

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Akut és késői vesekárosodás daganatos gyermekekben

Dr. Bárdi Edit

Témavezető: Dr. Kiss Csongor

egyetemi tanár



Debreceni Egyetem

Orvos és Egészségtudományi Centrum

Gyermekklinika

Debrecen, 2005

1. BEVEZETÉS

A gyermekkori daganatos betegségek prognózisa jelentősen javult az elmúlt 3 évtizedben, ezért egyre hangsúlyosabb cél lett az életminőség megőrzése, helyreállítása. A betegek életminőségét nemcsak a daganat progressziója, hanem a citosztatikus, az irradiációs, a sebészi, sőt a szupportáló kezelés mellékhatásai is veszélyeztetik. A mellékhatások a beteg minden szervét érinthetik. Tézisemben a gyakorisága és súlyossága miatt egyaránt jelentős nefrotoxicitás kiváltó okait, megelőzésének és kezelésének lehetőségeit tekintetem át.

A citosztatikumok közül a platina származékok, a metotrexát (MTX), az alkiláló ágensek illetőleg az antraciklin származékok alkalmazásával hozható összefüggésbe vesekárosodás. Közülük a ciszplatin (CPL) kezelés következtében a glomeruláris filtráció csökken, a plazma kreatinin koncentrációja emelkedik, hipomagnezémiát és hipokalcémiát észlelünk. A veseműködés beszűkülése a CPL kumulatív dózistól és az alkalmazási sémától függ. A szer nefrotoxicitását az ifoszfamid (IFO) potenciózza. Előzetes vizsgálatok szerint a karboplatin (CARBO) kevésbé károsítja a vesét, mint a CPL.

Az MTX kezelés súlyos akut veseelégtelenséghez, a glomeruláris filtráció, valamint a tubuláris funkciók csökkenéséhez vezethet. Az MTX toxicitását a bármilyen okból csökkent glomeruláris filtráció fokozza, tekintettel arra, hogy a vesén át kiürülő gyógyszerről van szó. Az alacsony filtráció miatt elhúzódóan magas MTX szintek egyrészt tovább rontják a megromlott vesefunkciót, másrészt hozzájárulnak a magas MTX szint által létrehozott egyéb mellékhatások, így a mielotoxicitás és mukozitisz létrejöttéhez. Magas gyógyszer szintet úgynevezett „harmadik kompartment”-ben (pleurális folyadék, higroma) felhalmozódó MTX is okozhat.

Az alkiláló szerek, így az IFO és a ciklofoszfamid (CP) elsősorban tubuláris károsodást (kóros aminosav, elektrolit, glükóz ürítést, foszfát diabéteszt) akár komplex

Fanconi-szindrómát és csontritkulást okoznak az esetek 10-40 %-ában. Az IFO nefrotoxicitása annál kifejezettebb, minél nagyobb a kezelés során alkalmazott kumulatív dózis és minél fiatalabb a beteg. A mellékhatásokat fokozzák az egyidejű platina kezelés és a nefrektómia.

Az antraciklin származékok (daunorubicin, doxorubicin, epirubicin, idarubicin, mitoxantron) komplexet képeznek a vassal, így reaktív oxigén intermedierek képződéséhez vezetnek és ezáltal nefrotoxikusak. A következményes lipidperoxidáció sejtmembrán károsodást és sejtnekrózist idéz elő. A szakirodalomban eddig közzétett megfigyelések alapján nem alkothatunk pontos képet sem az antraciklin-nefrotoxicitás incidenciájáról, sem annak mértékéről.

Számos egyéb, az onkológiai gyakorlatban, esetleg éppen a szupportáló kezelés során alkalmazott gyógyszer vesekárosító hatása ismert. Így az allopurinol, a neutropeniás periódusban alkalmazott antibiotikumok és antifungális szerek közül az amoxicillin, az aminoglikozidok, a karbapenemek, a trimetoprim-sulfametoxazol és az amfotericin B illetve az intravénás immunglobulin kezelés károsíthatják a vesét.

Vesekárosodáshoz vezethet a renin-angiotenzin rendszer genetikai polimorfizmus által meghatározott sajátossága. Az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) az angiotenzin I-t angiotenzin II-vé (AT₂) alakítja és inaktiválja a bradikinint. A keringő AT₂ szintet az ACE inszerciós/deléción (I/D) polimorfizmusa alapvetően befolyásolja. Az ACE DD genotípusú betegeknek – akiket a 16-os intronban egy 287 bázispárnyi szakasz hiánya (D) jellemez - kétszer magasabb az ACE aktivitása, mint az inszerciós allélre homozigótáknak (II). Mind az AT₂-nek, mind a bradikininnek fontos szerepe van az erek tónusának és a simaizom sejtek proliferációjának meghatározásában. A D allél jelenléte összefügg számos kardiovaszkuláris és vesebetegség gyakoriságával és kórlefolásával, azonban a citosztatikus kezelés indukálta veseelváltozások és az ACE I/D polimorfizmus közötti kapcsolat nem ismert. Az ACE I/D polimorfizmus hatása túlmutat egyes szív-érrendszeri és vesebetegségek kórlelettanában

megismert szerepén. Az utóbbi évek vizsgálatai alapján az ACE gén kifejeződése befolyásolja a nitrogén monoxid, a gyulladásos citokinek termelődését és az arra adott kardiovaszkuláris választ ugyanúgy, mint az adrenomedullin szekréciót. Az ACE DD genotípusú betegekben a renin-angiotenzin rendszer aktivitása megnő, ami súlyosabb lefolyású adult respiratorikus disztressz szindrómát eredményez. Az újszülött- és csecsemőkori meningococcus meningitis letalitása nagyobb volt az ACE DD genotípusú, mint az ID és II genotípusú betegekben.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. Könnyen kivitelezhető, a glomeruláris filtráció, a proximális és disztális tubulus funkció szelektív és pontos monitorozására alkalmas protokoll kidolgozása.
2. A gyermekonkológiai gyakorlatban gyakran alkalmazott citosztatikumok akut és késői vesekárosító hatásának vizsgálata.
3. Az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) gén inszerciós/deléciós (I/D) polimorfizmus szerepének tanulmányozása a vesekárosodás és súlyos kardiovaszkuláris összeomlás kialakulásában daganatos gyermekben.
4. A vesekárosodás megelőzésének és kezelési lehetőségeinek vizsgálata, különös tekintettel az antraciklin kezelés esetén a kardiotoxicitás kivédésére alkalmazott dexrazoxan nefroprotektív hatásának vizsgálatára.

