

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar
Biológiai Intézet

Chromogranin-A vizsgálata 1-es típusú diabetes mellitusban

Készítette: Herold Zoltán

Témavezető: Prof. Dr. Somogyi Anikó

Egyetemi tanár

Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar

II. sz. Belgyógyászati Klinika

Belső konzulens: Dr. Kabai Péter, PhD

Egyetemi docens

SZIE ÁOTK, Biológiai Intézet

Ökológiai tanszék

Budapest

2014

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	ii
Rövidítésjegyzék.....	iv
Bevezetés.....	1
I. Elméleti összefoglaló	2
1. Az 1-es típusú diabetes mellitus.....	2
1.1 A diabetes mellitus meghatározása és felosztása.....	2
1.1.1 A diabetes mellitus kórisméje	2
1.1.2 A diabetes mellitus osztályozása	2
1.2 Epidemiológia.....	3
1.3 Az 1-es típusú diabetes mellitus pathogenezise.....	4
1.3.1 Az autoimmun folyamat	4
1.3.2 Genetikai tényezők szerepe 1-es típusú diabetesben.....	5
1.3.3 Vírusok szerepe	5
1.3.4 A regulátoros T-sejtek szerepe.....	5
1.4 A diabetes mellitus szövődményei.....	6
1.4.1 Autoimmun polyendokrin szindróma (APS)	6
1.5 Gasztrointesztinális elváltozások az 1-es típusú diabetes mellitusban	7
2. Chromogranin-A	8
2.1 A Chromogranin-A biokémiai tulajdonságai	8
2.2 A Chromogranin-A bioszintézise, szekréciója, és regulációja	9
2.3 A Chromogranin-A funkciója a szervezetben	10
2.3.1 A Chromogranin-A intracelluláris funkciói.....	10
2.3.2 A Chromogranin-A extracelluláris funkciói	10
2.4 A Chromogranin-A szervezetbeli eloszlása	11
2.5 A Chromogranin-A diagnosztikai felhasználása	11
2.5.1 A Chromogranin-A, mint keringő tumormarker	12
2.5.2 Chromogranin-A szintek nem onkológiai betegségek esetén	13
2.6 A Chromogranin-A és az 1-es típusú diabetes mellitus kapcsolata.....	13
II. Chromogranin-A vizsgálata 1-es típusú diabetes mellitusban.....	15
1. A vizsgálat célja	15
2. Vizsgálati módszerek és beteganyag	15

2.1 Beteganyag	15
2.2 Mintavétel.....	15
2.3 Chromogranin-A meghatározása	16
2.4 Emelkedett Chromogranin-A észlelését követő vizsgálatok.....	16
2.5 ICA és GAD ₆₅ meghatározása	17
2.6 Rutin- és immunlaboratóriumi paraméterek meghatározása	18
2.7 Statisztikai elemzések	18
3. Eredmények	19
3.1 A vizsgált paraméterek összefüggései az összes beteg adatai alapján.....	20
3.2 A normál Chromogranin-A szinttel rendelkező betegek eredményei.....	22
3.3 A magas Chromogranin-A szinttel rendelkező betegek eredményei.....	23
3.3.1 A vizsgált paraméterek összefüggései	23
3.3.2. A neuroendokrin hyperpláziák szerinti csoportosítás eredményei.....	24
3.4 A normál és magas CgA szintekkel rendelkező csoportok összehasonlítása	27
4. Megbeszélés	28
III. Összefoglalás	31
IV. Summary	32
V. Köszönetnyilvánítás	33
VI. Irodalomjegyzék	34
VII. Mellékletek.....	37
Ábrák	37
Táblázatok.....	44
Témavezetői nyilatkozat	47
HuVetA - SZIA nyilatkozat	48

Rövidítésjegyzék

5-HIAA	5-hidroxi-indolecetsav
ACTH	adrenokortikotrop hormon
APS	autoimmun poliendokrin szindróma
aTPO	pajzsmirigy peroxidáz elleni autoantitest
BMI	testtömegindex
CD	cluster of differentiation
CgA	Chromogranin-A
CMV	cytomegalovirus
CTLA	cytotoxic T lymphocyte antigen
DNES	diffuse neuroendocrine system
ECL	enterochromaffin szerű
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FSH	follikulus-stimuláló hormon
GADA/GAD ₆₅	glutamic acid decarboxilase autoantibody
GH	növekedési hormon
HbA1C	glikozilált hemoglobin
HDL	high density lipoprotein
HLA	human leukocyte antigen
hsCRP	high sensitive C reactive protein
IA2-A	insulinoma associated proteintyrosine phosphatase antibody
IAA	insulin autoantibody
ICA	icelet cell autoantibody
IDDM	inzulin dependens diabetes mellitus
IGF-1	insulin-like growth factor 1
LADA	latent autoimmune diabetes of adults
LDL	low density lipoprotein
LH	luteinizáló hormon
LYP	lymphoid protein tyrosine phosphatase
LVEF	bal kamrai ejekciós frakció
MHC	major histocompatibility complex
NET	neuroendokrin tumor

NIDDM	nem inzulin dependens diabetes mellitus
NOD	non-obese diabetic
NSE	neuronspecifikus enoláz
OGTT	orális glükóztolerancia teszt
PCA	parietal cell autoantibody
proBNP	B típusú átriális natriuretikus peptid
RIA	Radioimmune assay
rpm	rounds per minute
SD	standard deviance
T1DM	1-es típusú diabetes mellitus
T _{reg}	regulátoros T-sejtek
TAD	thyroid associated disease
TGáz	transzglutamináz enzim
TNF	tumor necrosis factor
TSH	thyroid stimulating hormone
VNTR	variable number tandem repeat

Bevezetés

A diabetes mellitus olyan kórállapot, amelynek középpontjában a szénhidrát-anyagcsere zavara áll, közvetve azonban a zsír,- és protein-anyagcserét is érinti. A betegség lényege az inzulin abszolút vagy relatív hiánya. A diabetes mellitus egy gyűjtőfogalom, amelyen belül az inzulinhatás elégtelenségét okozó kórfolyamat természete alapján jelölünk meg kategóriákat.

A szénhidrátanyagcsere-zavar leggyakrabban 2-es típusú diabetes mellitus formájában nyilvánul meg, melynek alapja a perifériás szövetek inzulinérzékenységének csökkenéséből adódó relatív inzulinhiány és az ehhez általában később társuló β -sejt diszfunkció. A cukorbetegek több, mint 90%-a ebbe a csoportba tartozik.

Az 1-es típusú diabetesre a hasnyálmirigy Langerhans-szigeteiben található, az inzulin elválasztásáért felelős β -sejtek szelektív pusztulásából adódó abszolút inzulinhiány jellemző. Ebbe a csoportba a cukorbetegek körülbelül 10%-a tartozik. [1] Az 1-es típuson belül megkülönböztetünk gyorsan- és lassan progrediáló variánst. A β -sejtek pusztulásához vezető tényezőkről viszonylag keveset tudunk. A háttérben az esetek túlnyomó többségében bizonyítható az autoimmun folyamat jelenléte, azonban a betegség kialakulásáért és fenntartásáért felelős tényezőkről csak töredékes információink és feltételezéseink vannak. Az egyetlen hatékony kezelési lehetőség ma is az inzulin külső forrásból történő pótlása.

A betegségekre jellemzőek a hosszabb-rövidebb fennállást követően kialakuló szövődmények. A cukorbetegség szövődményei alapjaiban érintik a keringést és az immunológiai folyamatokat. Az egészséges populációhoz képest az 1-es típusú cukorbetegek 5-7%-ban alakul ki autoimmun eredetű gastritis, mely rizikófaktora a gasztrointesztinális traktusban kialakuló karcinoid és neuroendokrin sejtes tumoroknak. [2]

A Chromogranin-A egy, a granin-családba tartozó savas kémhatású fehérje, melyet szinte minden endokrin- és neuroendokrin sejttípus képes előállítani. Klinikai diagnosztikai szempontból a Chromogranin-A a legjelentősebb a karcinoid és neuroendokrin sejtes tumorok leggyakoribb peptid szekréciós termékei közül. Emellett megfigyelték, hogy a Chromogranin-A is szerepelhet autoantigénként az 1-es típusú diabetes mellitus kialakulása folyamán. [3]

Jelen dolgozat célja az 1-es típusú diabetes mellitus, a Chromogranin-A, és a neuroendokrin sejtes tumorok közötti kapcsolatok ismertetése, illetve a munkacsoportunk által kezelt panasz és tünetmentes 1-es típusú cukorbetegekben a Chromogranin-A szintek meghatározása és kapcsolata a különböző paraméterekkel.

I. Elméleti összefoglaló

1. Az 1-es típusú diabetes mellitus [4, 5, 6]

1.1 A diabetes mellitus meghatározása és felosztása

A diabetes mellitus (cukorbetegség vagy cukorbeteg) olyan anyagcsere-betegség, melynek középpontjában a szénhidrát-anyagcsere zavara áll. A kórfolyamat következményesen érinti a zsír- és a fehérje-anyagcserét is, illetve számos egyéb szerv károsodását is okozhatja. Alapvető oka az inzulin teljes vagy részleges hiánya, illetve az inzulinhatás elmaradása.

A cukorbetegség csak látszólag egységes kórkép, számos típusa és besorolása ismert. Klinikai tünetei is attól függenek, hogy milyen típusú diabetesről van szó.

1.1.1 A diabetes mellitus kórisméje

A cukorbetegség kórisméjét a klinikai tünetek keltette gyanú alapján, illetve szűrővizsgálat során a vércukor-meghatározás eredménye biztosítja. A cukorbetegség klasszikus tünetei a vizelet mennyiségének megnövekedése, a folyamatos szomjúságérzet miatt kialakuló fokozott folyadékfelvétel, és az egyéb okokkal nem magyarázható fogyás. Fáradtságérzés és hányinger is jelentkezhet, melyek akár a ketózis tünetei is lehetnek. Visszatérő, nehezen gyógyuló fertőzés is felhívhatja a figyelmet a betegségre. Súlyos esetben a kialakuló hyperglykaemiás ketoacidózis vagy a nem ketotikus hyperosmolaris állapot tudatzavarhoz, eszméletvesztéshez vezethet, ami kezelés nélkül akár halált is okozhat.

A betegség diagnosztizálásához vénás plazmát használnak, és minden esetben laboratóriumi módszerrel határozzák meg a vércukrot. A betegség megállapításához egyaránt használható a nap bármely szakában vett (random) vércukorérték ($\geq 11,1$ mmol/l), vagy az éhomi vércukorszint ($\geq 7,0$ mmol/l), vagy az orális glükóztolerancia-teszt (OGTT) során a két óra elteltével levett vér glükóz-szintje ($\geq 11,1$ mmol/l).

1.1.2 A diabetes mellitus osztályozása

A cukorbetegség jelenleg érvényes osztályozása kóroki csoportosításra törekszik.

Az 1-es típusú diabetes mellitusra az inzulint termelő béta-sejtek teljes pusztulása a jellemző, melynek következtében a betegnek az életben maradáshoz inzulin adása szükséges. Inzulin hiányában ketoacidotikus coma, végül halál következik be. A kórkép klasszikus klinikai tünetei jellemzően 35 éves kor előtt jelentkeznek.

Az 1-es típusú diabetes két alcsoportra osztható: autoimmun mechanizmusú (1A) és idiopathiás (1B). Az 1A típusú cukorbetegségben a béta-sejtek pusztulása T-sejtek által közvetített autoimmun reakció következménye. A folyamatot a Langerhans-szigetekben termelődő inzulin- és szigetsejt ellenes autoantitestek jelzik, melyek egyike a betegség felismerésekor 85-90%-ban mutathatóak ki a betegekben. Ez a forma gyakran társul egyéb autoimmun kórképekkel.

Kifejezetten a felnőttkorra jellemző a latens felnőttkori autoimmun diabetes (LADA). Ennek progressziója lassú, tünetei évek alatt alakulnak ki, ami miatt inkább a 2-es típusú diabetesre emlékeztet, attól klinikailag nehezen különíthető el.

Az idiopathiás 1-es típusú diabetes (1B) esetén autoimmun folyamatra utaló jelek nem ismertek, a béta-sejt pusztulás kiváltó oka ezen formánál ma még nem ismert. Az 1B típusú cukorbetegség gyakrabban észlelhető ázsiai és afrikai származású betegekben.

A diabetes leggyakoribb formája a 2-es típusú diabetes mellitus, amelyet az inzulinválasztás és az inzulinhatás károsodása jellemez. Típusos esetben klasszikus tünetek nélkül, elhízáshoz társulva, 35 év felett jelenik meg. Sokszor tünetmentes, a kórisme gyakran már csak a felismert szövödmények – szívizominfarktus, retinopathia, stb. – kapcsán derül ki.

Külön diabetes forma a gestatio diabetes, mely a terhesség során jelentkezik. A fentiek mellett megjelenő egyéb formák egy része pedig genetikai károsodás következményei, illetve ide tartoznak a korábban szekunder diabetesként említett esetek is (pl. a pancreas exokrin állományának megbetegedései miatt, vagy a gyógyszerek kiváltotta diabetes).

1.2 Epidemiológia

A cukorbetegség előfordulása világszerte növekvő tendenciát mutat. Az 1-es típus esetében a növekvő incidenciát oka – a kiváltó okhoz hasonlóan – ismeretlen. Európában körülbelül kétfélmillió ember szenved 1-es típusú diabetesben. [7] Földrajzi eloszlását tekintve az északi féltekén a betegség jóval elterjedtebb.

A diabetes mellitus pontos hazai prevalenciája csak becsülhető: a térségünkre jellemző adatokat és a világméretű trendeket tekintve 5-5,5%-ra tehető a betegség előfordulása, azaz körülbelül félmillió beteggel lehet számolni. A betegek több mint 90%-a 2-es típusú, és csak kevesebb, mint 10%-a tartozik az 1-es típusba. [8] Gyorsabb kialakulása, illetve az életet veszélyeztető akut tünetei miatt az utóbbiról jóval pontosabb adatokkal rendelkezünk. Az 1-es típusú diabetes tekintetében hazánk a közepes incidenciát mutató régiók közé sorolható, azonban eloszlása közel sem egységes: a nyugati országrészben a keleti megyékkel

összehasonlítva 1,3-szor magasabb előfordulási érték volt mérhető. Az incidencia növekedése évente 5,1%, amely valamennyi fluktuációt leszámítva lineáris tendenciát mutat. [9]

1.3 Az 1-es típusú diabetes mellitus pathogenezeise

Az 1-es típusú diabetes mellitus multifaktoriális kórkép. Jelenlegi ismereteink szerint mind genetikai faktorok, mind változatos környezeti tényezők egyidejű megléte szükséges hozzá, hogy adott egyénben a béta-sejtek pusztulásához vezető autoimmun folyamat induljon el.

1.3.1 Az autoimmun folyamat

Az 1-es típusú diabetes mellitus kialakulásának alapját a hasnyálmirigy Langerhans-szigeteiben található, az inzulin elválasztásáért felelős β -sejtek szelektív pusztulása okozza. A térben el nem különülő glukagont termelő α -, és a szomatosztatint termelő δ -sejtek a folyamatban nem érintettek. A folyamat az esetek kisebbik részében ismeretlen eredetű, míg az esetek túlnyomó többségében azonban autoantitestek kimutatásával bizonyítható az autoimmunitás jelenléte a háttérben. Ezeket szigetsejt ellenes autoantitesteknek (ICA: islet cell antibody) nevezzük. Ide tartozik a glutaminsav-dekarboxiláz elleni antitest (GADA: glutamic acid decarboxylase antibody), és a tirozin-foszfátáz elleni antitest (IA2-A: insulinoma associated proteintyrosine phosphatase antibody). Az inzulin ellen is termelődhet antitest (IAA: insuline autoantibody), azonban ez nem része az ICA pozitivitásnak. Legtöbbször ez utóbbi jelenik meg a legkorábban, meghatározásának azonban csak az inzulinkezelés megkezdése előtt van értelme. [4]

Szövettanilag a folyamatot a Langerhans-szigetek mononuclearis sejtes infiltrációja jellemzi, amelyet insulitis névvel jelölünk (1. ábra, Mellékletek: 37. oldal).

A béta-sejtek károsításában a CD4⁺ és CD8⁺ T-sejtek, valamint a macrophagok szerepe tűnik a legvalószínűbbnek. [5] A közvetlen destrukció pórusképzés (CD8⁺ sejtek) és a β -sejtekre toxikus TNF- α termelése (macrophagok) révén valósul meg. [11]

Egészen új megfigyelés, hogy a Chromogranin-A is szerepelhet autoantigénként az 1-es típusú diabetes mellitus kialakulása során. Stadinski és mtsai. az 1-es típusú cukorbetegség kísérletes modelljeként szolgáló NOD (non-obese diabetic) egerekben izolálták a Chromogranin-A részét képező WE14 fehérjét, mint az erősen diabetogén CD4⁺ sejtek által felismert antigént. A WE14 atípusosan kötődik az MHC-II molekulához, erősítve azt a feltételezést, hogy az autoreaktív T-sejtek rendellenesen prezentált saját fehérjékkel reagálnak. [3]

1.3.2 Genetikai tényezők szerepe 1-es típusú diabetesben

Bár a betegség patomechanizmusát összefüggéseiben még nem ismerjük, jelenleg négy genetikai tényező szerepe valószínű a folyamat elindításában és fenntartásában. Az iker- és családvizsgálatok alapján a genetikai faktorok szerepe a betegség kialakulásában 40-60% közöttire becsülhető. [9]

Az autoimmun betegségek többségéhez hasonlóan az 1-es típusú diabetes is összefügg bizonyos HLA haplotípusok jelenlétével. Hajlamosító tényezőnek tartjuk a HLA-DR3 és HLA-DR4, valamint a DQ8 és DQ2 allélok meglétét. [4]

Az inzulin génjében fellelhető polimorfizmusoknak is komoly jelentőséget tulajdonítanak. Akiknél az inzulin-géneen rövidebb VNTR szakaszok találhatók, azok nagyobb eséllyel betegszenek meg, mint akik hosszabb szakaszokat hordoznak.[7]

A harmadik gén, amelynek jelentős szerepet tulajdonítanak, a CTLA-4. A géntermék gátolja a T-sejtek aktivációját. Csökkent expresszióját hajlamosító, míg többletmennyiségű jelenlétét protektív tényezőnek vélik kísérletes adatok alapján. [12] A negyedik gén, mely a betegség kialakulásához hozzájárulhat a PTPN22 gén terméke, a LYP fehérje. Ez szintén a T-sejt aktivációt képes gátolni. [7]

1.3.3 Vírusok szerepe

Több adat is alátámasztja az 1-es típusú diabetes kialakulásában különböző vírusok szerepét (2. ábra, Mellékletek: 37. oldal). Legvalószínűbbnek az entero-, rota-, Coxsackie-B, rubeola és CMV vírusok szerepe tűnik. [4]

1.3.4 A regulátoros T-sejtek szerepe

Folyamatosan növekszik azoknak az adatoknak a száma, amelyek a regulátoros T-sejtek (T_{reg}) fontosságát támasztják alá az autoimmun betegségek kialakulásában. A T_{reg} sejtek mind a $CD4^+$, mind a $CD8^+$ szubpopuláción belül megtalálhatóak. A perifériás $CD4^+$ szubpopulációnak körülbelül 5-10%-át teszik ki.

