoholos zsírmáj betegség (non-alcoholic fatty liver disease)

OGTT – orális glukóz tolerancia teszt (oral glucose tolerance test)

OR – esélyhányados (odds ratio)

PPARG2 – peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor- $\gamma 2$

ROS – reaktív oxigéngyök (reactive oxygen species)

RQ – légzési hányados (respiratory quotient)

RTS – relatív testsúly

RTTI – relatív testtömeg-index

SD – szórás (standard deviation)

TTI – testtömeg-index

UCP – szétkapcsoló fehérje (uncoupling protein)

U-ACR – vizelet albumin:kreatinin arány (urinary albumin:creatinine ratio)

U-BMCR – vizelet $\beta 2$ -microglobulin/kreatinin arány (urinary $\beta 2$ -microglobulin/creatinine ratio)

WBISI – whole body insulin sensitivity index

BEVEZETÉS

1. Az egyszerű gyermekkori elhízás genetikai háttere

Az egyszerű elhízás erős genetikai meghatározottságú multifaktoriális rendellenesség. Úgy tűnik, hogy az egyszerű gyermekkori elhízás genetikai hátterét az energia-egyensúly szabályozásában részt vevő számos gén kockázati alléljainak hordozása képezi. Ezen hízásra hajlamosító génvariánsok önmagukban kis hatásúak, a kockázatot közvetítő allélok azonban a népesség körében igen gyakori előfordulásúak. A kis hatások miatt több génpolimorfizmus nagyméretű gyermekpopulációkon történő vizsgálata szükséges az egyszerű gyermekkori elhízással való összefüggések azonosításához, illetve megerősítéséhez.

Gyermekek esetében inkább a csökkent energia-leadást, mintsem a fokozott energia-bevitelt tekintik a kóros súlygyarapodást meghatározó tényezőnek. Így az elhízásra hajlamosító kandidátus gének egyik fő csoportját az energia-raktározásban és –felhasználásban szerepet játszó gének képezik. A β_3 -adrenoreceptort (ADRB3), mitokondriális uncoupling protein (UCP) 1, 2 és 3-at, és a peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor- γ 2-t (PPARG2) kódoló gének gyakori variánsai valamint az elhízás és annak társuló jellegzetességei között ismételt kimutatott összefüggések alapján ezen gének a legfontosabb kandidátus gének közé sorolhatók. A legtöbb ide vonatkozó tanulmányt azonban felnőttek körében végezték, és viszonylag kevés ismerettel rendelkezünk ezen gének hatásairól a gyermekkori túlsúly kialakulására.

Az ADRB3 a zsírszövetekben szelektíven előforduló adrenoreceptor altípus, mely a barna zsírszövetben, illetve emberben elsősorban a visceralis fehér zsírraktárakban expresszálódik. Az adrenerg rendszer kulcsszerepet játszik az energia-felhasználás szabályozásában, és az ADRB3 a fő közvetítő receptor, melyen keresztül a barna zsírszövetben a katecholamin-indukálta hőtermelés, a fehér zsírsejtekben pedig a zsírlebontás aktiválódik. Az ADRB3 gén Trp64Arg polimorfizmusa korábbi megfigyelések szerint csökkent lipolitikus érzékenységgel társul, és az Arg64 allél gyakoribb előfordulását írták elhízott felnőttek és gyermekek körében.

Az UCP-k az intramitokondriális transzmembrán hordozó fehérjék egy családját alkotják, melyek képesek a belső mitokondriális membránon keresztül történő proton transzport és az ATP szintézis szétkapcsolására (uncoupling), ezáltal az energia hő formájában történő felszabadítására és így a metabolikus hatékonyság csökkentésére. Az UCP-1 elsősorban a barna zsírszövetben expresszálódik, ahol a hideghatásra bekövetkező, izommunkától független hőtermelés kulcstényezője, részt vesz továbbá a táplálkozás indukálta hőtermelésben. Emberben a barna zsírszövet főleg csecsemőkorban aktív, azon túl sorvadásnak indul; barna zsírsejtek azonban az élet során folyamatosan fennmaradnak elsősorban a fehér zsírszövetben, és a felnőttek testtömegének akár

2%-át is kitehetik. Az UCP-1 –3826 A/G polimorfizmusának G variánsával kapcsolatban korábban csökkent mRNS expressziót és az elhízottak körében nagyobb gyakoriságot figyeltek meg.

Az UCP-2 fehérje szinte minden emberi szövetben megtalálható, míg az UCP-3 expressziója elsősorban a vázizomzatra és a barna zsírsejtekre korlátozódik. Felfedezésükkor ezen fehérjéről azt gondolták, hogy az UCP-1-hez nagyjából hasonló funkciójuk lehet, azonban a barna zsírszövetből eltérő egyéb szövetekben, megmagyarázva a mechanizmust az olyan, UCP-1 fehérjével nem rendelkező felnőtt emberi szövetekben és sejtekben kimutatható jelenségek mögött, mint a bazális proton-áteresztés vagy az izommunkától független, illetve táplálkozás-indukálta hőtermelés. Mindazon élénk kutatások ellenére azonban, mely az UCP-2 és UCP-3 funkcióinak meghatározására irányul, ezen fehérjék pontos élettani szerepe máig tisztázatlan. Az UCP-2-vel kapcsolatban többek között a sejten belüli energiaegyensúly, az inzulin-szekréció és hatása, a zsírsanyagcsere és –tárolás, valamint a reaktív szabadgyök (ROS – reactive oxygen species) képződés szabályozásában való szerep merült fel, míg az UCP-3-at a ROS termelés modulálása mellett elsősorban a szubsztrát-felhasználás irányításával hozták kapcsolatba. Bármi is legyen az elsődleges élettani szerepük, a szétkapcsoló (uncoupling) aktivitásuknak köszönhetően ezen fehérjék képesek befolyásolni a mitokondriális energiatermelés hatékonyságát, ezáltal fontos szerepet játszhatnak az emberi energia-háztartásban, illetve azon folyamatokban, melyek az emberi energia-felhasználás variabilitásának hátterében állnak. Az UCP-2 gén funkcionális variánsai közé tartozik a –866 G/A polimorfizmus, melynek A allélját fokozott transzkripciós aktivitással és alacsonyabb testtömeg-indexszel (TTI) és elhízás-kockázattal hozták kapcsolatba; valamint az 8-as exon 45 bázispárnyi deléció/inszerció (del/ins) polimorfizmusa, melynek ins variánsa korábbi megfigyelések szerint csökkent mRNS stabilitással és az elhízás magasabb kockázatával társult. Az UCP-3 –55 C/T polimorfizmusának T allélját fokozott transzkripciós aktivitással és alacsonyabb TTI-szel, valamint elhízás-kockázattal hozták összefüggésbe.

