

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D) ÉRTEKEZÉS

Akut és késői vesekárosodás daganatos gyermekekben

Dr. Bárdi Edit

Témavezető: Dr. Kiss Csongor

egyetemi tanár

Debreceni Egyetem

Orvos és Egészségtudományi Centrum

Gyermecklinika

2005

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés, célkitűzések	6. oldal
2. Irodalmi áttekintés	8. oldal
3. Anyagok és módszerek	19. oldal
4. Eredmények	28. oldal
5. Megbeszélés	38. oldal
6. Összefoglalás, summary	45. oldal
7. Irodalomjegyzék	47. oldal
8. Új megállapítások	67. oldal
9. Köszönetnyilvánítás	69. oldal
10. Táblázatok és ábrák	71. oldal
11. Függelék, melléklet	89. oldal

Rövidítések jegyzéke

ACE: angiotenzin konvertáló enzim

ADH: antidiuretikus hormon

ALL: akut limfoid leukémia

AM: adrenomedullin

ASCO: Amerikai Klinikai Onkológiai Társaság

ATP: adenzin trifoszfát

AT2: angiotenzin 2

AVE: akut veseelégtelenség

CARBO: karboplatin

CP: ciklofoszfamid

CPL: ciszplatin

CRP: C-reaktív protein koncentráció

C_{Counahan}: Counahan formula

CSVT: csontvelő traszplantáció

cysC: cystatin C

DDAVP: 1-deamino-8-D-arginin-vazopresszin

DEOEC: Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Központ

DNR: daunorubicin

dNTP: deoxinukleotid-trifoszfát

DOX: doxorubicin

EPI: epirubicin

GSH/GSSG: redukált/oxidált glutation arány

GYOS: Gyermekonkológiai Szekció

HD: nagy dózisú

HR: magas rizikójú

HRS: hepatorenális szindróma

I/D: inszerciós/deléciós polimorfizmus

IDA: idarubicin

IFO: ifoszfamid

IR: közepes rizikó

ITO: intenzív osztály

I: testhossz

MGYT: Magyar Gyermekorvosok Társasága

MA: mikroalbuminuria

MTX: metotrexát

NAG: N-acetil- β -D-glukozaminidáz aktivitás

NAG_i: NAG index

NHL: non-Hodgkin limfoma

PCR: polimeráz láncreakció

PNET: primitív neuroektodermális tumor

SR: standard rizikó

S_{cr}: a szérum kreatinin koncentráció

TLS: tumor lízis szindróma

TMP-SMZ: trimetoprim-sulfametoxazol

TNF α : tumor nekrosis faktor α

UH: ultrahang

U_{cr}: a vizelet kreatinin koncentráció

V: a 24 órás gyűjtött vizelet mennyiség

VCR: vinkrisztin

VRA: szubsztrát oldat: ammónium 5-[4-(2'-acetamido-2-deoxi-β-D-glükopiranosiloxi)-3-metoxifenil-metilén]-2-tioxotiazolidin-4-1-3-etanol

We: vörösvérsejtsüllyedés (Westergreen)

WT: Wilms tumor

1. Bevezetés

A gyermekgyógyászati hematológia, onkológia a XX. század utolsó harmada orvostudományának egyik sikertörténete. A biológiai alapismeretek bővülésének, a diagnosztikus és terápiás lehetőségek fejlődésének eredményeképpen a korábban csaknem kivétel nélkül fatális gyermekkori rosszindulatú daganatos betegségek az esetek többségében gyógyíthatóvá váltak (1). Az Egyesült Államokban ezeknek a gyermekeknek a visszaesésmentes 5 éves túlélési ideje megközelíti a 70 %-ot, a gyógyultak prevalenciája a 15-45 év közötti életkorú fiatal felnőttek csoportjában 1: 1000 volt 1990-ben, és ennek az aránynak a négyszereződése (1: 250) várható 2010-ben (1, 2). A kedvező túlélési statisztika eltér az egyes kórképekben, így például Wilms tumorban (WT) 95% feletti, míg IV. stádiumú neuroblasztómában 20% alatti a gyógyulási arány. Az észak-amerikai, nyugat-európai mutatókhoz hasonló adatok jellemzik a magyar gyermekbetegek helyzetét is (3). A daganatok túlélésének javulásával egyre hangsúlyosabb cél lett az életminőség megőrzése, helyreállítása.