Meggyőző adatok szólnak amellet, hogy az autoimmun eredetű 1-es típusú diabetes kialakulásában is szerepe lehet a regulátoros T-sejtek nem megfelelő működésének. A $CD4^+CD25^+$ T_{reg} sejtek képesek mind a többi $CD4^+$ sejt, mind a $CD8^+$ sejtek proliferációját és citokintermelését gátolni. Egyes megfigyelések szerint 1-es típusú diabetesben szenvedő betegek az egészséges kontrollszemélyekkel azonos mennyiségű T_{reg} sejtrel rendelkeznek, ezek azonban nem képesek megfelelően ellátni funkciójukat.[13]

1.4 A diabetes mellitus szövődményei

A diabetes mellitusra jellemzőek a hosszabb-rövidebb fennállás során kialakuló szövődmények. A cukorbetegség szövődményei érintik a keringést és az immunológiai folyamatokat, amelyek egyéb specifikus szövetkárosodásokkal együtt jelentős életminőségromláshoz, magasabb mortalitáshoz vezetnek.

A cukorbetegség immunszuprimált állapotnak tekinthető, aminek következtében az egészséges populációhoz képest gyakoribbak a bőrön át terjedő infekciók. Az immunrendszer csökkent működése és a keringés elégtelensége együttesen tehetőek felelőssé a cukorbetegekben tapasztalható elhúzódó sebgyógyulásért és fokozott műtéti kockázatért. A cukorbetegnek szív-érrendszeri kockázata jelentősen magasabb a normális szénhidrát-anyagcserével rendelkező társaikénál. [14]

Az 1-es típusú diabetes súlyos akut szövődménye a diabeteses ketoacidózis, illetve az ezt követő még súlyosabb állapot, a ketoacidoticus kóma. Mortalitása az inzulin felfedezése előtt 100% volt, mára ez 4-8% közöttire szorult le. [4]

1.4.1 Autoimmun polyendokrin szindróma (APS) [15]

Az elmúlt évtized egyik váratlan és nagy biológiai felfedezése volt, hogy a pszicho-neuro-endokrin- és az immunrendszer nemcsak kölcsönhatásban vannak egymással, hanem közös biokémiai jeleket használnak. Ennek a sokrétű kölcsönhatásnak még nem ismerjük minden részletét, azonban jelen ismeretink már elégségesek annak kimondására, hogy nem egymástól elkülönült, hanem egy integrált pszicho-neuro-endokrin-immunrendszer felelős a szervezet homeosztázisának a megőrzéséért. Ennek a kényes egyensúlynak a felborulása különböző kóros állapotokhoz, így például autoimmun eredetű betegségek kialakulásához vezethet.

Az autoimmun polyendokrin szindróma (APS) több autoimmun pathogenezisű endokrin betegség társulását jelenti. Az autoimmun polyendokrin szindrómák két típusa esetén figyelhető meg az 1-es típusú diabetes mellitus megjelenése: az APS-2 és az APS-3A esetén.

Az autoimmun polyendokrin szindróma II – vagy korábban Schmidt szindrómának nevezett megbetegedés – során a betegek 100%-ában Addison-kór alakul ki, amelyhez kisebb arányban (70%) autoimmun eredetű thyreoiditis és/vagy 1-es típusú diabetes mellitus (52%) társul. A vezető két fő betegség társulását további ún. „minor” betegségek is színezhetik. Ilyenek például a vitiligo, az atrophiás gastritis, az autoimmun hepatitis, az alopecia és az aneamia perniciosa. A betegség a 30-40. életév között manifesztálódik, és az életkor előrehaladtával gyakorisága növekszik. A klinikai tünetek az egyes társuló alapbetegségekével egyeznek meg.

Az APS-3-at eredetileg Neufeld definiálta, mint a pajzsmirigy autoimmun megbetegedéseinek (thyroid associated disease /TAD/), valamint a felsoroltak közül még egy autoimmun betegség társulását: 1-es típusú diabetes mellitus, atrophiás gastritis, anaemia perniciosa, vitiligo, alopecia, myasthenia gravis. Az autoimmun TAD-kórképekhez a betegek több mint felénél az egyéb autoimmun kórképek szubklinikus/inkomplett formában vannak jelen.

A vizsgált esetekben az 1-es típusú cukorbetegséghez 5,7%-ban társult autoimmun eredetű pajzsmirigy-megbetegedés, 0,5%-ban anaemia perniciosa és 0,1%-ban Addison-kór. Ugyanakkor az Addison-kórban szenvedő betegek esetében 8-20%-ban kimutatható volt az 1-es típusú cukorbetegség megjelenése.

1.5 Gasztrointesztinális elváltozások az 1-es típusú diabetes mellitusban

Az egészséges populációhoz képest 1-es típusú cukorbetegségben két-háromszor gyakrabban jelennek meg parietális sejt ellenes autoantitestek (PCA). A PCA pozitív betegek közel egyharmadában alakul ki autoimmun eredetű gastritis. A PCA pozitivitás befolyásolja az intrinsic faktor szekrécióját is, melynek gátlása következtében vészes vérszegénység alakulhat ki, mely 10-szer gyakoribb 1-es típusú diabeteses betegek esetében. A krónikus hipergasztrinémiából kialakuló karcinoid gyomor daganatok az autoimmun gastritisban/vészes vérszegénységben szenvedő betegek 4-9%-ában alakul ki.

Az 1-es típusú cukorbetegségben az autoimmun gastritisből kialakul gastropathia klinikai jelentősége sokszor alulértékelt. Az autoimmun gastropathia korai diagnózisa T1DM betegek esetén rendkívül fontos a vashiányos- és vészes vérszegénység, az enterokromaffin-szerű (ECL) sejtes hiper- és diszplázia, illetve a karcinoid daganatok megelőzése és kezelése szempontjából.

De Block és munkatársai vizsgálataik során PCA pozitív (PCA⁺) és negatív 1-es típusú cukorbetegségeket vizsgáltak. A PCA⁺ autoimmun gastritisben szenvedő betegek 33%-ánál találtak proliferatív ECL-sejtes elváltozásokat, beleértve egy esetben karcinoid gyomor daganatot is. A teljes lakosságra vonatkoztatva a PCA pozitivitást 9%-ra becsülik. Javaslatuk alapján az 1-es típusú diabeteses betegek PCA pozitivitását rendszeresen tesztelni kellene, különösen azon esetekben, ahol a diabetes felfedezése 3 éven belül történt és ICA, GAD₆₅ és thyroïd peroxidáz antitest pozitivitás igazolt. [2]

2. Chromogranin-A [16, 17]

A Chromogranin-A (CgA) egy, a granin glükoprotein-családba tartozó savas kémhatású, hidrofil, 439 aminosavból (48kDa) álló fehérje, melyet szinte minden endokrin és neuroendokrin sejttípus képes előállítani. A chromogranin elnevezés 1967-ben született, mikor is Blashko és mtsai. szarvasmarhák chromaffin típusú granulumaiból szolubilis fehérjéket izoláltak. Ezeket chromograninoknak [18], és a felfedezett fehérjék fő komponensét pedig Chromogranin-A-nak nevezték el. [19] (1. táblázat, Mellékletek: 44. oldal)

Emberekben a CgA termelése a terhesség 6. és 8. hete között észlelhető először az embrióban. Elsőként a mellékvese primordiumában jelenik meg a CgA és annak mRNS-e. Az előzővel közel azonos időben, a 8. terhességi hét tájékán kezdődik meg az emésztőszervek endokrin sejtjeiben a CgA termelése. Majd az előbbieket kicsit később, a 9. héten „nagy méretű sejtek” megjelenése is követi, amik a chromaffin sejtek előalakjai lehetnek. [20]

Az ember szervezetében az alábbi sejtek képesek például a CgA előállítására: a mellékvese medulla chromaffin sejtjei, az idegrendszerben a paraganglion csomók neuroendokrin sejtjei, illetve a pancreas enterochromaffin-szerű- és béta-sejtjei.

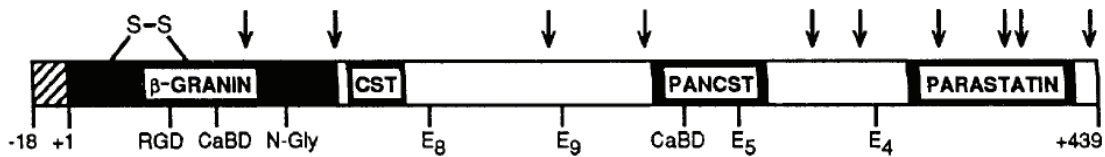
2.1 A Chromogranin-A biokémiai tulajdonságai

A Chromogranin-A felépítését tekintve nagy számban tartalmaz glutaminsavat és aszpartámsavat (25%), illetve prolint (10%), mely molekulák a fehérje savasságát illetve hidrofil tulajdonságait adják.

A molekula aminosav sorrendjében több helyen felfedeztek olyan oligoglutaminsavból álló szakaszokat, melyek a molekula harmadlagos és negyedleges szerkezetében játszhatnak fontos szerepet. Az ezeken a szakaszokon kialakuló negatív töltés miatt a fehérje α -hélix szerkezetének kialakulása nem lehetséges, és a molekula közel 60-65%-ában random coil szerkezet alakul ki, és csak körülbelül 25%-ban α -hélix, illetve 10%-ban β -redő.

Az érett CgA mérete az egyes fajokban változó lehet. Körülbelül 2100 bázispár hosszúságú mRNS kódolja a fehérjét. A vizsgált emlős fajok esetében a legkisebb 430 aminosavból álló CgA fehérjével a sertések, míg a legnagyobb 445 aminosavból álló variánssal az egerek rendelkeznek. A humán CgA fehérje 439 aminosavból áll. Minden faj CgA fehérjéje esetében megfigyelték, hogy az tartalmaz két darab amino-terminális cisztein reziduúmot (Cys¹⁷-

Cys³⁸), melyek egy diszulfid hidat alkotnak egymással. Ezen szerkezeti sajátosság megfigyelhető a Chromogranin-B, és egyéb, a granin-családba tartozó fehérjéken is (3. ábra).



3. Ábra

A humán Chromogranin-A szerkezete, strukturális és funkcionális doménjei. A nyíllal jelölt helyeken található szekvenciák feldolgozó enzimek szubsztrátjaiként szolgálhatnak. A molekula egyes részei megegyeznek több biológiailag aktív peptiddel: a β-graninnal, a chromostatinnal (CST), a pancreastatinnal (PANCST) és a parastatinnal. Forrás: [24].

A Chromogranin-A számos más biológiailag aktív peptid kiindulási alakja. Ilyenek például a pancreastatin, a β-granin, a chromostatin, a vasostatin és a parastatin. A fehérje posztranszlációs módosulásai során a molekula mérete jelentősen megnőhet (akár 75-80kDa).

2.2 A Chromogranin-A bioszintézise, szekréciója, és regulációja

Számos intracelluláris hírvivő rendszer vesz részt a Chromogranin-A bioszintézisének szabályozásában. A protein kináz C például foszforilációs eseményeken keresztül szabályozza a CgA bioszintézisét, mely sejt specifikus, és a sejten belüli kalcium is fontos szerepet tölt be. A hisztamin, a kolinerg antagonisták nikotin, az angiotenzin II, a prosztaglandin E2 és a kálium-ionok is elősegíthetik a Chromogranin-A bioszintézisét, melyet feszültségfüggő kalcium-ioncsatornák aktiválásával fokoznak. A CgA normál körülmények között nagy mennyiségben termelődik a szervezetben. Szérum szintjének intenzívebb növekedése nem emelkedett génátírásra utal, hanem valamilyen rendellenesség kialakulását mutathatja.

A humán CgA-gén egyetlen másolatban található meg a genomban, a 14q32 lókuszon 12.194 bázispár, és 8 exon alkotja. A CgA-gén exonjainak szerveződése némi egyezést mutat a fehérje funkcionális területével is. Mivel több polipeptidhormon és neurotranszmitter is közösen fejeződik ki a Chromogranin-A molekulával, az egyes szövetekben a CgA a módosító jelek széles skálájára képes reagálni. A transzlációt követően a CgA molekulák a durva felszínű endoplazmatikus retikulumba, majd a Golgi apparátusba szállítódnak. A transz-Golgi hálózatban az újonnan kialakuló neuroendokrin granulumokban halmozódnak fel, majd az endoproteázok proteolitikus módosításait követően biológiailag aktív fehérjékké alakítódnak át.

A Chromogranin-A gén expresszióját különböző szteroid hormonok is befolyásolhatják. Például az agyalapi mirigyben a különböző glükokortikoidok fokozzák, az ösztrogén pedig gátló hatással bír a CgA termelésre.

2.3 A Chromogranin-A funkciója a szervezetben

A Chromogranin-A megfelelő biológiai aktivitásához a fehérje proteolitikus módosulásai szükségesek, melyek mind intracellulárisan, mind extracellulárisan végbemehetnek. A Chromogranin-A-ból több, biológiailag aktív fehérje is kialakulhat. A CgA-ból kialakuló összes ismert fehérje biológiai hatásának pontos mechanizmusa ma még nem ismert, a háttérben feltehetően valamilyen plazma membrán receptor mediált folyamat állhat.

2.3.1 A Chromogranin-A intracelluláris funkciói

A Chromogranin-A intracelluláris funkciói közül kalcium-kötő képessége emelendő ki. A molekula több régiója megfeleltethető jól ismert kalcium-kötő proteinekkel, mint például a kalmodulin vagy a bélrendszeri kalcium-kötő proteinekkel. A CgA nagy kapacitású és alacsony affinitású kalcium-kötő fehérje, melyet elsősorban a szekréciónak granulumban történő felszabadulása során a változó pH szabályoz. A CgA képes peptidhormonok és neurotranszmitterek válogatására, majd azok szekréciónak granulumba csomagolására. In vitro vizsgálatokkal bizonyítani tudták, hogy a CgA alacsony pH és magas kalcium koncentráció mellett képes összekapcsolódni olyan peptidhormonokkal, mint például a mellékpajzsmirigy parthormonja, míg más hormonokkal, mint a szérumban oldott albumin, ilyenre nem képes, így elősegítve az előző peptid kiválasztását. [21]

A CgA másik fontos intracelluláris funkciója, hogy képes egyes prohormonok modulálására. Egyes kísérletek alapján a CgA képes kompetitív inhibitorként funkcionálni a pro-enkephalin in vitro feldolgozása során. A CgA relatív mennyisége a különböző sejttípusokban befolyásolhatja a prohormon konvertáz enzimek feldolgozó mértékét, miközben a differenciális génkifejeződésben nem játszik szerepet.

2.3.2 A Chromogranin-A extracelluláris funkciói

Jelenlegi tudásunk szerint a Chromogranin-A és a belőle kialakuló fehérjék extracellulárisan az endokrin sejtek kiválasztási aktivitásában modulátorként működnek.

Az első bizonyítékot, hogy a Chromogranin-A más hormonfehérjék előalakja, a glükóz-indukálta inzulin kibocsátást gátló pancreastatin adta. A pancreastatin nagymértékű hasonlóságot mutat a sertésből izolált CgA fehérje 240. és 288. aminosav közötti szakaszával.

Fentiekből arra következtettek, hogy a keletkezett fehérje a szervezetben in vivo alakulhat ki a CgA molekulából. [22]

A pancreastatin mellett további, a CgA-ból származtatható, biológiailag aktív fehérjét fedeztek fel. Ezek egyike a 20kDa méretű β -granin, amely a CgA 1-128. aminosav közötti szakaszának feleltethető meg. A fehérje a pancreas β -sejtjeiben termelődik. In vitro kísérletek során parathyreoidea-sejt szekréciót gátló hatást mutattak ki, azonban pontos funkciója a szervezetben nem ismert.

Szintén in vitro kísérletekkel tudták igazolni, hogy a vasostatin, mely szintén a β -granin szekvencián belül található (CgA-[1-76]), gátolja a véredények TNF- α által indukált permeabilitását és az endoteliális sejt-proliferációt.

2.4 A Chromogranin-A szervezetbeli eloszlása

A legnagyobb mennyiségű Chromogranin-A a mellékvese velőállományának chromaffin sejtjeiben fordul elő, illetve a szimpatikus idegrostok elektrondenz vezikulumaiban. Az egyes neuroendokrin sejtekben a CgA tartalom a szövet típusa szerint változik. A központi és perifériás idegrendszer, az agyalapi mirigy és a mellékpajzsmirigy szintén CgA-ban gazdag területek. Megtalálhatók CgA-t termelő sejtek a pajzsmirigy kalcitonin termelő C-sejtjeiben, és a hasnyálmirigy inzulin- és glukagon termelő exokrin szöveteiben is. A CgA jelenléte kimutatható a tüdőben, a lépben, a prosztatában, a csecsemőmirigyben, és a gyomor-bél traktusban található diffúz neuroendokrin rendszerben (DNES) is.

Fentiek mellett a Chromogranin-A számos neuroendokrin daganatban is megjelenik. A CgA-t expresszáló tumorok tipikusan karcinoid eredetűek.

2.5 A Chromogranin-A diagnosztikai felhasználása

A Chromogranin-A kimutatása szérumból vagy plazmából lehetséges radioimmunassay (RIA) vagy ELISA technikákkal. Fontos hangsúlyozni, hogy a nemzetközi ajánlásoknak megfelelően – legyen szó RIA vagy ELISA technológiáról – a detektáláshoz csak a CisBio cég kettős, monoklonális antitestet használó reagensei használhatóak.

Külön említést érdemel, hogy a gyomor hypoaciditása, az atrophias gastritis, valamint a savszekréció-gátlás (pl. protonpumpagátló kezelés) emeli a szérumból CgA szintet. [23] A CgA mérése előtt az ilyen típusú kezelések felfüggesztése javasolt, a gyógyszertípustól függően legalább három felezési idő erejéig. [24]

2.5.1 A Chromogranin-A, mint keringő tumormarker

A karcinoid tumorok leggyakoribb peptid szekréciós termékei közül klinikai diagnosztikai szempontból a Chromogranin-A a legjelentősebb. A szövetmintákban a CgA pozitívitas a daganatok neuroendokrin sejtes eredetére utal. A legmagasabb CgA szinteket a gastrointestinális rendszer neuroendokrin sejtes tumorai esetében regisztrálták, különösen a vékonybél karcinómái és a hasnyálmirigy kóros szigetsejtjei esetében.

A Chromogranin-A vizsgálata különösen kényelmes azokban az esetekben, amikor a daganat nem termel elegendő mennyiségű egyéb hormont, vagy ha az egyéb szérumbeljelzők – pl. a katekolaminok és a szerotonin – mennyisége rendkívül gyorsan változik. A vérben keringő CgA a tumoros betegek mellett egészséges egyéneknél is megfigyelhető, a meghatározások során a kapott értékek kortól és nemtől függetlenek. A legtöbb CgA-t termelő daganat esetén a fehérje vérkoncentrációja jelentősen meghaladja a normál tartomány felső határát, így a fals pozitív és negatív eredmények előfordulása nem jellemző.

A tumoros betegségek aktivitásának és a kezelés eredményességének nyomon követésében is hasznos a szérumbeljelző CgA koncentráció folyamatos kontrollálása. A CgA érték növekedése a daganatos folyamat progresszióját, a tumormassza növekedését is jelzi. [25]

A karcinoid tumorok kimutatására a CgA specifikitása 85-90%-os, érzékenysége pedig 65-75%-os, míg az NSE és a vizeletből származó 5-HIAA specifikitása 100%, azonban érzékenységek jóval alacsonyabb, csupán 30-35%-os. [2]

A CgA leginkább neuroendokrin eredetű tumorok kimutatására alkalmas, melyek főként a gyomor-bél traktusban alakulnak ki. Ezek mellett a CgA-t olyan endokrin eredetű neoplazmák is termelhetik, melyek ACTH-t, FSH-t, GH-t, LH-t, és TSH-t is termelnek.

