

**Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei**

**A LUPUS NEPHRITIS  
KLINIKAI ÉS IMMUNOLÓGIAI JELLEMZŐI**

Dr. Brúgós Boglárka Csilla

Témavezető: Dr. Zeher Margit



**DEBRECENI EGYETEM  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola**

Debrecen, 2010

## IMPRESSZUM

Az értekezés címe: A lupus nephritis klinikai és immunológiai jellemzői

Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Zeher Margit

A szigorlati bizottság:

elnöke: Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora

tagjai: Prof. Dr. Hunyadi János, az MTA doktora

Prof. Dr. Sonkodi Sándor, az MTA doktora

A bíráló bizottság:

elnöke: Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora

opponensek: Prof. Dr. Bata Zsuzsanna, az MTA doktora

Dr. Újhelyi László, Ph.D.

tagjai: Prof. Dr. Hunyadi János, az MTA doktora

Prof. Dr. Sonkodi Sándor, az MTA doktora

Az értekezés védésének időpontja: 2011. február 7. 13 óra

## **RÖVIDÍTÉSEK**

ACR: Amerikai Reuma Társaság

C3-, C4: komplement

CRP: C-reaktív protein

CD: cluster of differentiation

DNS: deoxiribonukleinsav

GFR: glomeruláris filtrációs ráta

IC: immunkomplex

ICAM: intercelluláris adhéziós molekula

IFN: interferon

IgG: immunglobulin G

IL: interleukin

IP-10: interferon gamma-inducible protein

ISN/RPS: International Society of Nephrology/Renal Pathology Society

LN: lupus nephritis

MCP-1: monocita kemotaktikus fehérje

MIF: migration inhibitor factor

NIH: National Institute of Health

NGAL: neutrophil-gelatinase-asszociált lipocalin

SLE: szisztémás lupus erythematosus

SLEDAI: szisztémás lupus erythematosus aktivitási index

TNF: tumor nekrosis faktor

TWEAK: tumor necrosis factor-like inducer of apoptosis

VCAM: vaszkuláris adhéziós molekula

We: süllyedés

## BEVEZETÉS

A szisztémás lupus erythematosus (SLE) több szervet érintő krónikus autoimmun betegség, változatos klinikai tünetek jellemzik, többnyire a fiatal reprodukív korban lévő nőket érinti, a kórlefordulás hullámzó, exacerbációk és remissziók váltakoznak. A betegség kezdeti tünetei nem specifikusak: gyengeség, hőemelkedés, láz, fogyás, rossz közérzet jellemzi. A legtöbb betegnél első tünet a fotoszenzitivitás, a tünetek sokszor napfény hatására alakulnak ki. Klasszikus, a betegségre specifikus bőrtünet a pillangószárny-erythema mellett más bőrtünetek is megjelenhetnek. Szintén gyakori tünet a polyarthritisz, a savós hártályák érintettsége.

A betegség prognózisát jelentősen befolyásoló szervi manifesztáció a neuropszichiátriai- és a vese érintettsége. A lupus nephritis (LN) a betegek mintegy 40-60%-ban fordul elő, illetve az esetek 10-15%-ban alakul ki hemodialízis kezelést igénylő végstádiumú veseelégtelenség. A leggyakoribb tünet a mikroszkópos hematuria, változó mértékű proteinúria minden esetben jelentkezik, gyakran nephrotikus, 3,5 g/napot meghaladó mértékű, ilyenkor klinikailag általában oedema is jelen van. A vesebiopszia szükségessége minden SLE-s betegben felmerül, ha a klinikai tünetek és a labor eltérések nephritisre utalnak. A lupus nephritis 6 formáját különítjük el, a szövettan alapján, jelenleg az International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) által megalkotott 2003-as beosztás az irányadó. A főbb szövettani típusok: I. minimális mesangiális LN, II. mesangiális LN, III. fokális LN, IV. diffúz proliferatív LN, V. membranózus LN, VI. szklerotizáló LN.

A lupus nephritis kialakulása a nephritogén autoantitest képződéssel függ össze. A kettősszálú DNS (deoxyribonukleinsav) elleni antitest keresztreakcióba lép a glomerulus bazál membrán antigénjeivel (laminin, foszfolipidek), a nagyobb affinitású antitestek már intravaszkulárisan immunkomplexet (IC) képeznek, amelyek lerakódnak a glomerulusokban, és az IgG tartalmú aktiválja a komplement rendszert. Különböző kemokinek, mint a monocita kemoattraktáns protein (MCP-1), complement 5-ös faktor (C5a), makrofág migrációt gátló faktor (MIF), expresszálódnak, amelyek szerepet játszanak a gyulladási reakció beindításában. A lupus nephritis vese döntően T-helper (Th)-1 típusú citokineket termel, korábban kimutatták, hogy a diffúz proliferatív LN-ben szignifikánsan több az interferon-gammát (IFN- $\gamma$ ) és CD40-et expresszáló sejt, a CD40-CD40L interakció fokozza az interleukin (IL)-12 termelést, amely viszont a Th-1 irányú választ indukálja. Az IL-1 $\beta$

expressziója főként a proliferatív formákban fokozott, az IL-10 szint jelentősen emelkedett SLE-ben, amelynek következménye a fokozott B-sejt aktiváció.