Az életét, életminőségét nemcsak a daganat progressziója, hanem a citosztatikus, az irradiációs, a sebészi, sőt a szupportív kezelés mellékhatásai is veszélyeztetik. A mellékhatások a beteg minden szervét, szervrendszerét érinthetik. Értekezésemben a gyakorisága és súlyossága miatt egyaránt jelentős nefrotoxicitás kiváltó okait, korai és pontos felismerésének, megelőzésének és kezelésének lehetőségeit tekintetem át.

A Debreceni Orvostudományi Egyetem Gyermekklinikája a Magyar Gyermekorvosok Társasága (MGYT) Gyermekonkológiai Szekciójának (GYOS) regionális centrumaként működik. Klinikánkon évente mintegy 30-40 új tumoros beteget diagnosztizálunk és kezelünk. Az intézmény háttere optimális lehetőséget biztosított a tartós remisszióban levő betegek utánvizsgálatára és számos új beteg bekapcsolására a kutatómunkába.

Célkitűzés

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

2. Irodalmi áttekintés

A vesekárosodás kóreredete

A vese tumoros infiltrációja, sebészi eltávolítása

Nyilvánvaló a vesekárosodás eredete, ha a rosszindulatú daganatos betegség magából a veséből indul ki, vagy involválja a szervet. A daganatos érintettség következtében részben, vagy teljes egészében sérül a kiválasztó funkció. A sérült vesét egyrészt a neoplasztikus folyamat kontrollja érdekében, másrészt a károsodott működés miatt gyakran el kell távolítani. Az esetek többségében egyoldali nefrektomia történik a gyermekkor ötödik leggyakoribb daganatos elváltozása, a WT, illetőleg egyéb gyermekkori vesedaganatok esetében. A nem veséből kiinduló daganatok közül a mellékvese-eredetű neuroblastoma gyakran *per continuitatem* terjed rá az azonos oldali vesére. A nefrektomiát követő ellenoldali kompenzáló hipertrófia, hiperfiltrációs károsodás következtében a glomerulus funkció késői beszűkülését idézheti elő (4). Amennyiben a daganat mindkét vesét érinti, úgy mindkét vese csonkolása, akár bilaterális nefrektomia elvégzése is szükségessé válhat. Különösen azokban az V. stádiumú WT-ok esetében jön szóba az amerikai munkacsoport (NWTSG) újabb eredményei alapján ez utóbbi beavatkozás, természetesen a hemodialízis kezelés bevezetésével párhuzamosan, amelyekben a kétoldali daganat Danys-Drash, vagy WT-aniridia szindróma részeként lép fel (5).

Leukémiában a vesék gyakran infiltráltak, de megnagyobbodásuk többnyire csak képalkotó eljárásokkal észlelhető, tünetet ritkán okoznak. A típusos manifesztációs tünetekhez non-Hodgkin limfoma (NHL) estén glomerulonefritisz, Hodgkin kórban nefrózis szindróma is társulhat (6). Bármilyen eredetű, akár kis méretű, a hasüregben, a retroperitoneumban, vagy a kismedencében növekvő daganat vizeletelvezetési akadályt, obstruktív uropátiát okozhat (7).

Tumor lízis szindróma

Nagyötegű sejt gyors, spontán, illetőleg radio- vagy citosztatikus terápia hatására bekövetkező pusztulása életveszélyes szövődmény kialakulásához, tumor lízis szindrómához (TLS) vezethet. Elsősorban magas malignitású akut limfoid leukémiában (ALL) és NHL-ben, különösen ezeknek a folyamatoknak az érett B-sejtes formájában (Burkitt limfoma/leukémia) kell a hiperfoszfátémia, hiperkalémia, hipokalcémia és hiperurikémia együttesével jellemzett TLS fellépésével számolnunk (8). A hiperurikémiás nefropátia hemodialízist igénylő akut veseelégtelenséghez (AVE) vezethet, míg a megelőzésben használatos allopurinol a prekursor metabolit felhalmozódása révén xantin-nefropátiát idézhet elő.

A vesék sugárkárosodása

A posztirradiációs nefropátia szubakut vagy késői típusú lehet. A szubakut forma az irradiáció után 6-12 hónappal jelentkezik hipertónia, ödéma, proteinúria tüneteivel. A vesék 24 Gy-t meghaladó besugárzása esetén AVE is kialakulhat. A késői forma 2-7 évvel a sugárkezelés után hipertóniaként manifesztálódik. Az irradiáció patomechanizmusát nem ismerjük pontosan: a glomeruláris arteriolákban az arterioszklerózisban észlelt szöveti képhez hasonló obliteratív endoteliális elváltozások mutathatók ki. A sugárkezelés és a kemoterápia együttes alkalmazása 16-18 Gy-re csökkenti a vese sugárküszöbét. Különösen érzékeny a vese, ha a sugárhatás -14-15 Gy dózisban - a nefrektomiát követő kompenzáló hipertrófia kialakulása idején éri a megmaradt szervet (9).