A PPARG2 egy zsírsejt-specifikus nukleáris receptor, mely részt vesz az adipocytá differenciáció, a lipid-metabolizmus és az inzulin-érzékenység szabályozásában. Lipidek által aktivált transzkripciós faktorként potenciális molekuláris kapcsolatot képezhet a lipid-metabolizmus és a zsírsejt-differenciáció között, így genetikai módosításai befolyásolhatják a zsírlerakódást és az elhízás kockázatát. A Pro12Ala mutáció *in vitro* körülmények között csökkent DNS kötődéssel és transzaktivációval társult. Ellentmondásosak az adatok arra vonatkozóan, hogy ezen mutáció elhízással vagy alacsonyabb TTI-szel társul. Két korábbi metaanalízis arra a következtetésre jutott, hogy az Ala12 allél magasabb TTI-szel társul és spanyol gyermekek körében a mutációt összefüggésbe hozták az elhízás magasabb kockázatával.

2. Az elhízással összefüggő tulajdonságok és metabolikus szövődmények genetikai meghatározói gyermekekben

Az emberi alap-anyagcsere (BMR – basic metabolic rate) nagyfokú egyének közti változékonyságot mutat, ezen variabilitás pontos eredete azonban nem tisztázott. Az alacsony BMR és a magas légzési hányados (RQ – respiratory quotient) a súlygyarapodás ismert rizikótényezői, és részben genetikailag meghatározottak.

Az elhízás számos metabolikus szövődménnyel társulhat, úgymint hiperinzulinémia, 2-es típusú diabétesz, diszlipidémia, magas vérnyomás és nem-alkoholos zsírmáj betegség; és úgyszintén ezek halmozódásával, a metabolikus szindrómával. Bár az elhízás társbetegségei jellemzően a felnőttkorban jelentkeznek, mára már ismert, hogy az elhízással kapcsolatos metabolikus rendellenességek, valamint az elhízás különböző célszerveinek károsodásai már a gyermekkorban is kialakulhatnak. Az Európai Unióból a közelmúltból származó adatok szerint, az elhízott gyermekek többségénél azonosítható a metabolikus szindróma egy vagy több összetevője. Az elhízott egyének metabolikus rendellenességek iránti fogékonyságának kialakításában a genetikai hajlamot kulcstényezőnek tekintik, és az energia felhasználással kapcsolatos génpolimorfizmusok feltehetőleg részesei az egyszerű elhízással kapcsolatos jellemzők és metabolikus szövődmények poligénes hátterének. Az ADRB3, UCP-1, UCP-2, UCP-3 és PPARG2 fenti említett gyakori polimorfizmusait korábbi kutatások összefüggésbe hozták az alap-anyagcserével, légzési hányadossal, táplálkozás-kiváltotta hőtermeléssel, illetve súlygyarapodási hajlammal, valamint úgyszintén a metabolikus szindróma részjelenségeivel: a centrális elhízással, inzulin-rezisztenciával, a szénhidrát- és zsír-anyagcsere zavaraival és a magas vérnyomással.

Az elhízás kandidátus gének asszociációs vizsgálatait többségében felnőttek körében végezték, és viszonylag keveset tudunk az energia-felhasználás génpolimorfizmusainak a gyermekkori testsúly-szabályozásra gyakorolt hatásairól. A gyermekkorban kezdődő egyszerű elhízást etiológiailag eltérőnek tartják az egyszerű felnőttkori elhízástól, mivel a felnőttekkel szemben a gyermekeknél kevésbé érvényesülnek a környezeti tényezők és társbetegségek tartós hatásai; így a felnőtt tanulmányok megfigyelései nem vonatkoztathatóak közvetlenül a gyermekekre. A multifaktoriális betegségekre hajlamosító polimorfizmusok hatásainak megnyilvánulása számos tényezőtől, köztük az etnikumtól is függ, ezért fontos az eltérő genetikai háttérrel és környezettel rendelkező különböző populációk vizsgálata.

3. Az elhízás okozta májkárosodás (nem-alkoholos zsírmáj betegség) kialakulásának genetikai meghatározottsága

Az elhízás okozta májkárosodás a kórállapotok egy spektrumát öleli fel; ezeket összefoglaló néven nem-alkoholos zsírmáj betegségnek (NAFLD – non-alcoholic fatty liver disease) nevezzük, mely a

metabolikus szindróma hepatikus összetevőjét képezi. Az NAFLD stádiumai az egyszerű zsírmájtól a nem-alkoholos steatohepatitisen (NASH) keresztül a fibrózisig terjednek, és egytől-egyig akár már gyermekkorban is megjelenhetnek. Az NAFLD kialakulásának és fenotípusos megjelenésének változékonysága az elhízott egyének körében jelentős poligénes meghatározottságra utal, különböző polimorfizmusok részvételével. Elméleti megfontolások és kutatási eredmények egyaránt utalnak arra, hogy az UCP-2 génnek szerepe lehet a zsírmáj betegség kialakulásában. Az elhízás a hepatocytákban UCP-2 mRNS és fehérje expressziót indukál, melynek eredményeként jelentősen megnő az elzsírosodott májsejtek UCP-2 tartalma. Az emberi zsírmáj betegségben az UCP-2 potenciális védő vagy károsító szerepe jelenleg még kérdéses. A fokozott UCP-2 működés ugyanis a ROS termelés potenciális gátlása mellett egyidejűleg veszélyeztetheti is a sejt energia-háztartását az ATP szintézis csökkentése révén; a kérdést övező elméleti és kísérletes ellentmondások még tisztázásra várnak.

