

Génpolimorfizmusok, mint rizikófaktorok a Marfan-szindróma kardiovaszkuláris manifesztációinak előrejelzésében

Benke Kálmán^{1*},
Sayour Alex Ali^{1*},
Ágg Bence¹,
Radovits Tamás¹,
Szilveszter Bálint¹,
Odler Balázs²,
Németh Balázs Tamás¹,
Pólos Miklós¹,
Oláh Attila¹,
Mátyás Csaba¹,
Ruppert Mihály¹,
Hartyánszky István¹,
Maurovich-Horvat Pál¹,
Merkely Béla¹,
Szabolcs Zoltán¹

*Ezen szerzők egyenlő módon
vettek részt a cikk megírásában
¹Semmelweis Egyetem,
Városmajori Szív- és
Érgyógyászati Klinika, Budapest
²Semmelweis Egyetem,
Pulmonológiai Klinika, Budapest

Levelezési cím:
Dr. Benke Kálmán
1122 Budapest,
Városmajor u. 68.
E-mail:
kalman.benke@gmail.com

Kulcsszavak:

vaszkuláris remodeláció,
egy nukleotidot érintő polimorfizmus
(SNP), homocisztein (HCY),
mátrix-metalloproteinázok (MMP-k)

Keywords:

vascular remodeling,
single nucleotide polymorphism (SNP),
homocysteine (HCY),
matrix-metalloproteinases (MMPs)

A folsav-anyagcserében résztvevő enzimek génpolimorfizmusai felelősek a megemelkedett plazma homocisztein-koncentrációért, amely szerepet játszhat olyan kardiovaszkuláris betegség kialakulásában, mint az aortaaneurizma és -disszekció.

Összesen 71 Marfan-szindrómás beteget vizsgáltunk különböző csoportokba osztva a szív- és érrendszeri érintettségük alapján: intervenciót nem igénylő (n=27, A-csoport); enyhén érintett, amely profilaktikus műtétet indikált (n=17, B-csoport); súlyosan érintett (n=27, C-csoport) továbbosztva aortatágulattal rendelkező (n=14, C1-alcsoport) és aortadisszekcióval elszenvedő (n=13, C2-alcsoport) betegek; továbbá kontrollcsoport (n=117). Megmértük a plazma homocisztein-, folsav- és B₁₂-vitamin-szinteket, illetve a metilén-tetrahidro-folát-reduktáz (C665T és A1286C), metionin-szintáz (A2756G) és metionin-szintáz-reduktáz (A66G) polimorfizmusok jelenlétét.

A statisztikai analízis szignifikánsan magasabb homociszteinszintet mutatott a C2-alcsoportban az A (p<0,0001), B (p<0,0001), C1 (p=0,001) és kontrollcsoporthoz (p=0,003) képest. A folsavszint alacsonyabb volt a C2-alcsoportban az A (p<0,0001), B (p=0,02), C1 (p<0,0001) és kontrollcsoporthoz (p<0,0001) viszonyítva. A C2-alcsoport rendelkezett a legnagyobb homozigóta prevalenciával a négy vizsgált génpolimorfizmus tekintetében. Regressziós analízis szerint a plazma homociszteinszint a súlyos kardiovaszkuláris érintettség (C-csoport; 1,85 esélyhányados, 95%-os konfidencia-intervallum 1,28–2,67; p=0,001) és az aortadisszekció (C2-csoport; 2,49 esélyhányados, 95%-os konfidencia-intervallum 1,3–4,78; p=0,006) független rizikófaktor.

Következtetésképpen, Marfan-szindrómásokban a súlyos szív- és érrendszeri érintettség és különösen az aortadisszekció magasabb plazma homociszteinszinttel és a folsav-metabolizmusban szereplő enzimek homozigóta genotípusának magasabb prevalenciájával jár. Ezen eredmények alátámasztják, hogy a folsav-anyagcsere kiemelkedő szerepet játszik az aortafal extracelluláris mátrixának felépítésében és remodelációjában.

Gene polymorphisms as risk factors for predicting the cardiovascular manifestations in Marfan syndrome

Folic acid metabolism enzyme polymorphisms are believed to be responsible for the elevation of homocysteine concentration in the blood plasma, correlating with the pathogenesis of aortic aneurysms and aortic dissection. We studied 71 Marfan patients divided into groups based on the severity of cardiovascular involvement: no intervention required (n=27, Group A); mild involvement requiring intervention (n=17, Group B); severe involvement (n=27, Group C) subdivided into aortic dilatation (n=14, Group C1) and aortic dissection (n=13, Group C2), as well as 117 control subjects. We evaluated homocysteine, folate, vitamin B₁₂ and the polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR; c.665C>T and c.1286A>C), methionine synthase (MTR; c.2756A>G) and methionine synthase reductase (MTRR; c.66A>G). Multiple comparisons showed significantly higher levels of homocysteine in Group C2 compared to Groups A, B, C1 and control group (p<0.0001, p<0.0001, p=0.001 and p=0.003, respectively). Folate was lower in Group C2 than in Groups A, B, C1 and control subjects (p<0.0001, p=0.02, p<0.0001 and p<0.0001, respectively). Group C2 had the highest prevalence of homozygotes for all four gene polymorphisms. Multivariate logistic regression analysis revealed that HCY plasma level was an independent risk factor for severe cardiovascular involvement (Group C; odds ratio 1.85, 95% confidence interval (CI) 1.28–2.67, p=0.001) as well as for aortic dissection (Group C2; odds ratio 2.49, 95% confidence interval 1.30–4.78, p=0.006). In conclusion, severe cardiovascular involvement in Marfan patients, and especially aortic dissection, is associated with higher homocysteine plasma levels and prevalence of homozygous genotypes of folic acid metabolism enzymes than mild or no cardiovascular involvement. These results suggest that impaired folic acid metabolism has an important role in the development and remodeling of the extracellular matrix of the aorta.

