

A gyermekkori veseelégtelenség rizikótényezői

OTKA K 71730

Bevezetés

Végállapotú veseelégtelenségben a vesepótló kezelések rutin eljárássá válása megteremtette a betegek rövid távú túlélésének lehetőségét. Egyértelművé vált azonban, hogy nem elég a szervezet méregtelenítésével, a folyadék és elektrolit háztartásának akut rendezésével elhárítani az életveszélyt. A veseelégtelenség számos ismert, illetve még ismeretlen kórélettani elváltozást és kórfolyamatot takar, melyek az egyes szervrendszerek, kiemelten pedig a szív-érrendszer korán kialakuló és súlyos kórállapotaihoz vezetnek.

Különösen fontos ezen eltérések felderítése, mechanizmusuk tisztázása gyermekkori veseelégtelenségben, ahol a kóros állapot évekig, évtizedekig fennállhat, befolyásolva ezzel a betegek életminőségét és életkilátásait. Jelen kutatásunkban ezen egymáshoz kapcsolódó, összetett, hálózatos folyamatok egy-egy szálának felgombolyítására vállalkoztunk.

A munkafolyamat, a kutatásban résztvevő személyek

A munkában kezdetben az I. sz. Gyermekklinikán működő Klinikai Nephrológiai Munkacsoport tagjai vettek részt. A második évtől új TDK hallgatók kapcsolódtak a kutatásba, akik az itt nyújtott teljesítményük alapján 2010-ben ill. 2011-ben felvételt nyertek a Semmelweis Egyetem Doktori Iskolájába. Az folyóiratokban közölt publikációs aktivitás mellett több díjazott TDK előadás, rektori pályázat, magyar és nemzetközi kongresszusi előadás hangzott el, valamint dr. Rusai Krisztina megszerezte PhD fokozatát, Kis Éva és Cseprekál Orsolya pedig fokozatszerzés előtt áll.

A kutatás tudományos eredményei

Pályázatunkban klinikai és állatkísérletes pillérre építve vizsgáltuk a gyermekkori krónikus vesebetegségek etiológiáját és szövődményeinek kialakulását.

1. Vizsgálatunk klinikai szakaszában

1.1. elemeztük a gyermekkori veseelégtelenség egyik leggyakoribb okaként megjelenő vesicoureteralis refluxhoz társuló húgyúti infekció során kialakuló vesehegesezés genetikai hátterét.

1.2. a krónikus vesebetegek korai cardiovascularis szövődményeinek non-invazív vizsgálatára alkalmas eljárásokat adaptáltunk a gyermekkorra, és alkalmaztunk a klinikai gyakorlatban. Vizsgáltuk a veseelégtelenségben, illetve az ezt követő veseátültetés után kialakuló érfali változások alakulását és lehetséges etiológiai tényezőit is

2. Állatkísérletes modellen vizsgáltuk a vese ischaemiás/reperfúziós károsodása során kialakult veseelégtelenségben szerepet játszó molekuláris folyamatokat.

Az eredmények részletes ismertetése

1.1. Húgyúti infekció/vesicoureteralis reflux során kialakuló vesehegyesedés genetikai hátterének vizsgálata.

A húgyúti fertőzések során kialakuló vesekárosodás veseszövet pusztuláshoz, súlyos esetben akár végállapotú veseelégtelenséghez is vezethet. Fontos ezért azoknak a mechanizmusoknak a vizsgálata, melyek a gyulladás alatt, illetve azt követően befolyásolhatják a vesefibrosis kialakulását.

Korábbi munkánk során kimutattuk, hogy a hősokk fehérje 72 (HSP72) és a toll-like receptor 4 (TLR4) genetikai polimorfizmusai szerepet játszhatnak rekurráló húgyúti fertőzés, illetve vesicoureterális reflux kialakulásában gyermekkorban.

Kapcsolatot keresve a krónikus vesebetegségek kialakulása és a fent említett polimorfizmusok között, vizsgálatainkat kiterjesztettük olyan gyermekpopulációra, amely végállapotú vesebetegség kialakulása miatt vesetranszplantáción esett át. A vesetranszplantált csoportban a genetikai polimorfizmusok gyakoriságát az alapbetegségek szerint is vizsgáltuk.