A citosztatikumok vesekárosító hatása

A citosztatikumok közül a platina származékok, a metotrexát (MTX), az alkiláló ágensek illetőleg az antraciklin származékok alkalmazásával hozható összefüggésbe vesekárosodás. Ezek közül a platina származékokat tartjuk a leginkább nefrotoxikus ágenseknek. Közülük a ciszplatin (CPL) a legjobban tanulmányozott szer. A veseműködés beszűkülése a CPL kumulatív dózisától és az alkalmazási sémától függ (10). Leggyakrabban a

proximális tubulus S3-szakaszának disztális része károsodik, de érintett lehet a teljes disztális nefron is. A CPL különösen alacsony klorid szintű környezetben, így a sejt belsejében, reaktív oxigén intermedierek képzése révén fejti ki toxikus hatását (11). A károsító hatás következtében a glomeruláris filtráció csökken, a plazma kreatinin koncentrációja emelkedik. Oligúria akutan többnyire nem alakul ki. A vizelettel történő magnéziumvesztés miatt hipomagnezémiát észlelünk a betegek nagyobbik hányadában (12). A vizelet izoszténúriás. A koncentrációs képesség beszűkülése a Henle-kacs vagy a gyűjtőtubulusok károsodását tükrözi. Késői nefrotoxikus szövődésként hirtelen vagy fokozatosan veseelégtelenség alakulhat ki, akár több hónappal a kezelés elhagyása után. Szöveti vizsgálatokkal akut tubuláris nekrozist és atrófiát figyelhetünk meg. A szer nefrotoxicitását az ifoszfamid potenciózza (13). Bleomicinnel együtt adva trombotikus mikroangiopátia léphet fel közvetlen vaszkuláris károsodás és másodlagos trombocita aktiválódás következtében. A késői, maradandó károsodás mértékére vonatkozó irodalmi adatok ellentmondásosak, több szerző intersticiális fibrózist, tubuláris bazálmembrán megvastagodást és veseciszta képződést írt le (14). Előzetes vizsgálatok szerint a karboplatin (CARBO) kevésbé károsítja a vesét, mint a CPL, mert kevésbé kifejezett a lipidperoxidációt okozó hatása és kevésbé akkumulálódik a tubulus sejtekben (15).

Az MTX kezelés súlyos akut veseelégtelenséghez, a glomeruláris filtráció, valamint a tubuláris funkciók csökkenéséhez vezethet, azonban az ezzel kapcsolatos irodalmi adatok ellentmondásosak. Abelson és munkatársai a MTX kezelést követően akutan csökkent kreatinin és inulin clearance értékeket találtak (16). Koch Nogueira és munkatársai nagy dózisú MTX, ifoszfamid (IFO) és CPL kezelésben részesülő tartós túlélő oszteosarkomás betegek vizsgálata során nem találtak glomeruláris károsodást, csak enyhe tubulus funkció zavart tudtak kimutatni (17). Az állatkísérletes adatok mellett az értekezésben ismertetésre kerülő saját tapasztalatok is alátámasztják azt a tényt, hogy az MTX toxicitását a bármilyen

okból csökkent glomeruláris filtráció fokozza, tekintettel arra, hogy a vesén át kiürülő gyógyszerről van szó (18). 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 (19,20). Újabb ismeretek szerint a hosszan tartó, magas MTX szintekért a rossz vesefunkción kívül a metilén-tetrahidrofolát-reduktáz (MTHFR) gén TT polimorfizmusa is felelős lehet (21). A betegek alapos fizikális vizsgálata, szükség esetén kiegészítő képalkotó eljárások elvégzése, a glomeruláris funkciójának meghatározása a kezelés előtt, valamint a gondos ellenőrzés a kezelés alatt megakadályozhatják az MTX súlyos, életveszélyes vese és egyéb mellékhatásait (22).