Bevezetés

A *Marfan-szindróma* (MFS) egy autoszomális dominánsan öröklődő szisztémás betegség, melynek becslött prevalenciája 1:5000 (1). Tekintve, hogy egy kötőszövetet érintő kóros állapotról van szó, az MFS fenotípusos megjelenése egyszerre több szervet/szervrendszert érinthet. A csontvázrendszer látható eltérései (magas, karcsú testalkat; hosszú végtagok, illetve kéz- és lábujjak; jellegzetes mellkasi deformitások) mellett (2) a tünetegyüttes szemlencse-elváltozásokkal és központi idegrendszeri léziókkal is járhat (3). Azonban a legsúlyosabb, sokszor életet is veszélyeztető manifesztációk a szív- és érrendszert érintik (4). Ilyen a mitralis billentyű-prolapszus, az aortabillentyű-elégtelenség, de leggyakrabban az aortagyök-tágulat, a felszálló aorta-aneurizma, -disszekció és ruptúra (5).

A MFS kialakulásában az FBN1-gén érintett, amelynek 2900 féle mutációja ismert (6). A gén által kódolt fibrillin-1 extracelluláris mátrix fehérje adja a mikrofibrillumok legfőbb összetevőjét, amelyek az extracelluláris mátrix mind elasztikus, mind non elasztikus komponenseinek kialakításában játszanak döntő szerepet. A mutációt elszenvedett FBN1-gén hibás fibrillin-1 fehérjét, illetve mikrofibrillumokat eredményezve kötőszöveti gyengeséghez vezet (7).

A folsav-metabolizmusban résztvevő enzimek polimorfizmusainak szerepe van a plazma homocisztein (HCY) koncentrációjának megemelkedésében, amely bizonyos szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának kedvez (8). A magas HCY-szint homociszteinuriás betegekben igazoltan módosítja a fibrillin-1 fehérje funkcióját azáltal, hogy csökkenti annak kalciumkötő képességét és az érintett diszulfidhidak révén fogékonyabbá teszi a proteolízis iránt (9, 10).

A metilén-tetrahidro-folát-reduktáz (MTHFR) katalizálja az 5,10-metilén-tetrahidrofolát átalakulását 5-metil-tetrahidrofoláttá (5-MTHF), amely a metionin-szintáz (MTR) kulcsfontosságú szubsztrátja, hiszen az enzim így képes a homociszteint metilálva metionint létrehozni az aktivált metilciklus sebesség-meghatározó lépéseként. A MTR további aktivátora a metionin-szintáz-reduktáz (MTRR), amely a MTR kofaktorának (B₁₂-vitamin) redukciós ciklusában szerepel (11).

Az MTHFR-gén leggyakoribb egy nukleotidot érintő polimorfizmus (SNP, single nucleotide polymorphism) a citozin-timin C665T-kicserélődés, amelynek következtében az MTHFR-enzim aktivitása 50-60%-kal csökken (12). Mérsékeltabb funkció-visszaesséssel jár az adenin-citozin A1298C polimorfizmus (13). Gyakori az adenin-guanin szubsztitúció az MTR (A2756G) (14) és MTRR (A66G) (15) enzimek esetében.

Nem *Marfan-szindrómás*, aortaaneurizmával rendelkező betegekben az MTHFR- és MTR-gén polimorfizmusok prevalenciája magasabb volt (16). Mindez idáig

egyetlen tanulmány számolt be arról, hogy az MTHFR C667T SNP kapcsolatba hozható aortaaneurizma és -disszekció létrejöttével *Marfan-szindrómás* betegekben (17). Az MTR-, illetve MTRR-polimorfizmusok és az MFS kapcsán kialakuló disszekciók közötti összefüggéseket eddig még nem elemezte közlemény. Habár az emelkedett plazma HCY-szint és a folsav-metabolizmusban szereplő enzimeket kódoló gének polimorfizmusai közötti kapcsolatról már történt értekezés (18), azonban nincsen átfogó eredmény ezek hatásáról *Marfan-szindrómában*. Részletes kivizsgálást igényel az MTR- és MTRR-gének polimorfizmusa, illetve azok szerepe *Marfan-szindrómában* és egyéb szív-ér rendszeri betegségekben. Ennek következtében törekedtünk arra, hogy feltárjuk a homocysteinaemia, a szív- és érrendszeri eltérések súlyossága és az MTR, illetve MTRR SNP-k közötti összefüggéseket *Marfan-betegekben*.