Az SLE-s betegek esetében rutinszerűen indokolt a veseérintettség vizsgálata, követése. A legáltalánosabb laboratóriumi tesztek közé tartozik a szérum urea-, kreatinin szint, glomeruláris filtrációs ráta (GFR) meghatározása, továbbá 24 órás gyűjtött vizeletből a proteinúria pontos meghatározása, vizelet kreatinin koncentráció, vizelet total protein/kreatinin arány, a vizelet üledék vizsgálata.

A vizelet vizsgálaton túl, az SLE aktivitását jelző paraméterek meghatározása is fontos. Az aDNS antitest, komplement komponensek, vörösvérsejt süllyedés (We), CRP, antifoszfolipid antitestek, anti-nukleoszóma antitest illetve az anti-C1q antitest is korrelál a vese aktivitással.

A klinikai gyakorlatban jelenleg alkalmazott klasszikus laboratóriumi markerek azonban, nem eléggé szenzitívek és specifikusak a lupus nephritis aktivitásának előrejelzésében és nem tesznek különbséget aktivitás és kronicitás között. A perzisztens proteinúria nem feltétlenül jelez aktivitást, lehet krónikus tünet is. A vesében zajló gyulladást illetve krónikus eltéréseket a szövettan tükrözi a leginkább, de a vesebiopszia invazív és a sorozat mintavétel a szövődmények miatt megfontolandó.

Az utóbbi években intenzív kutatások zajlanak világszerte a megfelelő biomarkerek felismerésére, amelyek előrejelzik a vesében zajló gyulladást, és elkülönítik azt a betegség következtében kialakult krónikus szervi elváltozásoktól.

Az egyik nagy csoport a proteóma technikák egyik vonzó mintája a vizelet, az ürített fehérjék analízise tömegspektrométer segítségével történik. Több proteint azonosítottak, többek között a hepcidin 20 szintje több hónappal a vese reaktiválódása előtt már emelkedik. A neutrophil gelatinase-asszociált lipokalin, kis glikozilált protein, amelynek vizeletben mért koncentrációja emelkedett volt biopsziával igazolt LN-ben, továbbá korrelált a vese aktivitással.

A másik nagy csoport a citokinek és kemokinek biomarker szerepe is kutatás tárgyát képezi. A vizelet MCP-1 elsősorban a proliferatív formákban (LN III és IV) emelkedik, a TWEAK (tumor necrosis factor-like inducer of apoptosis) szint korrelált a vese aktivitásával, a glomeruláris érintettségre specifikus. Citokinek közül az IL-1 szöveti károsodásban betöltött szerepe jól ismert, a szolubilis IL-2 receptor szint a major relapszusok alkalmával kifejezetten emelkedik, a lupus nephritis aktivitásának markere, IL-6 és IL-10 szintek szintén magasabbak, de jelentős különbséget nem találtak a LN és a veseérintettség nélküli betegek között. A lupus nephritis aktivitásával korreláló egyéb biomarkerek a teljesség igénye nélkül:

IP-10 (interferon gamma inducible protein), szérum és vizelet IL-12, vizelet vaszkuláris adhéziós molekula (VCAM)-1, P-szelektin, szérum intercelluláris adhéziós molekula (ICAM)-1, vizelet endothelin-1, osteoprotegerin.

## **CÉLKITŰZÉSEK**

1. Munkám során célul tűztem ki, hogy a nagyszámú, klinikánkon szisztémás lupus erythematosus miatt gondozott beteg retrospektív vizsgálatával összegezzem a veseérintettség, a lupus nephritis előfordulását, az egyes szövettani típusok előfordulását, továbbá elemezni kívántam a betegek klinikai, immunológiai és szövettani jellegzetességeit, valamint feldolgozni az egyes csoportokban alkalmazott terápiát.
2. Összefüggést kerestem a lupus nephritis aktivitása és a hagyományos laboratóriumi aktivitást jelző paraméterek, mint a komplement szintek-, kettősszálú DNS elleni antitest-, CRP-szintek között.
3. Összehasonlítottam a lupus nephritises betegek szérum és vizelet citokin szintjét a veseérintettség nélküli SLE-s betegekével, hogy tanulmányozzam azon citokineket, amelyek segíthetnek a veseérintettség korai diagnózisának megállapításában, valamint esetleg előrejelezhetik a vese reaktiválódását.
4. Új, a lupus nephritis aktivitását jellemző biomarkerek közül a szérum IL-1-receptor antagonistá szintjét vizsgáltam lupus nephritises és veseérintettség nélküli betegek szérumában és vizeletében, arra kerestem választ, hogy az IL-1Ra szint meghatározása segíthet-e a lupus nephritis diagnosztikájában és előrejelzésében.