Vizsgálatainkba 41 veseátültetett gyermeket vontunk be, többségük valamilyen vese, illetve húgyúti malformáció talaján alakult végstádiumú vesebetegség miatt került transzplantációra. Kontroll csoportként 65 egészséges gyermek szolgált.

Eredmények szerint a csökkent expresszióhoz vezető HSP72 HSPA1B(1267)G allél gyakrabban fordult elő olyan vesetranszplantált gyermekekben, akik esetében a végállapotú vesebetegség vese-húgyúti anatómiai malformáció talaján alakult ki. Továbbá a kontroll csoporthoz viszonyítva ez az allél gyakoribb volt a vesetranszplantáltak egész csoportjában is. Eredményeink megerősítik azokat a korábbi adatokat, melyek szerint a hősokk fehérjék szerepet játszanak az embrionális, illetve perinatális korban a szövet- ill. a szervfejlődési program végrehajtásában. A hősokk fehérjék működésének szabályozásával lehetőség nyílna bizonyos fejlődési rendellenességekre, ezen belül is a húgyúti malformációk kialakulásának befolyásolására.

1.2. Krónikus vesebetegek korai és késői szív-érrendszeri szövődményeinek vizsgálata érfalmerevség meghatározással. A kapcsolódó metabolikus folyamatok vizsgálata.

Krónikus veseelégtelenségben az érfal öregedése felgyorsul, ami korai arteriosclerosisra és az átlagpopulációhoz képest két-három nagyságrenddel nagyobb szív-érrendszeri halálozáshoz vezet. A rizikóbecsléshez gyermekkorban nem invazív vizsgálóeljárásokat célszerű alkalmazni, ezeket azonban validálni kell, továbbá ki kell dolgozni a korfüggő normálértékeket.

Az érfali eltérések kialakulásában ún. nem tradicionális, a veseelégtelenséghez, illetve a veseátültetéshez köthető rizikófaktorok fontos szerepet játszanak. Ilyenek a kalcium-foszfát anyagcsere zavara, illetve a meszesedés irányába ható és az azt gátló tényezők egyensúlyának megbomlása.

1.2.1. Normálértékek meghatározása.

A szív-érrendszeri rizikóbecsléshez a pulzushullám terjedési sebesség (PWV - pulse wave velocity) mérését adaptáltuk gyermekkorra. Ez a módszer felnőttkorban a szív-érrendszeri halálozás független prediktora. Gyermekkorban azonban vizsgálatunk előtt még nem álltak rendelkezésre validált adatok.

Meghatároztuk és kor, illetve magasság alapján táblázatba foglaltuk a pulzushullám terjedési sebesség gyermekkori normálértékeit. Nemzetközi, (olasz, francia) kooperációval, 1008 fős gyermek adatbázist hoztunk létre. A kialakítottuk a pulzushullám terjedési sebesség gyermekkori, életkor és magasságfüggő percentilis táblázatait. Munkánk ebben a kategóriában nemzetközileg az első, publikációnkat szerkesztőségi kommentárral adták közre (Hypertension, 2010). Eredményeinkre támaszkodva a továbbiakban gyermekkori követéses vizsgálatok is tervezhetőek, mert az általunk kidolgozott percentilis görbék biztosítják a nemben, korban, testmagasságban különböző gyermekek összehasonlíthatóságát.

1.2.2. A rendelkezésre álló készülékek összehasonlítása

Adott vizsgálati paraméter elvben többféle módszerrel is meghatározható. Fontos, hogy a különböző eredetű, az esetek egy részében különböző mérési elven működő készülékek eredményei mennyire hasonlíthatóak össze, mert ez meghatározza az adott módszer szélesebb körű alkalmazhatóságát is.