Módszerek

A tanulmányba egy 71 fős, *Marfan-biobankban* nyilvántartott (19) *Marfan-szindrómás* betegekből álló csoportot és 117 kontrollalanyt vontunk be. A betegség megállapítása az átdolgozott (2010) Ghent-kritériumok szerint történt, mellyel kiváló specificitással és szenzitivitással lehet felállítani az MFS diagnózist klinikai jellemzők alapján (20). A *Marfan-szindrómás* betegek adatait az 1. táblázat mutatja be. 2011. október és 2012. április között a klinikai adatokat és biológiai mintákat biobankba gyűjtöttük a tünetegyüttesben érintett 34 nőtől (47,9%) és 37 férfitől (52,1%). A vizsgálat idején átlagos életkoruk 36 év volt. Ugyanezen időszakban 117 egyértelműen egészséges személyt (90 férfi, 27 nő) vizsgáltunk, 39 éves átlagéletkorral. A kontrollalanyok beválasztási kritériuma az aortaaneurizma/disszekció és MFS családi előzményének hiánya volt. A kontrollcsoport tagjaitól szintén teljes biológiai mintavétel történt. A tanulmányban résztvevő összes személy írásos beleegyezést adott az Etikai Tudományos Tanács előírásával összhangban (ETT 13699/2011).

Marfan-szindrómás betegek besorolása az aorta-érintettség súlyossága alapján

A kardiovaszkuláris manifesztációk alapján a *Marfan-szindrómás* betegeket három csoportba osztottuk. Valamennyi műtéti indikáció az ESC/EACTS-ajánlások (21, 22) alapján került megállapításra.

A-CSOPORT (n=27)

Betegek, akik kardiovaszkuláris érintettsége a vizsgálat időpontjában nem igényelt elektív műtéti beavatkozást.

B-CSOPORT (n=17)

Betegek enyhe szív- és érrendszeri érintettséggel, akik a felszálló aorta elektív műtétére szorultak (23, 24).

1. táblázat. A Marfan-szindrómás betegek besorolása szív- és érrendszeri érintettségük súlyossága alapján

Csoportok	A (n=27)	B (n=17)	C (n=27)	C1 (n=14)	C2 (n=13)
Kor (év)*	29±12	29±10	35±13	34±14	37±12
Férfi	16	5	12	4	8
Shív- és érrendszeri érintettség	Intervenciót nem igénylő	Enyhe, intervenciót igénylő	Súlyos	Aorta annuloectasia	Aortadisszekció
Antropometria (mért)					
Magasság	178 (170–180)	187 (182–200)	182 (173–190)	185 (181–196)	175 (172,7–187)
Alsó szegmens (cm)	95 (89–98)	99 (94,7–106)	95 (90–104)	99 (90–113)	91 (87,5–99)
Karfestáv (cm)	182 (177–184)	194 (183–207)	189 (180–200)	189 (184–202)	188,5 (179–198,5)
Lábméret	41 (40–43)	44 (42–48)	43 (41–46)	44 (42–46)	42 (41–44)
Testtömeg (kg)	62±22,5	74,5±26,4	72,1±21,0	69,6±25,4	69,2±25,1
Aortaátmérő (mm)	32 (27–37)	49 (46,8–50)	62,5 (54,8–70)	59,5 (50–67,8)	67,5 (60–75)
Antropometria (számolt)					
Testtömegindex (BMI; kg/m ²)	19,9±6,3	20,7±6,7	21,6±5,7	20,0±6,7	21,6±7,4
Testfelszín (m ²) (Mosteller)	1,75 (1,61–1,87)	1,99 (1,81–2,26)	1,94 (1,85–2,08)	1,94 (1,89–2,09)	1,95 (1,80–2,01)
Ghent-kritériumok(%)					
Pozitív családi anamnézis	100%	76%	59%	64%	54%
Szisztémás pontszám (SSc)	8 (7–9,5)	9 (8–9)	7,5 (7–8)	8 (7–8)	7 (7–8)
SSc <7 pont	0%	0%	15%	14%	15%
SSc 7–10 pont	93%	100%	79%	79%	77%
SSc >10 pont	7%	0%	7%	7%	8%
Ectopia lentis	36%	29%	22%	21%	23%

*A páciens kora a műtét idején

C-CSOPORT (n=27)

Betegek súlyos kardiovaszkuláris érintettséggel, további két alcsoportra osztva aszerint, hogy aorta annuloectasia (C1-alcsoport, n=14) vagy A-típusú aortadisszekció (C2-alcsoport, n=13) indikálta-e a beavatkozást.