4. Az elhízása renális hatásai: a veseműködés korai zavarára utaló proteinuria

Egyre növekvő mennyiségű bizonyíték utal arra, hogy az elhízás károsíthatja az egyébként egészséges egyének veséit. A fokozott albumin-ürítés – mely hiperfiltrációra és korai vesekárosodásra utal – a felnőttkori elhízással összefüggést mutat. A glomeruláris permeabilitás károsodását jelző microalbuminuria a szisztémásan megnövekedett transzkapilláris albumin-áteresztés renális megnyilvánulása is lehet, érfal-károsodáshoz vezető generalizált endotheliális működészavart tükrözve. Felnőttek nagyszabású epidemiológiai vizsgálatai a microalbuminuriát a korai atherosclerosis és szív-érrendszeri betegség független előjelzőjeként azonosították. Az elhízott gyermekeknél a microalbuminuria megjelenésére, illetve annak a cardiovascularis kockázati tényezőkkel való kapcsolatára vonatkozó adatok azonban hiányoznak.

A β 2-microglobulin egy alacsony molekulásúlyú fehérje, mely a glomerulusokban szabadon filtrálódik, és normális esetben a vese proximális tubulusaiban szinte teljes mértékben visszazívódik és lebomlik. A fokozott β 2-microglobulin exkréció a proximális tubulusok működészavarának érzékeny mutatója. A vesetubulusok működészavarát jelző markerek és az elhízás közötti összefüggésre vonatkozó prospektív adatok korlátozottak és ellentmondásosak, a gyermekekre vonatkozó adatok pedig különösen szegényesek.

CÉLKITŰZÉSEK

1. Az energia-felhasználással kapcsolatos gének polimorfizmusai és a gyermekkori elhízás kockázata

Meghatároztuk az ADRB3 Trp64Arg, UCP-1 –3826 A/G, UCP-2 –866 G/A és exon 8 45 bp del/ins, UCP-3 –55 C/T, valamint PPARG2 Pro12Ala polimorfizmusok gyakoriságát normál súlyú, illetve túlsúlyos/elhízott magyar, iskoláskorú (6–18 éves) gyermekek egy nagyméretű csoportjában és megvizsgáltuk összefüggéseiket az egyszerű gyermekkori elhízás kockázatával.

2. Az energia-felhasználással kapcsolatos gének polimorfizmusai és a gyermekkori elhízással összefüggő tulajdonságok és metabolikus szövődmények

Tanulmányoztuk a fenti génpolimorfizmusok hatását az elhízással összefüggő tulajdonságokra és metabolikus szövődményekre összefüggéseket keresve a genetikai variációk valamint az elhízás mértéke, az alap-anyagcsere, és a metabolikus szindróma összetevői között a kövér gyermekek körében.

3. Az UCP-2 exon 8 del/ins polimorfizmus és az elhízáshoz társuló májkárosodás kapcsolata

Vizsgáltuk az UCP-2 potenciális szerepét a gyermekkori elhízáshoz társuló májkárosodás kialakulásában, kapcsolatot keresve az UCP-2 exon 8 45 bp del/ins polimorfizmus és a májfunkciós zavarra utaló szérum transzamináz-emelkedések között az elhízott gyermekek körében.

4. A gyermekkori elhízás hatása a glomeruláris és tubuláris veseműködésre

Tanulmányoztuk az elhízás hatását a vizelettel történő albumin, illetve β 2-microglobulin kiválasztásra, mint a glomeruláris, illetve tubuláris működészavar jelzőire meghatározva egészséges normál súlyú és elhízott gyermek esetében a vizelet albumin:kreatinin arányt (U-ACR – urinary albumin:creatinine ratio), illetve vizelet β 2-microglobulin:kreatinin arányt (U-BMCR – urinary β 2-microglobulin:creatinine ratio).

BETEGANYAG ÉS MÓDSZEREK

A gyermekeket az életkor és nem szerinti, túlsúlyosságnak, illetve elhízásnak megfelelő nemzetközi TTI határértékek alapján soroltuk túlsúlyos, illetve elhízott csoportokba. A vizsgálatokban részt vevő túlsúlyos/elhízott gyermekek többségét a testsúly-feleslegük miatt utalták a Pécsi Tudományegyetem Gyermekklinikájának Anyagcsere Gondozójába. Kizártuk a vizsgálatokból mindazokat, akiknél ritka metabolikus vagy genetikai betegség, vagy a másodlagos elhízás egyéb formája merült fel. A túlsúlyos/elhízott gyermekek részletes klinikai kivizsgáláson estek át, mely

során antropometriai mérésekre, indirekt kalorimetriára, éhgyomri vérvételre, orális glükóz tolerancia tesztre (OGTT), valamint vérnyomás-mérésekre került sor. A normál súlyú (kontroll) 6–18 éves gyermekeket Pécs és a környező városok általános- és középiskoláiból toboroztuk.

Az antropometriai méréseket ugyanazon vizsgálók végezték el. A relatív testsúlyt (RTS) és relatív testtömeg-indexet (RTTI) gyermekekre vonatkozó magyar nemzeti standardok alapján határoztuk meg. A túlsúlyos/elhízott gyermekektől egy éjszakás éhezést követően éhgyomri vérmintát vettünk, majd standard 2 órás OGTT-t végeztünk 1,75 g/kg (max. 75 g) glükóz adásával.

Az elhízáshoz társuló metabolikus szövődményeket az alábbiak szerint definiáltuk:

hiperinzulíniemia – éhgyomri inzulin >20 $\mu\text{U/ml}$ és/vagy OGTT alatti csúcs inzulin >150 $\mu\text{U/ml}$;
károsodott glükóz-anyagcsere szabályozás (IGR – impaired glucose regulation) – éhgyomri glükóz $\geq 5,6$ mmol/l vagy 2 órás glükóz az OGTT alatt $\geq 7,8$ mmol/l; kivéve a renális hatásokra vonatkozó vizsgálatokat, ahol a régebbi kritériumokat alkalmaztuk: éhgyomri glükóz $>6,1$ mmol/l vagy 2 órás glükóz az OGTT alatt $>7,8$ mmol/l; **diabetes mellitus (DM)** – éhgyomri glükóz $\geq 7,0$ mmol/l vagy 2 órás glükóz az OGTT alatt $\geq 11,1$ mmol/l; **diszlipidémia** – magas éhgyomri triglicerid ($>1,1$ mmol/l [<10 éves]; $>1,5$ mmol/l [>10 éves]) vagy alacsony éhgyomri HDL-koleszterin ($< 0,9$ mmol/l); **hiperkoleszterinémia** – éhgyomri összkoleszterin $> 5,2$ mmol/l. Az inzulin rezisztenciát a HOMA (homeostasis model assessment) index, valamint a Matsuda képlet szerinti WBISI (whole body insulin sensitivity index) alapján becsültük.

