

**Kardiovaszkuláris rizikófaktorok vizsgálata gyermekkorban és állatkísérletes modellen
témavezető: Dr Reusz György egyetemi tanár**

Bevezetés

A szív-érrendszeri betegségek a fogyasztói társadalmakban a vezető halálokok között szerepelnek. Az érrendszerre ható káros tényezők már gyermekkorban megjelennek. A háttérben zajló mechanizmusuk vizsgálata kiemelten fontos gyermekkorban, hiszen a kóros állapot évekig, évtizedekig fennállhat, befolyásolva ezzel a betegek életminőségét és életkilátásait. Ezért olyan nem-invazív eljárások bevezetésére van szükség, melyek előre jelezhetik az úgynevezett „kemény végpontok” – így az infarktus, stroke és a halálozás fokozott kockázatát.

Végállapotú veseelégtelenségben a vesepótló kezelések és ezen belül a veseátültetés rutin eljárássá váltak. Ez biztosítja a betegek rövid-középtávú túlélését. Egyértelművé vált azonban hogy a veseelégtelenség időszakában, illetve kisebb mértékben ugyan, de a veseátültetést követően is számos ismert, illetve még ismeretlen kórfolyamat zajlik, melyek az egyes szervrendszerek, kiemelten pedig a szív-érrendszer korán kialakuló és súlyos kórállapotaihoz vezetnek. Ismertek továbbá olyan veleszületett kóros állapotok, melyek önmagukban is károsan hatnak az érfal funkciójára és struktúrájára.

Jelen kutatásunkban ezen egymáshoz kapcsolódó, összetett, hálózatos folyamatok egy-egy szálának felgombolyítására vállalkoztunk.

A munkafolyamat, a kutatásban résztvevő személyek

A munkában az I. sz. Gyermekklinikán működő Klinikai Nephrológiai Munkacsoport tagjai – a vezető kutató mellett PhD hallgatók vettek részt, akik tudományos diákkörösök munkáját irányították. A folyóiratokban közölt publikációs aktivitás mellett több díjazott TDK előadás, rektori pályázat, magyar és nemzetközi kongresszusi előadás hangzott el. Ebben az időszakban Dr. Kis Éva és Dr. Cseprekál Orsolya megszerezte PhD fokozatát, Dr. Kerti Andrea és Dr. Dégi Arianna pedig fokozatszerzés előtt áll.

A kutatás tudományos eredményei

A nem invazív kardiovaszkuláris monitorozás lehetőségeit kutató pályázatunk egy klinikai és egy kísérletes vizsgálatrészből állt:

1. Fokozott kardiovaszkuláris rizikójú gyermekekben mértük és elemeztük az érfali rugalmasságot illetve az ezt befolyásoló tényezőket.
2. Diabetes állatmodellen vizsgáltuk az anyagcsere státusz és a vaszkuláris szövődmények (invazív és nem invazív módon mérhető paraméterek) összefüggését illetve a terápia vaszkuláris hatását.

A vizsgálatok részei (vázlat)

1. Vizsgálatunk klinikai szakasza

1.1. Vizsgáltuk egy új, felnőttkorban már bevált nem-invazív paraméter, az ambuláns artériás stiffness index (AASI) alkalmazhatóságát veseátültetett betegek érfalrugalmasságának jellemzésére

1.2. Vizsgáltuk az elhízás és az ezzel összefüggő metabolikus eltérések alakulását veseátültetett gyermekekben és ennek összefüggését az érfali rugalmassággal

1.3. Vizsgáltuk a vesetranszplantált gyermekek csontanyagcseréjének alakulását az átültetést követő 2 éves időszakban és a változások összefüggését a nem invazívan mért érfali rugalmassággal

1.4. Nemzetközi kooperációban vizsgáltuk egy speciális betegcsoport, a Williams szindrómában szenvedő betegek érfalrugalmasságának változását.

2. Állatkísérletes vizsgálat

Diabeteszes patkánymodelleiben RAAS gátlókat alkalmazva elemeztük ezek kardiovaszkuláris protektív hatását. Ennek egyik eszközeként egy új, általunk bevezetett, az érfalrugalmasság nem-invazív meghatározására szolgáló módszert alkalmaztunk.

