

Dohányzás és vérlemezke aktiválódás szerepe a sclerosis multiplex kialakulásában

Szerző: Dr. Pukoli Dániel

2014

Bevezetés

A sclerosis multiplex (SM) **központi idegrendszeri, demielinizációval és axonális károsodással** járó, **krónikus, autoimmun gyulladással** járó kórkép.^{1,2} Számos tanulmány igazolta már, hogy a kórkép kialakulásában genetikai és környezeti tényezők egyaránt szerepet játszanak, azonban a pontos etiológiai háttér teljes mértékben még jelenleg sem tisztázott. A környezeti tényezők közül fontos szerepet tulajdonítanak a vírusoknak³, a dohányzásnak^{4,5} és a napsütötte órák számának egyaránt.^{6,7} A dohányzás az egyik legfontosabb környezeti tényezőként szereplő rizikófaktor a betegség kialakulása szempontjából. Számos epidemiológiai bizonyíték utal a dohányzás oki szerepére SM-ben. Egy nemrégiben megjelent kutatás szerint a dohányzás az SM kialakulásának **kezdeti szakaszán** jelentős, későbbi szakaszán pedig mérsékelt rizikótényezőt jelent.⁸ A nikotin metabolitja a kotinin, amely jó biomarker a dohányzás kimutatására.⁹ Egy biobank tanulmány mérsékelt kotinin szint emelkedést mutatott ki SM-ben szenvedő betegekben.¹⁰ A dohányfüst több ezer káros anyagot tartalmaz., amelynek proinflammatorikus, direkt szövetkárosító, apoptózist indukáló, immunszuprimáló hatása van. A dohányzás makrofágokból és B limfocitákból, valamint vérlemezkékből proinflammatorikus citokinek felszabadulását idézi elő. Ezek a gyulladással mediátorok aktiválják a T limfocitákat.¹¹ Emellett magas metalloprotein (MMP) szintet mértek SM-ben szenvedő dohányosok vérében.¹² A MMP-ok más adhéziós molekulákkal együtt (V-CAM, interleukinok) részt vesznek az immunsejtek vér-agy gáton történő átjutásában.¹³ Egyre több munkacsoport számol be a vérlemezkék vér-agy gát károsodásban betöltött szerepéről. Thornton és mtsai (2010) vizsgálatai szerint, az aktivált vérlemezkékből felszabaduló IL-1 α fokozza az adhéziós molekulák (ICAM-1) és kemokinek expresszióját (CXCL-1) az agyi erek endotélsejtjeiben. Ezek a kemokinek és adhéziós molekulák elősegítik a fehérvérsejtek transendothelialis migrációját a központi idegrendszerbe.¹⁴

Anyagok és módszerek

Jelen kutatásunkban a vérlemezkék által termelt arachidonsav metabolitok, mint gyulladással mediátorok sclerosis multiplexben betöltött szerepének vizsgálatát kezdtük el. Előzetesen arra kerestük a választ, hogy a dohányzás, mint környezeti tényező, a vérlemezkék

funkciójának megváltoztatása révén, képes lehet-e befolyásolni a sclerosis multiplex kialakulását, lefolyását.

A sclerosis multiplex korai fázisában (CIS) szenvedő (15 fő) és egészséges férfiak (14 fő) vérlemezkeit tanulmányoztuk. Arra kerestük a választ, hogy kimutatható-e különbség a dohányzó és nem dohányzó egyének trombocitái között. Vizsgálataink retrospektív jellegűek voltak. Az SZTE Neurológiai Klinikán megjelent és Klinikailag Izolált Szindrómával (CIS) diagnosztizált páciensek, valamint az egészséges (kontroll) egyének vérvételi eredményét elemeztük, a Medsolution nevű informatikai rendszer segítségével. Munkánk során a 88/2009-es számú etikai engedélyben leírtaknak megfelelően jártunk el. A betegcsoportba történő beválasztás kritériuma az volt, hogy a páciens SM-re jellegzetes klinikai tünetet mutasson, az MRI-n a diagnosztikus kritériumnak megfelelő eltérések legyenek, a liquorban oligoclonalis gammopathiát (OGP) lehessen kimutatni és megfelelően a klinikailag izolált szindróma (CIS) fogalmának. Kizáró tényezőként szerepelt mind a beteg, mind a kontroll csoportban a nem szteroid (NSAID), vagy szteroid gyulladás gátló, illetve más, vérlemezke aktivitást befolyásoló gyógyszer rendszeres szedése. A páciensek adatait nemben és korban megegyező egészséges kontroll egyének adataival hasonlítottuk össze. Megnéztük a vizsgálatba bevont egyének fehérvérsejt és vérlemezke számát, az átlagos trombocita térfogat (MPV) értéküket, gyulladásos paramétereiket, triglicerid szintjüket, valamint koleszterin értéküket. Az egyes értékeknek kiszámoltuk az átlagát, és az átlagtól való eltérését.