Az alap-anyagcserét Deltatrac anyagcseremérő berendezés (Datex Instrumentarium Corp., Helsinki, Finnország) segítségével mértük. A mért BMR és RQ értékeket életkor, nem és zsírtartalom testtömeg szerint illesztettük.

A DNS-t perifériás fehérvérsejtekből izoláltuk és a polimorfizmusok jelenlétét PCR vagy PCR/RFLP módszerrel vizsgáltuk, korábban közzétett metodikák szerint: ADRB3 Trp64Arg – Sipiläinen és mtsai módszere; UCP-1 –3826 A/G Valve és mtsai módszere; UCP-2 exon 8 45 bp del/ins Walder és mtsai módszere; UCP-2 –866 G/A Schauble és mtsai módszere; UCP-3 –55 C/T Cassel és mtsai módszere; PPARG2 Pro12Ala Yen és mtsai módszere.

Az allél/genotípus gyakoriságok összehasonlítására egyszerű khi-négyzet próbát végeztünk. A elhízás kockázatának összefüggéseit a különböző polimorfizmusokkal egyváltozós és többváltozós logisztikus regresszióval vizsgáltuk. A folyamatos változók esetében az eloszlásnak megfelelően parametrikus (páratlan Student-féle t-próba, ANOVA, Pearson-féle korreláció) vagy nem parametrikus (Mann-Whitney U-teszt, Kruskal-Wallis teszt, Spearman-féle korreláció) módszereket alkalmaztunk a csoportok közötti összehasonlításokra, illetve a korreláció vizsgálatára. A kategorikus változókat khi-négyzet próba, vagy Fisher-féle egzakt próba segítségével elemeztük. A genotípusok mentén történő összehasonlítások során a lineáris tendenciát szignifikancia próbával vizsgáltuk. A többszörös összehasonlítások miatt Bonferroni módszerrel végeztük korrekciót.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Az energia-felhasználással kapcsolatos gének polimorfizmusai és a gyermekkori elhízás kockázata

Eredmények: A vizsgálatba 1346 (709 túlsúlyos/elhízott és 637 normál súlyú), 6–18 éves gyermeket vontunk be. Az ADRB3 Trp64Arg, UCP-1 –3826 A/G, UCP-3 –55 C/T, és PPARG2 Pro12Ala polimorfizmusok genotípus eloszlásai és allél gyakoriságai nem különböztek szignifikánsan a túlsúlyos/elhízott és normál súlyú gyermekek között. Az UCP-2 –866 G/A polimorfizmus ritkább, A allélja szignifikánsan gyakoribb volt a normál súlyú, mint a túlsúlyos/elhízott gyermekek között (0,39 vs. 0,35; $p=0,024$), az UCP-2 exon 8 del/ins polimorfizmus ins allélja pedig szignifikánsan gyakrabban fordult elő a túlsúlyos/elhízottak között, a kontroll csoporttal összehasonlítva (0,31 vs. 0,27; $p=0,016$). Az egyváltozós és többváltozós logisztikus regresszió elemzések azt mutatták, hogy az UCP-2 –866 G/A és az UCP-2 exon 8 del/ins polimorfizmusok szignifikánsan befolyásolják az elhízás kockázatát. A többváltozós elemzések alapján, az UCP-2 –866 A variáns hordozása esetén az elhízás esélyhányadosa (OR – odds ratio) 0,69-re csökkent (95% CI: 0,55–0,86; $p=0,001$), és mind a heterozigóták, mind a homozigóták körében szignifikánsan alacsonyabb volt az elhízás kockázata (G/A: OR=0,69; 95% CI: 0,52–0,92; $p=0,013$; A/A: OR=0,50; 95% CI: 0,32–0,79; $p=0,003$), a G/G homozigótákkal szemben. Az UCP-2 del/ins polimorfizmus ins alléljának hordozása esetén az elhízás esélyhányadosa 1,51-re nőtt (95% CI: 1,20–1,91; $p=0,001$), és mind a heterozigóták, mind a homozigóták körében szignifikánsan magasabb volt az elhízás kockázata (del/ins: OR=1,66; 95% CI: 1,24–2,23; $p=0,001$; ins/ins: OR=2,12; 95% CI: 1,23–3,63; $p=0,006$), a del/del genotípusúakkal szemben.

Az elhízás mértékét jellemző paraméterek az UCP-2 –866 G/A polimorfizmus szerinti G/G, G/A, és A/A genotípusok mentén fokozatosan csökkentek, így az A allélt hordozók, illetve A/A homozigóták szignifikánsan alacsonyabb relatív testsúllyal ($130,3\pm 35,9$, illetve $128,6\pm 35,8$) és relatív TTI-szel ($125,1\pm 34,3$, illetve $122,9\pm 33,4$) rendelkeztek, a G/G homozigótákkal (RTS: $135,2\pm 36,9$, RTTI: $129,8\pm 34,6$; $p<0,05$) szemben. Hasonlóan, az elhízás mutatói progresszív növekedést mutattak az UCP-2 del/del, del/ins és ins/ins genotípusok mentén, így az ins allélt hordozók, illetve ins/ins homozigóták szignifikánsan magasabb relatív testsúllyal ($134,2\pm 36,5$, illetve $139,1\pm 40,8$) és relatív TTI-szel ($129,2\pm 34,5$, illetve $132,9\pm 37,8$) rendelkeztek a del/del homozigótákkal (RTS: $130,2\pm 36,0$, RTTI: $124,7\pm 34,4$; $p<0,05$) szemben.

Következtetések: Iskoláskorú magyar gyermekek egy nagyméretű populációjában összefüggést találtunk az UCP-2 exon 8 del/ins polimorfizmus ins allélja és a túlsúlyosság/elhízás magasabb kockázata, illetve az UCP-2 –866 G/A polimorfizmus A allélja és a túlsúlyosság/elhízás alacsonyabb kockázata között. Ezen megfigyelésünk arra utal, hogy az UCP-2 génben vagy annak környezetében előforduló genetikai variációk befolyásolhatják az egyszerű gyermekkori elhízásra való hajlamot a magyar populációban. Másrészt azonban, adataink nem szolgáltatnak bizonyítékot az ADRB3, UCP-1, UCP-3 és PPARG2 gének vizsgált polimorfizmusainak a gyermekkori elhízás előfordulására gyakorolt szignifikáns hatására.