A neuroendokrin tumorok (NET) ritka, rendszerint lassan növekvő daganatok, melyek jellemzője, hogy különféle peptideket és neuroaminokat tárolnak és szekretálnak. Incidenciájuk emelkedése mára 1 millió személyből elérte a 40–50 esetet, azonban ez inkább a diagnosztikai lehetőségek tökéletesedésének köszönhető, mintsem valódi emelkedést tükröz. A NET jellegzetességének számítanak a hosszú ideje fennálló hasi panaszok, amiket sajnos gyakran tévesen irritábilis bél szindrómának tulajdonítanak. A korrekt diagnózis felállításáig sok esetben a daganat már áttéteket is ad (medián 9,2 év), melynek kapcsán olyan tünetek jelentkeznek, mint például a bőr kipirulása, hypoglykaemia vagy hasmenés. Amennyiben nem történik meg a biopsziás minta vizsgálata a különböző szekretoros peptidek irányában, mint például a CgA, a tumor(oka)t hibásan adenokarcinomaként sorolhatják be. [25, 26]

Az egyes nem neuroendokrin eredetű tumorok esetében is megfigyelhetőek emelkedett CgA értékek, mivel a neuroendokrin tumorsejtek elszórtan megjelenhetnek a kialakult

neoplasiákban, vagy esetleg kisebb klasztereket hozhatnak létre azok szöveteiben. Például a prosztata adenokarcinómáknál mind a CgA és a prosztata-specifikus antigének megjelenését is megfigyelték. Az ilyen, neuroendokrin differenciálódású prosztatarák a daganat terápiákkal szembeni nagyobb ellenállására és a betegség rosszabb prognózisára utal.

2.5.2 Chromogranin-A szintek nem onkológiai betegségek esetén

Különböző mértékben emelkedett CgA szintek detektálhatók azon esetekben, ha a vizsgált személy valamilyen gyulladásos bélbetegségben (pl. Crohn betegség), előrehaladott májelégtelenségben, szívelégtelenség vagy atrófiás gastritisben szenved. Az atrófiás gastritis esetén a magasabb CgA szintek a gasztrin enterochromaffin-szerű (ECL) sejtekre kifejtett stimulációja miatt alakulnak ki.

A legtöbb jelentős CgA növekedésről a veseelégtelenség miatt kialakuló csökkent peptid szekréció esetén számoltak be. Intenzív sympathoadrenalis stimuláció (stressz, testmozgás) képes akár a normális kétszeresére is megnövelni a CgA szintjét. Illetve enyhe CgA emelkedésről számoltak be menopauzás nők esetén is.

A vazosztatin (vazosztatin-1 és vazosztatin-2), mely a Chromogranin-A N-terminális fragmentuma, az értónus befolyásolása révén szabályozza a vérnyomást. E hatás független az endotélium jelenlététől, és a vénákban az extracelluláris kalciumszint függvénye.

A CgA és a humán artériás hipertenzió közötti összefüggés első bizonyítéka 1985-ből származik, mikor is O'Connor és munkatársai megfigyelték, hogy magas vérnyomás mellett magasabb a keringésben lévő CgA szintje, mint egészséges személyeknél.

Vizsgálatokkal igazolták, hogy egyes CgA-eredetű peptidek képesek gátolni a katekolamin felszabadulását. A katekolamint gátló molekulának a katesztatin (humán CgA-[352–372]) nevet adták. Hypertoniás betegeknél, illetve a magas vérnyomás szempontjából fokozott genetikai kockázattal rendelkezőknél alacsonyabb katesztatinszintek mérhetők, mint egészséges kontrollszemélyeknél. Végstádiumú vesebetegségben szenvedő hipertoniás betegeknél szintén csökkent a katesztatin szintje. [27]

2.6 A Chromogranin-A és az 1-es típusú diabetes mellitus kapcsolata

Az autoreaktív T-sejteknek a β -sejtek ellen termelt antigénjei központi szerepet játszanak a pancreas β -sejtjeinek pusztulásában mind a humán 1-es típusú cukorbetegségben, mind pedig a T1DM modellállataiban, a nem-obes diabeteszes (NOD) egerekben. A korán felfedezett autoreaktív T-sejtek jelenléte a β -sejtek pusztulását jelezhetik előre, illetve a pre-diabeteszes állapotok biomarkerei lehetnek.

Stadinski és munkatárai proteomikai módszerekkel megállapították, hogy a Chromogranin-A a vizsgált diabetogén CD4+ T-sejt klónok antigénjeként funkcionál. A klónokat egy átfedő peptiddel, a WE14-el aktiválták, ami a CgA egy természetes hasítási terméke (CgA-[359-372]). A WE14-en megtalálható antigén motívum ellenére hiányoznak róla azon amino-(N)-terminális aminosavak, amelyek elfoglalnák az MHC II antigénjének, az I-A^{g7} p1-p4 közötti peptidkötő helyeit, melyek rendszerint szükségesek a stabil MHC II kötés megteremtésében. Adataik alapján feltételezhető, hogy a WE14 karboxil-terminálisa aspecifikus kölcsönhatást alakít ki az I-A^{g7} egy olyan kötőhelyén, mely kívül esik a szokásos peptidkötő barázdán.

Szintén Stadinskiék megfigyelése, hogy a WE14 termelése, a Chromogranin-A-hoz hasonlóan, a különböző neuroendokrin szövetekben széles körben megfigyelhető. A termék megjelenését a hasnyálmirigy β -sejtjein és más gastro-entero-pancreatikus szöveteken kívül is megfigyelték, mint például a mellékvesékben. Jelenlegi tudásunk szerint nem ismert, hogy e szövetekben a NOD egerekben miért nem alakulnak ki autoimmun folyamatok. Az egyik feltevés szerint a CgA a hasnyálmirigyben csak akkor működhet antigénként, ha hasnyálmirigy-specifikus poszttranszlációs módosításokon esik át. Míg egy másik elmélet szerint a β -sejtek szelektív pusztulása annak tulajdonítható, hogy nagyobb érzékenységet mutatnak a gyulladásoz károsodásokra, mint az a többi szekretoros pancreas sejttípus esetén megfigyelhető. [3]

A WE14 fehérje antigén aktivitása szöveti transzglutamináz enzim (TGáz) kezelés hatására drámaian megnövekszik. A TGáz különböző fehérjék módosítását katalizálja, amelyek jellemzően dezamidálások és a fehérjék keresztkötéseinek átalakításai. A TGáz kezelés hatására bekövetkező magasabb antigenitást a WE14 fehérje esetében egyedül a keresztkötések átalakítása okozza, a dezamidációs módosítások esetén nem figyelhető meg erősebb antigenitás.

Gottlieb és munkatársai frissen diagnosztizált 1-es típusú cukorbeteg és kontrollok között megvizsgálták, hogy a humán CD4+ T-sejt klónok milyen reakciót mutatnak humán WE14-el, vagy annak TGázal átalakított formájával. A tanulmány eredményei alapján a CgA-ból kialakuló WE14 fehérje az autoreaktív sejtek célpontjaként szolgál az újonnan diagnosztizált T1DM betegeknél, míg az egészséges kontroll populációban antigenitás nem volt igazolható. A TGáz enzimmel módosított WE14 egyes betegeknél tovább fokozta az antigén hatást. [28]

II. Chromogranin-A vizsgálata 1-es típusú diabetes mellitusban

1. A vizsgálat célja

Vizsgálatunk során arra kerestük a választ, hogy milyen Chromogranin-A szintek figyelhetők meg a SE II. sz. Belgyógyászati Klinika Anyagcsere ambulanciáján kezelt 1-es típusú cukorbetegekben? A betegek CgA szintjei mellett kíváncsiak voltunk továbbá arra is, hogy található-e összefüggés a szérumban Chromogranin-A szintek és egyéb autoimmun megbetegedések előfordulása, a gyomor nyálkahártyában kimutatott neuroendokrin sejtjes hyperpláziák, és az egyéb rutin- és immunlaboratóriumi paraméterek között?

2. Vizsgálati módszerek és beteganyag

2.1 Beteganyag

Vizsgálatunkban 98, 1-es típusú diabetes mellitusban szenvedő személy vett részt. A betegek életkora $36,7 \pm 11,54$ év (átlag \pm SD) volt. A 98 személyt szérumban Chromogranin-A szintjeik alapján két csoportba osztottuk. A normál tartományon belüli szérumban CgA szinttel rendelkező betegek életkora $36,5 \pm 12,35$ év, míg a normál tartományon kívüli, magas CgA szinttel ($>98,1$ ng/ml) rendelkező betegek életkora $37,7 \pm 8,23$ év volt.

Mivel a savszekréció-gátlás (pl. protonpumpa-gátlóval való kezelés) emeli a szérumban CgA szintet másodlagos hypergastrinaemia és a gyomor enterochromaffin-szerű sejtjeinek serkentése által [23], a vizsgálatban részt vevő személyek ez irányú kezelését ideiglenesen leállítottuk, a vérvétel napja előtti egy hétben a betegek nem szedtek semmilyen savcsökkentő gyógyszert.

2.2 Mintavétel

A vizsgálatban résztvevő személyeknél írásbeli hozzájárulásukat követően éhgyomri vérvétel történt. A vérminták egy részéből, a vizsgálat szempontjából fontosabb laboratóriumi paraméterek meghatározása (vérkép, HbA_{1C}, se glukóz, koleszterin, HDL, LDL, triglicerid, kreatinin, húgysav, gasztrin, IGF-1) az Egyetem Központi-, és az Endokrin laboratóriumában történt. A minták másik részét pedig az általunk elvégzett mérésekhez a Semmelweis Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika Anyagcsere laboratóriumában dolgoztuk fel.

A résztvevő betegektől részletes anamnézist vettünk fel, rendszeresen szedett gyógyszereikről, életmódjukról, étkezési szokásaikról kérdeztük ki őket. Az alapvető fizikális paramétereik – pl. testsúly, testmagasság, vérnyomás – meghatározása is történt.

A Chromogranin-A, GAD és ICA szintek meghatározásához a levett natív véreket 4°C-on 3000rpm-el centrifugáltuk, a szérumot Eppendorf csövekbe pipettáztuk, majd mérésig a mintákat -20°C-on tároltuk.

Fenti vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem Tudományos Etikai Bizottsága engedélyezte.

2.3 Chromogranin-A meghatározása

A szérum Chromogranin-A szintek meghatározására a Cisbio Bioassays CGA-RIACT radioimmunoassay (RIA) kitjét használtuk. A CGA-RIACT egy szilárd fázisú „szendvics” immunradiometriás eljárás, melyhez két féle monoklonális ellenanyagot alkalmazunk. Az első a szilárd fázisra kötve található (bevonatos cső), ehhez kötődik először a CgA molekula, végül pedig a kialakult komplexhez kapcsolódik hozzá a második antigén (125-ös jódtól jelölt radioaktívan jelzett molekula; nyomjelző). A kialakulást követően, ha nincs megfelelő mennyiségű CgA molekula a mintában, a nyomjelző könnyen kimosható a rendszerből.

A kitben található antigénnel bevont csövekbe először 500µl puffer oldatot, majd az előkészített szérum mintákból 50µl-t pipettáztunk. Minden vérmintából duplikátumot készítettünk. A mintákat vortexelést és 18-20 órán át, szobahőmérsékleten (18-25°C) tartó inkubációt követően többször átmostuk. Ezután minden egyes mintához 500µl ¹²⁵I-al jelölt nyomjelző oldatot adtunk. A nyomjelző hozzáadása után egy 120 ± 5 percig tartó inkubáció következett, melyet folyamatos, 400rpm-es rázás mellett végeztünk. Az előkészített minták által kibocsátott maradék gamma-sugárzást gamma-szcintillációs számlálóval, RIA-mat 280 automatizált RIA készülékkel detektáltuk.

A kibocsátott sugárzásból számolt eredmények meghatározásához a kitben található kalibrátor mintákból kapott standard görbét használtuk. Az adatok kiértékeléskor az egyes mintapárok átlagát használtuk.

2.4 Emelkedett Chromogranin-A észlelését követő vizsgálatok

A legtöbb CgA-t termelő daganatos elváltozás esetén a fehérje szérumkoncentrációja jelentősen meghaladja a normál tartomány felső határát. A legmagasabb CgA szinteket a gastrointestinalis rendszer neuroendokrin sejtes tumorai esetében regisztrálták. [17]

Azon esetekben, amikor a vizsgált személyeknél a normál tartománynál magasabb CgA értéket ($>98,1$ ng/ml) találtunk, további vizsgálatok végrehajtását tartottuk szükségesnek. A betegeket, beleegyezésüket követően, biopsziával egybekötött gasztroszkópiás, illetve computertomographiás (CT) vizsgálatokra küldtük tovább.

A hasi CT vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem Transzplantációs és Sebészeti Klinikáján, a gasztroszkópiás vizsgálatokat pedig a Semmelweis Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika gastroenterológiai szakambulanciáján végezték el. A felső panendoscopy vizsgálat során a gyomor 3 területéről – corpus, antrum és pylorus – vettek biopsziás mintát, mely mintákat immunhisztokémiai vizsgálatra küldtünk tovább. Az immunhisztokémiai szövettani vizsgálattal – melyet a Semmelweis Egyetem I.sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetében végeztek – az esetlegesen jelen lévő neuroendokrin sejtes hyperpláziák kimutatása lehetséges.

Az immunreakciókat formalin fixált, paraffinba ágyazott szövetmintákon végezték, Leica-Bond immunfestő automatával, Leica Bond Polymer Refine detektáló kittel, amihez kromogénként 3,3'-diaminobenzidint (DAB) használtak. A primer antitest a DAKO DAK-A3 katalógusszámú atitestje volt (clon: M 0869; monoklonális egér anti-humán Chromogranin-A), melynek hígítása 1:1000. A DAKO DAK-A3 antitestek segítségével a normál és a neuroendokrin eredetű neoplazmák különíthetők el. Pozitív kontrollként a gyomornyálkahártya endogén neuroendokrin sejtjei szolgáltak.

A fenti módszer segítségével az észlelt hyperpláziák szöveti képe, előrehaladottsága könnyen meghatározható. Az negatív minta mellett 3 különböző típusú hyperpláziát figyeltünk meg: sima hyperplázia, lineáris hyperplázia és mikronoduláris hyperplázia. (4 és 5. ábra, Mellékletek: 38-39. oldal)

A sima (vagy diffúz) hyperplázia esetén az ECL sejtek a szövetben random módon, és egyesével helyezkednek el. A lineáris hyperplázia esetén az ECL-sejtek proliferációja egy láncszerű alakzatot alkot. Míg a mikronoduláris hyperplázia esetén a sejtek rendezett alakban helyezkednek el, 150 μ m-nél kisebb csomókat alkotva. [29]

2.5 ICA és GAD₆₅ meghatározása

Az IgG szubtypushoz tartozó szigetsejt ellenes autoantitestek (Islet Cell Autoantibodies - ICA) értékeinek meghatározásához a Medipan GmbH Medizym ICAscreen, míg az anti-glutaminsav-dekarboxiláz (auto-Glutamic Acid Decarboxilase – GAD₆₅) értékek meghatározásához a Medipan GmbH Medizym anti-GAD ELISA kitjeit használtuk. Az

előkészített szérumból 50µl-t pipettáztunk az egyes autoantigénnel kezelt microtiter lemezekre, minden vérmintából duplikátumot készítettünk.

Az ICA mérések esetén antigén kikötéséhez 25µl érzékenyítő anyagot adtunk, majd 16 órán át állni hagytuk. Az állást követően a mintákhoz többszöri átmosások és min. 400rpm-es rázásokat követően 100µl ICA-autoantigen-Biotint, 100µl streptavidin-peroxidázt, 100µl 3,3',5,5'-tetrametilbenzidint, és 100µl 0,25M-os kénsavat adtunk.

A GAD₆₅ méréseknél az előkészített mintákhoz többszöri átmosások és min. 500rpm-es rázásokat követően 100µl GAD₆₅-Biotint, 100µl streptavidin-peroxidázt, 100µl 3,3',5,5'-tetrametilbenzidint és 100µl 0,25M-os kénsavat adtunk.

A fentiek szerint előkészített mintákat végül spektrofotometriás módszerrel, 450nm-en detektáltuk Multiscan EX ELISA reader készülékkel.

2.6 Rutin- és immunlaboratóriumi paraméterek meghatározása

A Semmelweis Egyetem központi laboratóriumában határozták meg a vérkép, az éhomi vércukor, a HbA_{1c}, a koleszterin, a HDL, az LDL, a triglicerid, a kreatinin, a húgysav, a C reaktív protein, és a pajzsmirigy hormon értékeket.

Az IGF-1, a gasztrin, a proBNP, és a parietális sejt ellenes antitestek értékeit pedig a Semmelweis Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika Endokrin laboratóriumában határozták meg.

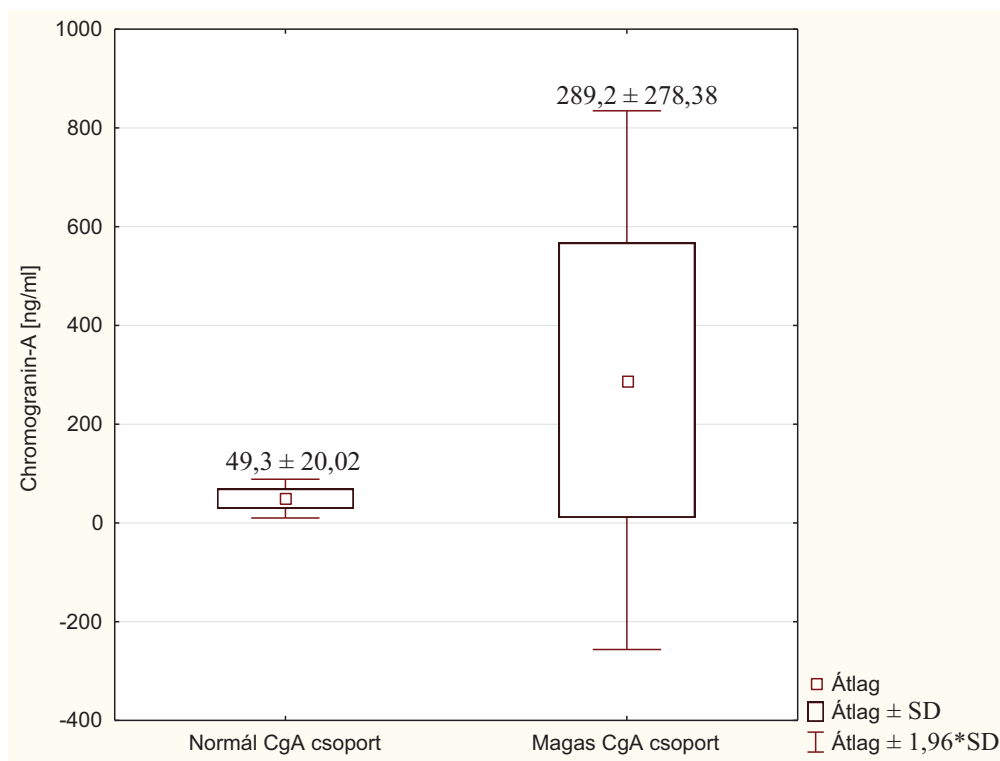
2.7 Statisztikai elemzések

Statisztikai elemzéseinket a StatSoft STATISTICA 11 programmal [30] végeztük. Az adatok elemzéséhez felhasználtunk mind parametrikus és nem parametrikus elemzéseket is. A normalitások megállapításához Shapiro-Wilk tesztet alkalmaztunk. Az adatok értékeléséhez felhasználtunk Student féle T-tesztet (Welch-próba), Wilcoxon-Mann-Whitney-féle U-tesztet, Pearson-korrelációs, Spearman-korrelációs, és ANOVA elemzéseket, illetve McNemar-féle χ^2 -tesztet. [31, 32, 33]

Transzformáció segítségével a kísérletekben vizsgált paraméterek normális eloszlásúvá tehetőek, mely eloszlási típust egyes statisztikai tesztek / elemzések megkövetelnek alkalmazásuk esetén. Statisztikai elemzéseink során a nem-normális eloszlású vizsgálati paraméterek 10-es alapú logaritmussal-való transzformációját hajtottuk végre.