HCY, folsav és B₁₂-vitamin meghatározás

A tanulmányban résztvevő valamennyi alanytól szérummintát vettünk. Ezekből a plazma teljes HCY (szabad és diszulfid-kötött), folsav és B₁₂-vitamin koncentrációja meghatározásra került. A hyperhomocisteinaemiát 14 µmol/l-nél magasabb plazma HCY-koncentrációnak megfelelően definiáltuk (25).

SNP-PONTSZÁM

Az összes csoportban kiértékeljük mind a négy gén polimorfizmust és felállítottunk egy SNP pontszámrendszert, amely szerint 0 pont a génpolimorfizmus hiánya, 1 pont minden egyes heterozigóta génpolimorfizmus és 2 pont minden egyes homozigóta génpolimorfizmus. A maximális pontszám 8, ami négy homozigóta polimorfizmust jelent az összes vizsgált génre nézve, egyazon személyben.

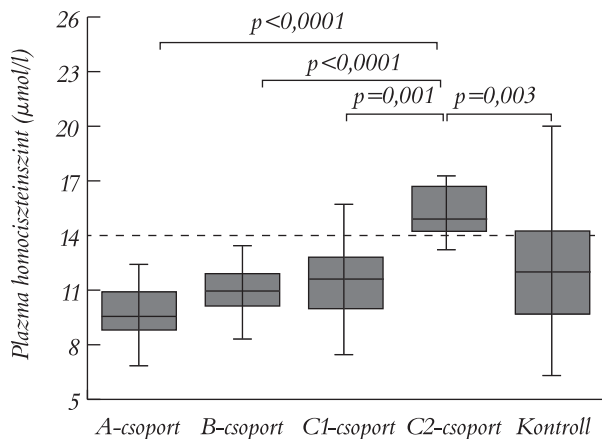
Statisztikai analízis

Minden adatot átlagérték±SD formájában adtuk meg. A csoportok adatait varianciaanalízissel (ANOVA) hasonlítottuk össze, azt követően pedig Bonferroni-korrekciót alkalmaztunk. A p<0,05 értékeket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

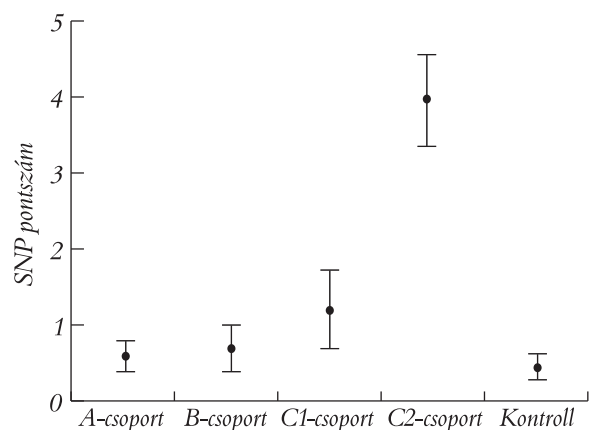
Plazma HCY, folsav, B₁₂-vitamin-szintek és SNP pontszám

A 2. táblázat mutatja a plazma HCY, folsav és B₁₂-vitamin-szinteket mind az öt csoportban. A plazma HCY-szintek a Marfan-betegekben és a kontrollalanyokban az 1. ábrán láthatók. A HCY-szint szignifikánsan különbözött mind az öt csoportban (p<0,0001). Statisztikai analízist követően a C2-csoportban szignifikánsan magasabbnak bizonyult a HCY-szint az A, B, C1-csoportokhoz és a kontrollhoz képest. Hasonlóképpen, a folsavszintek is szignifikánsan eltértek a csoportok között (p<0,0001), a C2-csoportban alacsonyabbnak bizonyult.



1. ábra. Plazma HCY-szintek Marfan-betegekben és a kontrollalanyokban

A=intervenciót nem igénylő, B=enyhe érintettség, C1=aorta annuloectasia, C2=aortadisszekció. Vizsgálatunk szignifikánsan magasabb plazma HCY-szintet mutatott a C2-csoportban az A ($p<0,0001$), B ($p<0,0001$), C1 ($p=0,001$) és kontrollcsoport-hoz ($p=0,003$) képest.



2. ábra. Marfan-betegek és kontrollalanyok SNP pontszámai

A=intervenciót nem igénylő, B=enyhe érintettség, C1=aorta annuloectasia, C2=aortadisszekció. A C2-csoportban magasabb volt az SNP-pontszám a többi csoporthoz képest ($p<0,0001$).

nyabb volt az A, B, C1 és kontrollcsoporttal összehasonlítva. A plazma B₁₂-vitamin-szintek között is szignifikáns különbséget találtunk a csoportok között ($p=0,015$). Csökkent B₁₂-vitamin-szintet találtunk a C2-csoportban az A- és B-csoport-hoz képest. A C2-csoportban magasabb volt az SNP-pontszám az összes többi csoporthoz viszonyítva ($p<0,0001$) (2. ábra).

A fő patológiás eltérés cisztikus media degeneráció volt az összes mintában a Marfan-szindróma diagnózisával összhangban (26).