2. Az energia-felhasználással kapcsolatos gének polimorfizmusainak hatása a gyermekkori elhízással összefüggő tulajdonságokra és metabolikus szövődményekre

Eredmények: Vizsgálatainkban 528 túlsúlyos/elhízott 6–18 év közötti gyermek vett részt, akik az elhízásuk etiológiájának, illetve következményeinek feltárását célzó részletes klinikai kivizsgáláson estek át. Az ADRB3 Arg64 allélt hordozók (n=81) szignifikánsan magasabb relatív testsúllyal ($175,4 \pm 27,1$), illetve RTTI-szel ($164,0 \pm 21,1$) rendelkeztek, mint a vad típusú homozigóták ($166,4 \pm 29,1$, illetve $157,5 \pm 21,0$; $p=0,01$). Nem volt szignifikáns különbség az ADRB3 genotípus csoportok között a metabolikus paraméterek tekintetében, bár a két homozigóta Arg allél hordozó lényegesen alacsonyabb átlagos illesztett BMR-rel rendelkezett ($1853,3$ kcal), mint a populáció többi tagja ($1991,3$ kcal).

Az UCP-2 exon 8 del/ins polimorfizmus ins allélja súlyosabb elhízási mutatókkal, valamint az OGTT alatti magasabb inzulinszintekkel, inzulinrezisztenciával, magasabb trigliceridszinttel, és alacsonyabb illesztett BMR-rel, illetve magasabb RQ-val társult (1. táblázat).

1. táblázat. Az UCP-2 exon 8 del/ins genotípusok szerinti antropometriai és metabolikus jellemzők

Jellemző	del/del (n=244)	del/ins (n=233)	ins/ins (n=51)	p*	ins hordozó (n=284)	p**
TTI (kg/m ²)	29,9±4,5	30,9±4,4	32,3±5,2 ³	0,001	31,1±4,6	0,002
RTS (%)	164,1±29,7 ¹	170,1±26,8	176,1±31,8 ³	0,008	171,2±27,8	0,005
RTTI (%)	154,8±21,1 ¹	160,9±20,2	167,3±22,8 ³	<0,001	162,0±20,8	<0,001
É inz (μU/ml)†	26,7±17,6	30,1±19,3 ²	42,8±49,0 ³	<0,001	32,4±27,5	0,004
2ó inz (μU/ml)†	147,0±108,5	167,1±102,2 ²	223,1±99,5 ³	<0,001	177,1±101,8	0,001
HOMA†	5,8±4,3	6,4±4,5 ²	9,2±10,3 ³	<0,001	6,9±6,0	0,01
WBISI†	41,1±22,4	38,2±24,9 ²	27,3±18,3 ³	0,001	36,3±24,2	0,02
TG (mmol/l)†	1,4±0,6	1,5±0,7	1,6±0,8	0,05	1,5±0,7	0,04
BMR (kcal)‡	2063,2±463, ¹	1937,0±390,7	1933,5±367,2	0,001	1936,3±382,5	0,001
RQ‡	0,800±0,07	0,813±0,07	0,824±0,08	ns	0,815±0,07	0,027

Az adatok átlag ± szórás formában vannak megadva. † életkor és nem szerint illesztve; ‡ életkor, nem és zsírmassza szerint illesztve.

* a három genotípus csoportot összehasonlítva; ** del/del vs. ins allél hordozók.

¹ p < 0,05 del/del vs. del/ins; ² p < 0,05 del/ins vs. ins/ins; ³ p < 0,05 del/del vs. ins/ins.

RTS – relatív testsúly; RTTI – relatív TTI; É – éhgyomri; 2ó – 2 órás (OGTT); inz – inzulin; TG – triglicerid; BMR – alap-anyagcsere (basic metabolic rate); RQ – légzési hányados (respiratory quotient); ns – nem szignifikáns.

Az UCP-3 –55 T/T genotípusú gyermekek szignifikánsan alacsonyabb illesztett BMR-rel rendelkeztek (1808,1±295,8 kcal) mint akár a C/C (1991,7±431,5 kcal, p=0,04) akár a C/T (2012,9±418,4; p=0,02) genotípusúak. A T/T genotípusú csoportban magasabb volt a RTS (168,7±33,8), illetve RTTI (158,8±23,3) a C/T genotípusú csoporttal összehasonlítva (164,1±27,1, illetve 155,3±18,9), a C/C genotípusú csoportéhoz azonban hasonló volt (169,7±29,3, illetve 160,1±21,8), és a különbségek nem voltak statisztikailag szignifikánsak. Az egyéb antropometriai és metabolikus paraméterek nem különböztek lényegesen az UCP-3 –55 C/T polimorfizmus jelenléte függvényében.