Eredményeinket Sigmaplot 11,0 szoftver segítségével analizáltuk. Az egyes paraméterek (fehérvérsejt szám, vérlemezke szám, átlagos trombocita térfogat) csoporton belüli, ill. csoportok közötti különbségek kimutatásához kétutas ANOVA-t, majd ezt követően Holm-Sidak post hoc tesztet használtunk. Ábráinkon az eredmények átlagát, és az átlag szórását (átlag \pm SE) tüntettük fel, csoportokra lebontva, az egyes vizsgálati paraméterek függvényében. A változásokat $p < 0,05$ szint esetén tekintettük szignifikánsnak.

Eredmények

Az 1. táblázatban a CIS-ban szenvedő dohányzó, és nem dohányzó betegek vérlemezke és fehérvérsejt számának, vérlemezke térfogatának és C-reaktív protein értékének átlagát, és az átlagok szórását tüntettük fel.

CIS BETEG CSOPORT				
	Vérlemezke szám x1000 sejt/μl	MPV fl	Fehérvérsejt szám x1000 sejt/μl	CRP mg/L
Dohányos				
Átlag	235,57	11,29	7,00	1,83
\pmSE	15,49	0,19	0,47	0,20
		p < 0,003		
Nem dohányos				
Átlag	209,88	12,13	7,22	2,06
\pmSE	15,40	0,17	0,63	0,06

1. táblázat A dohányzó és nem dohányzó, Klinikailag Izolált Szindrómával (CIS) diagnosztizált betegek laboratóriumi paraméterei

MPV: mean platelet volume / átlagos vérlemezke térfogat, **CRP:** C-reaktív protein, **fl:** femtoliter/ 10^{-15} L

A 2. táblázatban az egészséges (kontroll) dohányzó, és nem dohányzó egyének vérlemezke és fehérvérsejt számának, vérlemezke térfogatának és C-reaktív protein értékének átlagát és az átlagok szórását tüntettük fel.

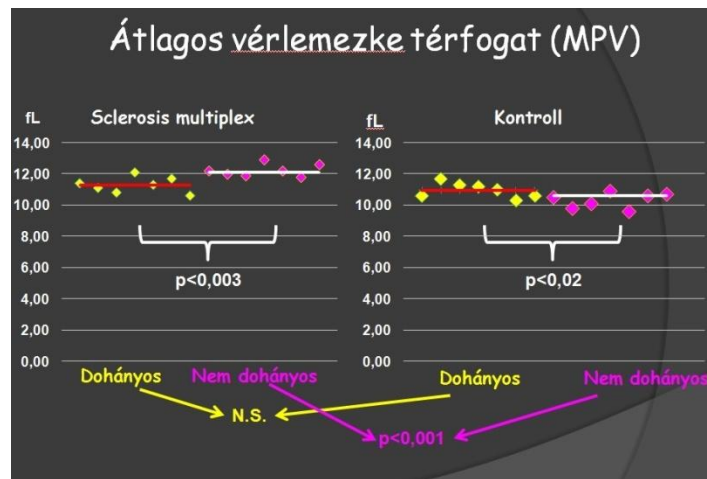
EGÉSZSÉGES (KONTROLL) CSOPORT				
	Vérlemezke szám x1000 sejt/μl	MPV fl	Fehérvérsejt szám x1000 sejt/μl	CRP mg/L
Dohányos				
Átlag	229,00	10,96	6,14	2,03
\pmSE	14,90	0,18	0,57	0,03
		p<0,02		
Nem dohányos				
Átlag	230,00	10,31	5,60	2,06
\pmSE	10,76	0,18	0,48	0,03

2. táblázat A dohányzó és nem dohányzó, egészséges/CIS-val nem diagnosztizált egyének laboratóriumi paraméterei

MPV: mean platelet volume / átlagos vérlemezke térfogat, **CRP:** C-reaktív protein, **fl:** femtoliter/ 10^{-15} L

Egyéb, általunk figyelemmel kísért laboratóriumi paraméter, mint a triglicerid és a koleszterin szint, valamint a véresejtsüllyedés, a normál fiziológiás tartományban voltak mind a négy vizsgált csoportban.

A fehérvérsejt szám alakulásában szignifikáns eltérés nem volt kimutatható sem a dohányzás, sem a betegség vonatkozásában. A dohányzás, valamint a betegség nem befolyásolta lényegesen a vérlemezke számot sem. Az átlagos vérlemezke térfogat értékekben szignifikáns eltérések voltak kimutathatók az általunk vizsgált csoportokban (1. ábra).