## **BETEGEK ÉS MÓDSZEREK**

A Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum (DEOEC) III. sz. Belgyógyászati Klinikán 1974-2004 között gondozott vagy gondozás alatt álló SLE-s betegek adatait elemeztem. Az adatgyűjtéshez a rendelkezésre álló írásos és számítógépes dokumentációkat (ambulánslapokat, kórlapokat, klinikai zárójelentéseket) és a Medsolution egészségügyi informatikai programrendszert használtam.

2004 végéig összesen 551 SLE-s beteg adatai álltak rendelkezésemre. Ezen betegek adatait átnézve kerültek kiválasztásra azok a betegek, akiknél klinikailag vagy szövettanilag is

egyértelműen igazolható volt a lupus nephritis jelenléte. A vizsgálatba bevont betegek mindegyike megfelelt az Amerikai Reumatológiai Társaság (ACR) által kidolgozott kritériumrendszernek.

Lupus nephritis diagnózisát akkor állítottuk fel, ha a beteg proteinúriája 0,5 g/nap értéket konzekvensen meghaladta, hematúriás volt vagy a vizelet üledékben szemcsés cilinderek voltak jelen, illetve klinikailag nephrosis szindrómára utaló eltérések voltak. Vesebiopszia történt minden olyan esetben, amikor a beteg beleegyezett vagy kontraindikáció nem állt fenn. A szövettani beosztás alapja a 2003-as International Society of Nephrology/Renal Pathology Society által megalkotott beosztás volt.

Rögzítettem a betegek demográfiai adatait, nemét, korát, az SLE és LN fennállási idejét, a jellegzetes tünetek előfordulási gyakoriságát, a követési időt és a kezelést.

### ***Laboratóriumi módszerek***

Az adatok feldolgozása során különös figyelmet fordítottam a C3 komplement szint-, kettősszálú DNS elleni antitest- és antikardiolipin (AKL) antitest szintekre, mint az aktivitást legjobban jellemző klasszikus markerekre.

Az immunszerológiai vizsgálatok és citokin meghatározások a Regionális Immunológiai Laboratóriumban történtek.

A komplement 3 (C3) szint mérése a szérumban nephelometriával történt a gyártó utasításának megfelelően (normál tartomány: 0,8-1,9 g/l), az anti-dsDNS szint (>50 IU/ml érték pozitív), az anti-kardiolipin antitest (> 10 U/ml pozitív) és anti-béta2-glikoprotein (>10 U/ml) kimutatás ELISA módszerrel történt a gyártó utasításának megfelelően nemzetközileg elfogadott kitek segítségével.

A lehetséges új biomarkerek meghatározásának részeként szérum és vizelet citokin mérések történtek ELISA módszerrel (**Th1-citokin:** IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , **Th2-citokin:** IL-4, IL-10, IL-13, továbbá IL-1, IL-6, IL-8 és TGF- $\beta$ ).

Az interleukin1-receptor antagonist (IL-1Ra) szint meghatározása Luminex 100<sup>TM</sup> analízátorral történt Fluorokine MAP citokin multiplex kitek felhasználásával specifikus antitestekkel.

A rutin laboratóriumi vizsgálatok, mint a szérum kreatinin, glomeruláris filtrációs ráta (GFR), C-reaktív protein (CRP) a Klinikai Biokémia és Molekuláris Pathológia Intézetben történtek.

Az SLE aktivitását a szisztémás lupus erythematosus aktivitási index segítségével határoztam meg (SLEDAI).

## ***Statisztika***

A statisztikai analízisek az SPSS program, 13,0 verziójának segítségével történtek, az átlagértékeket és a szórást feltüntettem a legtöbb helyen. Az egyes csoportok közötti különbségek meghatározása során az ANOVA és a független T-tesztet használtam. A nem normális eloszlású változók (pl. IL-1Ra, sCRP, anti-béta2-glikoprotein, anti-kardiolipin) esetében a Mann-Whitney tesztet használtam. A korrelációs vizsgálatokhoz normál eloszlás esetén a Pearson-féle parametrikus tesztet, míg a nem normális eloszlású változók esetén a Spearman-féle nonparametrikus tesztet használtam. A statisztikai analízisek során a  $p < 0,05$  valószínűségi szintet tekintettem szignifikánsnak.

## **EREDMÉNYEK**

### **1. Az SLE-s betegek retrospektív vizsgálatával nyert eredmények**

Lupus nephritis az 1974-2004 között a DEOEC III. számú Belgyógyászati klinikán gondozott 551 SLE-s betegből 144 (26,1 %) esetben alakult ki. A LN-es betegek 81,2 %-nak volt vesebiopsziája, a maradék esetekben vesebiopszia kontraindikáció miatt nem történt. A betegek 90%-a nő volt, a vesebiopszia elvégzésekor átlagéletkoruk 31,9 év volt. Az átlagos betegség fennállási idő 11 év a nők és 15 év a férfiak esetében, a veseérintettség tünetei a betegség kezdetéhez képest 3-4 évvel később jelentkeztek.