3. Eredmények

A vizsgálatban 98, 1-es típusú diabetes mellitusban szenvedő beteg vett részt. A betegeket a szérumban Chromogranin-A szintjeik alapján két csoportba osztottuk. A normál tartományon belüli szérumban CgA szinttel rendelkező betegek csoportjába 77, míg a magas CgA szinttel (>98,1 ng/ml) rendelkező betegek csoportjába 21 beteg került besorolásra. (6. ábra)



6. Ábra

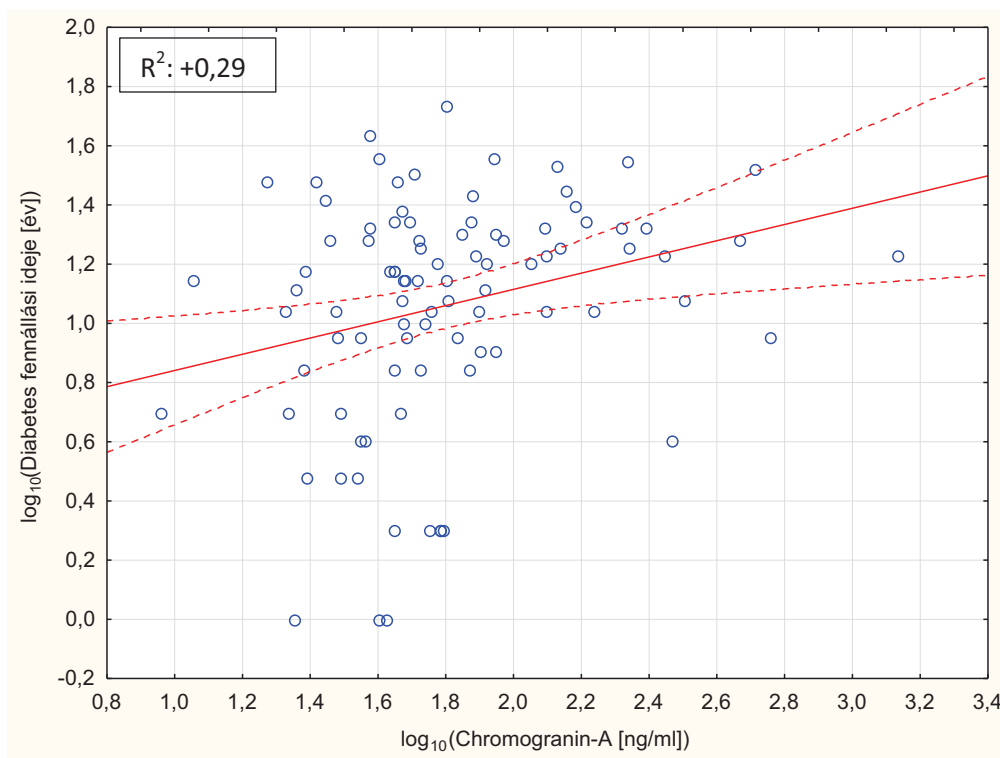
A szérumban Chromogranin-A koncentrációi a két vizsgált csoportban ($p < 0,001$).

A vizsgálatban részt vevő két csoportban vizsgáltuk a Chromogranin-A, a GAD₆₅, az ICA, az IGF-1, a gasztrin, a transzglutamináz IgA, a szérumban C-peptid szinteket, a rutin laboratóriumi paramétereket, valamint a kor és a diabetesz fennállási idejét, illetve a paraméterek közötti összefüggéseket. Fentieket megvizsgáltuk az egyes csoportokon belül, a csoportok között, és a teljes vizsgálati populációban is. A két csoport összehasonlításai mellett a magas CgA csoportban vizsgáltuk még a gasztroszkópia során igazolt neuroendokrin sejtes hyperplázia típusok (negatív, sima, lineáris vagy mikronoduláris hyperplázia) és a fenti paraméterek összefüggéseit is. A vizsgálatban résztvevők rutin laboratóriumi, és egyéb paramétereit a 2. táblázatban (Mellékletek: 44. oldal) foglaltuk össze.

3.1 A vizsgált paraméterek összefüggései az összes beteg adatai alapján

A vizsgálat során az egyes csoportok közötti, és az azokon belüli összefüggések mellett kíváncsiak voltunk arra is, hogy a teljes vizsgálati populációban az adatok milyen összefüggéseket mutatnak.

Az 1-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegekben a cukorbetegség fennállásának idejével emelkednek a szérumban Chromogranin-A szintek ($R^2: +0,29$, $p < 0,01$). (7. ábra)



7. Ábra

A Chromogranin-A és az 1-es típusú diabetes mellitus fennállási idejének összefüggése az összes betegben ($p < 0,01$).

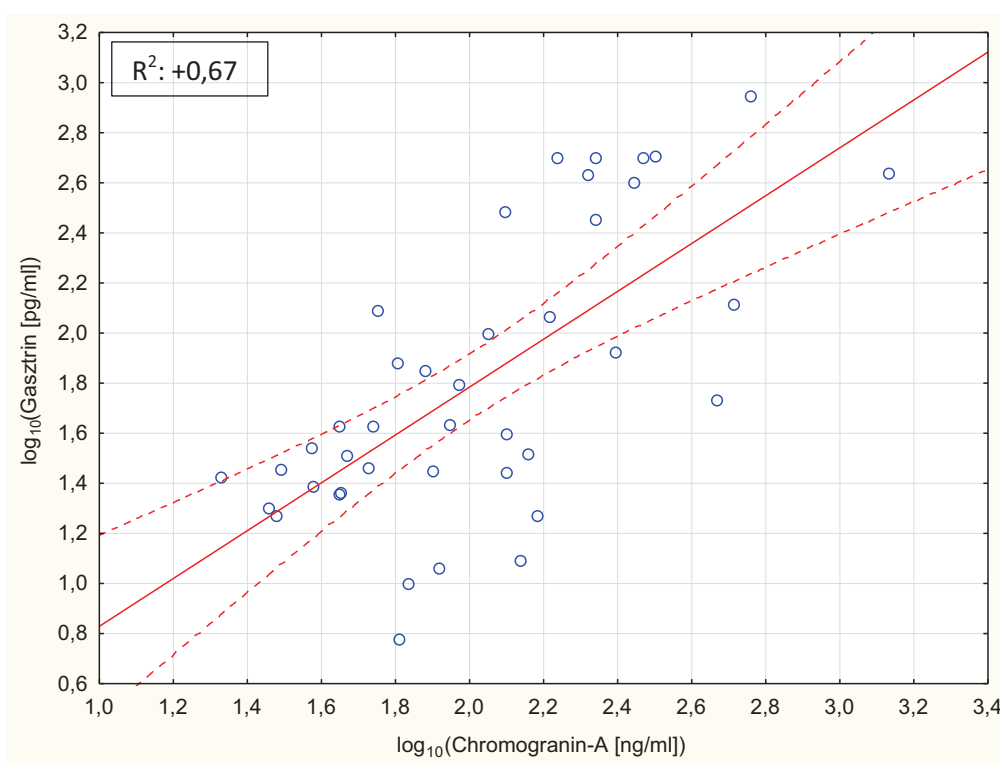
A HbA_{1c} a hemoglobin glükóz kötött formája, melynek segítségével megállapítható, hogy az elmúlt kb. három hónapban milyen volt a beteg átlagos vércukorszintje. Megfigyeltük, hogy a CgA szintek emelkedésével a HbA_{1c} értékek is emelkednek ($R^2: +0,29$, $p < 0,05$). (8. ábra, Mellékletek: 39. oldal)

Az autoimmun eredetű pajzsmirigy megbetegedések egyik jelzője lehet a pajzsmirigy peroxidáz elleni autoantitest (aTPO). Korábbi vizsgálatok utalnak arra, hogy a cukorbetegség progressziója során szubklinikus autoimmun eredetű pajzsmirigy betegségek alakulhatnak ki, melynek megfelelő markere lehet a vérben keringő emelkedett aTPO szint. [34]. A vizsgált

személyek esetében a CgA értékek emelkedésével nő az emelkedett aTPO-ból következtetett autoimmun eredetű megbetegedések gyakorisága ($R^2: +0,47$, $p<0,001$).

A CgA szintek emelkedésével a lipid anyagcsere aktuális állapotára utaló paraméterek, a koleszterin ($R^2: +0,28$, $p<0,05$) és a triglicerid ($R^2: +0,27$, $p<0,01$) szintek emelkedését figyeltük meg. (9. ábra, Mellékletek: 40. oldal)

Emelkedett gasztrin szintek a csökkent savelválasztással járó atrophias gastritis, a gyomor kimeneti szakaszának szűkülete és gasztrintermelő daganatok esetén figyelhető meg. Magasabb Chromogranin-A értékek mellett emelkedett gasztrin szinteket találtunk ($R^2: +0,67$, $p<0,001$). (10. ábra)



10. Ábra

A Chromogranin-A és a gasztrin összefüggése az összes betegben ($p<0,001$).

A gasztrin szintek emelkedésével növekvő parietális sejt ellenes antitest (PCA) értékeket találtunk ($R^2: +0,53$, $p<0,05$). A magas PCA koncentrációk elsősorban az autoimmun eredetű krónikus atrophias gastritisre, illetve az idiopathias anaemia perniciosára jellemzőek.

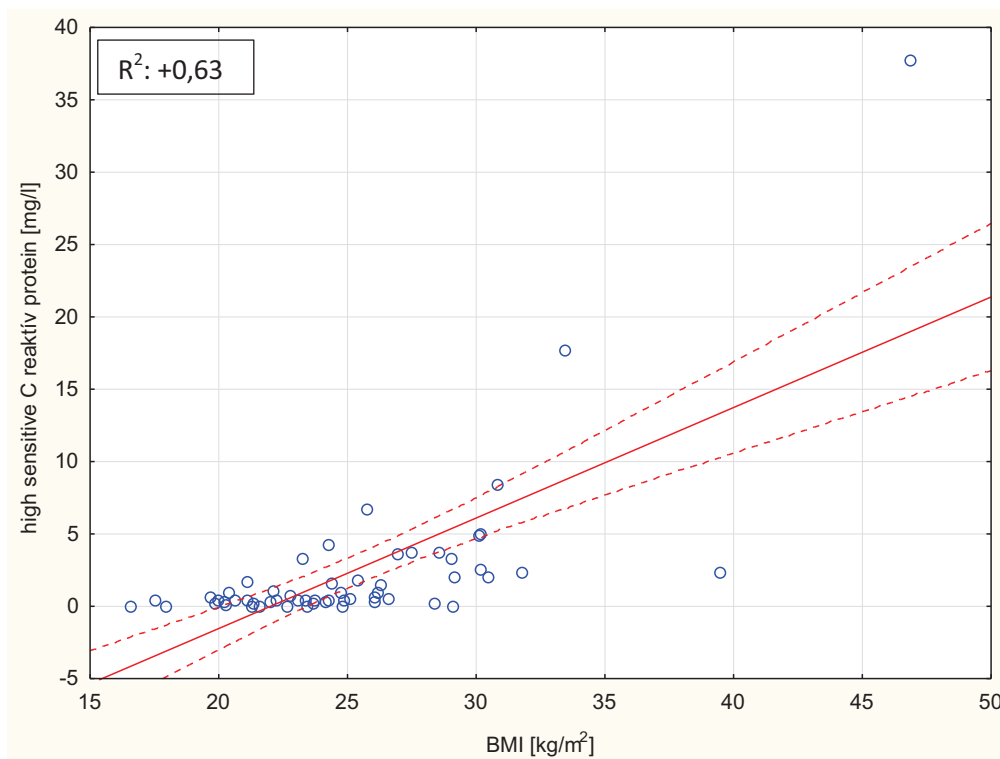
Emelkedő parietális sejt ellenes antitest koncentráció mellett nagyobb számban figyeltünk meg korábbról már ismert autoimmun megbetegedéseket ($R^2: +0,51$, $p<0,05$).

3.2 A normál Chromogranin-A szinttel rendelkező betegek eredményei

A szérum Chromogranin-A koncentrációk alapján a normál CgA csoportba 77 beteget soroltunk be. A csoport átlagos CgA koncentrációja $49,3 \pm 20,02$ ng/ml volt (átlag \pm szórás). A betegek további vizsgált paramétereinek értékeit az 5. táblázat (Mellékletek: 46. oldal) tartalmazza.

A csoporton belül megvizsgáltuk az egyes paraméterek összefüggéseit. Emelkedő Chromogranin-A koncentrációk mellett csökkenő C-peptid értékeket találtunk (R^2 : -0,34, $p < 0,01$). A humán C-peptid a proinzulin enzimatikus hasítása során képződik, diagnosztikailag az inzulin szekréció megítéléséhez használható indexként. (11. ábra, Mellékletek: 41. oldal)

A high sensitive C reaktív protein (hsCRP) koncentrációja a vérplazmában az akut gyulladásos folyamatokra utal. Festa és mtsai. kísérletük során igazolták, hogy a keringő hsCRP és a testzsír mérőszámai – mint pl. a testtömegindex (BMI) – között szoros összefüggés figyelhető meg [35]. Az normál CgA csoportban ezt a megfigyelést mi is igazolni tudtuk, a hsCRP szintek növekedésével a betegeknél emelkedett a BMI értéke (R^2 : 0,63, $p < 0,001$). (12. ábra)



12. Ábra

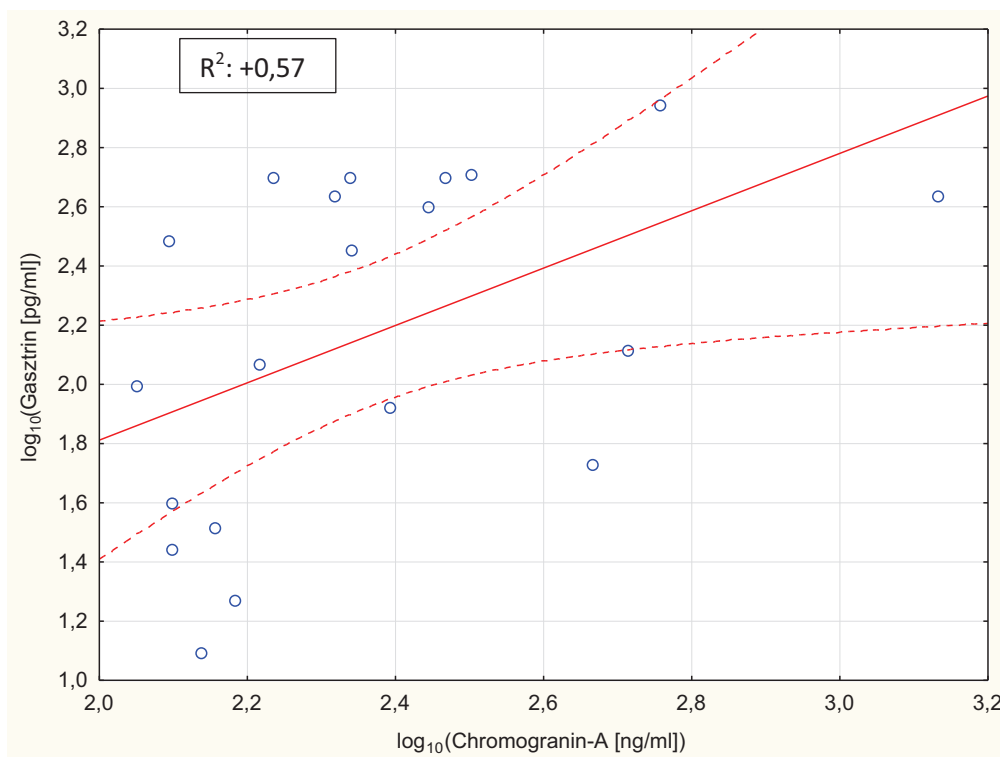
A high sensitive C reaktív protein (hsCRP) és a testtömegindex (BMI) összefüggése a normál CgA csoportban ($p < 0,001$).

3.3 A magas Chromogranin-A szinttel rendelkező betegek eredményei

A szérumban Chromogranin-A koncentrációk alapján a magas CgA csoportba 21 beteget soroltunk be. A csoport átlagos CgA koncentrációja $289,2 \pm 278,38$ ng/ml volt. A betegek további, a kísérlet során vizsgált paramétereinek értékeit az 5. táblázat (Mellékletek: 46. oldal) tartalmazza.

3.3.1 A vizsgált paraméterek összefüggései

A magas CgA csoporton belül is megvizsgáltuk az egyes paraméterek összefüggéseit. Emelkedő szérumban Chromogranin-A szintek mellett emelkedett a gasztrin koncentrációk értéke ($R^2: 0,57, p < 0,01$). (13. ábra)



13. Ábra

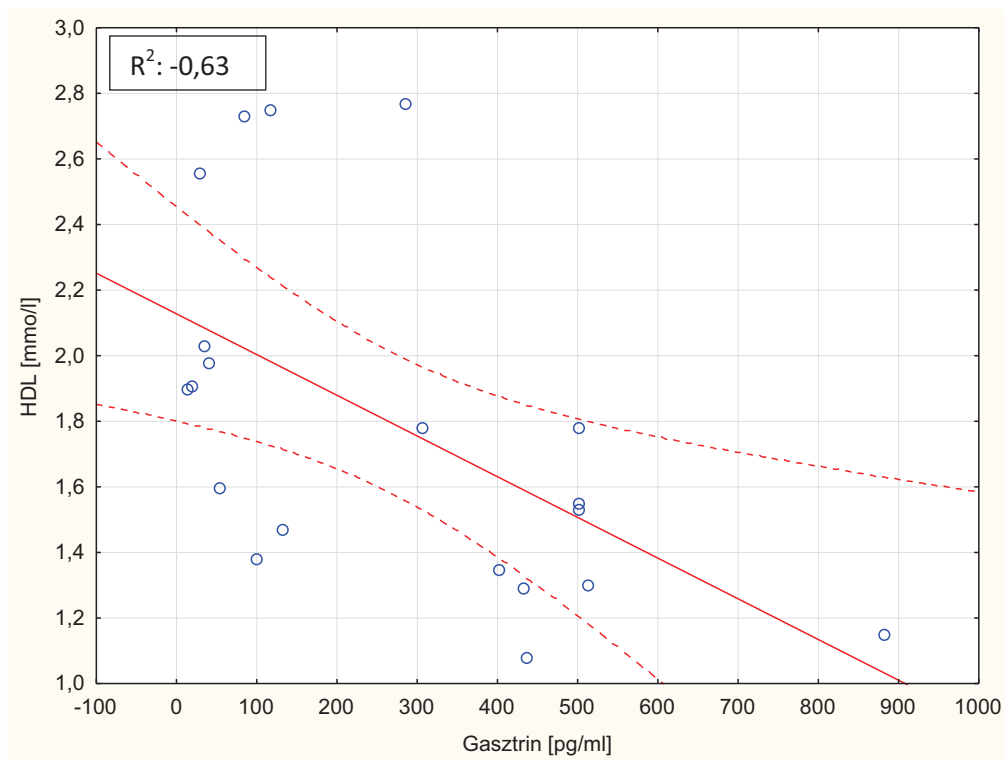
A Chromogranin-A és a gasztrin összefüggése a magas CgA csoportban ($p < 0,01$).