Megvizsgáltuk, hogy az általunk használt, az applanációs tonometria elvén működő PulsePen készülékkel létrehozott adatbázis mennyire reprodukálható azonos elven, de más gyártótól származó PWV mérő készülékkel (Sphygmocor), illetve más mérési elven működő készülékkel (Vicorder). A validálást a nemzetközi ajánlásoknak megfelelő protokoll szerint végeztük el, 98, 6-20 év közötti gyermekek, illetve fiatalon. Mindhárom készülékkel meghatároztuk a PWV-t majd az eredményeket korreláltuk, illetve Bland-Altman szerint elemeztük. Azt találtuk, hogy az azonos elven működő készülékek egyezése kiváló, az oscillometriás elven működő Vicorder is jó egyezést mutat, azonban az adatokban szisztémás torzítás van: magasabb PWV értékeknél a Vicorder alacsonyabb értéket mér. Ennek alapján (a) az applanációs tonometria elvén működő készülékek adatai egymással kicserélhetőek- így a későbbi követéses vizsgálatok eredményei összehasonlíthatóvá válnak. (b) A Vicorder készüléknél tapasztalt torzítás csekély, gyakorlati jelentősége azonban az adott mérésstartományban elhanyagolható. A szisztémás torzítás okának elemzése további vizsgálatokat igényel.

1.2.3. A módszer alkalmazása klinikai körülmények között.

Az általunk kidolgozott módszert klinikai körülmények között is kipróbáltuk, alkalmaztuk.

(a) Veseátültetett gyermekcsoporton keresztmetszeti vizsgálatot végeztünk. Megállapítottuk, hogy a dialízisben eltöltött idő, illetve az átültetés utáni vesefunkció döntő hatással vannak a veseátültetést követő érfali rugalmasság alakulására, elsősorban az átültetést követő első két

évben. További meghatározó tényezőnek az átültetés előtt alkalmazott aktív D vitamin kumulatív dózisa bizonyult.

(b) Vizsgálódásunk ezen szakaszában a veseptlő kezelésben részesülő (veseelégtelen és transzplantált gyermekek) csontanyagcseréjével és az érrendszeri meszesedés ellen ható, fetuin-A fehérjével is foglalkoztunk, illetve vizsgáltuk ezek érfali merevségre (PWV-re) kifejtett hatását. Azt tapasztaltuk, hogy az általunk kidolgozott, származtatott, a szérum calcificatiós potenciálját tükröző CaxP/fetuin-A hányados szoros korrelációt mutatott az érfali rugalmatlanság mérőszámával, PWV-vel. A többszörös regressziós analízis arra világított rá, hogy transzplantáció előtt az általunk vizsgált paraméterek közül a CaxP/Fetuin-A hányados a PWV fontos prediktora, míg az egyes összetevőit külön-külön vizsgálva az összefüggés nem volt szignifikáns. Így ez az elsőként általunk alkalmazott paraméter alkalmas lehet a meszesedés irányában ható folyamatok előrejelzésére.

(c) Folytattuk a veseátültetett gyermekek követéses vizsgálatát. Előzetes eredményként megállapítottuk, hogy a veseátültetést követő harmadik évtől a vérsírok egyre fontosabb szerepet játszanak az érfalmerevség alakulásában.

2. Állatkísérletes modell vizsgálata a vese ischaemiás/reperfúziós (I/R) károsodása során

A veseátültetés során kialakuló I/R károsodás mértéke a graft túlélés fontos tényezője. A károsodás kialakulásának mechanizmusát megismerve lehetővé válhat akár preventív, akár terápiás intervenciók támadáspontjának meghatározása. Irodalmi adatok szerint a postischaemiás vascularis folyamatokra az erythropoietin, illetve a nemi hormonok meghatározó szereppel bírhatnak, ezért megvizsgáltuk a dehydroepiandrosteron (DHEA) ill. az erythropoietin (EPO) hatását a ischaemiás/reperfúziós károsodás kialakulására.

2.1. DHEA hatása a vese VEGF mennyiségének mRNS ill. protein szintű változásaira a vese ischaemiás/reperfúziós károsodásában

A DHEA előkezelés I/R károsodás során tapasztalható kedvező hatásáról irodalmi adatok ismertek. Kutatásunk során akut veseelégtelenség állatkísérletes modelljén a DHEA előkezelés hatását vizsgáltuk a vesében expresszáldó VEGF (vascular endothelial growth factor), IL-1beta (interleukin 1beta), IL-6 (interleukin 6) változásának tükrében. A DHEA előkezelés akut veseelégtelenségben a veseszövet IL-1beta, IL-6 and VEGF szintézisének változását eredményezte. DHEA-val előkezelt állatok veséjében a korai postischaemiás szakban alacsonyabb IL-1beta, IL-6 mRNS szint volt mérhető. Annak ellenére, hogy a VEGF mRNS szint nem mutatott eltérést, csökkent postischaemiás VEGF fehérjeszint volt tapasztalható a DHEA-val kezelt állatoknál.