A vizsgált betegek 1,3%-a (n=2) tartozott a minimális mesangiális és 11,1% (n=16) a mesangiális proliferatív csoportba, extrarenális manifesztációként arthritis, pleuritis és hemocytopeniák voltak gyakoriak. A betegek mindegyike 0,5-1 mg/kg methylprednizolont kapott, továbbá 3 beteg részesült per os cyclophosphamid (CYC) kezelésben a II. szövettani csoportban és 4 beteg kapott azathioprint (AZA).

A III. szövettani csoportba tartozott a betegek 12,5%-a (n=18), 4 betegnek volt nephrosis szindrómája a LN jelentkezésekor, a leggyakoribb extrarenális tünet a fotoszenzitivitás, Raynaud-jelenség, polyarthritis volt. A betegek átlagos aDNS-antitest koncentrációja szignifikánsan magasabb volt, mint az előző két csoportban. A 0,5-1 mg/kg methylprednizolon kezelésen túl három beteg részesült parenterális CYC kezelésben (800 mg/hó fél évig), fenntartó kezelés 7 beteg esetén napi 100 mg/nap AZA volt. Két beteg kapott mycophenolát mofetil (MMF) 1g/nap dózisban a 2. és a 4. relapszust követően.

A betegek legnagyobb részének, 38,8%-ának (n=56) diffúz proliferatív LN volt, 22 beteg esetében a LN nephrosis szindróma formájában jelentkezett, 6 beteg volt hypertoniás és

2 beteg esetében azotaemiát észleltünk. A betegek aDNS antitest szintje szignifikánsan magasabb volt az I, II, V, VI szövettani csoporthoz viszonyítva, de nem volt szignifikáns különbség a III.-as csoporthoz képest. Az extrarenális tünetek közül gyakori volt a fotoszenzitivitás, a Raynaud-jelenség, a polyarthrititis, pleuritis, pericarditis, előfordult sicca-szindróma, szekunder antifoszfolipid szindróma, és 4 beteg esetében neuropszichiátriai érintettség is. A betegek 0,5-2 mg/kg methylprednizolont kaptak, 21 (37,5%) beteg részesült 800 mg iv. CYC kezelésben havonta, 3 betegnek volt plazmaferézis kezelése a kezdeti szakaszban. Fenntartó kezelésként 18 beteg azathioprint, két beteg MMF-t kapott. 25 betegnek volt relapszusa fél éven belül, 9 beteg kapott ismételten iv. CYC-t, a többi beteg esetében kontraindikációk (leukopenia, infekció) miatt nem történt CYC kezelés. Két betegnél alakult ki krónikus veseelégtelenség, egy esetben ESRD, ő jelenleg is hemodialízis kezelésben részesül.

A betegek 13,8%-a tartozott az V. szövettani csoportba, 3 beteg esetében volt nephrosis szindróma észlelhető, 4 beteg volt hypertoniás, nephritis szindrómás a vesebiopszia elvégzésekor. Extrarenális tünetek közül gyakori volt a polyarthrititis, Raynaud-jelenség, fotoszenzitivitás, ebben a csoportban szintén voltak neurológiai tünetek is. A betegek 0,5-2 mg/kg methylprednizolont és öten 800 mg iv. CYC kezelést kaptak havonta, egy betegnek volt plazmaferézis kezelése, fenntartó kezelésként 3 beteg kapott 100 mg/nap AZA-t, 6 beteg 150 mg/nap cyclosporin A-t, és két beteg 1 g/nap MMF-t. Két betegnél alakult ki krónikus veseelégtelenség, és egy betegnek volt vesetranszplantációja.

A betegek 4,86%-nak (n=7) volt szövettanilag igazolható glomeruloszklerózisa. A vesebiopszia előtt egy beteg volt hypertoniás, nephritis szindrómás illetve egy másiknál észleltünk veseelégtelenséget. A methylprednizolon kezelésén túl 2 beteg részesült 800 mg CYC kezelésben, amelyet 100 mg/nap fenntartó AZA adása követett.

A vesebiopszia 21 klinikailag nephritises beteg esetében kontraindikációk miatt nem történt. A methylprednizolon kezelés mellett a betegek közül 4-en kaptak 800 mg iv. CYC-t (klinikailag a diffúz proliferatív formának feleltek meg), 7 beteg kapott 100 mg/nap AZA-t, ketten cyclosporine A-t (150 mg/nap), egy betegnek volt plazmaferézise, valamint egy beteg kapott iv. immunglobulint (400 mg/kg/nap).

Két beteg esetében alakult ki végstádiumú veseelégtelenség, egy betegnek volt vesetranszplantációja, és egy beteg meghalt ebből a csoportból.