A Chromogranin-A emelkedésével a betegek lipid anyagcserére utaló paramétereinek közül a triglicerid emelkedő ($R^2: 0,46, p < 0,05$), míg a HDL-koleszterin csökkenő ($R^2: -0,44, p < 0,05$) tendenciát mutatott. (15. ábra, Mellékletek: 42. oldal)

Korábbi vizsgálatok alapján ismert, hogy a Chromogranin-A és a humán artériás hipertenzió között összefüggés található. Ebben a CgA két frakciója, a katesztatin és a vazosztatinok játszanak szerepet [27]. Hildebrandt és munkatársai kimutatták, hogy esszenciális hipertónia

esetén a plazma N-terminális B típusú átriális natriuretikus peptid (NT-proBNP) szintje jelentősen növekszik [36]. A proBNP a szívizomsejtek ingerlésekor termelődik, melynek magasabb szintje nagyon érzékeny és jellemző érték a szívelégtelenség jelzésére. A vizsgált magas CgA-val rendelkező személyek esetén megfigyeltük, hogy a Chromogranin-A emelkedésével a proBNP szintek is emelkednek (R^2 : 0,54, $p < 0,05$). (14. ábra, Melléklet: 42. oldal)

A gasztrin szintek emelkedése mellett a HDL koncentrációk csökkenését figyeltük meg (R^2 : -0,63, $p < 0,01$). (16. ábra)



16. Ábra

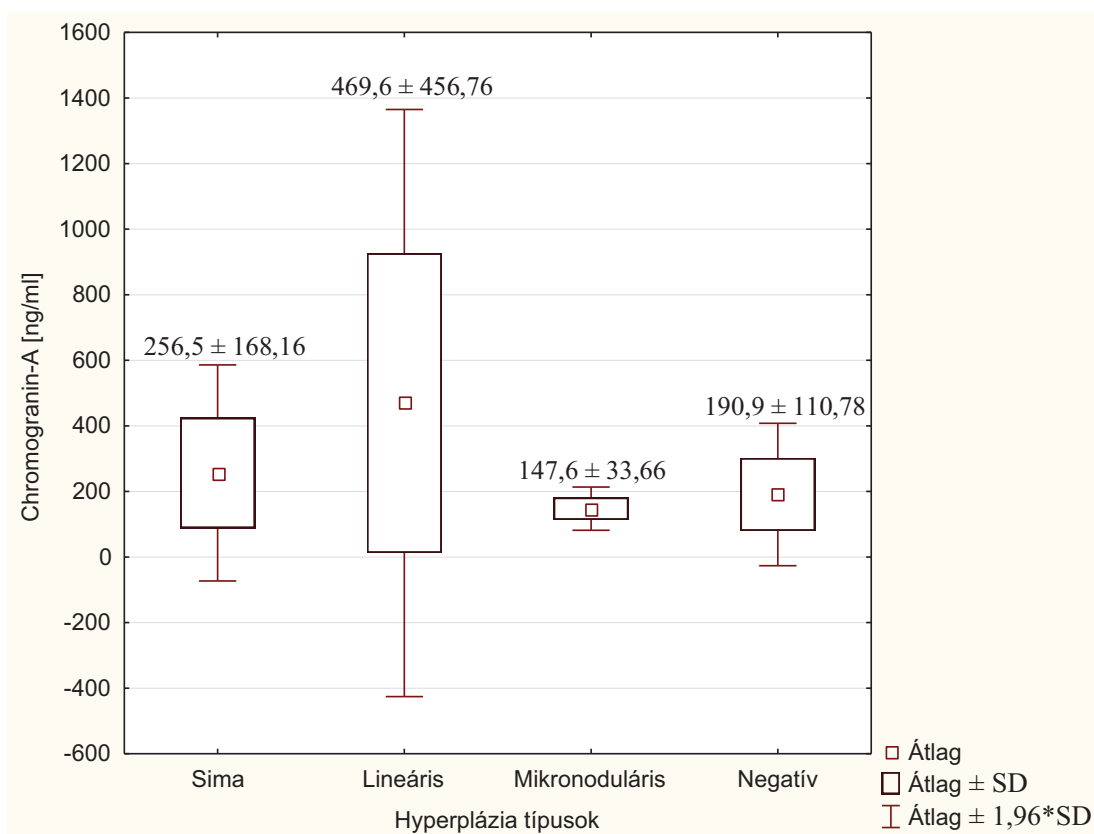
A gasztrin és a HDL összefüggése a magas CgA csoportban ($p < 0,01$).

3.3.2. A neuroendokrin hyperpláziák szerinti csoportosítás eredményei

A gasztroszkópiával és/vagy műtétekkel felfedezett neuroendokrin sejtszaporulatok incidenciája az utóbbi 50-60 évben jelentősen emelkedett. 1950 és 1999 között a gyomorban felfedezett neuroendokrin sejtes szaporulatok száma 0,5%-ról 1,77%-ra, míg a teljes gasztrointesztinális rendszerben felfedezett sejtszaporulatok száma 2,4%-ról 8,7%-ra emelkedett. [37]

A gasztroszkópiás vizsgálatba a csoport 21 betegből 18 egyezett bele. A 18 betegből 3 esetben nem találtunk neuroendokrin sejtes hyperpláziát, 7 betegnél sima-, 6 betegnél lineáris-, és 2 betegnél mikronoduláris hyperpláziás elváltozást tudtunk kimutatni. (3. táblázat, Mellékletek: 45. oldal).

A magas CgA csoporton belül a hyperpláziák típusainak megfelelően alcsoportokat hoztunk létre. Az egyes alcsoportok között a Chromogranin-A szintekben nem találtunk eltérést. (17. ábra, illetve 18. ábra, Mellékletek: 43. oldal)



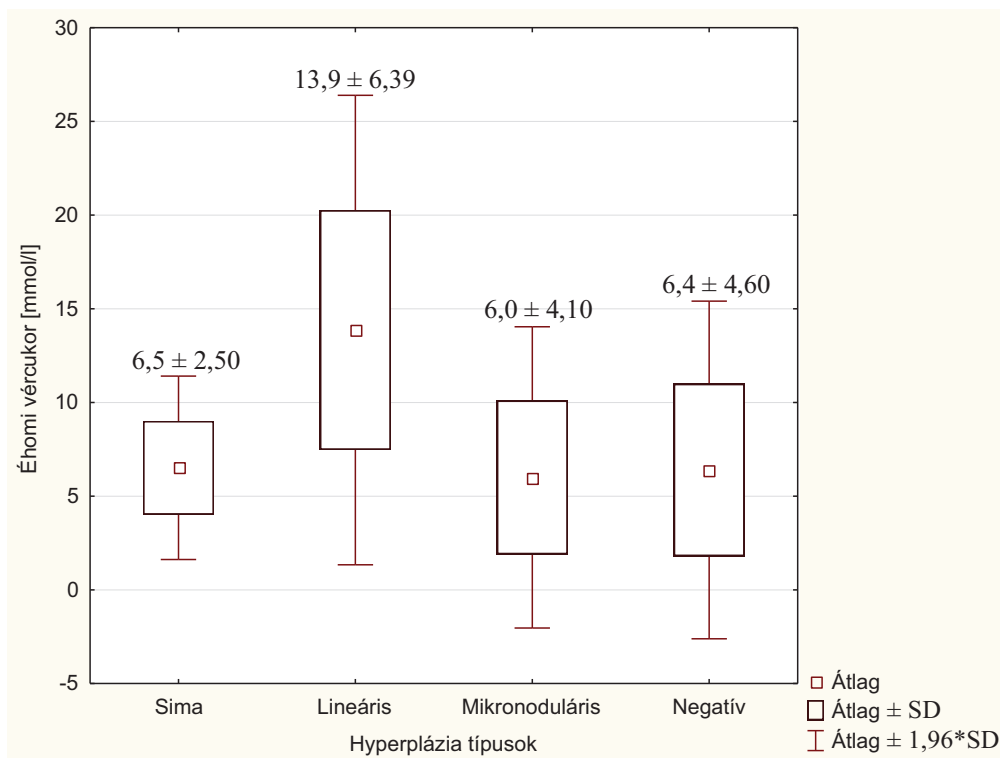
17. Ábra

A Chromogranin-A szintek eloszlása a hyperpláziás alcsoportokban (n.s.).

A gasztrin esetében szignifikáns különbséget találtunk a sima és a lineáris hyperplázia alcsoportok között ($p < 0,01$). A sima hyperplázia alcsoportban a gasztrin koncentráció értéke $89,9 \pm 130,83$ pg/ml, a lineáris hyperplázia alcsoportban pedig $436,0 \pm 264,08$ pg/ml volt. A többi alcsoport között nem találtunk szignifikáns eltérést. (19. ábra, Mellékletek: 43. oldal)

Az éhomi vércukor értékeiben 3 csoport között találtunk összefüggést. A sima hyperplázia és a negatív alcsoport éhomi vércukor értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint a lineáris hyperplázia alcsoport értékei (mindkét összehasonlítás esetén: $p < 0,05$). A sima

hyperplázia als csoport éhomi vércukor értéke $6,5 \pm 2,50$ mmol/l, a lineáris hyperplázia als csoport vércukor értéke $13,9 \pm 6,39$ mmol/l, a negatív als csoporté pedig $6,4 \pm 4,60$ mmol/l volt. (20. ábra)



19. Ábra

Az éhomi vércukor eloszlása a hyperpláziás als csoportokban (sima/negatív vs. lineáris: $p < 0,05$).

Az als csoportok között megvizsgáltuk az egyes autoimmun megbetegedések és a hypertonia előfordulását. Megállapítottuk, hogy az 1-es típusú diabetes mellitus mellett kialakuló egyéb autoimmun betegségek főleg a mikronoduláris hyperpláziával rendelkező betegeknél jelentek meg. Illetve szintén ebben az als csoportban volt az a beteg is, akinél a magas CgA csoporton belül az autoimmun polyendokrin szindróma 3A típusát igazolni tudtuk.

Az autoimmun megbetegedésekkel szemben a hypertonia a másik két hyperpláziás als csoportban – sima és lineáris hyperplázia – fordult elő nagyobb számban. A sima hyperpláziás betegeknél a 7-ből 5 esetben, míg a lineáris hyperpláziájú betegeknél pedig a csoport felénél igazoltunk hypertóniát. (4. táblázat, Mellékletek: 45. oldal)

3.4 A normál és magas CgA szintekkel rendelkező csoportok összehasonlítása

A vizsgált paraméterek csoportok közötti elemzése során arra az eredményre jutottunk, hogy a magas CgA csoportban szignifikánsan magasabb gasztrin és HbA_{1C} értékek figyelhetőek meg. Az 1-es típusú diabetes mellitus szignifikánsan hosszabb ideje áll fenn a magas CgA csoportban, mint az a normál CgA csoportnál megfigyelhető. A C-peptid koncentrációja a magas CgA csoportban alacsonyabbak a normál csoporthoz viszonyítva.

Az 98 beteg között 44 ICA pozitív és 44 GAD₆₅ pozitív személy volt. A normál és magas CgA csoportok között megvizsgáltuk a két antigén gyakoriságát, a normál CgA csoportban 39 ICA és 38 GAD₆₅, míg a magas CgA csoportban 5 ICA és 6 GAD₆₅ pozitív beteg volt. A két antigén pozitivitásának arányaiban nem találtunk szignifikáns eltérést a két csoport között (McNemar χ^2 : p=0,0778).

Az normál és magas CgA csoportoknál megfigyelt rutin laboratóriumi, és egyéb paramétereket az 5. táblázatban (Mellékletek: 46. oldal) foglaltuk össze.

A két csoportot összehasonlítottuk oly módon is, hogy a korábbi, külön-külön, csoportonként elvégzett összehasonlítások eredményeit összegeztük. Eszerint megállapítottuk, hogy míg a normál CgA csoportban a Chromogranin-A negatív összefüggést mutat a C-peptiddel, addig ez a megfigyelés nem igazolható a magas CgA csoportban.

A magas CgA csoportban a Chromogranin-A pozitív összefüggésben van a gasztrinnal, a trigliceriddel és a proBNP-vel, és negatív összefüggésben a HDL-el. E korrelációkat a normál csoportban nem észleltük.

A betegek anamnézise, és a vizsgált paraméterek alapján összehasonlítottuk a két csoport között a betegeknél előforduló nem-autoimmun és az autoimmun eredetű megbetegedések gyakoriságát. A normál CgA csoportban 24, a magas CgA csoportban pedig 11 esetben figyeltünk meg hypertóniát. A két csoport betegei között megállapítható, hogy emelkedett CgA mellett a hypertonia előfordulása közel kétszer olyan gyakori, mint a normál CgA csoportban.

A normál Chromogranin-A szinttel rendelkező betegek esetében több fajta autoimmun megbetegedést találtunk. Azonban megfigyeléseink szerint azon betegségeknek, melyek mindkét csoportban előfordultak – a pajzsmirigy autoimmun megbetegedéseinek, az anaemia perniciosának, és az autoimmun polyendokrin szindróma 3. altípusának (APS-3A) –, a magas CgA csoportban az előfordulási gyakorisága magasabb számban figyelhető meg, mint a normál CgA csoportban. (6. táblázat, Mellékletek: 46. oldal)

4. Megbeszélés

Irodalmi adatok alapján ismeretes, hogy a Chromogranin-A (CgA), melyet szinte minden endokrin és neuroendokrin sejttípus képes előállítani, klinikai diagnosztikai szempontból a karcinoid és neuroendokrin sejtés tumorok leggyakoribb peptid szekréción termékei közül a legjelentősebb. Emellett megfigyelték, hogy a Chromogranin-A is szerepelhet autoantigénként az 1-es típusú diabetes mellitus kialakulása során. [3] A diabetes kialakulásában szerepet játszó molekula a CgA-ból kialakuló WE14 fehérje (CgA-[359-372]), mely az autoreaktív sejtek célpontjaként szolgál az újonnan diagnosztizált T1DM betegeknél, ami az egészséges kontroll populációban nem volt igazolható. A WE14 termelése, a Chromogranin-A-hoz hasonlóan, a különböző neuroendokrin szövetekben széles körben megfigyelhető.

Mindezek ismeretében felmerült bennünk a kérdés, hogy az 1-es típusú diabetes mellitus kialakulását követően a Chromogranin-A (és közvetve annak egyéb fehérje termékei) befolyásolja-e a betegség további alakulását? Lehet-e valamilyen szerepe a betegség progressziója során az egyéb, társuló autoimmun betegségek kialakulásában? Illetve kihasználva a molekula tumordiagnosztikai tulajdonságát az emelkedő szérumkoncentráció mellett megfigyelhető-e a diabeteses betegekben fokozottabb sejtszaporulat kialakulás?

Jelen dolgozatban arra kerestük a választ, hogy található-e valamilyen összefüggés a szérum Chromogranin-A szintek és egyéb, a betegekben fennálló autoimmun megbetegedések, a gyomor nyálkahártya neuroendokrin sejtjeinek kimutathatósága, és az egyéb rutin- és immunlaboratóriumi paraméterek között.

Eredményeink alapján az 1-es típusú cukorbetegség fennállási idejének növekedésével emelkednek a szérum Chromogranin-A szintek. A magasabb CgA értékek mellett magasabb HbA_{1c}, koleszterin, és triglicerid értékeket figyeltünk meg. E megfigyelés arra a tényre utalhat, hogy a diabetes mellitusra kifejezetten jellemzőek a hosszabb-rövidebb fennállás során kialakuló szövődmények. A Chromogranin-A fenti vérparaméterek esetleges ezirányú befolyásoló szerepének megállapításához jelen ismeretünk még nem elegendőek, a kapcsolat felderítésére további kísérletek elvégzése lehet szükséges.

A növekvő CgA értékek mellett a gasztrin szintek emelkedését figyeltük meg. A vizsgált betegeknél mind a magasabb CgA, mind a magasabb gasztrin szintek mellett neuroendokrinsejt hyperpláziát figyeltünk meg, mely alátámaszthatja azt a korábbi

megfigyelést, hogy mind a CgA, mind a gasztrin felhasználható, mint a gyomorban történő kóros sejtszaporulatok kialakulására utaló tumormarker.

A betegek emelkedő gasztrin szintjei mellé emelkedő parietális sejt ellenes antitest (PCA) értékeket találtunk, melyek a betegekben lejátszódó fokozott autoimmun folyamatokra utalnak. Ezt támaszthatja alá azon megfigyelésünk is, hogy az emelkedő PCA koncentrációk mellett a korábbról már ismert autoimmun megbetegedések jelenléte is nagyobb számban fordul elő.

Az összes beteg megfigyeléseihez hasonlóan, a magas CgA csoporton belül is emelkedő szérum Chromogranin-A szintekhez emelkedett gasztrin és triglicerd koncentrációk társultak. Fentiek mellett a csoporton belül a CgA és a proBNP között pozitív, a CgA és a HDL-koleszterin között pedig negatív korrelációt igazoltunk. Utóbbi két megfigyelés a diabetes során jelen lévő fokozott oxidatív stressz, illetve az ennek következtében kialakuló lipidperoxidáció és arterioszklerózis eredményének tekinthető. A két folyamat során végbemenő negatív hatások eredményeink alapján befolyásolhatják a neuroendokrin típusú sejteket, nagyobb mennyiségű Chromogranin-A szekréciójára kényszerítve azokat.

A magas CgA csoportban a gasztroszkópiás vizsgálatba beleegyező személyek között a betegek több mint 80%-ban igazoltunk valamilyen hyperpláziás elváltozást (sima, lineáris, vagy mikronoduláris). A hyperpláziás alcsoportok között a Chromogranin-A szintekben nem, míg a gasztrin esetében szignifikánsan magasabb értékeket figyeltünk meg lineáris hyperplázia esetén a sima hyperpláziás betegekkel szemben.

Az éhgyomri vércukor esetében – az emelkedett gasztrin szintekhez hasonlóan – szintén a lineáris hyperplázia alcsoportban figyeltünk meg magasabb értékeket. Itt azonban nem csak a sima hyperplázia alcsoportnál mutatkozott szignifikáns különbség, hanem a negatív alcsoportnál is.

Az 1-es típusú diabetes mellitus mellett kialakuló egyéb autoimmun betegségek főleg a mikronoduláris hyperpláziával rendelkező betegeknél jelentkeztek. Míg a hipertónia a sima és lineáris hyperplázia esetén fordult elő nagyobb számban.