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 (23,24), de késleltetett megjelenésű és progrediáló glomeruláris funkció beszűkülést is leírtak (25). Az 1-5 %-ban kialakuló Fanconi-szindróma prognózisa rossz. Noha a károsodás ritkán torkollik végstádiumú veseelégtelenségbe, regressziót csak kivételes esetekben észleltek (18). A májban az IFO lassan, a CP gyorsabban metabolizálódik, ezért IFO kezelés esetén több, a vesetoxicitásért felelős klóracetaldehid képződik (26). Az IFO nefrotoxicitása annál kifejezettebb, minél nagyobb a kezelés során alkalmazott kumulatív dózis és minél fiatalabb a beteg (18). A mellékhatásokat fokozzák az egyidejű platina kezelés és a nefrektómia (14,27). Az igen jellegzetes és gyakori mellékhatásként, a hólyag-nyálkahártya toxikus károsodása következtében fellépő hemorrágiás cisztitist az alkiláló ágensek metabolizmusa kapcsán képződő akrolein idézi elő (18).

A nefrotoxicitás szempontjából legkevésbé tanulmányozott antraciklin származékok (daunorubicin, doxorubicin, epirubicin, idarubicin, mitoxantron) komplexet képeznek a vassal, így a Fenton és Haber-Weiss reakciók útján reaktív oxigén intermedierek képződéséhez vezetnek. A következményes lipidperoxidáció sejtmembrán károsodást és sejtnekrózist idéz elő (28). A patkány vesében mind a glomerulusok, mind a tubulusok nekrozisát, valamint a stroma fibrózisát leírták (29). A szakirodalomban eddig közzétett megfigyelések alapján nem alkothatunk pontos képet sem az antraciklin-nefrotoxicitás incidenciájáról, sem annak mértékéről (1. táblázat).

A szupportív kezelés vesekárosító hatása

Számos egyéb, az onkológiai gyakorlatban, esetleg éppen a szupportáló kezelés során alkalmazott gyógyszer vesekárosító hatása ismert. Így az allopurinollal szemben, amelyet kiterjedten használunk a TLS megelőzésére, akár AVE-t előidéző hiperszenzitivitási reakció alakulhat ki (30). A neutropeniás periódusban alkalmazott antibiotikumok és antifungális szerek közül az amoxicillin, az aminoglikozidok, a karbapenemek, a trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ) és az amfotericin B károsíthatják a vesét (31-34). Az eltérő patomechanizmus ellenére a fenti gyógyszerek szövetileg a nitrofurantoin-nefropátiához hasonló akut granulomatózus intersticiális nefritist idézhetnek elő (35). Az aminoglikozid hatására ezen túl magnézium-vesztés és következményes hipomagnezémia jön létre, de AVE is bekövetkezhet (34,36,37). A karbapenemek a lipidperoxidáció serkentése és a sejtleggés egyidejű gátlása révén akut proximális tubuláris nekrozist okozhatnak (33). ALL-es betegek TMP-SMZ kezelése során metabolikus acidózist, renális bikarbonát veszítést és növekedési retardációt észleltek (32). Az amfotericin B nefrogén diabétesz inszpiduszt okozhat (31). Az intravénás immunglobulin kezelés ritkán krioglobulinémiás vaszkulitisszel társulhat (38).

A vesekárosodás megelőzésének és kezelésének lehetőségei

A daganatos betegség nefrológiai szövődményei közül napjainkra leghatékonyabban az életveszélyes TLS megelőzését és kezelését sikerült kidolgozni. A múlt század 60-as éveinek eredménye a szindróma megelőzésének „standard” protokollja. A ma is érvényes módszer elemei az erőteljes hidrálás, a vizelet alkalizálása és allopurinol orális adagolása. Az erőteljes hidrálás (3000-4500 mL/m²/die) a filtrátum áramlásának növekedése révén csökkenti az urát, a foszfát és a kalcium kikristályosodásának a lehetőségét, vesekő kialakulását (39). A vizelet pH értékét 6,5 és 7,0 közé állítjuk, hisz az ennél savanyúbb vegyhatású közegben a húgysav, a lúgosabb vegyhatásúban a foszfát és a xantin csapódhat ki. Az erőteljes alkalizálás miatt kiemelt figyelmet kell fordítani a hipokalcémiás epizódokra, mivel csökken az ionizált kalcium szintje. Az allopurinol gátolja a xantin-oxidázt, ezáltal a húgysavképződést. Nem segíti elő azonban a preformált húgysavnak sem az átalakítását, sem a kiválasztását. További hátránya, hogy a prekurzor metabolit, a xantin felszaporodását előidézve xantin-nefropátia kialakulására hajlamosít. Hatása 24-48 óra alatt válik teljessé, ezért késleltetnünk kell a kemoterápiás kezelés bevezetését vagy mérsékelnünk kell a kezdeti dózis-intenzitást. A „standard” TLS profilaxis hátrányai ellenére mind az irodalmi adatok, mind saját munkacsoportunk tapasztalatai szerint hatékony módszer: alkalmazása esetén az ALL-s betegek mintegy 4%-a, a Burkitt limfomás betegek 10-40%-a szorul hemodialízisre (40).