## **2. A lupus nephritises betegek vizelet és szérum citokin szintjének meghatározása**

36 lupus nephritises beteg (34 nő és 2 ffi, átlagéletkor:  $43,36 \pm 11,53$  év), 23 veseérintettség nélküli SLE-s beteg (19 nő és 4 ffi, átlagéletkor:  $54 \pm 8,71$  év) és 30 egészséges kontroll személy (23 nő és 7 ffi, átlagéletkor:  $45,5 \pm 12,4$ ) szérum és vizelet citokin szintjét vizsgáltam és elemeztem a klasszikus aktivitási markerekkel való összefüggésüket. Az átlagos betegség fennállási idő  $7,2 \pm 4,5$  a LN-es és  $9,7 \pm 7,4$  év volt a veseérintettség nélküli betegekhez viszonyítva, az SLEDAI a LN-es betegekben  $2,82 \pm 2,4$ , míg a többi SLE-s betegben  $2,75 \pm 2,9$ .

A szérum IL-1, IL-2, IL-6, IL-13 és IFN- $\gamma$  szintek szignifikánsan magasabbak voltak az SLE-s lupus nephritises betegek körében, mint a veseérintettség nélküli illetve kontroll csoportban. A vizelet citokin szintekben szignifikánsan magasabb vizelet IL-1 és TNF- $\alpha$  szintet észleltem SLE-s betegekben a LN-es betegekhez viszonyítva ( $p=0,012$  és  $p<0,001$ ), a vizelet IFN- $\gamma$  szint viszont szignifikánsan magasabb volt a LN-es betegek körében ( $p=0,002$ ).

A vizelet IL-8 szint pozitív korrelációt mutatott az SLEDAI-val ( $R=0,54$ ,  $p=0,006$ ), az IL-1 szint korrelált az IL-2 ( $R=0,69$ ,  $p=0,027$ ), IFN- $\gamma$  ( $R=0,76$ ,  $p=0,017$ ) és a vizelet IFN- $\gamma$  szinttel ( $R=0,97$ ,  $p=0,004$ ). Az IL-4 szint korrelált az IL-10 ( $R=0,64$ ,  $p<0,001$ ), TNF- $\alpha$  ( $R=0,85$ ,  $p<0,001$ ), IFN- $\gamma$  ( $R=0,36$ ,  $p=0,047$ ), vizelet IL-8 ( $R=0,6$ ,  $p<0,001$ ) és IL-10 ( $R=0,43$ ,  $p=0,032$ ) szintekkel.

## **3. A lupus nephritises betegek szérum IL-1 receptor antagonistá szintjének meghatározása**

17 aktív SLE-s veseérintettség nélküli beteget (16 nő, 1 férfi, átlagéletkor:  $47,58 \pm 11,9$  év), valamint 15 szövettanilag igazolt lupus nephritises (14 nő, 1 férfi) beteget vizsgáltam, ezen belül is 7 beteg klinikailag inaktív volt (IALN) (mind nők, átlagéletkoruk:  $38,4 \pm 11,62$  év), és 8 klinikailag aktív (ALN) beteg volt (7 nő, 1 férfi, átlagéletkor:  $39,16 \pm 7,9$  év) továbbá 10 egészséges kontroll személyt (5 nő és 5 férfi, átlagéletkor  $32,4 \pm 9,5$  év). A klinikai aktivitást az SLEDAI-val jellemeztem, az átlagos SLEDAI  $4,5 \pm 3,6$  volt az aktív SLE-s betegekben,  $2,66 \pm 3,2$  az IALN-es betegekben és  $6,85 \pm 1,78$  az ALN személyekben. Az aktív LN-es betegek szérum komplement szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a többi csoporthoz viszonyítva ( $p=0,009$ ). Az SLEDAI az aktív LN-es betegek körében volt a legmagasabb, a

különbség nem volt szignifikáns ( $p=0,089$ ). Az aktív SLE-s betegek körében gyakori volt a polyarthritisz, hypokomplementémia és emelkedett anti-DNS szint.

Az IL-1Ra szint az aktív SLE-s betegek esetében volt a legmagasabb ( $1025\pm 948$  pg/ml) és ez az érték szignifikánsan magasabb volt a többi csoporthoz viszonyítva ( $p<0,001$ ). Az IL-1Ra szint szignifikáns korrelációt mutatott az SLEDAI-val az inaktív LN betegekben ( $n=7$ ,  $p=0,04$ ,  $R=0,76$ ). Pozitív korrelációt észleltem az IL-1Ra szint és a beta2-glikoprotein szint ( $n=8$ ,  $R=0,75$ ,  $p=0,03$ ), valamint az anti-kardiolipin szint között ( $n=8$ ,  $R=0,75$ ,  $p=0,001$ ) az aktív lupus nephritises betegekben.

Az aktív SLE-s betegek szérum IL-1ra szintje ( $1025\pm 948$  pg/ml,  $n=17$  vs.  $118,3\pm 58,8$  pg/ml  $n=10$ ,  $p<0,001$ ) és a sCRP szintje egyaránt emelkedett volt ( $17,26\pm 12$  vs.  $1,42\pm 0,3$ ,  $p<0,001$ , fertőzést ezekben az esetekben kizártunk) a kontroll csoporthoz viszonyítva. Az aktív SLE-s betegekben pozitív korrelációt észleltem az IL-1Ra és sCRP szint között ( $n=17$ ,  $p=0,015$ ,  $R=0,68$ ).

