

Szolubilis alfa-klotho fehérje vizsgálata

légzőszervi megbetegedésekben

Tézisfüzet

dr. Pákó Judit Erzsébet

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Horváth Ildikó, DSc, igazgató

Hivatalos bírálók:

Dr. Eszes Noémi, Ph.D., egyetemi adjunktus

Dr. Lőrinczi Lilla, Ph.D., osztályvezető főorvos

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Cseh Károly, DSc, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság:

Dr. Bogos Krisztina, Ph.D., főigazgató

Dr. Krikovszky Dóra, Ph.D, egyetemi adjunktus

Budapest

2023

Bevezetés

Az α -klotho gén 1997-ben egy véletlen folytán került felfedezésre. Hipertóniás egérmodell létrehozása során az egerek utódainak egy csoportja váratlanul számos, öregedésre jellemző tünetet mutatott. Visszamaradtak a növekedésben, érlemeszedés és a légyszövetek kalcifikációja, bőratrófia, az ivarszervek diszpláziája, terméketlenség, csontritkulás, emfizéma és súlyos hiperfoszfatémia alakult ki, valamint az élethosszuk is lerövidült. Míg a vad típus átlagos várható élethossza 2,5-3 év, addig a klotho nullmutáns állaté 2 hónap.

Az α -klotho gén termékének, az α -klotho fehérjének 2 formáját különíthetjük el, ezek a transzmembrán klotho és a szolubilis klotho. A szisztémás hatások döntően a vérkeringésben jelen lévő szolubilis klothonak köszönhetőek, míg a helyi hatásokért a transzmembrán klotho felel. A transzmembrán klotho az FGF23 kötelező koreceptora. Csökkenti a keringő kalcium és foszfát koncentrációját, illetve az aktív D₃-vitamin szintjét. A szolubilis klotho számos membráncsatornát, iontranszportereket, intracelluláris jelátviteli utakat

modulál, melyeknek köszönhetően szerteágazó hatásokkal bír: többek között antioxidáns, gyulladáscsökkentő, tumorszuppresszív, öregedésgátló, szív- és érrendszert védő és antialdoszteron hatása van.

Célkitűzés

Az irodalmi adatok alapján több légzőszervi kórkép kapcsán felmerült, hogy az α -klotho fehérje, patomechanizmusban betöltött szerepéből adódóan, biomarker funkcióval bírhat, azaz jelezheti egyes légzőszervi megbetegedések súlyosságát, lefolyását, progresszióját. Vizsgálataink célja a vérben keringő, szolubilis klotho koncentrációjának megismerése, koncentrációváltozásainak elemzése, változékonyságának megítélése volt különböző légzőszervi megbetegedésekben.

Célunk volt meghatározni a fehérje plazmakoncentrációjának napok közötti variabilitását; stabil COPD-ben megvizsgálni, hogy van-e összefüggés a klothoszint és a klinikai állapot között, illetve, hogy változik-e a klothoszint légzőszervi rehabilitáció és a következményes állapotjavulás hatására. Tüdődaganat

esetén változik-e a klothoszint, összefüggésben áll-e a daganat típusával és súlyosságával; valamint, hogy obstruktív alvási apnoe fennállása befolyásolja-e a klothoszintet, és utóbbi összefügg-e a betegség klinikai paramétereivel.

Módszerek

A plazmaklotho-koncentrációkat különböző egészséges- és betegcsoportokban határoztuk meg, illetve a koncentráció változását mértük különböző intervenciók hatására. A mérést mindhárom vizsgálatunk esetében ugyanazzal a módszerrel végeztük.

Vénás vérvételt követően a minták azonnali centrifugálására került sor (fordulatszám: 1500 rpm, időtartam: 10 perc, hőmérséklet: 4°C). A felülúszót, a plazma mintákat -80°C-on tároltuk felhasználásig.

A klothokoncentrációt humán szolubilis enzimkapcsolt immunoassay-vel (ELISA, Immuno-Biological Laboratories Co., Ltd., Takasaki, Japan) határoztuk meg.

A három vizsgálatunk az alábbiak szerint zajlott:

31 stabil COPD-s páciens klinikai paramétereinek összefüggését vizsgáltuk a klotho-szintjükkel. Közülük 19-en részt vettek egy 3 hetes komplex kórházi légzőszervi rehabilitációs programban, melynek elején és végén is mértük a klotho-szintet, illetve a klinikai paramétereiket. A klotho-szint napok közötti variabilitását a stabil COPD-s páciensek légzésrehabilitációs kezelésének 1. és 3. napján vett vérmintáiból határoztuk meg (1).