Új lehetőséget képvisel a TLS megelőzésében és kezelésében az urát-oxidáz, amelynek nem rekombináns formája 90-es évek elejétől áll rendelkezésre. Az enzim a húgysavat a vízben lényegesen jobban oldódó, így könnyebben kiválasztható allantoinná alakítja. Az Aspergillus flavusból előállított készítménnyel a hemodialízis szükségességét 2% alá lehetett csökkenteni. A készítmény alkalmazása kapcsán ritkán, de súlyos formában fellépő allergiás reakciók megelőzése érdekében vezették be a klinikai gyakorlatba az urát-

oxidáz rekombináns formáját. A szer nemcsak a TLS megelőzésében, hanem annak kezelésében is igen hatékonynak bizonyult (40,41).

Az erőteljes hidrálás, a vizelet alkalizálása, az elektrolit háztartás egyensúlyának biztosítása nem csak a TLS prevenciójára alkalmas módszer. A magas folyadékforgalom hatékonyan gátolja a citosztatikumok felvételét a tubulus hámsejtekbe, így az akut és krónikus nefrotoxicitás megelőzésének is alapvető eleme. A platina vegyületek vesekárosító hatása csökkenthető a gyógyszer hipertóniás oldatban történő beadásával, ugyanis a magas klorid koncentráció csökkenti a reaktív intermedierek képződését (42). A jelentős folyadékbevitel, a hiperozmoláris folyadékpótlás miatt a betegek egyidejű diuretikus terápiára szorulnak. Erre a célra az ozmotikus diuretikumok felelnek meg, mivel a kacs-diuretikumok hatására a kalcium és a magnézium ürítése, a tiazid diuretikumok hatására a magnézium és a kálium kiválasztása fokozódik (43). A platina származékokkal folytatott kezelést követő, akár évekig fennálló magnéziumvesztés, valamint a következményes hipomagnezémia, hipokalémia és metabolikus alkalózis esetén a magnézium-pótlás önmagában tünetmentessé teheti a betegeket, nincs szükség egyidejű káliumpótlásra, tekintettel arra, hogy a vesetubulusban a fenti ionok kapcsolatosan transzportálódnak. A magnézium *per os* készítményként rosszul szívódik fel, súlyos tünetek esetén parenterális pótlásra is szükség lehet.

Újabb adatok szerint a húgyhajtók alkalmazása és a tubuláris károsodás miatt gyakori hipokalémia következetes rendezése csökkenti a következményes intersticiális fibrózis kialakulásának valószínűségét, illetőleg súlyosságát és megakadályozza az aritmiák létrejöttét (44,45). A hipokalémia megelőzésének egyik lehetősége a káliummegtakarító diuretikumok - aldoszteron antagonisták alkalmazása -, amelyek képesek az aldoszteron alább felsorolt számos vesekárosító hatását is kivédeni. Az aldoszteron, hipokalémiát okozó hatása mellett, több támadásponton keresztül képes fibrózist előidézni: egyrészt a mineralokortikoid receptorokkal történő kölcsönhatás révén az endotel diszfunkciót és a trombózis hajlamot

serkenti, csökkenti az erek tágulékonyságát és növeli a baroreceptorok funkcióját. Másrészt növeli az angiotenzin II szervkárosító hatását, amelyet sem ACE sem angiotenzin 2 (AT2) receptor gátlókkal nem lehet teljes mértékben kivédeni a „rebound” hatás miatt (46).

Az MTX tubuláris kicsapódását a vizelet vegyhatásának pH 5-6 közé történő beállításával akadályozhatjuk meg. Az aktuális gyógyszer szint függvényében alkalmazott tetrahidro-folsav (kalcium folinát) adással a szer nefrotoxicitása is csökkenthető (16). Toxikus MTX-szint esetén, plazmaferézist vagy karboxipeptidáz G₂ kezelést kell alkalmaznunk (18,47).