A fentiekre alapozva a VEGF ellentétes - mRNS és fehérjeszintű - változásainak hátterében a postischaemiás veseszövetben lezajló poszt-transzkripcionális változásokat valószínűsítünk.

2.2 Vizsgáltuk az EPO vese I/R károsodásra kifejtett protektív hatását a szérumban glükokortikoidok által regulált kináz-1 (SGK-1)-en keresztül

Az SGK1 egy anti-apoptotikus tulajdonsággal rendelkező szerin-treonin kináz, melynek expresszióját részben a p38 MAPK váltja ki. Irodalomból ismert, hogy foszforilált formája védő szerepet tölt be a sejt különböző stressz állapotokban. Felmértük az EPO anti-apoptotikus hatását, amely számos in vitro és in vivo kísérletben már bizonyítást nyert, valamint ennek kapcsolatát az SGK1-gyel. In vitro vizsgálatunkban, az EPO Annexin V FACS méréssel igazolt protektív hatást fejtett ki humán embrionális vese sejtekre (HEK), amellyel párhuzamosan az SGK1 mérése

szignifikánsan magasabb expressziót mutatott. HEK sejtek kezelése p38 MAPK inhibitorral EPO kezelést követően az SGK-1 csökkent aktivitását eredményezte. Az SGK1 szintézisének gátlása RNS interferencia által, megszüntette az EPO anti-apoptotikus hatását.

Állatkísérletben a vese I/R károsodásban, a patkányok EPO-val való előkezelését követően szignifikáns protektív hatás volt tapasztalható mind a szövet károsodás, mind a vesefunkció tekintetében. Továbbá, az SGK1 expressziója és foszforilációja magasabb volt az EPO kezelt állatokban a vehikulummal kezeltékhez képest.

Összegezőképp elmondhatjuk, a vese I/R károsodása során az SGK1 közvetíti az EPO protektív hatását.

A pályázat további közvetett haszonnal járt

A pályázat során Rusai Krisztina PhD fokozatot szerzett, Kis Éva és Cseprekál Orsolya pedig fokozatszerzés előtt állnak:

Dr Rusai Krisztina (témavezető: Dr Szabó Attila, Dr. Reusz Gy)

A nitrogén-monoxid szintáz enzimek vizsgálata hipoxia által kiváltott kórképekben

Dr. Kis Éva (témavezető: Dr. Reusz Gy)

Az urémia és a vesetranszplantáció vaszkuláris hatásai gyermekkorban

Dr. Cseprekál Orsolya (témavezető: Dr. Reusz Gy):

Az érfalrugalmasság mérése egészséges és vesetranszplantált gyermekeknél – Pulzushullám terjedési sebesség gyermekkori normál értékeinek meghatározása

A munkában kilenc TDK hallgató vett részt, akik TDK konferencián, hazai és nemzetközi kongresszuson adtak elő, rektori pályázatokat készítettek, társszerzői lettek közleményeknek, ketten (Kerti Andrea, Dégi Arianna Amália) pedig felvételt nyertek a Semmelweis Egyetem Doktori iskolájába.

Budapest, 2012. január 22

Dr Reusz György

MELLÉKLET

A kutatás keretében megjelent közlemények

MEGJEGZÉS: Az OTKA útmutató szerint: „A jelentés közleményjegyzéke a kutatás eredményeit nyilvánosságra hozó közleményeket tartalmazza, a kutatás teljes időtartama alatt. Ehhez minden évben hozzá kell adni az újonnan megjelent közleményeket, *és törölni kell (vagy felülírni) a közlési folyamat előrehaladása miatt már feleslegessé vált átmeneti közlési formák adatait...*”.