45 újonnan diagnosztizált tüdőrákos páciens és 43 fős kontrollcsoport klotho-szintjét mértük meg. A betegcsoportban rögzítettük a daganat stádiumát és a szövettani típusát is (2).

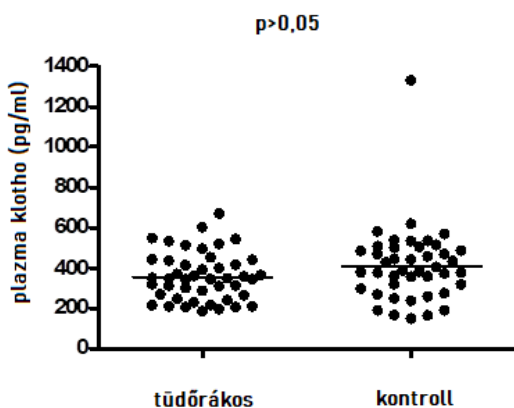
62 obstruktív alvási apnoe gyanújával alvási diagnosztikai laboratóriumba utalt páciens klotho-szintjét mértük meg, és rögzítettük klinikai és alvásparamétereiket (3).

Eredmények

A plazmaklotho-koncentráció napok közötti variabilitása 4,5% (1).

A klothoszint nincs összefüggésben a stabil COPD-s páciensek klinikai paramétereivel. Nem különbözik a

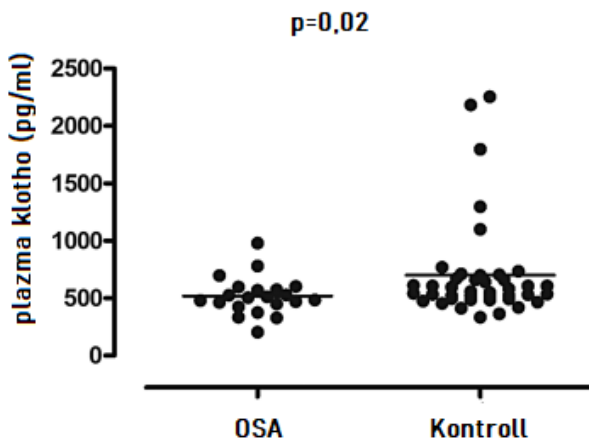
A kontroll- és a tüdődagánatos csoport pácienseinek plazmaklotho-koncentrációja között nem detektáltunk szignifikáns különbséget (medián (IQR): 366,3 (257,9-486,8) vs. 383,5 (304,6-489,7) pg/ml, $p>0,05$) (2) (2. ábra).



2.ábra. Tüdőrákos páciensek és a kontrollcsoport plazmaklotho-koncentrációja

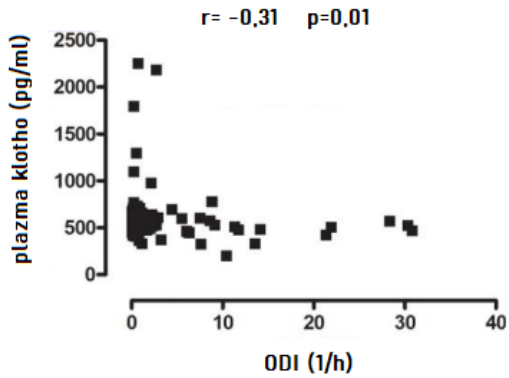
Nem volt szignifikáns különbség az egyes szövettani csoportokba tartozó páciensek között sem, ahogy a metasztatizált és az áttétet nem adó daganatban szenvedők között sem (2).

A plazma klothokonzentrációja alacsonyabb volt OSA-ban ($519,1 \pm 164,9$ pg/ml), mint a kontrollcsoportban ($700,8 \pm 431,4$ pg/ml, $p = 0,02$) (3. ábra) (3).

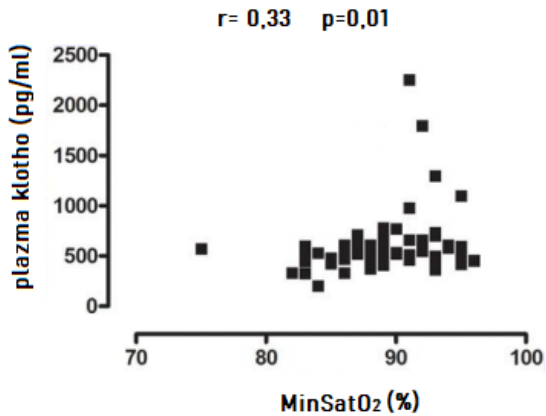


3.ábra. OSA páciensek és a kontrollcsoport plazma klotho koncentrációja, a medián érték feltüntetésével.