A magas Chromogranin-A-val rendelkező személyeknél a hyperpláziás alcsoportok között talált eredményeink esetében messzemenő következtetéseket levonni sajnos nem tudunk, mivel a gasztroszkópiás vizsgálatba beleegyező betegek száma rendkívül alacsony volt. Ezen ok miatt a későbbiekben fontosnak tartjuk, hogy a magas Chromogranin-A-val rendelkező betegek esetszámát a jövőben további magas CgA szinttel rendelkező 1-es típusú cukorbetegség keresésével megnöveljük, és hogy ezeknél a személyeknél a gasztroszkópiás vizsgálat mindenképp el legyen végezve.

A vizsgált két csoportot összehasonlítva a magas CgA csoportban szignifikánsan magasabb gasztrin és HbA₁C értékek figyelhetők meg, illetve a cukorbetegség szignifikánsan hosszabb ideje áll fenn e csoportban, mint az a normál CgA csoportnál megfigyelhető. A C-peptid koncentrációja a magas CgA csoportban alacsonyabbak a normál csoporthoz viszonyítva.

Az emelkedett CgA mellett a hipertónia előfordulása közel kétszer olyan gyakorinak igazolódott, mint a normál CgA csoportban. A pajzsmirigy autoimmun megbetegedéseinek, az anaemia perniciosának, és az autoimmun polyendokrin szindróma 3. altípusának (APS-3A) az előfordulási gyakorisága pedig a magas CgA csoportban figyelhető meg magasabb számban.

Összesítve a vizsgálatban kapott adataink alapján a már kialakult és progrediáló 1-es típusú diabetes mellitusban a betegség fennállási idejének növekedésével a Chromogranin-A szintek emelkedése figyelhető meg, melyhez a betegséghez társuló autoimmun és nem-autoimmun megbetegedések nagyobb számú megjelenése társul. Magas Chromogranin-A szintek mellett a betegek több mint 80%-ánál igazoltunk neuroendokrin sejtes gyomor hyperpláziát, melyek jelentősen befolyásolják a betegek életkilátásait. Egyéb szervrendszerek neuroendokrin sejtes szaporulatainak ellenőrzésére jelen vizsgálatban nem volt lehetőségünk, azok további vizsgálatát tartjuk szükségesnek.

Fentiek alapján a szérumban Chromogranin-A koncentrációk emelkedése az 1-es típusú diabetesben előrejelezheti a diabeteshez társuló autoimmun betegségek megjelenését, illetve a gyomorban kialakuló neuroendokrin-sejtes hyperpláziákat, melyek karcinoid tumorokká is alakulhatnak. Ezen megfigyelések miatt javasoljuk az 1-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegek esetén a szérumban Chromogranin-A rendszeres, rutinszerű vizsgálatát, és emelkedett értékek észlelése esetén a gasztroszkópiával egybekötött procedúra végrehajtását.

III. Összefoglalás

Vizsgálatunkba 98, 1-es típusú cukorbetegét vontunk be. A betegeket szérumban Chromogranin-A (CgA) szintjeik alapján két csoportba osztottuk. A normál CgA szinttel rendelkező betegek csoportjába 77, míg a magas CgA (>98,1 ng/ml) csoportba 21 beteg került.

Megmértük a CgA, a GAD₆₅, az ICA, az IGF-1, a gasztrin és a szérumban C-peptid szinteket, illetve a rutin laboratóriumi paramétereket. Magas CgA esetén gasztroszkópia készült.

A vizsgálatban arra kerestük a választ, hogy található-e valamilyen összefüggés a szérumban CgA szintek és a betegekben fennálló egyéb autoimmun megbetegedések, a gyomor nyálkahártya neuroendokrin sejtes elváltozásainak kimutathatósága, és az egyéb rutin- és immunlaboratóriumi paraméterek között.

Eredményeink alapján a cukorbetegség fennállási idejének emelkedésével nőnek a szérumban CgA szintek, illetve az emelkedő CgA szintek mellett nő a HbA_{1c}, a gasztrin, a koleszterin, a triglicerid és az aTPO-ból következtetett autoimmun betegségek előfordulásának gyakorisága. Emelkedett gasztrin szintek mellett emelkedő parietális sejt ellenes antitest (PCA) értékeket találtunk. Az emelkedő PCA koncentráció mellett nagyobb számban fordultak elő a betegeknél korábbról már ismert autoimmun megbetegedések.

A normál CgA csoportban emelkedő CgA koncentrációk mellett csökkenő C-peptid értékeket találtunk. A magas CgA csoporton belül az emelkedő szérumban CgA szintekhez emelkedett gasztrin és triglicerid koncentrációk társultak. Fentiek mellett a csoporton belül a CgA és a proBNP között pozitív, a CgA és a HDL között pedig negatív korrelációt igazoltunk. A csoportban a gasztroszkópiás vizsgálatok szövettani eredményei alapján a betegek több mint 80%-ban igazoltunk valamilyen hyperpláziás elváltozást (sima, lineáris, vagy mikronoduláris). A hyperpláziás alcsoportok között a CgA szintekben nem, míg a gasztrin és az éhomi vércukor esetében szignifikánsan magasabb értékeket figyeltünk meg lineáris hyperpláziánál a sima hyperpláziás betegekkel szemben. A T1DM mellett kialakuló egyéb autoimmun betegségek főleg a mikronoduláris hyperplázia alcsoportban jelentkezett, a hipertónia pedig a sima és lineáris hyperplázia esetén fordult elő nagyobb gyakorisággal.

Összesítve a vizsgálatban kapott adataink alapján a T1DM fennállási idejének növekedésével a CgA szintek emelkedése figyelhető meg, melyhez a betegséghez társuló autoimmun és nem-autoimmun megbetegedések nagyobb számú megjelenése társul. Fenti megfigyelések miatt T1DM-ben javasoljuk a szérumban Chromogranin-A rendszeres és rutinszerű vizsgálatát, és emelkedett értékek esetén a dolgozatban leírt procedúra végrehajtását.

IV. Summary

Examination of Chromogranin-A in type 1 diabetes mellitus

Ninety-eight type 1 diabetic (T1DM) patients were enrolled into our study. The patients were divided into two groups based on their serum Chromogranin-A (CgA) levels. There were 77 patients with normal CgA and 21 patients with high CgA levels (>98,1 ng/ml).

Chromogranin-A, GAD₆₅, ICA, IGF-1, gastrin, serum C-peptide levels and routine laboratory parameters were measured. If elevated CgA values were found, gastroscopy was done.

The study goals were to find connections between serum CgA levels and other existing autoimmune diseases, the detectability of gastric mucosal neuroendocrine cells, and other immune- and routine laboratory parameters.

Our data suggest that with the mean duration of diabetes CgA levels are increasing, and the levels of HbA_{1c}, gastrin, cholesterol, triglycerides and the incidence of autoimmune diseases inferred from aTPO levels are increasing with higher CgA serum levels. Positive correlation was found between gastrin and parietal cell autoantibody (PCA) values. With increasing PCA concentrations higher numbers of previously known autoimmune diseases were found in our patients.

In the normal CgA group negative correlation was found between CgA and C-peptide values. Within the high CgA group positive correlations were found between serum CgA and gastrin, triglycerides and proBNP, plus a negative correlation between CgA and HDL-cholesterol. On the basis of the results from the gastroscopic-histological tests more than 80% of our patients were confirmed to have some kind of hyperplasia (simple, linear or micronodular). Within the hyperplasia subgroups CgA levels were not different significantly, while in the case of gastrin significantly higher values were observed in the linear hyperplasia subgroup compared to simple hyperplasia patients. Fasting glucose values were significantly higher in the linear hyperplasia subgroup against the simple hyperplasia subgroup. Other autoimmune diseases along with type 1 diabetes mainly occurred in the micronodular hyperplasia subgroup, while hypertension occurred more frequently in the simple and linear hyperplasia patients.

The data collected in the study suggests that with the increasing mean duration of type 1 diabetes CgA levels are increasing as well, which is associated with a higher number of coexisting autoimmune and non-autoimmune diseases. Because of these observations we suggest that serum CgA should be tested regularly in T1DM patients with the other routinely checked parameters too, and by elevated values gastroscopic procedure should be done.

V. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Somogyi Anikó Professor Asszonynak szakmai iránymutatásáért, építő kritikájáért és feláldozott szabadidejéért.

Külön köszönöm Dr. Nagy Péter Professor Úrnak, hogy az I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetben a gasztroszkópiák biopsziás mintáinak elemzésével segítette dolgozatom elkészítését.

Köszönöm Dr. Rácz Károly Professor Úrnak, hogy lehetővé tette számomra a részvételt az SE II. Belgyógyászati Klinikán folyó kutatómunkában.

Hálás vagyok Benkő Magdolnának a dolgozat elkészítéséhez, a labor- és mérés technikai, statisztikai alapismeretek elsajátításában nyújtott segítségéért, illetve a II. sz. Belgyógyászati Klinika Anyagcsere Kutató és az Endokrin Laboratórium további munkatársainak is.

VI. Irodalomjegyzék

1. Kis J, Engelmann P, Heyam J, Orbán T: Az immunológiai prevenció lehetősége 1-es típusú diabetes mellitusban. *Lege Artis Medicinae* 2006; 16: 8-9.
2. De Block CEM et al.: Neuroendocrine Tumor Markers and Enterochromaffin-Like Cell Hyper/Dysplasia in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 1387-1393.
3. Stadinski BD, Delong T, Reisdorph N, Reisdorph R, Powell RL, Armstrong M, Piganelli JD, Barbour G, Bradley B, Crawford F, Marrack P, Mahata SK, Kappler JW, Haskins K: Chromogranin A is an autoantigen in type 1 diabetes. *Nat Immunol.* 2010; 11: 225-31.
4. Tulassay Zs (szerk.): A belgyógyászat alapjai, 3. kiadás; p. 1577-1585; Medicina könyvkiadó Zrt., Budapest 2011.
5. Leövey A, Nagy VE, Paragh Gy, Rácz K (szerk.): Az endokrin és anyagcsere-betegségek gyakorlati kézikönyve; p. 506-523; Medicina könyvkiadó Zrt., Budapest 2011.
6. Zóka A, Herold Z: Az immunregulációban szerepet játszó peptidek vizsgálata inzulindependens diabetes mellitusban; Semmelweis Egyetem, Rektori pályázat 2010.
7. Gillespie KM: Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention. *CMAJ* 2006; 175: 165-70.
8. Az Egészségügyi Minisztérium szakmai irányelve; A diabetes mellitus kórismézése, a cukorbetegség kezelése és gondozása a felnőttkorban. *Egészségügyi Közlöny* 2006; 2. kötet CD melléklete.
9. Gyűrűs É, Soltész Gy: Az 1-es típusú diabetes mellitus incidenciája Európában, az EURODIAB adatai alapján. *LAM* 2004; 14: 399-404.
10. <http://library.med.utah.edu>
11. Drucker DJ, Nauck MA: The incretin system: glucagon-like peptid-1 receptor antagonist and dipeptidyl-peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet* 2006, 268: 1969-1705.
12. Araki M, Chung D, Liu S, Rainbow DB, Chamberlain G, Garner V, Hunter KM, Vijayakrishnan L, Peterson LB, Oukka M, Sharpe AH, Sobel R, Kuchroo VK, Wicker LS: Genetic evidence that the differential expression of the ligand-independent isoform of CTLA-4 is the molecular basis of the Idd5.1 type 1 diabetes region in nonobese diabetic mice. *J Immunol.* 2009; 183: 5146-57.
13. Lindley S, Dayan CM, Bishop A, Roep BO, Peakman M, Tree TIM: Defective Suppressor Function in CD4+CD25+ T-Cells From Patients With Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2005; 54: 92-9.

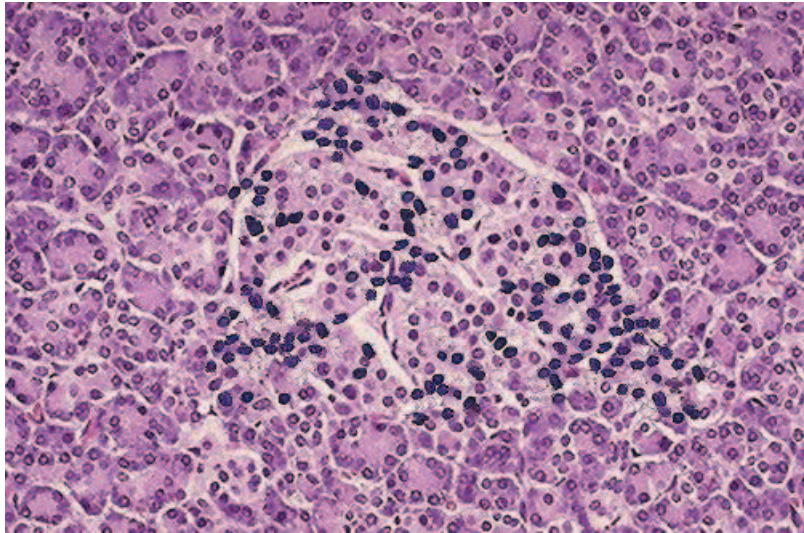
14. Neiszner É, Bárdos P, Baranyi É, Préda I: A diabetes mellitus cardiovascularis szövődményei és diagnózisuk. *LAM* 2005; 15: 722-9.
15. Leövey A, Nagy VE, Paragh Gy, Rácz K (szerk.): Az endokrin és anyagcsere-betegségek gyakorlati kézikönyve; p. 466-476; Medicina könyvkiadó Zrt., Budapest 2011.
16. Hendy GN, Bevan S, Mattei M-G, Mouland AJ: Chromogranin A; *Clinical and Investigative Medicine* 1995; 18: 47-65.
17. Louthan O: Chromogranin A in Physiology and Oncology. *Folia Biologica (Praha)* 2011; 57: 173-181.
18. Blashko H, Comline RS, Schneider FH, Silver M and Smith AD: Secretion of a chromaffin granule protein, chromogranin, from the adrenal gland after splanchnic stimulation. *Nature* 1967; 215: 58-59.
19. Schneider FH, Smith AD and Winkler H: Secretion from the adrenal medulla: biochemical evidence for exocytosis. *Br. J. Pharmac. Chemother* 1967; 31: 94-104.
20. Winkler H and Fischer-Colbrie R: The chromogranins A and B: the first 25 years and future perspectives. *Neuroscience* 1992; 49(3): 497-528.
21. Gorr S-U, Shioi J, Cohn DV: Interaction of calcium with porcine adrenal chromogranin A (secretory protein I) and chromogranin B (secretogranin I). *Am J Physiol* 1989; 257: 247-54.
22. Drees BM, Hamilton JW: Pancreastatin and bovine parathyroid cell secretion. *Bone Miner* 1992; 17(3):335-46.
23. Pregun I, Herszényi L, Juhász M, Miheller P, Hritz I, Patócs A, Rácz K, Tulassay Zs: Effect of proton-pump inhibitor therapy on serum chromogranin A level. *Digestion* 2011; 84: 22-28.
24. http://www.medicalonline.hu/gyogyitas/cikk/neuroendokrin_daganatok_laboratoriumi_diagnosztikaja
25. http://www.medicalonline.hu/gyogyitas/cikk/a_neuroendokrin_daganatok_biokemiai_markerei
26. Vinik AI et al.: Biochemical testing for neuroendocrine tumors. *Pancreas* 2009; 38: 876–889.
27. Gottlieb PA et.al.: Chromogranin A is a T cell antigen in human type 1 diabetes. *Journal of Autoimmunity* 2013; <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaut.2013.10.003>.
28. Di Comite G et al.: Chromogranin A: a novel factor acting at the cross road between the neuroendocrine and the cardiovascular systems. *J Hypertens* 2011; 29: 409–414.

29. Robert D. Odze, John R. (szerk): Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract, and Pancreas. Saunders Elsevier 2009, p. 668.
30. StatSoft, Inc. (2012). STATISTICA (data analysis software system), version 11. www.statsoft.com.
31. Reiczigel J, Harnos A, Solymosi N: Biostatisztika nem statisztikusoknak. Pars Kft. 2010, Nagykovácsi; 2007-es kiadás javított utánnomása.
32. Dr. Dinya Elek: Biometria az orvosi gyakorlatban. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest 2001.
33. Kemény S, Deák A, Komka LK, Vágó E: Statisztikai elemzés a STATISTICA programmal. Műegyetemi Kiadó 2004, Budapest.
34. Maugendre D, Guilhem I, Karacatsanis C, Poirier JY, Leguerrier AM, Lorcy Y, Derrien C, Sonnet E, Massart C: Anti-TPO antibodies and screening of thyroid dysfunction in type 1 diabetic patients. *Ann Endocrinol (Paris)* 2000; 61(6): 524-530.
35. Festa A, D'Agostino R Jr, Williams K, Karter AJ, Mayer-Davis EJ, Tracy RP, Haffner SM: The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25(10): 1407-15.
36. Hildebrandt P, Boesen M, Olsen M, Wachtell K, Groenning B: N-terminal pro brain natriuretic peptide in arterial hypertension – a marker for left ventricular dimensions and prognosis. *The European Journal of Heart Failure* 2004, 6: 313–317
37. Dongfeng Tan, Gregory Lauwers: *Advances in Surgical Pathology: Gastric Cancer*. Lippincott Williams & Wilkins 2011, p. 97.