Az aktív lupus nephritises betegek részesültek a legnagyobb dózisú methylprednizolon kezelésben ( $22,85\pm 10,4$  mg/nap vs.  $16\pm 8$  mg/nap): aktív LN-es valamint aktív SLE-s betegek, ( $p=0,046$ ), míg az inaktív LN-es betegek átlagosan  $11,3\pm 4,6$  mg methylprednizolont kaptak ( $p=0,013$  vs. aktív LN). Az aktív SLE-s betegek közül hárman kaptak  $1,5$  mg/kg/nap cyclosporin kezelést, 4 aktív LN beteg részesült havonta cyclophosphamide terápiában ( $400-600$  mg/hó). Egy beteg az IALN csoportban fenntartó  $2$  mg/kg/nap cyclophosphamide kezelést kapott.

## MEGBESZÉLÉS

### 1. Az SLE-s betegek retrospektív vizsgálatával nyert eredmények

Az SLE szisztémás, autoimmun betegség, amely a szervek többségét érinti, ezek közül elsősorban a vese- és az idegrendszeri szövődmények csökkentik az életkilátásokat, és ezek kezelése korai, agresszív terápiát igényel. A terápiás lehetőségek bővülésével nőtt a betegek túlélése az elmúlt évtizedekben. Az SLE-s betegek kumulatív 5 éves túlélése az 1960-as években észlelt kevesebb, mint 50%-ról 80%-ra nőtt az 1990-es években és napjainkra ez tovább emelkedett 83-92%-ra.

A lupus nephritis kialakulása rossz prognosztikai tényező, ezért korai felismerése és adekvát kezelése jelentősen növeli a betegek túlélését. Az SLE-s betegek rendszeres követése, a vesefunkciók és a vizelet rendszeres vizsgálata elengedhetetlen.

A gondozott SLE-s betegeink körében végzett retrospektív vizsgálattal a lupus nephritis előfordulását 26,1%-osnak találtam, más tanulmányokban ettől részben eltérő eredményeket közöltek, Cortez-Hernandez és mtsai 30-40%, más tanulmányokban is 30-60% közötti. A vizsgált betegeink körében a diffúz proliferatív LN volt a leggyakoribb, más tanulmányokhoz hasonlóan, ez az érték magasabb lenne, ha hozzáadnánk a biopszia nélküli eseteket is, amelyek klinikailag a diffúz LN-nek feleltek meg. Ebben a csoportban a betegek 76%-a kapott parenterális CYC-t havonta az NIH protokollnak megfelelően. A vesét érintő relapszusok incidenciája a különböző tanulmányokban 27-66% között mozog, a mi betegeink esetében 21% volt. A lupus nephritis alacsonyabb előfordulása és a kisebb relapszus arány a rendszeres követésnek és a korai agresszív kezelésnek köszönhető.

Az SLE-s betegeket rendszeresen 3 havonta kontrolláljuk, a klinikai aktivitástól függetlenül. Rutin laboratóriumi mérések, szerológiai tesztek, vizelet vizsgálat, fizikális vizsgálat történik, amennyiben gyanú van veseérintettségre vesebiopszia elvégzését sürgetjük. Ezzel a módszerrel a korai agresszív kezelés időben elkezdhető. Súlyos, egyértelmű klinikai tünetek esetén a kezelés elkezdődik a szövettan pontos ismerete nélkül is, és később az aktivitástól és klinikai állapottól függően történik a vesebiopszia. Az alapbetegség kezelésén túl hangsúlyt fektetünk a hipertonia, hyperkoleszterinémia, kardiovaszkuláris rizikófaktorok korai felismerésére és a hatékony kezelés mielőbbi elkezdésére, hogy a krónikus veseelégtelenség kialakulását megelőzzük illetve prolongáljuk.

## **2. A lupus nephritises betegek vizelet és szérum citokin szintjének meghatározása**

Az előbbiekből következik, hogy igen jelentős a vese állapotának követése, a LN időben történő felismerése illetve a relapszusok előrejelzése, ezért széles körű kutatások zajlanak a legmegfelelőbb biomarker megtalálására. Ebből kiindulva megvizsgáltam a gondozott SLE-s betegek szérum és vizelet citokin szintjeit, különbséget keresve a LN-es és a veseérintettség nélküli betegek között.

A korábbi irodalmi adatoknak megfelelően a betegeink esetében szignifikánsan magasabbnak találtuk a LN-es betegek IL-10 és IFN- $\gamma$  szérum szintjét. A szérum IL-6 szinttel nyert korábbi adatok ellentmondásosak, egyes szerzők nem találtak különbséget a LN-es és a veseérintettség nélküli betegek szérum IL-6 szintje között, más szerzők azt találták, hogy a

szérum IL-6 korrelál a LN aktivitásával. A vizsgált betegek körében szignifikánsan magasabb koncentrációt észleltem a LN-es betegek szérumban. A TNF- $\alpha$  szérum szintje viszont a veseérintettség nélküli betegekben volt szignifikánsan magasabb.