A folsav-metabolizmus enzimeinek polimorfizmusai

Valamennyi génpolimorfizmus Hardy–Weinberg-egyensúlyban volt mind a Marfan- mind a kontrollpopulációban, kivéve a kontrollcsoport C677T MTHFR genotípusú eloszlását ($p=0,003$). A hetero- és homozi-

góta MTHFR C665T-polimorfizmus prevalenciája magasabb volt Marfan-szindrómás betegekben (19,3% és 7,7%), mint a kontrollalanyokban (10,3% és 2,7%), csakúgy, mint a másik két vizsgált gén esetén. A C2-csoport rendelkezik a legmagasabb homozigóta előfordulási valószínűséggel a négy vizsgált gén SNP tekintetében. A Marfan-populációk esetében szignifikáns genotípus-fenotípus kapcsolat áll fenn a plazma HCY-szintek és a folsav-metabolizmusban résztvevő enzimek génpolimorfizmusai között.

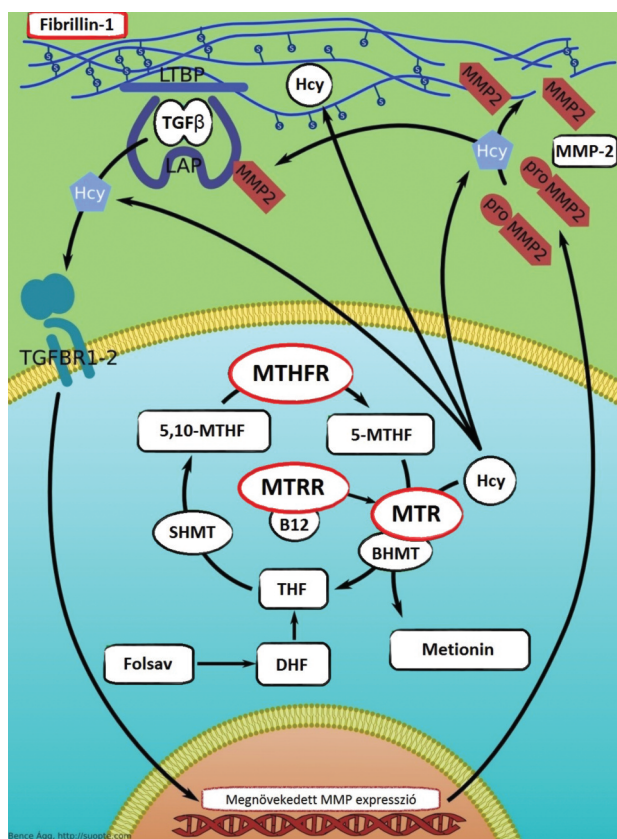
EGYVÁLTOZÓS ÉS TÖBBVÁLTOZÓS ANALÍZIS

Egyváltozós logisztikai regresszió esetén a major kardiovaszkuláris érintettség és az aortadisszekció Marfan-betegekben magasabb plazma HCY, illetve alacsonyabb folsav és B₁₂-vitamin-szinttel társult. Azonban a többváltozós logisztikai regressziómodell rávilágított arra, hogy kizárólag a plazma HCY-szint tekinthető a súlyos

2. táblázat. A vizsgált csoportok plazma HCY, folsav és B₁₂-vitamin szintjei, valamint SNP pontszámai

	HCY (μmol/l)	Folsav (nmol/l)	B ₁₂ -vitamin (pmol/l)	SNP-pontszám
Kontrollok	11,7 (9,6–14,2) [†]	27,1 (23,2–33,6) [†]	256,4 (174,7–364,4)	0 (0–1) [†]
Marfan-szindrómások				
A-csoport	9,2 (8,8–10,5) [†]	29,8 (22,6–34,5) [†]	356 (285,2–419,8) [†]	1 (0–1) [†]
B-csoport	10,7 (9,9–11,5) [†]	19,9 (19,3–27,8) [†]	322,9 (247,7–379,1) [‡]	1 (0–1) [†]
C-csoport*	13,4 (10,9–15,1)	20,7 (15,0–26,1)	246,7 (206,3–299,5)	2 (1–4)
C1 Aorta annuloectasia	11,5 (10,2–12,6) [†]	24,8 (21,0–28,5) [†]	262,3 (243,4–321,4)	1 (1–2) [†]
C2 Aortadisszekció	14,9 (14,1–16,6)	15,5 (10,5–17,6)	223,2 (197,8–261,6)	4 (3–5)

* A C-csoportot kihagytuk az elemzésből; [†] $p<0,01$ vs. C2 Aortadisszekció csoport; [‡] $p<0,05$ vs. C2 Aortadisszekció csoport



3. ábra. A folsav-metabolizmus enzimeinek szerepe a homocisztein-fibrillin-1-interakció patomechanizmusában.