A plazma klothokonzentrációja szignifikáns korrelációt mutatott az éjszakai hipoxémia jellemzőivel, mint az O_2 -deszaturációs index (ODI) ($r = -0,31$; $p = 0,01$), a teljes alvásidő 90%-os O_2 -szaturáció alatt töltött aránya (TST90%) ($r = -0,46$; $p = 0,03$) és a legalacsonyabb O_2 -szaturáció (minSatO_2) ($r = 0,33$; $p = 0,01$) (3) (4. a,b, ábra).



4. ábra. a, Éjszakai hipoxémia jellemzői (ODI) és a plazmaklotho-koncentráció közötti korreláció



4. ábra. b, Éjszakai hipoxémia jellemzői (minSatO₂) és a plazmaklotho-koncentráció közötti korreláció

Következtetések

A plazmaklotho-koncentráció napi variabilitása stabil COPD-ben nem éri el az intra-assay variabilitás kétszeresét.

Stabil COPD-s páciensek esetében a fehérje nem mutat korrelációt a klinikai paraméterekkel. A rehabilitációs program hatására bekövetkező klinikai állapotjavulás ellenére a klothoszint stabil marad. Jelen vizsgálataink alapján a plazmaklotho-koncentráció nem tekinthető a COPD ígéretes biomarkerének.

Azon feltételezésünk, miszerint a csökkent klotho mRNS-szintekhez hasonlóan a plazma klothofehérje-koncentrációja is csökken tüdőrákban, és változhat a szövettani típusnak és a betegség stádiumának függvényében, nem bizonyult helytállónak, eredményeink szerint értéke nem változik.

Kimutattuk, hogy a szolubilis klotho koncentrációja csökkent OSA-ban. Az alacsonyabb klothokonzentrációk a krónikus intermittáló hipoxémia következményei lehetnek, és szerepet játszhatnak a szisztémás gyulladás,

az endothel diszfunkció és a társbetegségek kialakulásának felgyorsításában.

Saját publikációk jegyzéke

Disszertációhoz kapcsolódó közlemények

1. Pako J, Barta I, Balogh Zs, Kerti M, Drozdovszky O, Bikov A, Antus B, Horvath I, Varga J: Assessment of the Anti-Aging Klotho Protein in Patients with COPD Undergoing Pulmonary Rehabilitation. COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2017; 14: 176-180
2. Pako J, Bikov A, Barta I, Matsueda H, Puskas R, Galffy G, Kerpel-Fronius A, Antus B, Horvath I: Assessment of the circulating klotho protein in lung cancer patients. Pathol Oncol Res, 2020; 26: 233-238
3. Pako J, Kunos L, Meszaros M, Tarnoki DL, Tarnoki AD, Horvath I, Bikov A: Decreased Levels of Anti-Aging Klotho in Obstructive Sleep Apnea. Rejuvenation Res. 2020; 23: 256-261

Egyéb publikációk

- Pako J, Bikov A, Karlocai K, Csozsa Gy, Kunos L, Losonczy G, Horvath I: Plasma VEGF levels and their relation to right ventricular function in pulmonary hypertension, *Clinical and Experimental Hypertension*, 2015; 37:340-344
- Pako J, Bikov A, Horvath I: Asztma-COPD overlap szindróma; Diagnosztikai és terápiás kihívások, *Medicina Thoracalis*, 2016; 69:26-34
- Pako J, Veres D, Tisza J, Horvath I: A COPD a multimorbiditás tükrében, *Orvostovábbképző Szemle*, 2015; 22. évf. 11. szám
- Bikov A, Pako J, Montvai D, Kovacs D, Koller Z, Losonczy G, Horvath I: Exhaled breath condensate pH decreases following oral glucose tolerance test, *Journal of Breath Research*, 2015; 9:047112
- Bikov A, Pako J, Kovacs D, Tamasi L, Lazar Z, Losonczy G, Horvath I: Exhaled breath volatile alterations in pregnancy assessed with electronic nose, *Biomarkers*, 2011; 16:476-484

- Pako J, Hegedus Zs, Kalmar I, Toth J, Gal A, Bodnar A: A szülészeti- és újszülöttellátás fejlesztési lehetőségei a páciensek visszajelzései alapján. IME, 2022; 21: 22-28.
- Fekete M, Fazekas-Pongor V, Balazs P, Tarantini S, Szollosi G, Pako J, Nemeth AN, Varga JT: Effect of malnutrition and body composition on the quality of life of COPD patients. *Physiol Int*, 2021; 108:238-250
- Fekete M, Pako J, Nemeth AN, Tarantini S, Varga JT: Prevalence of influenza and pneumococcal vaccination in chronic obstructive pulmonary disease patients in association with the occurrence of acute exacerbations. *J Thorac Dis*, 2020; 12:4233-4242