VII. Mellékletek

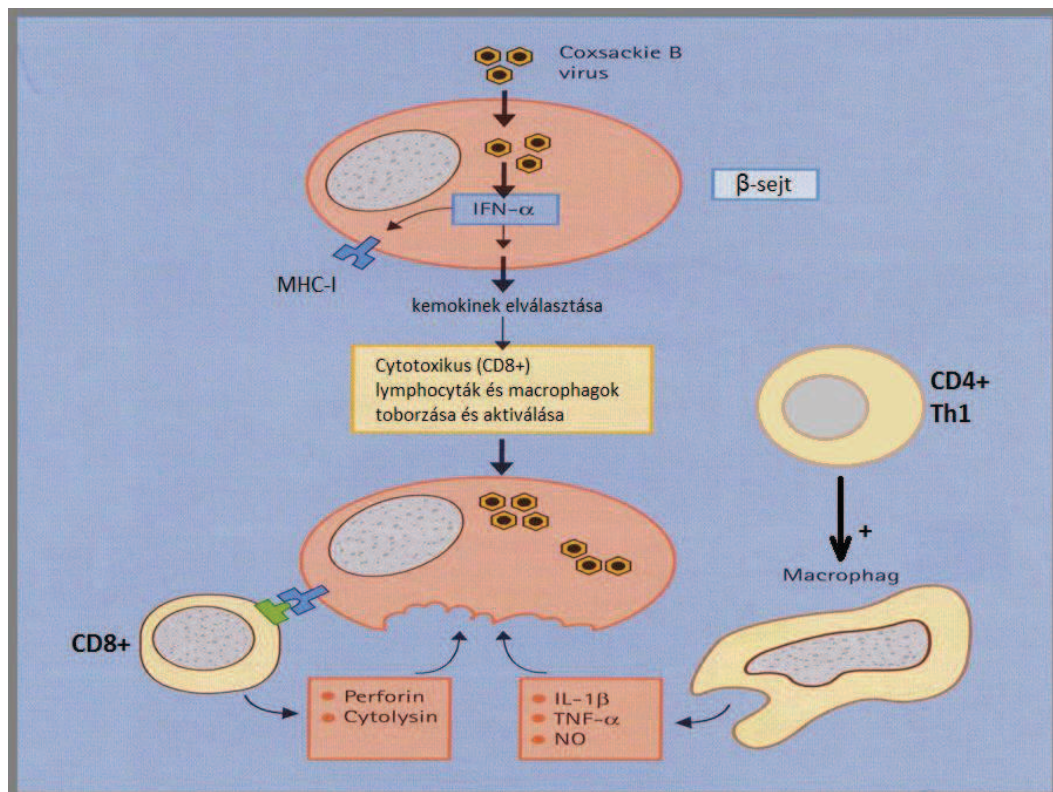
Ábrák

1. Ábra



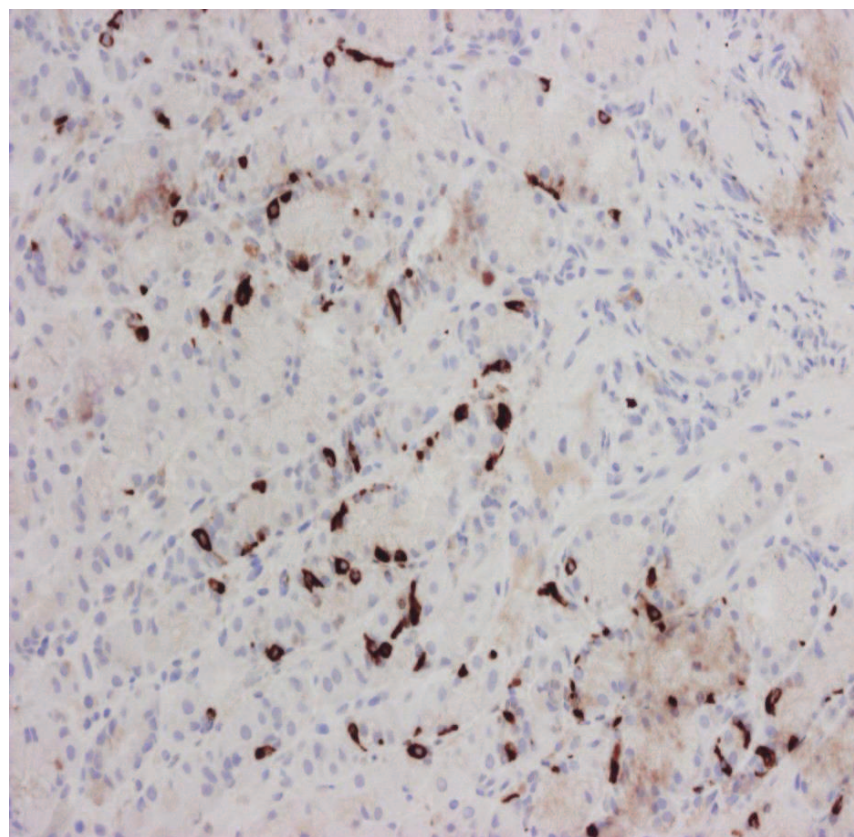
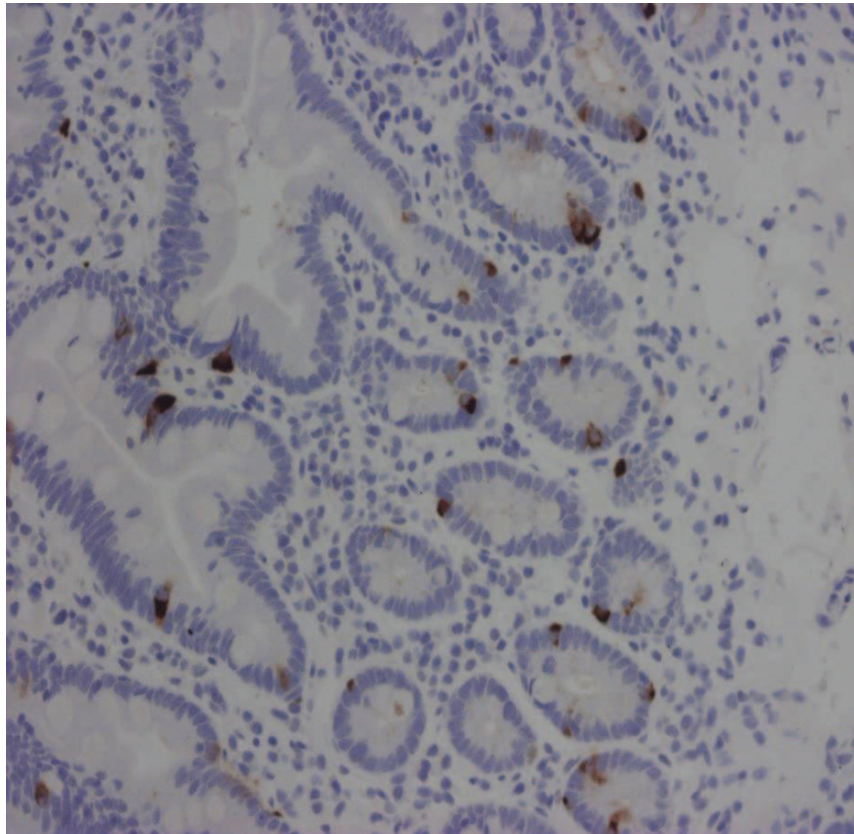
A Langerhans-szigetek mononuclearis sejtes infiltrációja, forrás: [10]

2. Ábra



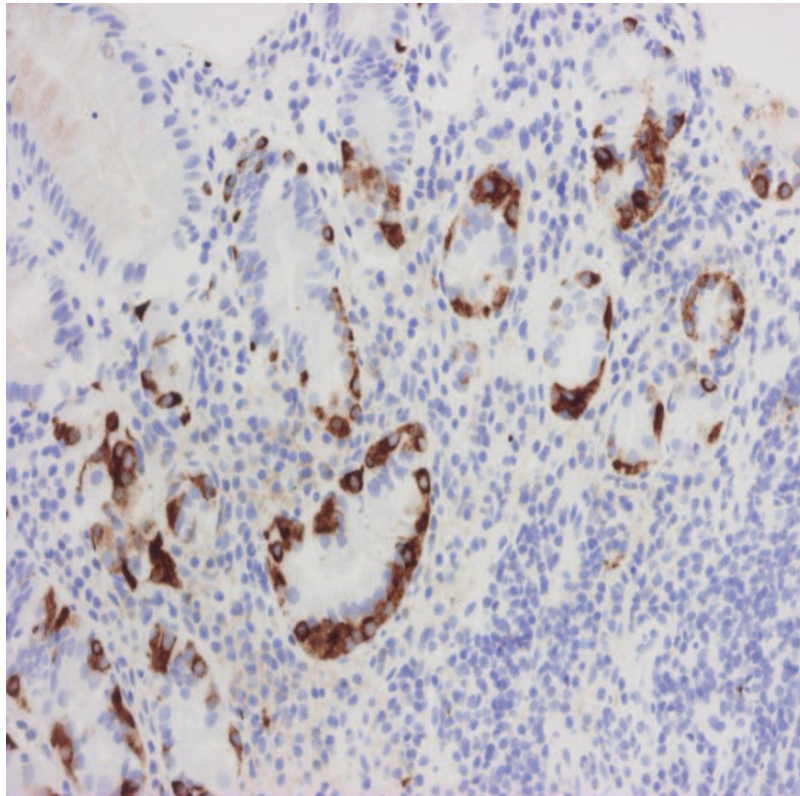
Az 1-es típusú diabetes mellitus kialakulásának vírus-teóriája, forrás: Prof. Dr. Somogyi Anikó szívességéből

4. Ábra



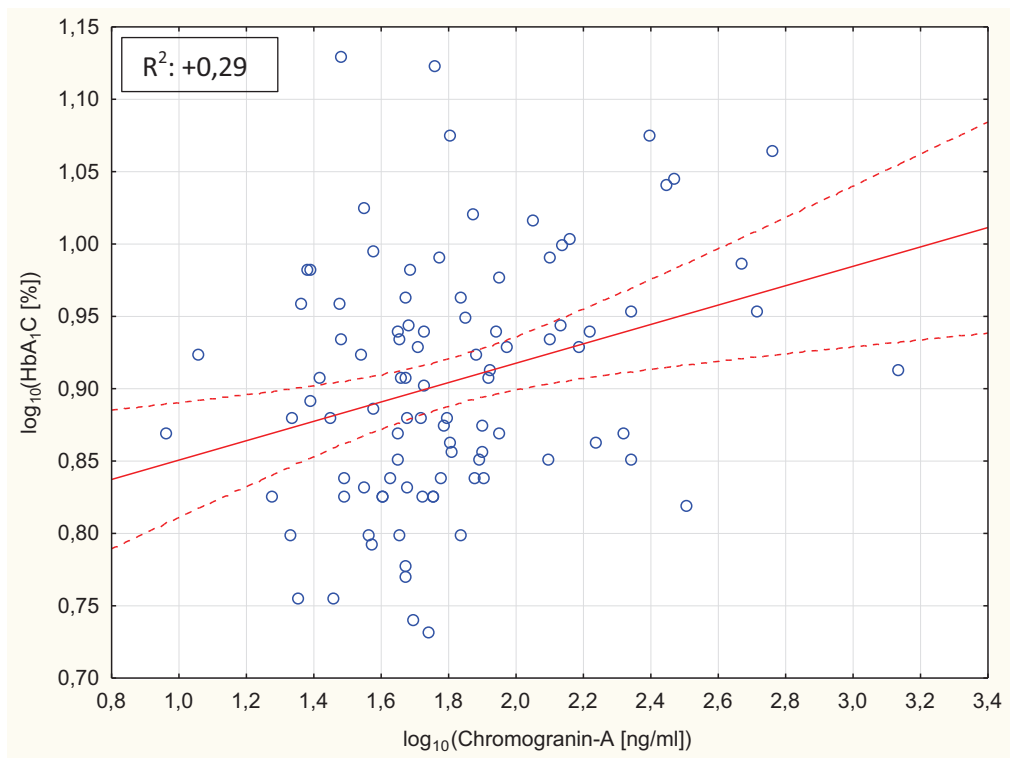
Hyperplázia-mentes negatív (felső) és sima hyperpláziát mutató (alsó) szövettani minta immunhisztokémiai festést követően.

5. Ábra



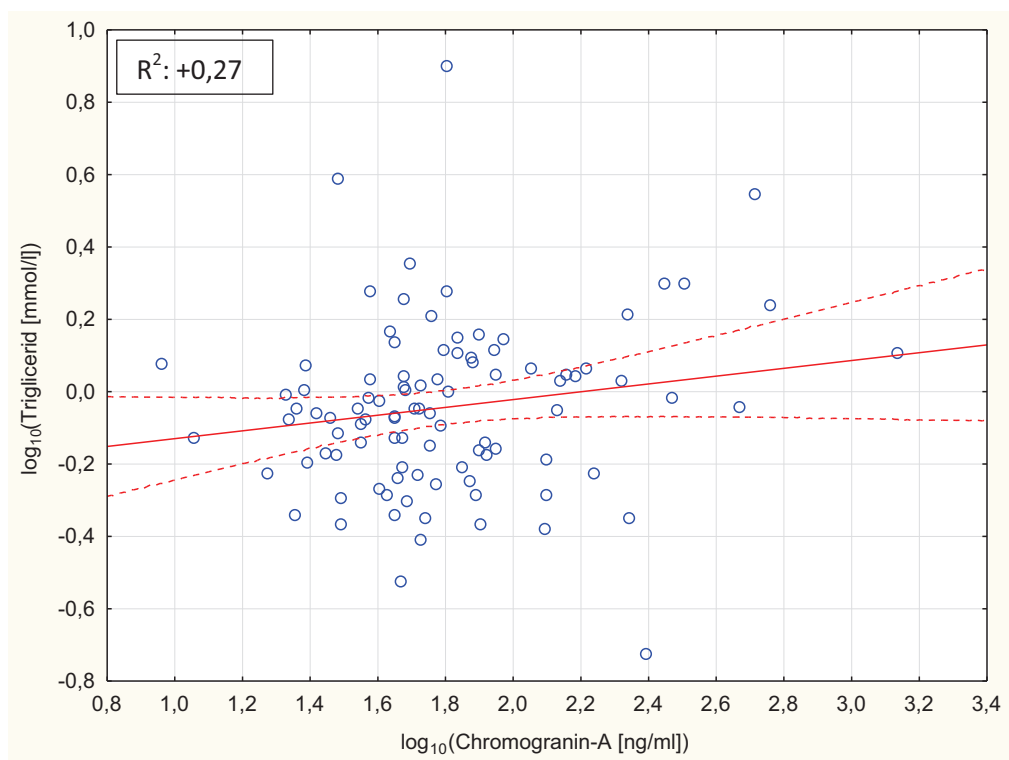
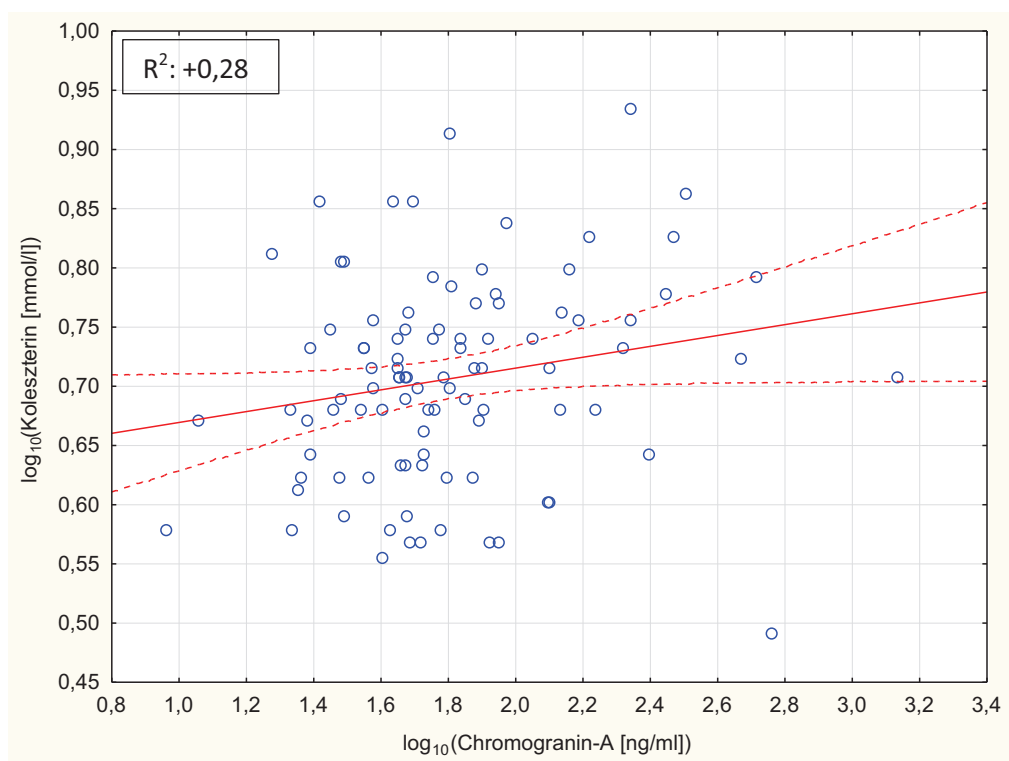
Lineáris hyperpláziát mutató szövettani minta immunhisztokémiai festést követően.

8. Ábra



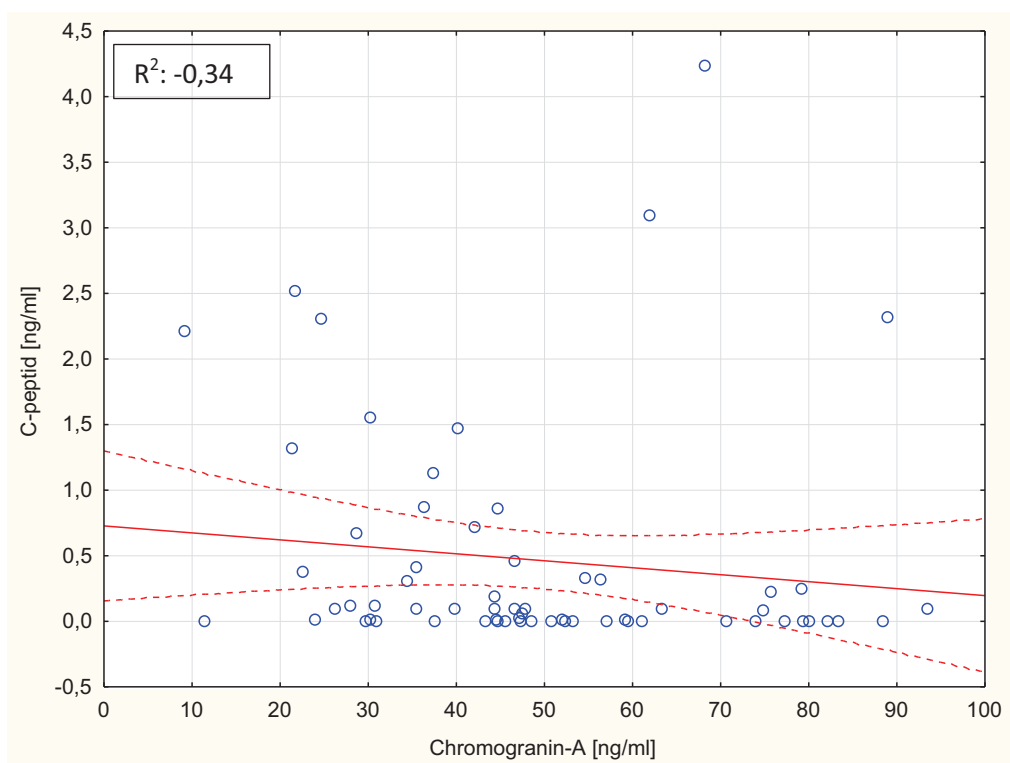
A Chromogranin-A és a HbA₁C összefüggése az összes betegben ($p < 0,05$).

9. Ábra



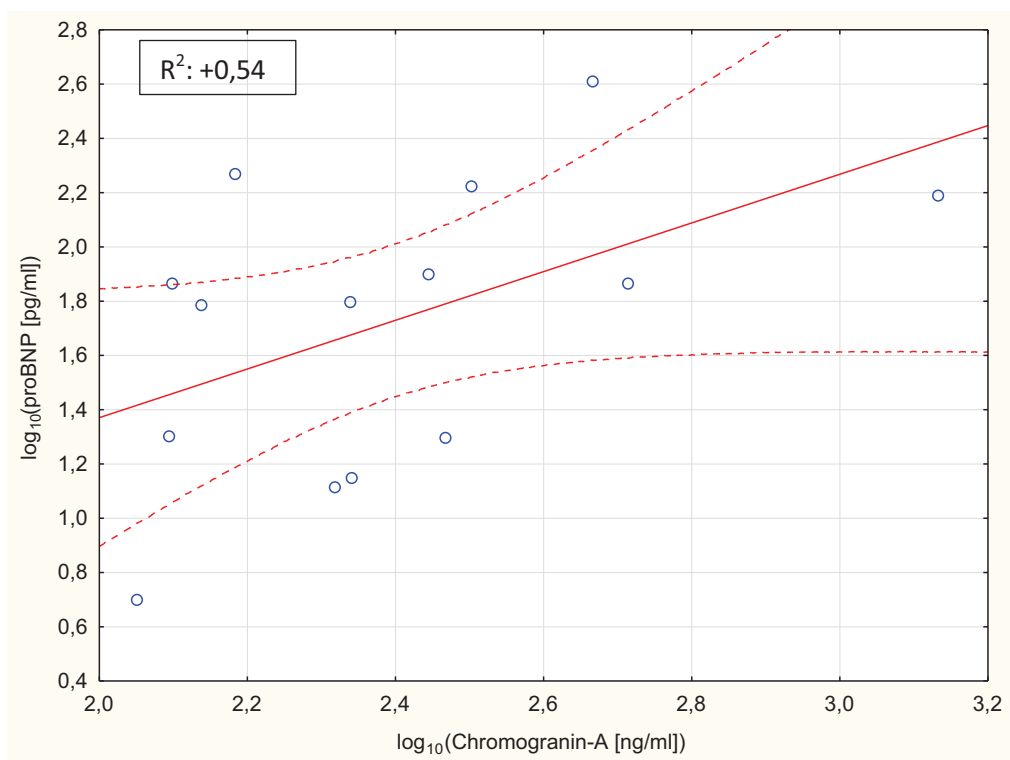
A Chromogranin-A és koleszterin ($p < 0,05$), illetve a triglicerid ($p < 0,01$) összefüggése az összes betegben.