A HCY közvetlen célpontja a fibrillin-1, szignifikánsan csökkentve annak vég a véghez kölcsönhatását, amely kritikus lépés a mikrofibrillumok biogenezisében. Magasabb plazma HCY-szint esetén a HCY reagálhat a fibrillin-1 számos szabad ciszteinil-szulfhidril (SH) csoportjával vagy felbonthat kulcsfontosságú cisztein-cisztein diszulfidhidakat. Ezen hosszú életű fehérjék irreverzibilis homociszteinizációja a *Marfan-szindrómához* köthető szív- és érrendszeri manifesztációk kumulatív előmenetelének tekinthető. A HCY növeli a mátrix metalloproteináz-2 (MMP-2) szintézisét valamint szekrécióját, és ezen molekula emelkedett szintje felelős az aortafal meggyengüléséért és a következményes aortaaneurizma és -disszekció kialakulásáért. A hyperhomocysteinaemia magasabb TGF- β -szekrécióval jár, amely molekula megnöveli számos mátrix metalloproteináz és elasztáz expresszióját. A megemelkedett MMP-szintek elősegítik az extracelluláris mátrix elasztin és mikrofibrillumainak degradációját, továbbá felelősek az elasztikus rostok széteséséért. LTBP: Latent TGF- β Binding Protein; LAP: Latency Associated Protein; TGF- β : transzformáló növekedési faktor- β ; HCY: homocisztein; TGFBR1-2: TGF- β Binding Receptors 1 és 2; MMP-2: mátrix metalloproteináz-2; MTHFR: metilén-tetrahidrofolát-reduktáz; MTR: metionin-szintáz; MTRR: metionin-szintáz-reduktáz; SHMT: szerin-hidroximetil-transzferáz; DHF: dihidrofolát; THF: tetrahidrofolát; BHMT: betain-homocisztein metiltranszferáz; 5-MTHF: 5-metil-tetrahidrofolát; 5,10-MTHF: 5,10-metenil-tetrahidrofolát; B₁₂: B₁₂-vitamin

szív- és érrendszeri érintettség (C-csoport), illetve az aortadisszekció (C2-csoport) független rizikófaktorának.

Megbeszélés

Jelen tanulmányunk az első, amely a három legkutatottabb folsav-anyagcserében résztvevő enzim négy gén polimorfizmusát vizsgálta *Marfan-szindrómás* betegekben. Azt találtuk, hogy A-típusú aortadisszekcióban szenvedő *Marfan-szindrómás* páciensek plazma HCY-szintje magasabb, míg folsav és B₁₂-vitamin-szintje alacsonyabb a kardiovaszkulárisan nem vagy enyhén érintett *Marfan-betegekhez* képest. A súlyos szív- és érrendszeri érintettséggel rendelkező, illetve aortadisszekcióban szenvedő *Marfan-szindrómás* betegek esetében magasabb SNP-pontszámot állapítottunk meg a többi *Marfan-* és kontrollcsoport tagjaihoz viszonyítva. Aortadisszekció esetén a heterozigóta és homozigóta genotípusok prevalenciája a négy vizsgált gén SNP tekintetében nagyobbak bizonyult. Megfigyeltük, hogy genotípus-fenotípus korreláció áll fenn a plazma HCY-szint és az MTHFR, MTR és MTRR génpolimorfizmusok között. A folsav-metabolizmus aktivitását csökkentő genotípusok ténylegesen magasabb plazma HCY-szintet eredményeztek. A többváltozós logisztikai regressziós analízis kimutatta, hogy a magasabb plazma HCY-szint a súlyos kardiovaszkuláris manifesztációk és az aortadisszekció független előjelzője.

Eredményeink összhangban állnak a hyperhomocysteinaemiás *Marfan-betegek* paramétereivel (17), bizonyítva azt, hogy a fent említett enzimek csökkent aktivitása magas plazma HCY-szintet eredményezve fontos szerepet tölt be az érfal extracelluláris mátrixának gyengülésében. *Doranzo és munkatársai* (27) rávilágítottak arra, hogy a HCY növeli a mátrix metalloproteináz-2 (MMP-2) szintézisét és szekrécióját humán aortafal eredetű simaizomsejt-tenyészetben, amely hatás koncentráció- és időfüggő. Az effektív HCY-koncentráció az enyhe és súlyos hyperhomocysteinaemia közötti tartományba esett. A mátrix metalloproteinázok emelkedett szintje felelős az aortafal integritásának elvesztéséért és a következményes aneurizma képződésért, illetve disszekció kialakulásáért *Marfan-szindrómában* (28). *Raaf és munkatársai* (29) szerint a hyperhomocysteinaemia kapcsolatba hozható a transzformáló növekedési faktor- β (TGF- β) megnövekedett expressziójával és szignalizációjával, amely molekula kulcsszerepet játszik az MFS patomechanizmusában (30) és növeli számos MMP expresszióját (31). Az emelkedett MMP-szintek elősegítik az extracelluláris mátrix elasztin és mikrofibrillumainak degradációját, továbbá felelősek az elasztikus rostok széteséséért.

Következésképpen ezen proteázok túltermelődése csökkenti a kötőszöveti elaszticitást, és az aorta falának gyengüléséhez vezet (5, 31) (3. ábra).