Az eredmények részletes ismertetése

1.1. Az ambuláns artériás stiffness index (AASI) bevezetése és alkalmazása veseátültetett gyermekek érfalrugalmasságának jellemzésére

Az AASI egy egyszerű, a 24h-ás vérnyomásmérés adataiból származtatható paraméter. Felnőtt korban a stroke és a szív érrendszeri halálozás független előrejelzője. Gyermekgyógyászatban történő alkalmazhatóságáról azonban nem állt rendelkezésre adat.

Célkitűzés: Munkánk során vizsgáltuk az AASI és a tradicionális és nem tradicionális rizikótényezők közötti összefüggéseket.

Betegek és módszer: 54 veseátültetett gyermek (15.5 [3.5] év /átlag [SD]/) megfigyeléses, keresztmetszeti vizsgálatát végeztük el. Eredményeiket 15, korban illesztett, priméren hipertóniás, normális vesefunkciójú gyermek adataival vetettük össze. Meghatároztuk az AASI-t az ABPM vizsgálatok során mért szisztolés és diasztolés vérnyomásértékeket (SBP és DBP) közös koordináta rendszerben ábrázolva, az általuk meghatározott regressziós egyenes meredekségéből (1-meredekség). Mértük az anthropometriai adatokat, testösszetételt, vérnyomás és anyagcsere paramétereket.

Eredmények: Megállapítottuk, hogy a volumen-felesleg, az éjszakai vérnyomásesés elmaradása, és az átültetést megelőzően a dialízisben eltöltött idő az AASI független előrejelzői ($p < 0.05$). A fixált hipertóniás veseátültetettekben ($n=34$) az emelkedett AASI érték mellett magasabb volt az extracelluláris víztér és a myocardium terhelését mutató BNP érték ($p < 0.05$).

Ugyanakkor a pulzushullám terjedési sebesség (PWV) nem tért el a hipertenzív illetve normotenzív veseátültetettek között. A PWV azokban a gyermekekben volt magasabb, akik az átültetést megelőzően hosszabb időt töltöttek dialízisben.

Következtetés: Az AASI gyermekkorban is alkalmazható az érfal állapotának jellemzésére, elsősorban az aktuális nyomás és volumen-függő érfalimerevséget tükrözi. Ezzel szemben a PWV a nagyartériák hosszabb távú morfológiai eltéréseire ad felvilágosítást.

1.2. Vizsgáltuk az elhízás és az ezzel összefüggő metabolikus eltérések alakulását veseátültetett gyermekekben és ennek összefüggését az érfali rugalmassággal

Betegek, módszer: negyvenegy veseátültetett gyermeket (28 fiú) vontunk be a vizsgálatba. Életkoruk 15.7 [3.5] év volt. A testösszetételt a BMI-vel, haskörfogattal, bőrredővastagsággal és multifrekvenciás bioimpedancia-méréssel jellemeztük. Vizsgáltuk a glukóz-metabolizmust a vérnyomást és az érfalimerevséget (PWV). A korfüggő értékeket standard deviációs hányadossal (SDS) jellemeztük.

Eredmények: A túlsúly (BMI>85%) prevalenciája az átültetést megelőző 3.2%-ról a vizsgálat átlagosan 49 hónapja alatt 24.4%-ra nőtt. A BMI SDS -0.27 (0.79)-ről 0.67 (1.35)-ra emelkedett. Szoros összefüggés volt kimutatható a BMI SDS és a test-zsír tömeg között ($r=0.94$, $P<0001$). A csökkent glukóz toleranciát mutató gyermekeknek ($n=14$) magasabb volt a százalékos test zsír arányuk és a vérnyomásuk a normál cukor háztartással rendelkezőkhöz képest ($p<0.05$). A PWV nem mutatott eltérést a két csoport között.

Összefoglalva megállapítható, hogy a túlsúly előfordulása a magyar veseátültetett betegek között az átültetés idején alacsony, majd fokozatosan emelkedik. A túlsúly megváltozott cukorháztartással és vérnyomásemelkedéssel jár. A vizsgálati időszak alatt azonban még nem tükröződik az érfalimerevség alakulásában.