3. MÓDSZEREK

3.1. Betegek

Az 1381szérum és a vizelet minta azon 207 leukémiás és szolid tumoros betegről származott (92 daganatellenes kezelés alatt álló és 115 tartós túlélő), akik a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Központ (DEOEC) Gyermekklinika Hemato-Onkológiai Osztályán és Szakrendelésén 1999. október 1. és 2003. december 31. között álltak a Magyar Gyermekorvosok Társasága (MGYT) Gyermekonkológiai Szekciójának (GYOS) által elfogadott protokollok szerinti kezelés, ellenőrzés alatt. Kontrollcsoportként

144 nefrológiai, hematólógiai szempontból egészséges, a klinikánk Általános Járóbeteg Szakrendelésén akut betegség miatt rutin vérvételen és vizeletvételen átesett gyermek - „negatív kontroll” - és 12 krónikus vesebetegségben szenvedő, hemodialízis kezelés alatt álló gyermek - „pozitív kontroll” - adatait vizsgáltam. Meghatároztam 207 beteg és 144 kontroll gyermek ACE I/D polimorfizmusát.

3.2. Módszerek

CPL, CARBO, CP, IFO, MTX, daunorubicin (DNR), doxorubicin (DOX), epirubicin (EPI) és idarubicin (IDA) kezelés előtt és után 24-48 órával ellenőriztük a glomeruláris és tubuláris funkciót.

A szérum és vizelet kreatinin koncentráció-mérés kinetikus Jaffe reakcióval Hitachi 717 műszeren történt. Az endogén kreatinin clearance számítása a $C_{Cr} = U_{Cr} \times V \times 1,73 \text{ m}^2 / S_{Cr} \times \text{testfelszín} [\text{m}^2]$ képlet alapján történt, ahol U_{Cr} a vizelet kreatinin koncentráció [$\mu\text{mol/L}$], V a 24 órás gyűjtött vizelet mennyiség [mL/min], S_{Cr} a szérum kreatinin koncentráció [$\mu\text{mol/L}$]. A Counahan formula (C_{Counahan}) alapján számított kreatinin clearance esetén a $38 \times l / S_{Cr} \times 1,73 \text{ m}^2 / \text{testfelszín} [\text{m}^2]$ képletet használtam, ahol l a testhossz [cm].

A cystatin C (cysC) meghatározás szérum mintákból, a szérum és vizelet kreatinin meghatározással párhuzamosan történt immunturbidimetriás módszerrel Hitachi 717 műszeren (Dako, Glostrup, Dánia).

A durva proteinúriát tesztsík használatával, illetőleg szulfoszalicil próbával vizsgáltam. A durva proteinúriás betegek 24 órás gyűjtött vizeletéből összfehérje, albumin, IgG, illetve β_2 mikroglobulin kvantitatív meghatározás, a proteinúria minőségi elemzésére elektroforézis vizsgálat történt. A progrediáló proteinúriás betegeket ACE gátló kezelésben részesítettem és rendszeresen ellenőriztem a proteinúria mennyiségét illetőleg az egyéb glomeruláris és tubuláris markereket.

A reggeli első higiénés vizelet N-acetil- β -D-glukozaminidáz (NAG) aktivitásának meghatározása Horak és mtsai módszerével beállított standard laboratóriumi eljárással történt. A NAG exkréciót a vizelet kreatinin koncentrációjára normalizáltam (NAG_i) és $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mmol}$ dimenzióban fejeztem ki.

A mikroalbuminuria (MA) meghatározása 24 órás gyűjtött vizeletmintából, standard laboratóriumi eljárásként beállított immunturbidimetriás módszerrel történt (Cobas Integra 400, Roche, Basel, Svájc).

A szérum és vizelet ozmolaritás meghatározása VAPRO típusú ozmométeren történt.

Az ACE I/D polimorfizmusának meghatározása genomikus PCR vizsgálattal, standard módszerek szerint történt. A polimorfizmus vizsgálat során az irodalmi ajánlásoknak megfelelő szekvenciájú: 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3' és 5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3' „sense” és „antisense” priméreket használtam.