A HCY közvetlen célpontja a fibrillin-1, szignifikánsan csökkentve annak N-C-terminális interakcióját, amely

kritikus lépés a mikrofibrillumok biogenezisében (32). Ezen hosszú életű fehérjék irreverzibilis homociszteini-lációja a *Marfan-szindrómához* köthető szív-ér rendszeri manifesztációk kumulatív progressziójának tekinthető (9).

Sbarouni és munkatársai (18) felfigyeltek arra, hogy A-típusú aortadisszekcióban szenvedő non-Marfan-betegekben szignifikánsan magasabb volt a plazma HCY, illetve alacsonyabb a folsav- és B₁₂-vitamin-szint krónikus aneurizmával rendelkező betegek és normál kontrollalanyokhoz képest. Habár több tanulmány foglalkozott a folsav metabolizmus enzimeivel külön-külön (11–15), egyik sem vizsgálta mind a négy génpolimorfizmust egyazon időben, ahogy mi tettük jelenlegi munkánkban. AZ SNP-pontrendszerünkkel egy olyan rizikóstratifikációs algoritmust hoztunk létre, amely a plazma HCY, folsav- és B₁₂-vitamin-szintekkel együtt segítheti a kardiovaszkuláris események előrejelzését *Marfan-szindrómában*. A biomarkerek és a genetikai profilalkotás klinikai megfigyeléssel, illetve ultrahang-mérésekkel együtt (33) további segítséget nyújthatnak a kezelés útvonalának megválasztásában, legyen az profilaktikus műtét vagy gyógyszeres terápia (34, 35).

Jelen tanulmány egyik limitációja lehet a kontrollcsoport. Bár az összes kontrollalany egészségesnek bizonyult (szív- és érrendszeri esemény, illetve MFS előzetes hiánya), esetükben magasabb plazma HCY-szintet találtunk *Giusti és munkatársai* (17) által korábban publikáltakhoz képest. Mindazonáltal ezen eredmények

nem befolyásolják azt a tényt, hogy Marfan-betegekben a magasabb plazma HCY-szint és a kedvezőtlenebb genotípus szorosan korrelál az aortafal patológiás elváltozásaival. Egy jól definiált prospektív vizsgálat szükséges ahhoz, hogy megerősítsük retrospektív tanulmányunk eredményeit. A betegek kardiovaszkuláris érintettségük szerinti csoportokba sorolása a nemzetközileg elfogadott ajánlások (21, 22) alapján történt, amelyek főként klinikai/műtéti döntéshozatali szempontokat vesznek figyelembe. Ebből adódóan ezen klasszifikáció figyelmen kívül hagy néhány szempontot (például: életkor, átmérő-tágulás ráta, Z-score és a mitralis billentyű érintettsége), amely a tanulmány további limitáló faktora lehetnek.

Következtetések

Összességében elmondható, hogy A-típusú aortadisszekcióban szenvedő *Marfan-szindrómások* esetében szignifikánsan magasabb a plazma HCY-szint és az SNP-pontszám (a vizsgált négy génpolimorfizmusoknak megfelelően), míg a folsav- és B₁₂-vitamin-szint alacsonyabb az enyhe, vagy kardiovaszkuláris érintettség nélküli *Marfan-szindrómás* páciensekhez képest. Ez igazolja a folsav-anyagcserében szereplő enzimek kulcsszerepét az aorta extracelluláris mátrixának felépítésében és remodelációjában. Eredményeink indikálhatják a folsav és B₁₂-vitamin preventív pótlását magas SNP-pontszámmal és HCY-szinttel rendelkező *Marfan-szindrómás* betegek esetében.

Irodalom

1. Gao LG, Luo F, Hui RT, et al. Recent molecular biological progress in Marfan syndrome and Marfan-associated disorders. *Ageing Res Rev* 2010; 363–8.
2. Gelb BD. Marfan's syndrome and related disorders-more tightly connected than we thought. *N Engl J Med* 2006; 841–4.
3. Grover M, Brunetti-Pierri N, Belmont J, et al. Assessment of bone mineral status in children with Marfan syndrome. *Am J Med Genet A* 2012; 2221–4.
4. Benke K, Agg B, Szilveszter B, et al. The role of transforming growth factor-beta in Marfan syndrome. *Cardiol J* 2013; 227–34.
5. Agg B, Benke K, Szilveszter B, et al. Possible extracardiac predictors of aortic dissection in Marfan syndrome. *BMC Cardiovasc Disord* 2014; 47.
6. Franken R, Heesterbeek T, de Waard V, et al. Diagnosis and genetics of Marfan syndrome. Expert opinion on Orphan drugs 2012; 1049–62.
7. Robinson PN, Arteaga-Solis E, Baldock C, et al. The molecular genetics of Marfan syndrome and related disorders. *J Med Genet* 2006; 769–87.
8. Brunelli T, Prisco D, Fedi S, et al. High prevalence of mild hyperhomocysteinemia in patients with abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg* 2000; 531–6.
9. Krumdieck CL, Prince CW. Mechanisms of homocysteine toxicity on connective tissues: implications for the morbidity of aging. *J Nutr* 2000; 365S–8S.
10. Hubmacher D, Tiedemann K, Bartels R, et al. Modification of the structure and function of fibrillin-1 by homocysteine suggests a potential pathogenetic mechanism in homocystinuria. *J Biol Chem* 2005; 34946–55.
11. Zhou D, Mei Q, Luo H, et al. The polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase, methionine synthase, methionine synthase reductase, and the risk of colorectal cancer. *Int J Biol Sci* 2012; 819–30.
12. Kang SS, Wong PW, Susmano A, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991; 536–45.
13. Weisberg I, Tran P, Christensen B, et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab* 1998; 169–72.
14. Leclerc D, Campeau E, Goyette P, et al. Human methionine synthase: cDNA cloning and identification of mutations in patients of the cblG complementation group of folate/cobalamin disorders. *Hum Mol Genet* 1996; 1867–74.