1.3. Veseátültetett gyermekek csontanyagcseréjének alakulása és a változások összefüggése a nem invazívan mért érfali rugalmassággal

Betegek, módszer: negyvenhét veseátültetett gyermeket vizsgáltunk. . Elemeztük a vesefüggés, lipid-, és csontanyagcseréjük időbeli változását és összefüggését a nem invazívan mért érfali rugalmassággal (PWV).

Eredmények: azt találtuk, hogy amíg a kreatinin, Ca, P, iPTH a normáltartomány szintjére csökkent, addig a vizsgált csontmarkerek továbbra is magasabb értékeket mutattak a korban és nemből illesztett kontrollcsoporthoz viszonyítva (ln csont alkalikus foszfátáz (BALP) 5,56 (0,73) vs 5,23 (0,61); ln osteocalcin (OC) 4,71 (0,85) vs 4,11 (0,84), ln β -crosslaps 7,11 (0,74) vs 6,59 (0,72); minden esetben $p<0,05$). Megfigyelésünk szerint a BALP szérum szintje csökkenő tendenciát mutatott a transzplantációt követő második éven túl. A csontmarkerek egy éves utánkövetése során, a korban illesztett normálértékekhez viszonyított hányados mindhárom, általunk vizsgált csontmarkerre vonatkoztatva szignifikánsan csökkent (ln BALP/kontroll: 1,34 (0,38) vs 0,44 (0,69); ln OC/kontroll: 1,39 (0,36) vs 0,45 (0,80); ln beta-crosslaps/kontroll: 1,27 (0,31) vs 0,56 (0,67); minden esetben $p<0,05$). A vesetranszplantáción átesett gyermekek PWV értéke korábbi vizsgálatainknak megfelelően emelkedett volt (PWV SDS: 1,15 (1,63)). A kevesebb, mint két éve transzplantált gyermekeknél a PWV SDS

összefüggést mutat a BALP értékével ($r=0,53$, $p<0,05$). A több mint, két éve transzplantált gyermekeknél a PWV SDS pedig a szérumban a koleszterin szinttel mutat összefüggést ($r=0,38$, $p<0,05$).

Összegezve veseátültetést követően a magasabb PWV összefüggést mutat a kóros csontanyagcsere paraméterekkel. Két éven túl a csontanyagcsere intenzitásának csökkenését látjuk a vizsgált populációban. A sikeres veseátültetést követő második évtől a diszlipidémiának is kóros szerepe lehet az érfali rugalmatlanság alakulásában.

1.4. Nemzetközi kooperációban vizsgáltuk egy speciális betegcsoport, a Williams szindrómában szenvedő betegek érfalrugalmasságának változását.

A Williams szindróma a 7-es kromoszómán található 26-28 gén deleciójának következménye. E gének között található az elasztin kódoló régió is. Hiánya egyebek mellett súlyos érrendszeri szövődményekkel, így szűkületekkel és hipertóniával is jár.

Betegek, módszer, eredmények: egy nemzetközi vizsgálatához csatlakozva, az abban vizsgált 77 Williams szindrómás beteghez saját adatbázisunkból illesztett egészséges kontrollban vizsgálva a PWV-t azt találtuk, hogy a betegek erei szignifikánsan merevebbek és ez már a fiatalabb korcsoportban is jelentős. A betegcsoportban alacsonyabb PWV érték mutatható ki a vérnyomás csökkentőt szedő gyermekeknél ill. NCF1 (neutrophil cytosolic factor 1) deleciót mutató gyerekeknél.

Összegzés: Eredményünk alapján Williams szindrómában az érfal strukturális károsodása a funkció számottevő károsodását is magával hozza. Feltételezhető a csökkent NCF1 kópiaszám protektív hatása. Az NCF1 NAD(P)H oxidáz alkotó eleme, összefüggése az érfali rugalmassággal felveti az oxidatív stressz szerepét a Williams szindrómások pathológiás érfali eltéréseinek kialakulásában.

2. Az érfal változásának in vivo, nem-invazív vizsgálata diabeteszes patkánymodellben

Munkánk során célul tűztük ki a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer (RAAS) gátlás terápia lehetőségeinek felmérését kísérletes diabetes mellitus vaszkuláris szövődményeinek kivédésében.