A statisztikai elemzések a SAS for Windows szoftvercsomaggal történtek. Valamennyi folytonos változó jellemzésére leíró statisztikát (esetszám, átlag, szórás) alkalmaztam. A cysC, NAG exkréció, MA, szérum és vizelet ozmolaritás citosztatikus kezelés előtti és utáni értékeit Student-féle párosított t-próbával vettem össze. A változók közti összefüggések vizsgálatára Pearson- és Spearman-féle korreláció-elemzést alkalmaztam. Az ACE gén DD, ID és II genotípus-prevalencia és a D, illetőleg az I allél frekvenciák számolása a különféle betegcsoportok között χ^2 -tesztel történt. χ^2 -tesztet használtam annak meghatározására, hogy a genotípus-megoszlás illetve a gén frekvencia megfelel-e a Hardy Weinberg egyenletnek. Minden statisztikai számolás esetén a 0,05 alatti p értékeket tekintettem statisztikailag szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Akut glomeruláris toxicitás

A betegek cysC koncentrációi ($1,13 \pm 0,54$ mg/L) nem tértek el lényegesen a negatív kontrollcsoport cysC koncentrációjától ($0,95 \pm 0,19$ mg/L). A pozitív kontrollcsoport cysC koncentrációja ($4,69 \pm 2,19$ mg/L) szignifikánsan magasabb volt ($p < 0,001$), mind a betegek, mind a negatív kontrollcsoport ($p < 0,001$) eredményeivel összehasonlítva. Lineáris regressziós analízis során szignifikáns korrelációt találtunk a cysC és a S_{cr} ($r = 0,95$, $p < 0,001$) között. Az $1/cysC$ és $C_{Counahan}$ közötti korreláció szintén szignifikánsnak bizonyult, azonban gyengébb szignifikanciával, mint a cysC és S_{cr} ($r = 0,198$, $p = 0,002$). Hasonló szignifikáns összefüggést találtam a betegek S_{cr} és $C_{Counahan}$ között ($p < 0,001$). A cysC koncentráció reciproka ($1/cysC$) és a C_{cr} között a kapcsolat nem bizonyult szignifikánsnak.

Szignifikáns különbséget találtam a citosztatikus kezelés alatt álló betegek esetében a következő citosztatikumokkal történő kezelés előtti és utáni cysC értékekben: CPL ($1,14 \pm 0,48$ vs. $1,37 \pm 0,32$ mg/L, $p = 0,035$), MTX ($1,09 \pm 0,42$ vs. $1,51 \pm 1,04$ mg/L, $p = 0,023$), CP ($1,06 \pm 0,41$ vs. $1,18 \pm 0,36$ mg/L, $p = 0,009$) és IFO ($1,11 \pm 0,43$ vs. $1,31 \pm 0,33$, $p = 0,002$) kezelés során. A kezelés utáni cysC értékek átlagértékei nem voltak olyan magasak, mint a krónikus vesebeteg, dializált gyermekben (pozitív kontrollcsoport). Hét beteg, 3 MTX kezelt, 2 IFO kezelt, 1 CP kezelt és 1 CPL kezelt gyermek esetében haladta meg a cysC érték 2SD-vel a normál kontrollok átlag cysC koncentrációját. Közülük egy 16 éves oszteosarkómás fiúnak masszív pleurális metasztázisok következtében jelentős pleurális folyadékgyüleme alakult ki. Az itt felhalmozódó MTX elhúzódó gyógyszerürülést, ennek következményeként kreatinin szint emelkedést, anúriát okozott. A szérum kreatinin szint a kezelés 144. órájában tetőzött $530 \mu\text{mol/L}$ értékkel. Ezek miatt 4 alkalommal leukovorin adás (összdózis: 2576 mg) mellett hemodialízis elvégzésére, illetőleg a pleurális folyadékgyülem lebocsátására került sor. Szövődményként súlyos nyálkahártya lézió, mieloszuppresszió lépett fel. Az újra meginduló

vizeletürítés, a mellkasi folyadékgyülem lebocsátása ellenére a gyermek légzésvizára fokozódott és progresszív betegség következtében elhunyt. Egy 14 éves Burkitt limfomás lánynak az NHL-BFM 95 protokoll szerinti 5g/m^2 MTX kezelést követően 36 órával magas MTX értéket ($186,4\ \mu\text{mol/L}$) észleltünk. Tizenkét napon át tartó leukovorin adás (összdózis: 27060 mg), forszírozott diurézis, emelt folyadékforgalom ($4500\ \text{ml/m}^2$), alkalizálás mellett a MTX szint csak lassan csökkent, hemodialízis kezelésre nem volt szükség, vesefunkciója fokozatosan javult. A magas MTX szintekkel párhuzamosan grand mal típusú görcse zajlott 3 alkalommal, ezért koponya MRI készült. Az MRI felvételen jobb oldali, az oldalkamrát deformáló, kiterjedt szubdurális higroma ábrázolódt, amely az elhúzódó ürülést magyarázta. Ez a két eset a harmadik folyadéktérben felhalmozódó MTX szerepét demonstrálja az akut vesekárosodás előidézésében. A másik 5 beteg glomeruláris funkciója spontán javult a kemoterápiás kezelések közti szünetben.

Nem találtunk dózis összefüggést a $0,5\text{-}5,0\ \text{g/m}^2/24$ óra dózistartományban, valamint a $12\ \text{g/m}^2/6$ óra dózisban folytatott MTX kezelés és a cysC koncentrációk között. A cysC szignifikánsan emelkedett a kombinált citosztatikus blokkokból álló kezelések után is ($1,13\pm 0,49$ vs. $1,31\pm 0,36\ \text{mg/L}$, $p=0,007$).

4.2. Akut tubuláris toxicitás

4.2.1. Proximális tubulus funkció károsodás

A proximális tubulusok károsodását tükröző vizelet NAG_i szignifikánsan magasabb volt ($p<0,05$) CPL, CARBO, CP, IFO, DNR, DOX, idarubicin (IDA) és epirubicin (EPI) kezelés után, mint a kezelés előtt nyert mintákban. Az MA a proximális tubulus károsodását kevésbé szenzitív módon tükrözte, mint a NAG_i de szignifikánsan emelkedett IFO, CP kezelés után, a kezelés előtti értékkel összehasonlítva.

Az egymást követő DNR kezelések a NAG ürítés egyre fokozódó emelkedésével jártak, amelyet a betegek NAG % értékének emelkedése jelzett. A lineáris regressziós analízis

szignifikáns ($p < 0,05$) emelkedést jelzett. Az átlag NAG_i érték háromszor volt magasabb a 4. DNR kezelés után, mint az első kezelés után.