15. Gaughan DJ, Kluijtmans LA, Barbaux S, et al. The methionine synthase reductase (MTRR) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations. *Atherosclerosis* 2001; 451–6.
16. Debette S, Markus HS. The genetics of cervical artery dissection: a systematic review. *Stroke* 2009; e459–66.
17. Giusti B, Porciani MC, Brunelli T, et al. Phenotypic variability of cardiovascular manifestations in Marfan Syndrome. Possible role of hyperhomocysteinemia and C677T MTHFR gene polymorphism. *Eur Heart J* 2003; 2038–45.
18. Sbarouni E, Georgiadou P, Analitis A, et al. High homocysteine and low folate concentrations in acute aortic dissection. *Int J Cardiol* 2013; 463–6.
19. Agota A, Agg B, Benke K, et al. (The establishment of the Marfan syndrome biobank in Hungary – Erratum). *Orv Hetil* 2012; 600.
20. Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet* 2010; 476–85.
21. Vahanian A, Alfieri O, Andreotti F, et al. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012): the Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur J Cardiothorac Surg* 2012; S1–44.
22. Treasure T, Takkenberg JJ, Pepper J. Surgical management of aortic root disease in Marfan syndrome and other congenital disorders associated with aortic root aneurysms. *Heart* 2014; 1571–6.
23. Shimizu H, Kasahara H, Nemoto A, et al. Can early aortic root surgery prevent further aortic dissection in Marfan syndrome? *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2012; 171–5.
24. Song HK, Kindem M, Bavaria JE, et al. Long-term implications of emergency versus elective proximal aortic surgery in patients with Marfan syndrome in the Genetically Triggered Thoracic Aortic Aneurysms and Cardiovascular Conditions Consortium Registry. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2012; 282–6.
25. Bottiglieri T, Parnetti L, Arning E, et al. Plasma total homocysteine levels and the C677T mutation in the methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene: a study in an Italian population with dementia. *Mech Ageing Dev* 2001; 2013–23.
26. Judge DP, Dietz HC. Marfan's syndrome. *Lancet* 2005; 1965–76.
27. Doronzo G, Russo I, Mattiello L, et al. Homocysteine rapidly increases matrix metalloproteinase-2 expression and activity in cultured human vascular smooth muscle cells. Role of phosphatidyl inositol 3-kinase and mitogen activated protein kinase pathways. *Thromb Haemost* 2005; 1285–93.
28. Ikonomidis JS, Jones JA, Barbour JR, et al. Expression of matrix metalloproteinases and endogenous inhibitors within ascending aortic aneurysms of patients with Marfan syndrome. *Circulation* 2006; I365–70.
29. Raaf L, Noll C, Cherifi Mel H, et al. Myocardial fibrosis and TGFB expression in hyperhomocysteinemic rats. *Mol Cell Biochem* 2011; 63–70.
30. Neptune ER, Frischmeyer PA, Arking DE, et al. Dysregulation of TGF-beta activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome. *Nat Genet* 2003; 407–11.
31. Chung AW, Au Yeung K, Sandor GG, et al. Loss of elastic fiber integrity and reduction of vascular smooth muscle contraction resulting from the upregulated activities of matrix metalloproteinase-2 and -9 in the thoracic aortic aneurysm in Marfan syndrome. *Circ Res* 2007; 512–22.
32. Hubmacher D, Cirulis JT, Miao M, et al. Functional consequences of homocysteinylation of the elastic fiber proteins fibrillin-1 and tropoelastin. *J Biol Chem* 2010; 1188–98.
33. Selamet Tierney ES, Levine JC, Chen S, et al. Echocardiographic methods, quality review, and measurement accuracy in a randomized multicenter clinical trial of Marfan syndrome. *J Am Soc Echocardiogr* 2013; 657–66.
34. McLoughlin D, McGuinness J, Byrne J, et al. Pravastatin reduces Marfan aortic dilation. *Circulation* 2011; S168–73.
35. Brooke BS, Habashi JP, Judge DP, et al. Angiotensin II blockade and aortic-root dilation in Marfan's syndrome. *N Engl J Med* 2008; 2787–95.