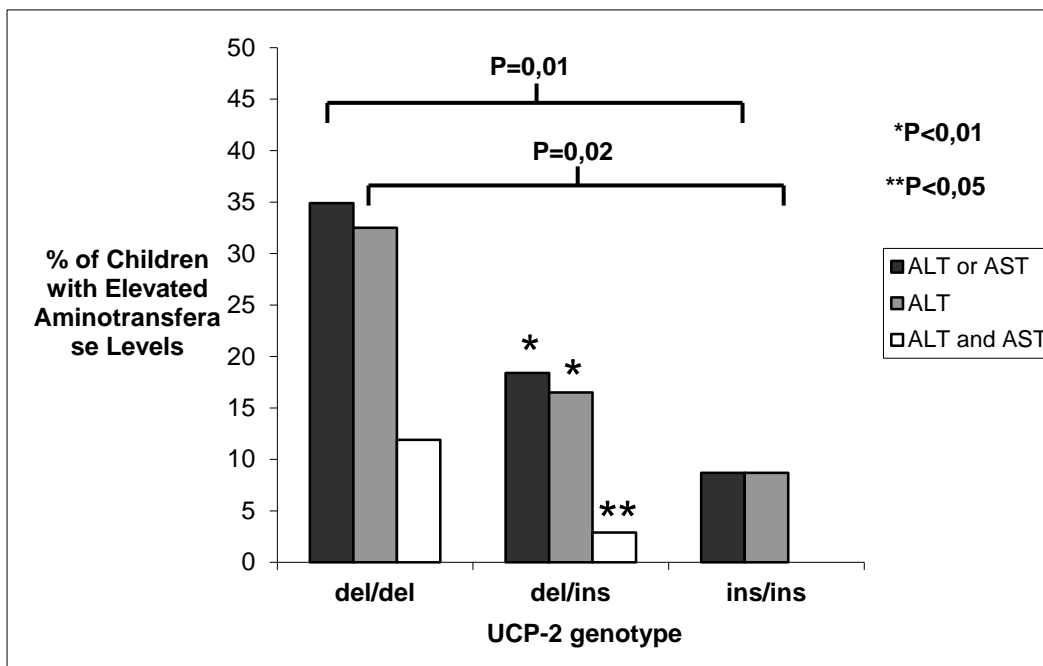
Jelen vizsgálati populációban az UCP-1 –3826 A/G, UCP-2 –866 G/A és PPARG2 Pro12Ala polimorfizmusok nem mutattak összefüggést az elhízás mértékével, az illesztett alap-anyagcserével, vagy az elhízáshoz társuló metabolikus paraméterekkel.

Következtetések: Az iskoláskorú, túlsúlyos/elhízott, magyar gyermekek általunk vizsgált populációjában az ADRB3 gén Trp64Arg polimorfizmusa, valamint az UCP-2 gén exon 8 45 bp del/ins polimorfizmusa összefüggést mutatott az elhízás súlyosságával. Kapcsolat volt kimutatható az UCP-2 exon 8 del/ins és az UCP-3 –55 C/T polimorfizmusok és az alap-anyagcsere, illetve az UCP-2 exon 8 ins allél és a szénhidrát- és lipid-anyagcsere elhízással összefüggő rendellenességei között. Jelen vizsgálati csoportban nem tudtuk igazolni az UCP-1 –3826 A/G, UCP-2 –866 G/A vagy PPARG2 Pro12Ala polimorfizmusok hatását az alap-anyagcserére, illetve a gyermekkori elhízás súlyosságára vagy metabolikus szövődményeire.

3. Az UCP-2 exon 8 del/ins polimorfizmus és az elhízáshoz társuló májkárosodás kapcsolata

Eredmények: A vizsgálati populáció 252 túlsúlyos/elhízott gyermekből állt (átlag életkor: $12,8 \pm 2,7$ év). Emelkedett szérum aminotranszferáz-szint a gyermekek 25,8%-ánál ($n=66$) volt jelen. A májenzim-emelkedések többnyire enyhe vagy mérsékelt fokúak voltak, a normális felső határ 2–3-szorosa között. A résztvevők 58,7%-a ($n=148$) volt fiú, és a nemek életkor és TTI szerint jól illeszkedtek. A fiúk szérum aminotranszferáz-szintjei a lányokkal összehasonlítva szignifikánsan magasabbak voltak (ALT: 35 [22–47] vs. 24 [19–28] U/l; $p<0,001$, AST: 31 [25–40] vs. 25 [21–30] U/l; $p<0,001$), és az aminotranszferáz-szint emelkedés a fiúk körében szignifikánsan gyakoribb volt (emelkedett ALT vagy AST: 34,5% vs. 13,5%; $p<0,001$). Az UCP-2 gén exon 8 del/ins polimorfizmus allélgyakorisága, illetve genotípus eloszlása nem különbözött a nemek között.

A különböző UCP-2 genotípusú gyermekek között progresszív, statisztikailag szignifikáns csökkenés mutatkozott az aminotranszferáz-szint emelkedést mutatók arányában, illetve úgyszintén az átlagos aminotranszferáz-szintekben az ins allélt heterozigóta vagy homozigóta formában hordozók esetében (1. ábra). Ennek megfelelően, az aminotranszferáz-szint emelkedés előfordulása a del/del genotípusú gyermekek körében volt a legmagasabb, alacsonyabb volt a del/ins genotípusúak esetében, és legalacsonyabb az ins/ins genotípussal rendelkezők között, mind az emelkedett ALT vagy AST (khi-négyzet: 11,9, $p=0,003$), mind az emelkedett ALT (khi-négyzet: 11,2, $p=0,004$), mind pedig az emelkedett ALT és AST (khi-négyzet: 8,9, $p=0,013$) vonatkozásában. A májfunkciós-emelkedés alacsonyabb előfordulásának lineáris tendenciája a genotípusok között, az ins allél heterozigóta, illetve homozigóta hordozói esetében szignifikánsnak bizonyult a májenzimek mindhárom vizsgált elrendezésében (emelkedett ALT vagy AST: $p=0,002$, emelkedett ALT: $p=0,003$, emelkedett ALT és AST: $p=0,012$).



1. ábra Az emelkedett aminotranszferáz szintű gyermekek százalékos aránya genotípusonként