A dexrazoxan szerepét a DNR indukálta NAG exkrécióra 6 olyan ALL-es betegen vizsgáltam, akik nem a GYOS által folytatott tanulmány keretében kapták antileukémiás kezelésüket, így az eredeti ALL BFM 95 protokoll előírásait szorosan követve nem részesültek dexrazoxan profilaxisban a DNR kezelést megelőzően. Adataikat 6 olyan korban és nemben választott, a tárgyidőszakban vizsgált beteg adataival vettem össze, akiknek az antileukémiás kezelése a GYOS tanulmány keretében történt, így a DNR alkalmazása előtt 300 mg/m^2 dexrazoxant kaptak. Az átlag NAG_i a dexrazoxan profilaxisban részesült betegek csoportjában szignifikánsan ($p < 0,05$) alacsonyabbnak ($0,69 \pm 0,25 \text{ } \mu\text{mol/perc/mmol}$) bizonyult, mint azoknak a betegnek az esetében ($1,79 \pm 1,45 \text{ } \mu\text{mol/perc/mmol}$), akik az antraciklin kezelés előtt nem kaptak dexrazoxant. Nem volt szignifikáns hatása a dexrazoxan kezelésnek a DNR indukálta MA exkrécióra. Egyik csoportban sem észleltem sem akut, sem késői kardiotoxicitásra utaló eltéréseket.

4.2.2. Akut disztális tubulus funkció károsodás

A szérum és vizelet ozmolaritásának párhuzamos monitorozása a kezelésekkel kapcsolatban nem jelzett szignifikáns változást a disztális tubulus funkció vonatkozásában.

4.3. Tartósan remisszióban levő betegek nefrotoxicitása

Egy, krónikus hemodialízis kezelésben részesülő beteg kivételével minden tartósan túlélő jó általános állapotban volt a vizsgálatok végzése alkalmával. Az általános vérkép és vizeletvizsgálat 30 proteinúriás beteg kivételével negatív volt. A potenciálisan nefrotoxikus citosztatikumok késői hatásának vizsgálata érdekében három csoportot képeztem: külön elemeztem a leukémia/limfoma túlélők, a Wilms tumor (WT) túlélők és a(z) (egyéb) szolid tumor túlélők adatait. A hasi ultrahang vizsgálat során a WT betegek maradék veséje mintegy

10%-kos hipertrófiát mutatott. A proteinúriás gyermekek veséje UH vizsgálattal hiperechogénnek bizonyult.

A tartós remisszióban levő betegek glomeruláris funkcióját jellemző átlagos cysC koncentráció nem különbözött szignifikánsan a kontrollok cysC értékeitől. A cysC-vel párhuzamosan a szérum kreatinin és vese clearance értékek is a normál tartományba estek. A leukémia/limfoma és szolid tumor túlélő betegek cysC, szérum kreatinin és clearance értékei nem különböztek az egészséges kontrolloktól és a normál tartományba estek. A cysC koncentráció szignifikánsan magasabb volt a Wilms tumoros betegekben, különösen kifejezett eltérést észleltem az IFO és CARBO kezelésben részesülő HR WT betegekben. A szérum kreatinin koncentrációk is magasabbak voltak ebben a betegcsoportban ($71 \pm 21 \mu\text{mol/L}$), míg a clearance értékek ($71 \pm 27 \text{ ml/perc}/1,73 \text{ m}^2$) szignifikánsan alacsonyabbak voltak ($p < 0,05$) mint a kontroll csoportban ($132 \pm 79 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$). Egy WT-aniridiás beteg hemodialízis kezelése 7 évvel a heminefrektómiát követően vált szükségessé a Szolnok Megyei Kórház Belgyógyászati Osztályán. A kivizsgálás során zsugorvesét észleltek, ezért biopsziát nem végeztek. Központunk 3 évvel a dialízis megkezdése előtt ellenőrizte utoljára.

Harminc beteg volt proteinúriás. A jelenség 20 esetben szűnt meg spontán 12 hónapos követési idő alatt. A perzisztáló proteinúriás betegek 24 órás gyűjtött vizeletében kvantitatív és kvalitatív fehérje meghatározás történt. Öt beteg esetében glomeruláris, 5 esetben kevert (glomeruláris és tubuláris) proteinúriát észleltem. Közülük 4 leukémia/limfoma, 2 szolid tumor és 4 WT túlélő volt. Mind a 4 WT túlélő a HR csoportba tartozott és protokolljaik IFO-t és CARBO-t tartalmaztak a sugárkezelés mellett. A glomeruláris proteinúria 1 esetben volt szelektív és 9 esetben non-szelektív, mennyisége 214-907 mg/24 óra (átlag: 455 mg/24óra) értékek között változott. A glomeruláris proteinúria mellett a betegek proximális tubuláris funkciója is károsodott, amelyet emelkedett MA (átlag: 33 mg/L) és NAG_i (átlag: 1,13 $\mu\text{mol/perc}/\text{mmol}$) jellemezte. A várakozásnak megfelelően a proteinúria mennyisége

szignifikáns összefüggést mutatott a MA-val ($p < 0,05$). Más glomeruláris és tubuláris paraméterek, így a proteinúria foka, a cysC és a NAG_i , valamint a proteinúria mennyisége között nem találtunk szignifikáns összefüggést. Az átlag 36 hónapos követési idő alatt 7 beteg esetében javult, 3 beteg esetében progrediált a proteinúria. Ezek a betegek, akárcsak a többi tartós túlélő, normotenziósak voltak. A 3 progrediáló proteinúriás beteg ACE gátló terápiában részesült: 2 beteg enalapril (Renitec®, MSD, Whitehouse Station, NJ, USA, 2 X 2,5 mg/nap) kezelést, 1 beteg, az életkora miatt (2,5 éves volt a vizsgálatkor) captopril (Tensiomin®, EGIS Co., Budapest, Magyarország, 2 X 12,5mg/nap) kezelést kapott. Tizenkét hónappal a terápia megkezdése után a proteinúria csaknem teljesen megszűnt a 2 enalapril terápiában részesülő beteg esetében és mérsékelt javulást mutatott a harmadik, captopril terápiában részesülő beteg esetében.