### **3. A lupus nephritises betegek szérum IL-1 receptor antagonistá szintjének meghatározása**

Az interleukin-1 citokin család két agonistát az IL-1 $\alpha$ -t és IL-1 $\beta$ -t, valamint egy antagonistát az IL-1 receptor antagonistát (IL-1Ra) foglalja magába. Az IL-1Ra az IL-1 $\beta$  természetes antagonistája. Az IL-1 és IL-1Ra egyensúlya fontos az immunválasz szabályozásában. Az IL-1-t in vivo a vese mesangiális sejtjei termelik. Korábban kimutatták, hogy az IL-1 mesangiális növekedési faktor experimentális mesangioproliferatív nephritisben, továbbá az IL-1Ra kezelés csökkenti a mesangiális sejt proliferációt. A lupus nephritises betegekben az IL-1Ra allel 2 (IL-1RN\*2) nagyobb frekvenciával fordul elő, ezáltal egy proinflammatorikus IL-1b/IL-1Ra arány alakul ki. Suzuki és mtsai azt találták, hogy a magas szérum IL-1Ra koncentráció az SLE-s betegek aktivitásával jól korrelál. Vizsgálatainkkal azt találtam, hogy az SLE-s betegek szérum IL-1Ra szintje, valamint az ezzel parallel vizsgált CRP szint a kontroll csoporthoz viszonyítva emelkedett függetlenül a veseérintettségtől. Az inaktív lupus nephritises csoportban a szérum szint korrelált az SLEDAI-val. Eredményeink összeesengenek Liou és mtsai eredményeivel, akik szintén korrelációt észleltek az IL-1Ra és a szenzitív CRP szinttel kezeletlen SLE-s betegekben, amely arra utal, hogy az IL-1Ra is akut fázis fehérjeként viselkedik SLE-ben. Az IL-1Ra szint az aktív SLE-s veseérintettség nélküli csoportban volt a legmagasabb, szignifikánsan emelkedett volt az aktív LN-es csoportban, míg enyhe emelkedést észleltem az inaktív LN-es betegekben a kontrollhoz viszonyítva. Az ALN-es csoport IL-1Ra szintje szignifikánsan nagyobb volt az inaktív LN-es betegekhez viszonyítva.

Az aktív LN-es csoport kapta a legnagyobb dózisú methylprednizolont, szignifikánsan többet, mint akár az aktív SLE-s akár az inaktív LN-es csoport, amely jól korrelál a korábbi megfigyelésekkel, hiszen a nagyobb dózisú szteroid várhatóan az IL-1Ra szintet is csökkenti. Az aktív lupus nephritises csoportban észlelt alacsonyabb szérum IL-1Ra érték hátterében a methylprednizolon kezelés okozta csökkenés is állhat. Korábban azt is megfigyelték, hogy a magasabb szérum IL-1Ra szint esetén a betegek prognózisa jobb és a krónikus veseelégtelenség kialakulásának az esélye kisebb.

Összességében elmondható, hogy azokban az SLE-s betegekben, akiknek magasabb a szérumban az IL-1Ra szintje (vagyis az IL-1 antagonizmus jelentősebb mértékű) kisebb valószínűséggel alakul ki nephritis illetve ESRD, mint az alacsonyabb szérumban az IL-1Ra szintű betegekben. Az alkalmazott nagyobb dózisú prednizolon gátolja az IL-1 termelést, és az IL-1Ra szintézist is egyaránt, de a kiinduláskor észlelt magasabb inhibitor szint valószínűleg védelmet nyújt a vese szövődményekkel szemben. A lupus nephritises betegekben a szükséges nagyobb szteroid dózisok hátterében részben szteroid rezisztencia, részben pedig az említett IL-1Ra polimorfizmus állhat.