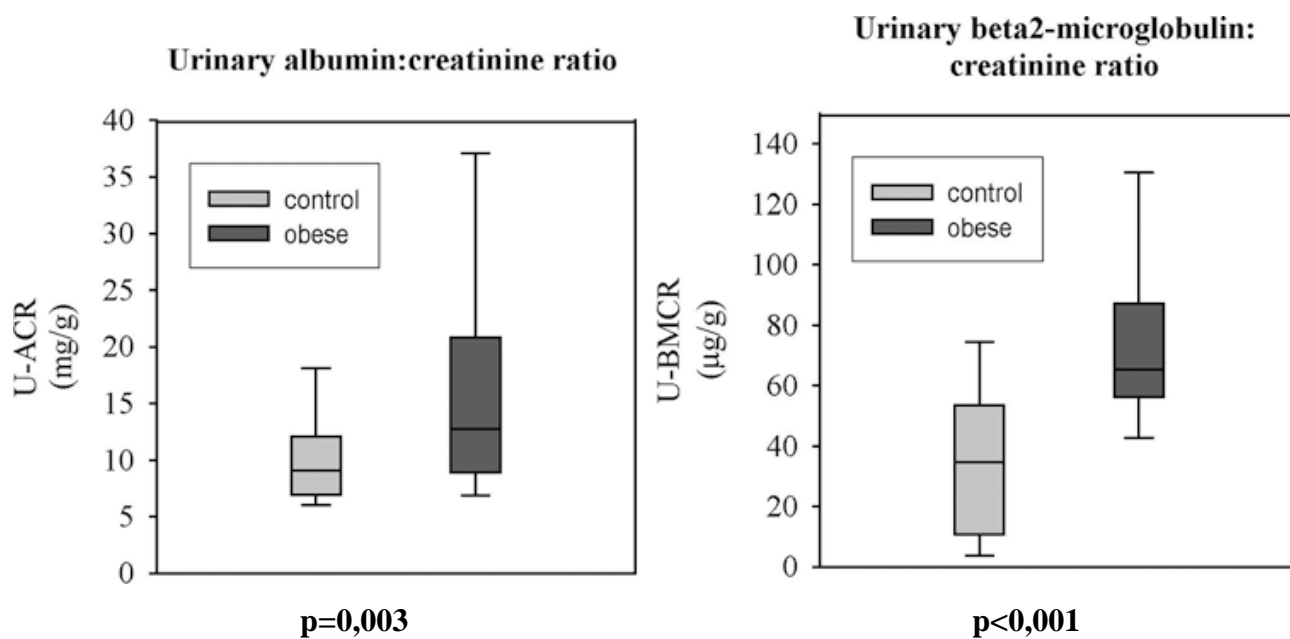
Az aminotranszferáz-emelkedések többnyire a metabolikus szindróma összetevőinek gyakoribb előfordulásával vagy súlyosabb mutatóval társultak. Az emelkedett májfunkciós teszttel rendelkező gyermekeket szignifikánsan magasabb TTI ($32,5 \pm 5,4$ vs. $30,7 \pm 4,6$; $p=0,01$), RTS ($174,9 \pm 24,6$ vs. $166,5 \pm 20,7$; $p=0,02$), éhgyomri koleszterin ($4,7$ [$4,1-5,3$] vs. $4,3$ [$3,9-4,9$]; $p=0,05$) és triglicid szint ($1,5$ [$1,0-1,9$] vs. $1,2$ [$0,9-1,6$]; $p=0,005$), valamint az OGTT alatt mért 2 órás vércukorszint ($7,2$ [$6,0-7,8$] vs. $6,6$ [$5,9-7,2$]; $p=0,04$) jellemezte. Szignifikánsan gyakrabban fordult elő az emelkedett aminotranszferáz-szintű gyermekeknél a diszlipidémia (48,5% vs 28,5%; $p=0,006$), hiperkoleszterinémia (28,8 vs 16,1%; $p=0,05$), és IGR (34,8 vs. 21,5%; $p=0,03$). Az ALT pozitív korrelációt mutatott a testsúllyal ($r=0,16$; $p=0,01$), TTI-szel ($r=0,23$; $p<0,001$), derék/csípő hányadossal ($r=0,37$; $p<0,001$), OGTT alatt mért 2 órás vércukorszinttel ($\rho=0,12$; $p=0,05$), valamint az összkoleszterin ($\rho=0,15$, $p=0,01$) és triglicerid szinttel ($\rho=0,15$, $p=0,02$), az AST pedig a derék/csípő hányadossal ($r=0,40$; $p<0,001$), az OGTT alatti 2 órás vércukorszinttel ($\rho=0,14$; $p=0,03$), és a trigliceridszinttel ($\rho=0,16$, $p=0,01$).

Következtetések: Eredményeink azt mutatják, hogy az emelkedett szérumban aminotranszferáz-szintek által jelzett májkárosodás a gyermekkori elhízás gyakori következménye. Az UCP-2 gén exon 8 45 bázispárnyi del/ins plomorfizmusának ins allélja az aminotranszferáz-szint emelkedések alacsonyabb előfordulásával társult a túlsúlyos/elhízott gyermekek körében, mely arra utal, hogy az

ins allél védő faktor, avagy a del allél hajlamosító tényező lehet a gyermekkori elhízáshoz társuló májkárosodás kialakulásában.

4. A gyermekkori elhízás hatása a vesékre

Eredmények: A vizsgálatban 86 elhízott (életkor: 12,9 [8,9–17,2] év) és 79 normál súlyú (életkor: 13,5 [10,7–14,9] év) gyermek vett részt. A kövér gyermekeknél szignifikánsan magasabb vizelet albumin:kreatinin arány (U-ACR: urinary albumin:creatinine ratio) (medián: 11,7 mg/g, interkvartilis tartomány [ikt]: 12,9 mg/g vs. medián: 9,0 mg/g, ikt: 5,1 mg/g; $p=0,003$) és vizelet β 2-microglobulin:kreatinin arány (U-BMCR: urinary β 2-microglobulin:creatinine ratio) (medián: 63,9 μ g/g, ikt: 34,7 μ g/g vs. medián: 34,6 μ g/g, ikt: 44,1 μ g/g; $p<0,001$) igazolódott, mint a normál súlyú gyermekek esetében (2. ábra).



2. ábra. A kövér és normál súlyú gyermekek esetében meghatározott vizelet albumin:kreatinin arány (U-ACR) és vizelet β 2-microglobulin:kreatinin arány (U-BMCR) (a mediánt *vonalt* jelzi, az interkvartilis tartományt a *téglalap határai*, a 10–90. percentilist a *hibavonalak*).

Az elhízáshoz társuló kardiovaszkuláris kockázati tényezők és az U-ACR, illetve U-BMCR közötti összefüggések keresése kapcsán összehasonlítottuk az U-ACR, illetve U-BMCR értékeket az egyes kockázati tényezőkkel rendelkező és nem rendelkező elhízott gyermekek között (2. táblázat). A vizsgált kockázati tényezők mindegyike magasabb átlagos U-ACR értékkel társult, de a különbség csak az éhgyomri hiperinzulinémia, IGR és hiperkoleszterinémia esetében volt szignifikáns. Az

elhízott gyermekek U-BMCR értékei nem mutattak szignifikáns összefüggéseket a vizsgált kardiovaszkuláris kockázati tényezőkkel.