A proximális tubuláris funkció vizsgálata a vizelet NAG_i és MA meghatározással történt. A korfüggő normál tartományhoz képest patológiásan emelkedett NAG_i értéket 24 leukémia/limfoma (38 %), 13 szolid tumor (54 %) és 4 (20 %) WT túlélőben találtam. A patológiás MA értékek (>20 mg/L) hasonló megoszlást mutattak: 12 leukémia/limfoma (16%), 7 szolid tumor (25%) és 1 (WT 5%) túlélő MA értéke volt kóros. A relatív NAG_i ($247,4 \pm 20,8$ %) és MA ($24,9 \pm 2,7$ mg/L) a szolid tumor túlélőkben emelkedett szignifikánsan ($p < 0,05$) az egészséges kontrollokkal összehasonlítva. Minden olyan korábbi WT betegnek, aki CARBO és IFO kezelésben részesült, patológiás relatív NAG_i illetőleg vizelet MA értékei voltak. A HR WT betegek relatív NAG_i és MA értékei $178,2 \pm 10,5$ % és $29,2 \pm 4,1$ mg/L voltak, az SR és IR WT betegeké $92,7 \pm 8,1$ % és $11,0 \pm 5,8$ mg/L, rendre.

4.4. ACE gén I/D polimorfizmus vizsgálat

A 207 beteg nem különbözött szignifikánsan ($p = 0,20$) a kontrolloktól sem az allél frekvencia D: $n = 237$ (57 %) vs. $n = 87$ (60 %), és I: $n = 177$ (43 %) vs. $n = 57$ (40 %), sem a genotípus prevalencia ($p = 0,34$) DD: $n = 74$ (36 %) vs. $n = 52$ (36 %), ID: $n = 89$ (43 %) vs. n

= 71 (49 %) és II: n = 44 (21 %) vs. n = 21 (15%) tekintetében. A I/D allél frekvencia és az ACE genotípus megoszlás az egyes daganatbetegségek, így a WT, esetében nem különbözött lényegesen egymástól és a kontrolloktól, megfelelt az egészséges kaukázusi populációt jellemző értékeknek és követte a Hardy Weinberg ekvilíbriumot.

4.4.1. ACE I/D polimorfizmus és az akut proximális tubulus funkció károsodás

Vizsgáltam az ACE I/D polimorfizmus hatását a citosztatikumok által kiváltott akut proximális tubulus tubulus károsodásra. A CP kezelt betegekben szignifikánsan magasabb ($p < 0,05$) NAG_i , a DNR kezeltékben szignifikánsan magasabb ($p < 0,05$) MA volt megfigyelhető az ACE gén DD genotípusú betegekben, mint az ID és II genotípusú betegekben.

4.4.2. Az ACE I/D polimorfizmus és a késői nefrotoxicitás

Vizsgáltam a proteinúriás betegek ACE gén polimorfizmusát. A D allél prevalenciája, mint a proteinúria lehetséges rizikófaktora, nem különbözött szignifikánsan a kontroll csoporttól. A DD, ID és II genotípus megoszlás is hasonló volt a kontrollokhoz.

4.4.3. Az ACE I/D polimorfizmus és a lázas neutropéniás állapotban kialakuló súlyos keringés összeomlás

A 207 vizsgált beteg közül 199-nek volt lázas neutropéniás epizódja. Ötvenhárom betegben (28 fiú és 25 lány, átlagéletkor $7,1 \pm 2,5$ év, tartomány: 0,5-17,0 év) észleltem keringési szövődmény tüneteit. Közülük 26 beteg (13 fiú és 13 lány, átlagéletkor: $6,3 \pm 2,1$ év életkor 0,5-16,0 év) az intenzív osztályra (ITO) kerültek súlyos keringési összeomlás miatt (9. és 10. táblázat). Valamennyi beteg lázas (a hónaljban mért hőmérséklet $>38,0$ °C) és súlyos neutropéniás (abszolút neutrofil szám $<0,5$ G/L vagy 0,5-1,0 G/L közötti és csökkenő tendenciájú) volt a vizsgálat idején. A szívritmus és a tenzió hányadosaként képzett sokk index 1,0 feletti értéket eredményezett. A CRP és a We emelkedett volt. A hemokultúra 12/26 esetben volt pozitív. Tizennégy betegnek volt zavart tudatállapota, 3 beteg volt oligúriás és 1

beteg ikteruszos. A láz fellépését követően a betegek haladéktalanul empirikus anti-infektív kezelésben részesültek.

Valamennyi beteg pozitív inotrop szerek alkalmazását igényelte (dopamin egyedül vagy dobutaminnal). Tíz beteg igényelt légzéstámogatást (maszkos oxigén vagy gépi lélegeztetés) 1-4 napig. A betegeket 1-18 napig kezeltük az ITO-n. Huszonhárom beteg meggyógyult, 3 remisszióban levő beteg halt meg irreverzibilis sokkban.