1. ábra Vérlemezke térfogat összehasonlítása az általunk vizsgált csoportokban

A \diamond jelek az egyedi értékeket, míg a vonalak az adott csoport átlagát mutatják. N.S.: nem szignifikáns

A CIS betegek vérlemezke térfogata ($11,73 \pm 0,17$ fL) nagyobb volt, mint a kontroll egyéneké ($10,64 \pm 0,15$ fL; $p < 0,001$), míg a vérlemezke számban nem volt különbség. A CIS páciensek közül, a dohányzók vérlemezkei kisebb térfogatúak voltak ($11,29 \pm 0,19$ fL), mint a nem dohányzóké ($12,13 \pm 0,17$ fL; $p < 0,01$).

Összefoglalás

A dohányzásnak, mint környezeti tényezőnek jelentőséget tulajdonítanak a sclerosis multiplex pathomechanizmusában. A dohányzás vérlemezke aggregációt, COX-1 mediálta vérlemezke aktiválódást idéz elő, amely jól korrelál az átlagos trombocita térfogat értékkel (MPV), kotinin és nikotin szinttel a vérben.¹⁵ A női nem körében ez a vérlemezkekre gyakorolt káros hatás kifejezettebb, mint a férfiaknál.¹⁶ A vérlemezke aktiválódás biomarkere az MPV

(Mean Platelet Volume), amely az átlagos trombocita térfogatot jelzi a vérben, valamint értéke a csontvelőben történő vérlemezke termelés mértékét tükrözi. Normál értéke: 7-11 fL. Magas MPV érték nagyszámú fiatal vérlemezke megjelenését jelzi a vérben. Ezek a fiatal vérlemezkek nagyobb számban tartalmaznak granulomokat, fokozottabb aggregációs készséggel rendelkeznek, magasabb a tromboxán A₂ (TxA₂) szintjük, magasabb számban expresszálják glikoprotein Ib és IIb/IIIa receptorokat.^{17,18} Vérlemezke aktiváció során az MPV érték megemelkedik, és jól korrelál a vérlemezke funkcióval (aggregációs készség, tromboxán szintézis, vérárvadási funkció, adhéziós molekulák expressziója).¹⁷ A vérlemezke térfogat változás nem csak diagnosztikus markerként szolgálhat, hanem a terápia hatékonyságának kimutatására is alkalmas lehet. D-vitamin terápia során MPV csökkenést észleltek, azaz az MPV a kezelés hatásosságának megítélésére is alkalmas lehet. D vitamin csökkenteni képes az adhéziós molekulák expresszióját, és a vérlemezkek szekréciónak tevékenységét is.^{19,20,21}

Saját, jelen vizsgálataink során, a krónikus dohányos, de sclerosis multiplexben nem szenvedő egyének vérlemezkeinek térfogata szignifikánsan nagyobb volt, mint a nem dohányzó egészséges egyéneké. Ez alátámasztja az irodalmi adatokat, azaz hogy a krónikus dohányzás aktiválja a vérlemezkeket. Jelen vizsgálataink eredménye igazolta más szerzők által megfigyelt vérlemezke aktivációt sclerosis multiplexben, mivel az átlagos vérlemezke térfogat értéke CIS-val diagnosztizált betegekben szignifikánsan magasabb volt, mint a kontroll csoportban a nem dohányzók körében. Ez a jelentős eltérés magyarázhatja a sclerosis multiplexben kialakuló vérgát károsodást, amihez a vérlemezkek aktivációja is hozzájárul.

A dohányzás oki szerepét nem sikerült igazolni sclerosis multiplexben, mivel dohányzás hatására a betegcsoportban csökkent az átlagos vérlemezke térfogat értéke, amelynek oka jelenleg ismeretlen, további kutatások céljává szolgál. Magyarázhatja például az, hogy a betegség miatt aktiválódott trombociták tovább nem aktiválhatók, vagy esetleg magát a vérlemezke érési folyamatát zavarja meg.

Ezek alapján vizsgálataink eredménye alátámasztja, más szerzők által megfigyelt vérlemezke aktivációt már a sclerosis multiplex korai szakaszában, így ez az egyszerű vizsgálat későbbiekben biomarkerként, további kutatások alapjául is szolgálhat. Gyakorlati hasznosíthatóságát elsősorban abban látjuk, hogy a kutatási eredmények alapot szolgáltathatnak a kórkép patogenezisének megismerésére. További terveink között szerepel az SM beteg

vérlemezkéje által termelt eikozanoidok vizsgálata, RIA és ELISA segítségével. Vizsgálatainkat ki szeretnénk egészíteni vérlemezkék aggregációs készségének vizsgálatával.

A vérlemezke aktivitás és az arachidonsav metabolizmus csökkentésére számos lehetőség van. Azaz eredményeink elősegíthetik a vérlemezkék sclerosis multiplexben betöltött szerepének feltárását, a preventív és terápiás stratégia kidolgozását, módosítását, melyek javíthatnák a beteg életminőségét és csökkenthetnék a betegség progresszióját.