11. Ábra



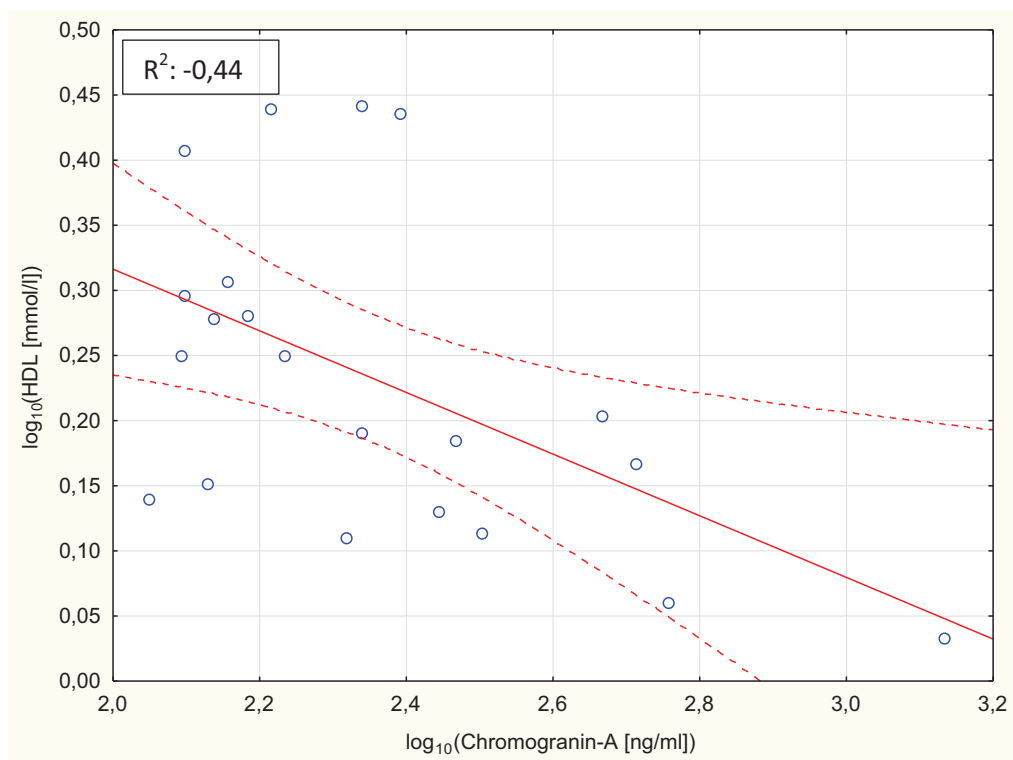
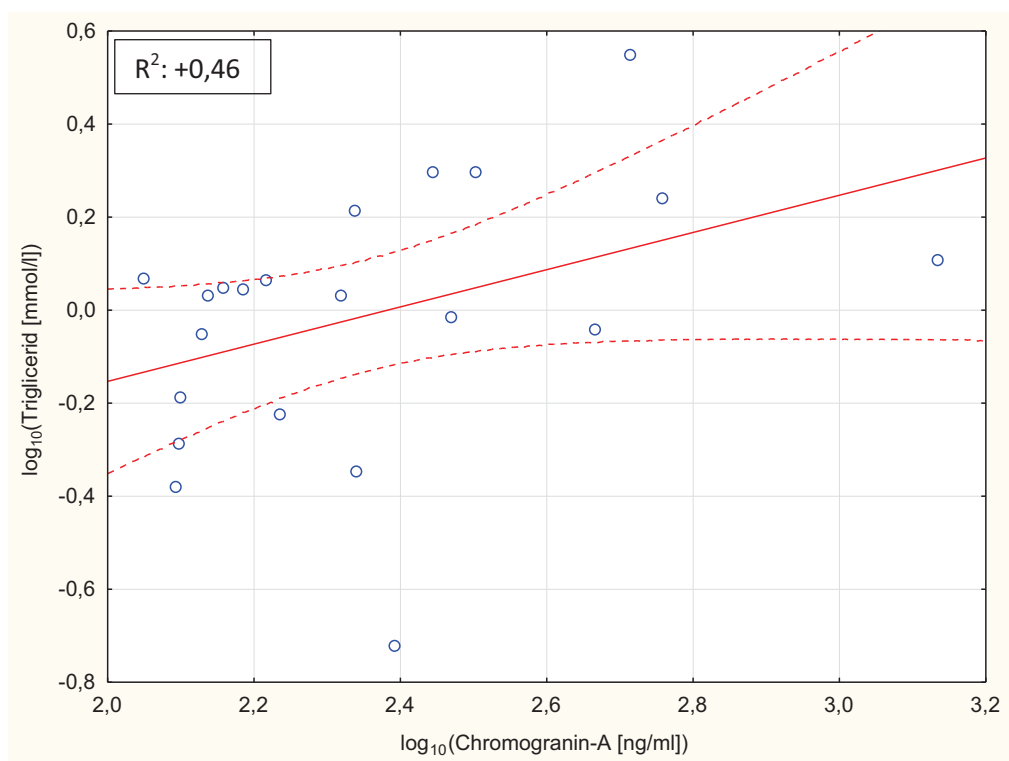
A Chromogranin-A és a C-peptid összefüggése a normál CgA csoportban ($p < 0,01$).

14. Ábra



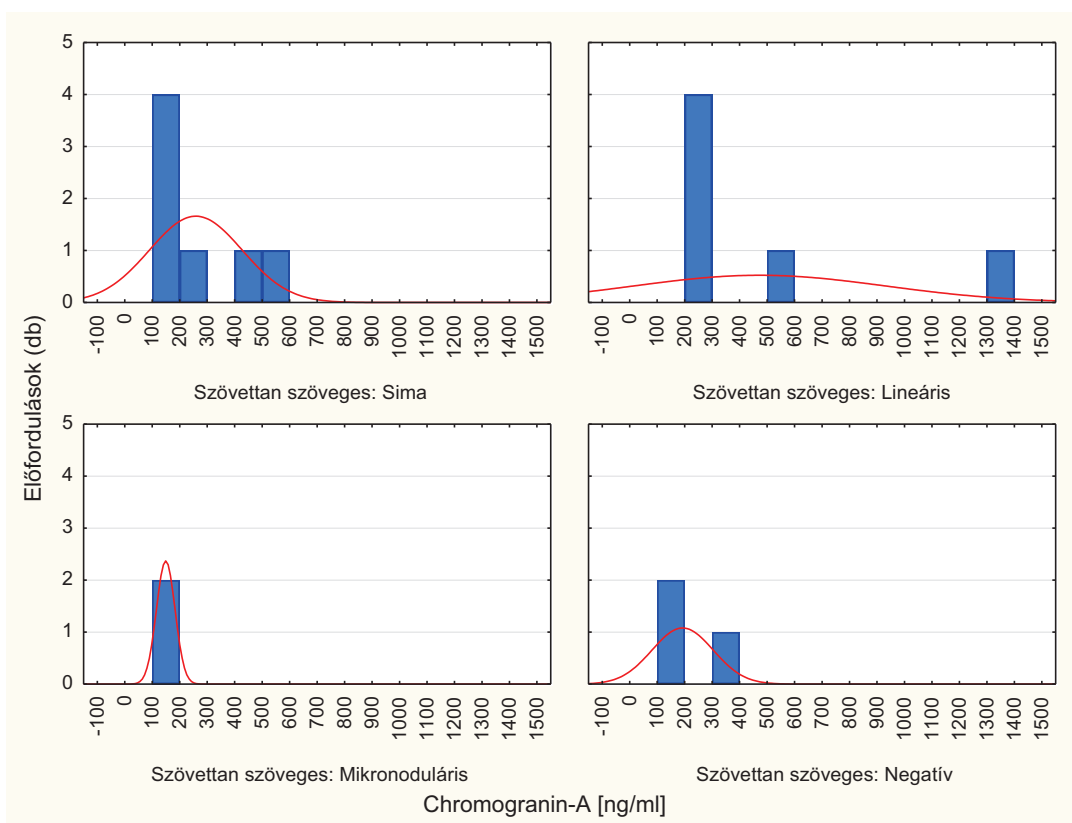
A Chromogranin-A és a B típusú átriális natriuretikus peptid (proBNP) összefüggése a magas CgA csoportban ($p < 0,05$).

15. Ábra



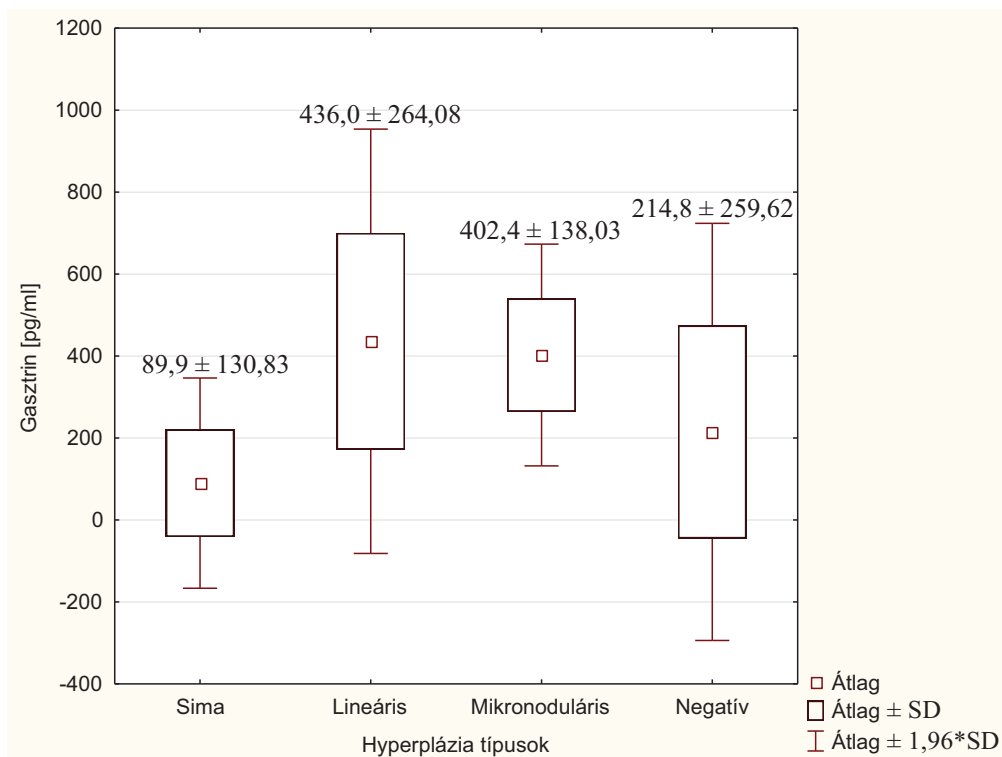
A Chromogranin-A és a triglicerid ($p < 0,05$), illetve a HDL-koleszterin ($p < 0,05$) összefüggése a magas CgA csoportban.

18. Ábra



A Chromogranin-A szintek előfordulásai a hyperpláziás alcsoportokban (n.s.).

19. Ábra



A gasztrin eloszlása a hyperpláziás alcsoportokban (sima vs. lineáris: $p < 0,01$).

Táblázatok

1. Táblázat

Chromogranin	Szinonim néve
Chromogranin-A (CgA)	parathyroid secretory protein 1
Chromogranin-B (CgB)	secretoneurin, secretogranin I (SgI)
Chromogranin-C (CgC)	secretogranin II (SgII), secretoneurin-included (SN, included)
Secretogranin-III/1B1075 (SgIII)	
Secretogranin-IV/HISL-19 antigen (SgIV)	
Secretogranin-V	Neuroendocrine protein 7B2
Secretogranin-VI	NESP55

A Chromogranin fehérjecsalád tagjai (Feldman és mtsai. nyomán).

2. Táblázat

Paraméterek	Átlag ± SD	95%-os konfidencia intervallum
Életkor [év]	36,7 ± 11,54	34,44 – 39,04
Chromogranin-A [ng/ml]	100,7 ± 161,50	68,30 – 133,05
IGF-1 [ng/ml]	170,9 ± 60,64	52,39 – 72,00
Gasztrin [pg/ml]	147,1 ± 202,92	83,86 – 210,33
C-peptid [ng/ml]	0,4 ± 0,80	0,22 – 0,58
TSH [mIU/l]	2,0 ± 2,61	1,51 – 2,56
aTPO [U/l]	102,8 ± 168,75	67,89 – 137,78
Koleszterin [mmol/l]	5,2 ± 1,03	4,97 – 5,39
Vörösvértest [Tera/l]	4,9 ± 0,54	4,84 – 5,06
HbA _{1c} [%]	8,2 ± 1,65	7,85 – 8,51
Éhomi vércukor [mmol/l]	9,2 ± 4,33	8,33 – 10,06
Kreatinin [μmol/l]	77,8 ± 17,00	74,32 – 81,24
proBNP [pg/ml]	66,8 ± 106,90	42,54 – 91,07
Diabétesz fennállási ideje [év]	15,3 ± 10,39	13,14 – 17,42
BMI [kg/m ²]	24,9 ± 4,93	23,73 – 25,99
ICA pozitivitás [db]	44	Ø
GAD ₆₅ pozitivitás [db]	44	Ø

A rutin laboratóriumi és egyéb paraméterek értékei az összes betegben.

3. Táblázat

	Összes eset: 21 beteg
Nincs elváltozás	3 beteg
Sima hyperplázia	7 beteg
Lineáris hyperplázia	6 beteg
Mikronoduláris hiperplázia	2 beteg
Nem járult hozzá a gasztroszkópia elvégzéséhez	3 beteg

A gasztroszkópiás vizsgálatok során vett biopsziák eredményei a magas CgA csoportban.

4. Táblázat

	Hyperpláziás csoportok				Nincs gastro. (n=3)
	Sima (n=7)	Lineáris (n=6)	Mikronoduláris (n=2)	Negatív (n=3)	
Pajzsmirigybetegség	0	0	2	2	1
Vitiligo	0	0	1	0	0
Anaemia Perniciosa	1	1	2	0	0
APS-3A	0	0	1	0	0
Hypertonia	5	3	0	1	2

Az 1-es típusú diabétesszel társuló autoimmun betegségek és a hypertonia esetszámai az egyes hyperpláziás alcsoportokban.

5. Táblázat

Paraméterek	Normál CgA (n=77)	Magas CgA (n=21)	Szignifikancia
Életkor [év]	36,5 ± 12,35	37,7 ± 8,22	n.s.
Chromogranin-A [ng/ml]	49,3 ± 20,02	289,2 ± 278,38	p<0,001
IGF-1 [ng/ml]	176,3 ± 62,54	151,7 ± 50,31	n.s.
Gasztrin [pg/ml]	37,0 ± 27,15	257,2 ± 241,30	p<0,001
C-peptid [ng/ml]	0,47 ± 0,86	0,08 ± 0,18	n.s.
TSH [mIU/l]	2,1 ± 2,82	1,7 ± 1,58	n.s.
aTPO [U/l]	97,3 ± 155,88	122,8 ± 212,23	n.s.
Koleszterin [mmol/l]	5,1 ± 0,96	5,6 ± 1,22	n.s.
Vörösvértest [Tera/l]	5,0 ± 0,54	4,7 ± 0,50	p<0,05
HbA ₁ C [%]	7,9 ± 1,59	9,1 ± 1,55	p<0,01
Éhomi vércukor [mmol/l]	9,2 ± 3,95	9,2 ± 5,60	n.s.
Kreatinin [μmol/l]	75,8 ± 13,49	74,4 ± 13,23	n.s.
proBNP [pg/ml]	60,3 ± 106,42	96,0 ± 108,06	n.s.
Diabétesz fennállási ideje [év]	14,1 ± 10,69	19,5 ± 8,17	p<0,05
BMI [kg/m ²]	25,1 ± 5,11	23,9 ± 4,17	n.s.
ICA pozitívitas [db]	39	5	n.s.
GAD ₆₅ pozitívitas [db]	38	6	n.s.

A rutin laboratóriumi és egyéb paraméterek értékei a normál és a magas CgA csoportokban (*n.s. = nincs szignifikáns eltérés).

6. Táblázat

	Normál CgA (n: 77)		Magas CgA (n: 21)	
	Férfiak (n: 39)	Nők (n: 38)	Férfiak (n:6)	Nők (n:15)
Pajzsmirigybetegség	4	10	1	4
Vitiligo	2	2	0	1
Alopecia	3	1	0	0
Anaemia Perniciosa	1	3	0	4
Coeliakia	1	2	0	0
Crohn-betegség	2	0	0	0
Addison-kór	0	0	0	0
APS-3A	1	1	0	1

Az 1-es típusú diabéteszrel társuló autoimmun betegségek esetszámai a normál és az emelkedett Chromogranin-A csoportokban.

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott Prof. Dr. Somogyi Anikó kijelentem, hogy Herold Zoltán „Chromogranin-A vizsgálata 1-es típusú diabetes mellitusban” c. szakdolgozatának tartalmát ismerem, az abban foglaltakkal egyetértek, és a dolgot benyújtásra, illetve védelemre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2014. április 22.

Prof. Dr. Somogyi Anikó

Egyetemi tanár

Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar

II. sz. Belgyógyászati Klinika

HuVetA - SZIA

ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név:

Elérhetőség (e-mail cím):.....

A feltöltendő mű címe:.....

.....

A mű megjelenési adatai:.....

Az átadott fájlok száma:

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA és a SZIA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédtett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyeznek, hogy a HuVetA és a SZIA egynél több (csak a HuVetA és a SZIA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy a átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (**egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel**):

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban/SZIA-ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- a Szent István Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a SZIE Állatorvos-tudományi Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

* Jelen nyilatkozat az 5/2011. számú, *A Szent István Egyetemen folytatott tudományos publikációs tevékenységgel kapcsolatos adatbázis kialakításáról és alkalmazásáról* című rektori utasításhoz kapcsolódik, illetve annak alapján készült.

Kérjük, **nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:**

Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA/SZIA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban/SZIA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénysértő módon visszaélne.

Budapest, 201... évhónap

aláírás
szerző/a szerzői jog tulajdonosa

*A **HuVetA Magyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive** a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.*

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvos-tudományi Kar és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*

*A **SZIA Szent István Archívum** a Szent István Egyetemen keletkezett tudományos dolgozatok tára.*