Az intenzív kezelést nem igénylő, enyhe keringési tünetekkel jellemzett 27 gyermek I/D allél frekvenciája illetve DD, ID és II genotípus prevalenciája nem különbözött sem a 207 betegétől sem a kontrolloktól. A súlyos keringés összeomlás miatt az ITO-n kezelt 26 beteg D allél frekvenciája és DD genotípus prevalenciája szignifikánsan magasabb volt ($p < 0,05$), mint a keringési elégtelenségben nem szenvedő többi tumoros (181) betegé és a kontrolloké. A D allélre homo- vagy heterozigóta betegek (DD és ID genotípusúak) szignifikánsan hosszabb időt (7 ± 2 nap) ($p < 0,05$) töltöttek az ITO-n, mint az II genotípusúak (4 ± 2 nap). Valamennyi haláleset a DD genotípusúak körében következett be.

5. MEGBESZÉLÉS

A cystatin C 13,2 kDa molekulatömegű fehérje, amelyet a szervezet valamennyi magvas sejtje egyenletesen termel, kivételt képeznek ez alól a hipotireozisban szenvedő és a kortikoszteroid kezelésben részesülő betegek sejtjei. A molekula szabadon filtrálódik, nem reabszorbeálódik és nem szekretálódik. Szérum koncentrációja, ellentétben a kreatininével, nem függ sem az izomtömegtől, sem a nemtől, sem az életkortól, sem a testmagasságtól. A GFR meghatározásához elégséges az egyszeri vérvételből kivitelezhető pontos turbidimetriás vagy nefelometriás koncentráció-mérés, nem szükséges a gyermekkorban számos nehézségbe ütköző 24 órás vizeletgyűjtés. Saját vizsgálatainkkal elsőként igazoltuk, hogy a cysC pontosan tükrözi a glomeruláris funkciót daganatbeteg gyermekben. A kidolgozott

metodikával a potenciálisan nefrotoxikus citosztatikumok akut és krónikus glomerulotoxikus hatását jellemeztem kezelés alatt álló és gyógyult daganatos gyermekekben.

A NAG exkréció és az MA tanulmányozása megerősítették a platina származékok és az alkiláló ágensek jól ismert akut tubuláris toxicitását. Ismereteink szerint antraciklin származékok által okozott akut tubulus károsodást emberben még nem írtak le. Megfigyeltem, hogy a vizsgált antraciklin származék közül három, a DNR, az EPI és az IDA a platina származékokhoz és antraciklin ágensekhez hasonló tubulotoxikus hatású. Az antraciklin származékok közül a DNR bizonyult a legtoxikusabbnak. A DNR-indukálta tubulopátia progresszív természete hasonló a CPL, a CARBO, a CP és az IFO kezelés után észlelt jelenséghez. A dexrazoxant a klinikai gyakorlatban az antraciklin kezelés kardiotoxikus hatásának kivédésére használják. Kísérletes vizsgálatok igazolták, hogy patkányban az antraciklinek által okozott nefrotoxicitás is mérsékelhető dexrazoxannal, azonban hasonló humán adatok nem állnak rendelkezésre. A dexrazoxan profilaxisban részesülő ALL-es betegek NAG exkréciója szignifikánsan kisebb volt, mint azoké, akik a DNR kezelés előtt nem kaptak dexrazoxant. Ez a megfigyelés azt igazolja, hogy a dexrazoxan emberben is hatékonyan csökkenti a DNR tubulotoxikus mellékhatását.

Az ACE gén I/D polimorfizmus által meghatározott enzimaktivitás patogenetikai szerepet tölthet be egyes vesebetegségek kialakulásában és súlyosságában. Kimutatható volt, hogy a DNR és CP által előidézett proximális tubulus károsodás súlyosabb az ACE DD genotípusú betegekben, mint az ID és II genotípusú betegekben. Ez a megfigyelés elsőként utal a citosztatikumok tubulotoxikus mellékhatásának genetikai determinációjára.

D allél jelenlétében nemcsak a szisztémás, hanem a szöveti ACE aktivitás is emelkedik. Fokozódik a gyulladásos citokinek és a nitrogén oxid (NO) következményes termelése, ezek hatására csökken az AT2 1 és 2 típusú receptorok kifejeződése, miközben a nagymennyiségű AT2 megnöveli a vaszkuláris permeabilitást. Vizsgálatunkkal igazolható volt, hogy a D allél

frekvenciája jelentősen meghaladta az I allél frekvenciáját a súlyos keringés összeomlás miatt intenzív osztályon kezelt szenvedő lázas, neutropeniás daganatos gyermekben, továbbá hogy a D allél jelenléte fokozta a keringési szövődmény súlyosságát.

6. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. Hazánkban elsőként végeztem daganatos beteg gyermek nefrotoxicitásának átfogó vizsgálatát.
2. Elsőként igazoltam, hogy a szérum cystatin C koncentráció meghatározása alkalmas módszer a daganatos beteg gyermekek glomerulus funkciójának jellemzésére.
3. Hazánkban elsőként hívtam fel a figyelmet a harmadik folyadéktér szerepére a metotrexát akut glomeruláris és tubuláris károsodást okozó mellékhatásában.
4. Elsőként igazoltam, hogy gyógyult daganatos gyermekekben a glomeruláris funkció késői károsodása csak a heminefrektómián átesett betegekben alakul ki. Igazoltam a karboplatin és az ifoszfamid járulékos glomerulus- károsító szerepét magas rizikójú Wilms tumoros betegekben. Megerősítettem a jól ismert nefrotoxikus citosztatikumok, így a ciszplatin, a karboplatin, a ciklofoszfamid, az ifoszfamid és a metotrexát akut és késői glomeruláris és tubulotoxikus hatását.
5. Elsőként mutattam ki 3 antraciklin antibiotikum, a daunorubicin, az epirubicin és az idarubicin akut proximális tubulus károsodást okozó mellékhatását emberben.
6. Elsőként igazoltam a dexrazoxan protektív szerepét a daunorubicin okozta tubuláris károsodás mérséklésében.
7. Megállapítottam, hogy a tartósan gyógyult daganatos gyermekek csupán kisebb hányadában mutatható ki tartós tubuláris károsodás. A toxicitás az egyes eltérő kezelésben részesülő betegcsoportokban különböző gyakoriságú és mértékű.
8. Hazánkban elsőként figyeltem meg, hogy ACE gátló kezelés alkalmas a tartós citosztatikus kezelés mellékhatásaként jelentkező proteinúria kezelésére.