Irodalomjegyzék:

1. Abbott NJ, Rönnbäck L, Hansson E: Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci.* 2006;7(1):41-53.
2. Alroughani R, AlHashel J, Lamdhade S, Ahmed SF: Predictors of conversion to multiple sclerosis in patients with clinical isolated syndrome using the revised McDonald criteria. *ISRN Neurol.* 2012; 2012:792192.
3. Christensen S, Farkas DK, Pedersen L, Miret M, Christiansen CF, Sorensen HT: Multiple sclerosis and risk of venous thromboembolism: a population-based cohort study. *Neuroepidemiology* 2012;38:76–83.
4. Csikós A, Gajdács J: Az Egészségügyi Minisztérium szakmai irányelve: A sclerosis multiplex diagnosztikája és kezelése. *Egészségügyi Közlöny*, 2010;LIX. évfolyam 21:3178-3196.
5. Di Pauli F, Reindl M, Ehling R, Schautzer F, Gneiss C, Lutterotti A, O'Reilly E, Munger K, Deisenhammer F, Ascherio A, Berger T: Smoking is a risk factor for early conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2008;14(8):1026-30.
6. Elzey BD, Ratliff TL, Sowa JM, Crist SA: Platelet CD40L at the interface of adaptive immunity. *Thromb Res* 2011;127:180–3.
7. Fazekas G, Tabira T: What transgenic and knockout mouse models teach us about experimental autoimmune encephalomyelitis. *Rev Immunogenet.* 2000;2(1):115-32.
8. Hartwig J, Italiano J Jr: The birth of the platelet. *J Thromb Haemost* 2003;1:1580–6.
9. Hedström AK, Sundqvist E, Bäärnhelm M, Nordin N, Hillert J, Kockum I, Olsson T, Alfredsson L: Smoking and two human leukocyte antigen genes interact to increase the risk for multiple sclerosis. *Brain.* 2011;134 (Pt 3):653-64.

10. Hernán MA, Jick SS, Logroscino G, Olek MJ, Ascherio A, Jick H: Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis. *Brain*.2005;128(Pt 6):1461-5.
11. http://site.oep.hu/prot2/23_A_sclerosis_multiplex_diagnosztikaja_es_kezelese_finanszirozasi_protokoll_hatteranyag.pdf
12. Kebapcilar AG, Kulaksizoglu M, Ipekci SH, Korkmaz H, Kebapcilar L, Akyurek F, Taner CE, Gonen MS: Relationship between mean platelet volume and low-grade systemic coagulation with vitamin D deficiency in primary ovarian insufficiency. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;288(1):207-12.
13. Koch MW, Metz LM, Agrawal SM, Yong VW: Environmental factors and their regulation of immunity in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2013;324(1-2):10-6.
14. Langer HF, Chavakis T: Platelets and neurovascular inflammation. *Thromb Haemost*. 2013;110(5):888-93.
15. Wai Mun Loke, Karen Lam Mok Sing, Chung-Yung J. Lee, Wan Ling Chong, Soh Eng Chew, Huiwen Huang, Woan Foon Looi, Amy M. L. Quek, Erle C. H. Lim and Raymond Chee Seong Seet: Cyclooxygenase-1 Mediated Platelet Reactivity in Young Male Smokers. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2012 v. 20 n. 4, p. 371-377
16. Butkiewicz AM, Kemonia-Chetnik I, Dymicka-Piekarska V, Matowicka-Karna J, Kemonia H, Radziwon P: Does smoking affect thrombocytopoiesis and platelet activation in women and men? *Adv Med Sci*. 2006;51:123-6.
17. Yarlioglues M, Ardic I, Dogdu O, Akpek M, Zencir C, Kasapkara HA, Kelesoglu S, Elcik D, Ozdogru I, Oguzhan A, Kaya MG: The acute effects of passive smoking on mean platelet volume in healthy volunteers. *Angiology*. 2012;63(5):353-7.
18. Zarbock A, Polanowska-Grabowska RK, Ley K: Platelet-neutrophil-interactions: linking hemostasis and inflammation. *Blood Rev*.2007;21(2):99-111.
19. Steinman L, Zamvil SS: How to successfully apply animals studies in experimental allergic encephalomyelitis to research on multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2006;60(1):12-21.
20. Sundstrom P, Nystrom L, Hallmans G: Smoke exposure increases the risk for multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2008;15(6):579-83.

21. Thacker EL, Mirzaei F, Ascherio A: Infectious mononucleosis and risk for multiple sclerosis: a meta-analysis. *Ann Neurol* 2006;59:499-503.

Támogatók:

Jelen munka a „A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú, Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.