Sajnos a rendszer a *törlést nem tette lehetővé*, ezért a feleslegessé vált összefoglalókat „duplum”-ként jelöltem és tartalmukat töröltem.

Az alábbiakban pedig csatolom a publikációs listát. Ez azonos a rendszerbe feltöltöttel, csak áttekinthetőbb.

Eredeti közlemények

összesített impakt faktor: 27.085

**folyóiratcikk 10
abstract 1**

1. Kis E, Cseprekál O, Kerti A, Salvi P, Benetos A, Tisler A, Szabó A, Tulassay T, ReuszGS: **Measurement of pulse wave velocity in children and young adults: a comparative study using three different devices.** HYPERTENS RES 34: pp. 1197-1202 (2011) IF: 2,353
2. Reusz GS, Cseprekal O, Temmar M, Kis E, Cherif AB, Thaleb A, Fekete A, Szabó AJ, Benetos A, Salvi P: **Reference values of pulse wave velocity in healthy children and teenagers.** HYPERTENSION 56: pp. 217-224 (2010) IF: 6,908
3. Rusai K, Banki NF, Prokai A, Podracka L, Szebeni B, Tulassay T, Reusz GS, Sallay P, Körmendy R, Szabo AJ, Fekete A: **Heat shock protein polymorphism predisposes to urinary tract malformations and renal transplantation in children.** TRANSPLANT PROC 42: pp. 2309-2311 (2010) IF: 0,994
4. Rusai K, Prókai A, Szebeni B, Fekete A, Treszl A, Vannay A, Müller V, Reusz G, Heemann U, Lutz J, Tulassay T, Szabó AJ: **Role of serum and glucocorticoid-regulated kinase-1 in the protective effects of erythropoietin during renal ischemia/reperfusion injury.** BIOCHEM PHARMACOL 79: pp. 1173-1181 (2010) IF: 4,889
5. Kis E, Nyitrai A, Várkonyi I, Mátyus I, Cseprekál O, Reusz G, Szabó A: **Voiding urosonography with second-generation contrast agent versus voiding cystourethrography.** PEDIATRIC NEPHROLOGY 25: pp. 2289-2293 (2010) IF: 2,425

6. Kis E, Cseprekál O, Bíró E, Kelen K, Ferenczi D, Kerti A, Szabó AJ, Szabó A, Reusz GS: **Effects of bone and mineral metabolism on arterial elasticity in chronic renal failure.** PEDIATR NEPHROL. 24: pp. 2413-2420 (2009) IF: 2,321
7. Vannay A, Fekete A, Langer R, Tóth T, Sziksz E, Vásárhelyi B, Szabó AJ, Losonczy G, Adori C, Gál A, Tulassay T, Szabó A: **Dehydroepiandrosterone pretreatment alters the ischaemia/reperfusion-induced VEGF, IL-1 and IL-6 gene expression in acute renal failure.** KIDNEY BLOOD PRESS RES 32: pp. 175-184 (2009) IF: 1,714
8. Cseprekál O, Kis E, Schäffer P, Othmane Tel H, Fekete BC, Vannay A, Szabó AJ, Rempfort A, Szabó A, Tulassay T, Reusz GS: **Pulse wave velocity in children following renal transplantation.** NEPHROL DIAL TRANSPLANT 24: pp. 309-315 (2009) IF: 3,160

Összefoglaló közlemények, review

9. Cseprekál O, Kis E, Szabó AJ, Reusz Gy: **Gyakorlati útmutató az érfalrugalmasság mérésére gyermekeknél. Mit mivel mérjük?** HYPERTONIA ÉS NEPHROLOGIA 14: pp. 183-191 (2010) IF:0
10. Reusz GS, Kis E, Cseprekal O, Szabó AJ, Kis E: **Captopril-enhanced renal scintigraphy in the diagnosis of pediatric hypertension.** PEDIATR NEPHROL 25: pp. 185-189 (2010) IF: 2,321

Konferenciaközlemény poszter

11. Cseprekal O, Kis E, Sallay P, Rempfort A, Szabo AJ, Tulassay T, Reusz G: **Bone metabolism and arterial stiffness in renal transplant children.** PEDIATR NEPHROL 23: pp. 1685 (2008)