9. Megállapítottam, hogy az ACE gén I/D polimorfizmusa hatással van a citosztatikumok által előidézett vesekárosodásra: a D allél jelenléte esetén szignifikánsan magasabb a ciklofoszfamid által-indukált NAG exkréció illetőleg a daunorubicin által-indukált mikroalbuminuria mértéke.
10. Igazoltam, hogy a D allél jelenléte fokozza a súlyos keringés összeomlás lehetőségét és következményét lázas neutropéniás daganatos gyermekben.
11. Eredményeim alapján hazánkban elsőként tettem javaslatot a daganatos gyermekek vesefunkciójának könnyen alkalmazható és pontos vizsgálatára.

7. A SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

7.1. Az értekezés témakörében készült, a tézisek alapját képező, lektorált folyóiratokban megjelent saját közlemények

1. **Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Oláh É, Kappelmayer J, Kiss C: Cystatin C is a suitable marker of glomerular function in children with cancer. *Pediatr Nephrol* 2004;10:1145-1147 **IF: 1.219***
2. **Bárdi E**, Oláh VA, Bartyik K, Endreffy E, Jenei C, Kappelmayer J, Kiss C: Late effects on renal glomerular and tubular function of childhood cancer survivors *Pediatr Blood Cancer* 2004;43:668-673 **IF:1.737****
3. **Bárdi E**, Bobok I, Kiss C: Daganatos gyermekek vesekárosodása. A megelőzés és a kezelés lehetőségei. – összefoglaló klinikai tanulmány. *Hypertonia és Nephrologia* 2004; 8:162-170
4. **Bárdi E**, Jenei C, Kiss C: Angiotensin converting enzyme polymorphism is associated with septic shock in cancer children. *Pediatr Blood Cancer* (published online) **IF:1.737**
5. **Bárdi E**, Szegedi I, Kiss C: Harmadik folyadéktér szerepe a methotrexát toxicitás kialakulásában, esetbemutatók kapcsán. *Gyermekgyógyászat* (nyomtatás alatt)
6. **Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Oláh É, Kappelmayer J, Kiss C: Anthracyclin antibiotics induce acute tubular toxicity in children with cancer. (submitted)

* A benyújtott közlemény alapján a szerzőt a Magyar Gyermekorvosok Társasága 2004-ben Petényi díj 2. fokozatával jutalmazta (1. melléklet).

A közlemény a *Docros Guide*. Weekly Edition honlapján 2004. július 28-án a hét 10 leggyakrabban letöltött nefrológiai közleménye között szerepelt (2. melléklet).

** A közlemény kivonatát a *Lege Artis Medicinae* a „Magyar tudomány a világban” című rovatában közölte: Bárdi E és mtsai: A gyermekkori rákos betegséget túlélők késői renális glomeruláris és tubuláris funkciója. *LAM* (in press), (3. melléklet).

7.2. Az értekezés témaköréhez szorosan nem kapcsolódó egyéb saját közlemények

1. **Bárdi E**, Tóth J, Szokoly V: Keresztezett dystopias multicisztás vese. *Gyermekgyógyászat* 1998;49:378-384

2. **Bárdi E**, Kőrösi T, Aranyosi J, Maródi L: Habitualis abortus kivédése IVIG-el. Transfusio 2000;33:35-41
3. Müller J, Koós R, Garami M, Hauser P, Borgulya G, Schuler D, Benyó G, Magyarosy E, Galántai I, Milei K, Török K, **Bárdi E**, Hunyadi K, Gábor K, Masáth P, Bodnár L, a Magyar Gyermekonkológiai Hálózat* és Kovács G: Gyermekkori Langerhans sejtes histiocytosissal szerzett magyarországi tapasztalataink. Magyar Onkol 2004;48:289-295
4. Sohajda Z, Damjanovich J, **Bárdi E**, Kiss C, Berta A: Combined chemotherapy and local treatment in the management of bilateral retinoblastomas in Hungary. (submitted)

IF (összesen): 4,687

7.3. Lektorált folyóiratban megjelent idézhető kongresszusi absztraktok

1. **Bárdi E**, Szegedi I, Udvardi E, Kiss C, Rényi I: Preliminary experiences with recombinant urate oxidase (Fasturtec®) for prevention of hyperuricemia in children with leukemia or lymphoma. Nephrol Dial Transplant 18: 272-272, 2003 **IF: 2.607**
2. **Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Jenei C, Kappelmayer J, Kiss C: Anthracyclin antibiotics induce acute tubular toxicity in children with cancer. Nephrol Dial Transplant 20: 50-50,2005 **IF: 2.607**

7.4. Nemzetközi és országos kongresszusokon tartott előadások és poszterek

1. **Bárdi E**, Tóth J, Szokoly V: Keresztezett dystopias multicystás vese. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) Nagygyűlése, Szeged,1998
2. **Bárdi E**, Kőrösi T, Aranyosi J, Maródi L: Habitualis abortus kivédése IVIG-el. Debrecen, Magyar Szülész és Nőgyógyász Ultrahangos Társaság Ülése, 1999
3. **Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Kappelmayer J, Kiss C: Cystatin C meghatározás gyermekkorban. MGYT Nagygyűlése, Debrecen, 2000