2. táblázat Az egyes kardiovaszkuláris kockázati tényezőkkel rendelkező, illetve nem rendelkező kövér gyermekek vizelet albumin:kreatinin arány (U-ACR) értékei

Elhízáshoz társuló kardiovaszkuláris kockázati tényező	Kockázati tényezővel <i>rendelkező</i> kövér gyermekek		Kockázati tényezővel <i>nem rendelkező</i> kövér gyermekek		p**
	n	U-ACR (mg/g)	n	U-ACR (mg/g)	
	Éhgyomri hiperinzulinémia	61	10,4 [10,7]	25	
Postprandiális hiperinzulinémia	30	10,4 [8,2]	56	13,2 [15,3]	ns
IGR	66	10,8 [10,9]	20	19,3 [18,0]	< 0,05
Diszlipidémia	41	11,5 [12,3]	45	13,6 [15,1]	ns
Hiperkoleszterinémia	69	10,6 [12,5]	17	18,2 [10,6]	< 0,05
Hipertónia	76	11,5 [11,6]	10	22,7 [17,8]	ns

Az értékek medián [interkvartilis tartomány] formában vannak megadva. ** Mann-Whitney *U* teszt. IGR – károsodott glukóz-anyagcsere szabályozás (impaired glucose regulation); ns: nem szignifikáns.

A legfeljebb egy kockázati tényezővel rendelkező gyermekeknél továbbá szignifikánsan alacsonyabb U-ACR érték mutatkozott, mint a kettő vagy több tényezővel rendelkezőknél (medián: 10,4 mg/g, ikt: 5,8 mg/g vs. medián: 15,3 mg/g, ikt: 14,9 mg/g; $p < 0,05$). Az U-BMCR értékek nem mutattak eltérést ezen csoportok között.

Az összes résztvevőt együtt elemezve, mind az U-ACR, mind az U-BMCR pozitív korrelációt mutatott a testsúllyal ($r=0,16$; $p < 0,05$ és $r=0,34$; $p < 0,001$, a fenti sorrendben), a TTI-szel ($r=0,22$; $p < 0,05$ és $r=0,23$; $p < 0,05$), és a relatív testsúllyal ($r=0,23$; $p < 0,005$ és $r=0,31$; $p < 0,001$). Az elhízott gyermekek körében, az U-ACR pozitív korrelációt mutatott az OGTT alatt mért éhgyomri ($r=0,225$; $p < 0,05$) és 2 órás ($r=0,368$; $p < 0,001$) vércukorszinttel.

Következtetések: Eredményeink alapján a klinikailag egészséges elhízott gyermekeknél a normál súlyúakkal összehasonlítva fokozott albuminuria és β 2-microglobulinuria mutatható ki. Az elhízott gyermekek esetében összefüggés volt kimutatható az U-ACR és bizonyos elhízáshoz társuló

metabolikus rendellenességek, illetve úgyszintén ezek halmozódása, a metabolikus szindróma között. Megfigyeléseink arra utalnak, hogy a korai glomeruláris, illetve tubuláris működészavarra utaló fokozott albuminuria, illetve β 2-microglobulinuria a gyermekkori elhízás velejáráói lehetnek.

AZ ÚJ MEGFIGYELÉSEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Az energia-felhasználással kapcsolatos gének polimorfizmusai és a gyermekkori elhízás kockázata

Eredményeink alapján az UCP-2 gén –866 G, valamint exon 8 45 bázispárnyi ins allélja az iskoláskorú magyar gyermekek esetében a túlsúlyosság/elhízás kialakulásának genetikai kockázati tényezői.

2. Az energia-felhasználással kapcsolatos gének polimorfizmusai és a gyermekkori elhízással összefüggő tulajdonságok és metabolikus szövődmények

Adataink bizonyítékot szolgáltatottak arra vonatkozóan, hogy az ADRB3 gén Trp64Arg, valamint az UCP-2 gén exon 8 45 bp del/ins polimorfizmusa genetikai meghatározói a gyermekkori elhízás súlyosságának és/vagy metabolikus szövődményeinek a magyar népesség körében. Az UCP-3 –55 C/T polimorfizmus gyermekkori elhízással való kapcsolatára vonatkozóan adataink nem egyértelműek.

3. Az UCP-2 exon 8 del/ins polimorfizmus és az elhízáshoz társuló májkárosodás kapcsolata

Eredményeink alapján az UCP-2 gén exon 8 del/ins polimorfizmusa szerepet játszhat a májkárosodásra utaló aminoszintézis-szint emelkedések kialakulásában elhízott gyermekekben.

4. A gyermekkori elhízás hatása a glomeruláris és tubuláris veseműködésre

Igazoltuk, hogy a normál súlyú gyermekekkel összehasonlítva a klinikailag egészséges, elhízott gyermekeknél fokozott albuminuria és β 2-microglobulinuria mutatható ki, mely a gyermekkori elhízás következményeként megjelenő korai glomeruláris és tubuláris működészavarra utal.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A PhD munka végzésével eltöltött évek a pécsi Gyermekklinikán a tudományos kutatás területén tett lelkesítő és izgalmas kalandokkal voltak tele, melyekre szívesen gondolok vissza. Lehetőségem nyílt együttműködni olyan munkatársakkal, akiket mélyen tisztetek, és hálás vagyok a sok segítségért, melyet tőlük kaptam.

Szeretném elsőként kifejezni hálámat és mély tiszteletemet Molnár Dénes professzor úrnak, mind tudományos kutatási, mind pedig klinikai vezetőként. Nyílt gondolkodásával és széles látókörével mindvégig ösztönözte és támogatta munkámat, ugyanakkor mindig lehetőséget és teret engedett az önálló gondolkodásnak és tevékenységnek is.

Hálás köszönetem Erhardt Évának, aki meghívott engem a kutatócsoportba, és aki az első pillanattól kezdve minden lépésnél hatalmas energiával, lelkesedéssel és empátiával segített és támogatott a munkámban.

Nagyon köszönöm Lányi Évának a rengeteg segítséget, amit a laboratóriumi vizsgálatok terén kaptam, és úgyszintén a közös munka során együtt töltött vidám perceket.

Köszönöm a segítségét Angster Ágnesnek, valamint a Gyermekklinika Laboratóriumában és Endokrin Osztályán dolgozóknak.

Köszönöm Pauler Gábornak a statisztikai elemzések terén nyújtott nagyszerű segítségét, valamint türelmét, támogatását és ösztönzését.