## ÖSSZEFOGLALÁS, MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. A gondozott SLE-s betegeink körében végzett retrospektív vizsgálattal a lupus nephritis előfordulását 26,1%-osnak találtam, a leggyakoribb szövettani típus a diffúz proliferatív glomerulonephritis volt (38,8%), ez az arány magasabb lenne, ha a vesebiopszia nélküli, proliferatív formának megfelelő eseteket is hozzáadnánk. A relapszusok aránya (21%) betegeink esetében alacsonyabb volt, mint más munkacsoportok esetében. Az aktivitást jelző paraméterek közül az anti-DNS szint a proliferatív LN-es formákban volt szignifikánsan emelkedett. A diffúz proliferatív LN-es csoportban a betegek 76%-a részesült parenterális cyclophosphamid kezelésben.
2. Vizsgálatainkkal megállapítható, hogy a lupus nephritises betegek szérum IL-6 szintje szignifikánsan magasabb volt a veseérintettség nélküli betegekhez és a kontroll csoporthoz képest, amely az IL-6 lehetséges biomarker szerepét erősíti meg és terápiás target lehet lupus nephritisben. Ezen túlmenően a LN-es betegekben az IL-10 és az IFN- $\gamma$  szint is szignifikánsan emelkedett volt. A TNF- $\alpha$  és az IL-1 szint szignifikánsan magasabb volt a veseérintettség nélküli SLE-s betegek szérumában és vizeletében egyaránt. A szövettani csoportokon belül a legmagasabb szérum IFN- $\gamma$  és TNF- $\alpha$  koncentrációt a diffúz proliferatív LN-es betegekben találtam.
3. Az SLE-s és lupus nephritises betegek szérum IL-1Ra szintje szignifikánsan magasabb a kontrollhoz képest, de a veseérintettség nélküli SLE-s betegek szérum IL-1Ra szintjét szignifikánsan magasabbnak találtam a lupus nephritises csoporthoz képest. A magasabb IL-1Ra szint a veseszövődmények kialakulását késlelteti. Az alacsonyabb IL-1Ra szint az SLE-s betegek veseérintettségét előrejelzi.

#### **A PhD értekezést megalapozó cikkek időrendi jegyzéke:**

1. **B. Brugos**, E. Kiss, P. Szodoray, G. Szegedi, M. Zeher: Retrospective analysis of patients with lupus nephritis, data from a large clinical immunological center, Scand J Immunol. 2006 Oct;64(4):433-437. **IF: 2.1**
2. **B. Brugos**, E. Kiss, C. Dul, W Gubisch, G. Szegedi, S. Sipka, M. Zeher: Measurement of interleukin-1 antagonist in patients with systemic lupus erythematosus could predict renal manifestation of the disease. Hum Immunol. 2010 Sep;71(9):874-877. **IF: 2.55**
3. **Brúgós B.**, Zeher M.: Biomarkerek jelentősége lupus nephritisben. Orv Hetil. 2010 Jul 18;151(29):1171-1176.

#### **A PhD témájában fel nem használt közlemények időrendi jegyzéke**

1. Balogh Z., Bacso J., **Brúgós B.**, Paragh Gy.: A haj szelén tartalmának koncentrációja hypercholesterinaemiás betegekben. Magyar Belorvosi Archivum, 3/2000 (209-213).
2. Kiss E., Buda B., Tarr T., **Brúgós B.**, Lakos G., Szegedi J., Szegedi Gy.: Cardiovasculáris szövödmények és azok kockázati tényezőinek előfordulása szisztémás lupus erythematosusban. Allergológia és Klinikai Immunológia 2: 52, 2002.
3. **B. Brugos**, G. Hochhaus: Metabolism of dynorphin A(1-13). Pharmazie, 2004 May; 59(5): 339-343. **IF: 0.78**
4. S. Al-Fayoumi, **B. Brugos**, V. Arya, E. Mulder, B. Eppler, AP. Mauderli, G. Hochhaus: Identification of stabilized dynorphin derivatives for suppressing tolerance in morphine-dependent rats. Pharm. Res. Vol. 21, No. 8, Aug. 2004, 1450-1456. **IF: 3.93**
5. **B. Brugos**, V. Arya, G. Hochhaus: Stabilized dynorphin derivatives for modulating antinociceptive activity in morphine-dependent rats. AAPS Journal, 2004 Dec. 28, 6(4), e36. **IF: 3.54**
6. V. Arya, I. Coowanitwong, **B. Brugos**, WS. Kim, R. Singh, G. Hochhaus: Pulmonary targeting of sustained release formulation of budesonide in neonatal rats. J Drug Targeting, 2006 Dec, 14(10), 680-686. **IF: 2.77**

7. Z. Vincze, **B. Brugos**: Does impairment of renal and hepatic function influence the metabolism of thrombolytics in patients with myocardial infarction? *Pharmazie*. 2008 Mar;63(3):245-246. **IF: 0.78**
8. Vincze Z., **Brúgós B.**: Befolyásolja-e a krónikus sztatinszedés a myocardialis infarktus okozta mortalitást? Appendix, *É-Kelet Magyarországi Orvosi Szemle*, 2008, IX. évf. 1-2 szám, 16-21.
9. Z. Vincze, C. Duncea, **B. Brugos**, D. Radulescu: In hospital mortality of patients with acute myocardial infarction in Debrecen, between 2001-2003, in correlation with the clinical signs, risk factors and comorbidities. *Clujul Medical*, 2009, Vol LXXXII, 55-61.

### **Szcientometria**

- 1. In extenso megjelent közlemények száma (ebből elsőszerzős): 12 (5)**
- 2. Angol nyelvű (elsőszerzős): 8(4)**
- 3. Magyar nyelvű (elsőszerzős): 4(1)**
- 4. Összesített impakt faktor: 16.48**
- 5. Citációs index: 11**