4. **Bárdi E**, Bobok I, Kiss C: ACE gén polimorphismus vizsgálat eredményei tumoros és leukémiás gyermekekben. MGYT Gyermeknefrológiai Szekció Ülés, Budapest, 2001
5. **Bárdi E**, Bobok I, Kiss C: A malignus betegségben szenvedő gyermekek ACE gén polimorphismus vizsgálata. MGYT Nagygyűlése, Pécs, 2001
6. **Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Oláh É, Kappelmayer J, Kiss C: A citosztatikus kezelés akut és késői mellékhatásai. MGYT Gyermeknefrológiai Szekció Ülés, Seregélyes, 2002
7. **Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Oláh É, Kappelmayer J, Kiss C: A citosztatikus kezelés késői mellékhatásai. MGYT Gyermekhemato-Onkológiai Szekció XXXI. Ülése, Debrecen, 2002
8. **Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Oláh É, Kappelmayer J, Kiss C: Evaluation of kidney function of long-term childhood cancer survivors. 7th International Conference on the Long Term Complications of Treatment of Children & Adolescents for Cancer, Niagara-on-the Lake, Ontario, Canada, 2002
9. **Bárdi E**, Szegedi I, Udvardi E, Kiss C, Rényi I: Preliminary experiences with recombinant urate oxidase (Fasturtec®) for prevention of hyperuricemia in children with leukemia or lymphoma. World Congress of Nephrology, Berlin, Németország, 2003
10. **Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Kappelmayer J, Kiss C: Evaluation of kidney function of long-term childhood cancer survivors. Europaediatrics, Prága, Csehország, 2003
11. **Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Kappelmayer J, Kiss C: Megelőzheti-e a dexrazoxane az antracyclinek nephrotoxicitását? Fiatal Gyermekorvosok Országos Találkozója, Szeged, 2004
12. **Bárdi E**, Oláh VA, Kappelmayer J, Kiss C: Citosztatikumok akut és késői mellékhatása. MGYT Nagygyűlése, Debrecen, 2004

13. **Bárdi E**, Szegedi I, Kiss C: Harmadik folyadéktér szerepe a metotrexát toxicitás kialakulásában, esetbemutatók kapcsán. Fiatal Gyermekorvosok Országos Találkozója, Budapest, 2005
14. **Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Jenei C, Kappelmayer J, Kiss C: Akut tubulus károsodás daganatos gyermekben. MGYT Gyermeknefrológiai Szekció Ülés, Pécs, 2005
15. **Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Jenei C, Kappelmayer J, Kiss C: Anthracyclin antibiotics induce acute tubular toxicity in children with cancer. Congress of the European Renal Association and European Dialysis and Transplantation Association. Isztambul, Törökország, 2005

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A munkát az Egészségügyi, Szociális és Családügyi Minisztérium ETT No 225 pályázata, a „Leukémiás gyermekekért” és „Remény a leukémiás gyermekekért” alapítványok támogatták.

A tézis munkatervét témavezetőmmel, Dr. Kiss Csongor egyetemi tanár úrral és Dr. Bobok Ildikó adjunktusnővel közösen határoztuk meg. A minták vételét, gyűjtését és rendszerezését önállóan végeztem a DEOEC Gyermekklinika Experimentális Hematológiai Laboratóriumában, a DEOEC Gyermekklinika Hematológiai-Onkológiai Szakrendelőjében és Osztályán dolgozó nővérek, asszisztensek és a laboratóriumban dolgozó Gellértné Bartha Magdolna asszisztensnő segítségével. A betegdokumentációk áttekintését és elemzését önállóan, a betegek vizsgálatát a DEOEC Gyermekklinika Hematológiai/Onkológiai Osztályának és Szakrendelésének diplomás munkatársaival közösen végeztem. Önállóan végeztem a cysC immunturbidimetriás vizsgálatát. A módszer beállításában Dr. Kappelmayer János egyetemi docens, DEOEC KBMPI, kivitelezésében Tóthné Rábai Irén asszisztens nyújtott segítséget. Az ACE I/D polimorfizmus vizsgálata során a DNS szeparálását és a PCR reakciót Dr. Jenei Csabával, H-Med Diagnosztikai és Kutató Laboratórium, Budapest,

közösen végeztem. Huszonegy WT beteg gondozását Dr. Bartyik Katalin, ACE genotipizálását Dr. Endreffy Emőke végezték Szegedi Tudomány Egyetem Gyermekklinikán. A rutin laboratóriumi módszerként beállított szérum/vizelet kreatinin, mikroalbuminuria meghatározása a DEOEC KBMPI-ben (vezető Dr. Muszbek László egyetemi tanár, akadémikus, 2004-től Dr. Kappelmayer János egyetemi docens), a NAG aktivitás meghatározása a DEOEC Gyermekklinika, 2004-től a KBMPI Gyermekklinikai Rutinlaboratóriumában (vezető Dr. Oláh V. Anna tudományos főmunkatárs) történt. A vesék UH vizsgálatát Dr. Tóth Judit, DEOEC Gyermekklinika UH Labor végezte.

A munka elvégzéséhez szükséges feltételeket Dr. Kiss Csongor egyetemi tanár, témavezető és Dr. Oláh Éva egyetemi tanár, a DEOEC Gyermekklinika igazgatója biztosították.

A statisztikai analízist Karányi Zsolt, (DEOEC I. Belklinika) segítségével végeztem. A kéziratokat Giulio J. D'Angio, M.D., Department of Radiation Oncology, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, Dr. Édes István, egyetemi tanár, DEOEC Kardiológiai Intézet és Dr. Balla József, DEOEC I. Belklinika, Nefrológia Tanszék látták el építő jellegű tanácsukkal.

A biztos családi háttér, gyermekeim türelme és szeretete nagymértékben hozzájárult munkám sikeréhez.