Első lépésként megvizsgáltuk egy új, laboratóriumi kisállatok vizsgálatára a közreműködésünkkel kifejlesztett, az applanációs tonometria elvén működő, a PWV meghatározására alkalmas készülék alkalmazhatóságát az érfalrugalmasság meghatározására egészséges és diabeteszes patkányoknál. Ismételt mérésekkel bizonyítottuk a módszer alkalmazhatóságát és az eredmények reprodukálhatóságát,

Vizsgálati módszer, vizsgálati állatok: Hím Wistar patkányokban streptozotocinnal (STZ) 1-es típusú DM-et hoztunk létre. Öthetes STZ-DM fennállása után, két hétig kezeltük az állatokat ($n=8$ kezelési csoportonként) per os az alábbi RAAS gátlókkal: enalapril (40mg/tskg/nap), losartán (20mg/tskg/nap); spironolakton (50mg/tskg/nap); eplerenon (50mg/tskg/nap). A kezelést követően isofluran anesztéziában PWV- és vérnyomásmérés történt; az állatokat leöltük, laborvizsgálatokat, szövettani elemzést végeztünk.

Eredményeink: A kiválasztott vérnyomáscsökkentő adag mellett a csoportok vérnyomásértékei között nem volt különbség, a RAAS-gátlókkal kezelt állatok vércukorszintje

nem különbözött. Az alacsonyabb GFR magasabb vércukorszintekkel és nagyobb szív tömeggel jár ($r=-0,3;p<0,03$). A PWV értéke függött az állat testtömegétől, a szisztolés és diasztolés vérnyomástól ($r=0,29;p<0,03$). Az enalaprillal kezelt állatok PWV értéke alacsonyabb a többi csoportéhoz viszonyítva ($p<0,003$).

Szövetteni elemzés során leírtuk, hogy az aorta intima media szélesség alacsonyabb az eplerenonnal kezelt csoportban. Aldoszteron antagonistákkal kezelt állatokban csökkent aorta media kollagén tartalma ($p<0,03$).

Összegzésül elmondhatjuk, hogy a PWV nem invazív mérése kísérletes állatban megvalósítható, ez új lehetőség krónikus vizsgálatban az érfal rugalmasságának követésére. A vérnyomást még nem befolyásoló dózisban alkalmazott enalapril pozitívan befolyásolja az érfalrugalmasságot, a jótékony hatás szövetteni vizsgálattal is igazolható. Vizsgálatunkban igazoltuk az ACE inhibitorok, az ARB-k és az aldoszteron antagonisták pozitív hatását az érfal eltérésekre klinikai és szövetteni szinten.

3. Összefoglalva

Egy új, egyszerű, reprodukálható, nem-invazív érfalvizsgálati módszert adaptáltunk a gyermekkorra. E módszer elsősorban a beteg aktuális volumenstatuszát és a vérnyomás okozta érfalfeszülést tükrözi.

Megállapítottuk, hogy veseátültetést követően jelentősen megemelkedik a túlsúlyos betegek száma, ami már gyermekkorban kimutathatóan fokozza a szív-érrendszeri kockázatukat is.

Megállapítottuk, hogy veseátültetés után közvetlenül, a fokozott csontátépülés szakaszában az érfal állapota a csontanyagcserével mutat párhuzamot. Két évvel a veseátültetést követően, a csontanyagcsere állapotának rendeződésével a lipid anyagcsere szerepe kerül előtérben.

Megállapítottuk, hogy Williams szindrómában az érfal strukturális károsodása a funkció számottevő károsodásával jár, melynek háttérében az elasztin gén deléciója mellett az oxidatív stressz is szerepet játszhat.

Állatkísérletes modellünkben nem-invazív vizsgálatmódszerrel is igazoltuk a RAAS gátlás jótékony szerepét az érfal állapotának alakulására. Ez a megközelítés lehetőséget teremt az állatkísérletek során a vizsgálati csoportok longitudinális követésére az állatok feláldozása nélkül.

4. A pályázat további közvetett haszna

A pályázat során az alábbi PHD dolgozatok születtek:

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 négy TDK hallgató vett részt, akiktől TDK konferencián, hazai és nemzetközi kongresszuson adtak elő, rektori pályázatokat készítettek, társszerzői lettek közleményeknek, közülük Dégi Arianna Amália és Kerti Andrea felvételt nyertek a Semmelweis Egyetem Doktori iskolájába, jelenleg fokozatszerzés előtt állnak.