Az amfotericin B által előidézett nefrogén diabétesz inszipidusz antidiuretikus hormon (ADH) vagy ADH analóg, valamint tiazid típusú és kálium spóroló diuretikum egyidejű alkalmazásának hatására rendeződik (31).

A CP és az IFO hemorrágiás cisztitist előidéző hatását Mesna vagy acetyl-cystein adásával védhetjük ki. Az előbbi szer antioxidáns hatása révén, állatkísérletes adatok szerint, a nefrotoxicitás csökkentésében is szerepet játszik (48). A reaktív oxigén intermedierek képződésének, illetőleg toxikus hatásuk gátlásának tulajdonítjuk több más, a klinikai gyakorlatban alkalmazásra került gyógyszer vesevédő tulajdonságát. Az amifostin hatékonyan mérsékli számos citosztatikum mieloszuppresszív mellékhatását. Előzetes eredmények alapján felnőtt betegekben jó hatásúnak mutatkozott a CP, illetőleg a platina származékok által kiváltott glomerulus károsodás csökkentésében is (49-52). Gyermekbetegekben az esetleges vesevédő hatásról kevés adat áll rendelkezésre (53). Az antraciklin terápia esetén alkalmazott antioxidáns kardioprotektív ágens, a dexrazoxan (ICRF-187) nefroprotektív szerepe nem egyértelmű, a szer lehetséges vesevédő szerepének tisztázása érdekében további klinikai tanulmányok szükségesek (54,55). Az antioxidáns szerek további csoportjai bizonyultak ígéretes hatásúnak kísérletes körülmények között. Így a szilibinin, a C-vitamin, a salviae radix kivonat nefroprotektív hatását igazolták állatkísérletekben, ciszplatin kezelés

során (56-58). A doxorubicin által patkányokban létrehozott nefrózis szindróma tünetei javultak a hidroxil gyökfogó dimetiltiourea és a TNF α - gátló pentoxifillin hatására (59,60). Bevezetésük a klinikai gyakorlatba kellő elővigyázatot igényel, hiszen közülük a C-vitamin tartósan, nagy dózisban tubulointersticiális nefritist okoz (61).

Kísérleti állatokban tanulmányozták a glicin infúzió protektív hatását a CPL nefrotoxicitással szemben. Alkalmazását emberen még nem próbálták ki (62). A glükoneogenezis serkentésével növelhető az intracelluláris redukált/oxidált glutation (GSH/GSSG) arány. Izolált nyúl vesekortex tubulushám sejtek glükoneogenezise a pentóz-foszfát sönt serkentésére alkalmas szubsztrátok, így aszpartát + glicerin + oktanoát, alanin + glicerin + oktanoát, malát és piruvát alkalmazásával illetőleg extracelluláris adenosin trifoszfáttal (ATP) és inozinnal serkenthető (63). A glükoneogenezis serkentése mellett a piruvát, méginkább módosított rokonvegyülete, az etil-piruvát hatékony reaktív oxigén gyökfogó tulajdonsága révén is képes protektív hatás kifejtésére (64).

Több más vesevédő tulajdonságúnak bizonyult szer hatásmechanizmusát, emberben kifejtett hatását nem, vagy nem pontosan ismerjük még. Az angiotenzin konvertáló enzimgátló szerek, előzetes klinikai adatok szerint, alkalmasnak tűnnek a hiperfiltrációs glomerulopátia megelőzésére, illetőleg kezelésére (65,66).

A gyermekkorban hazánkban egyre ritkábban alkalmazott metoclopramid csökkenti a CPL, ám fokozza az epirubicin citotoxicitást sejtvonalakban (67). A gentamicin által okozott nefrotoxicitást patkányokban csökkenti a foszfolipidekben dús diéta (68). Az atrialis natriuretikus peptid génjével transzfektált patkányokban az előzetesen gentamicinnel kiváltott vesekárosodás gyógyulását figyelték meg (69). Különösen ígéretesnek tűnnek azok a patkánykísérletes adatok, amelyek szerint az eritropoetin a tubulus hámsejtek regenerációjának fokozásával javítja a ciszplatin okozta AVE-hez társuló tubulusfunkció zavart (70). A veseelégtelenség következtében kialakuló anémia terápiájában bevált

eritropoetin-kezelés a gyermekonkológiai gyakorlatban is egyre inkább polgárjogot nyer (35,71).

Az ACE I/D polimorfizmus lehetséges szerepe a vesekárosodásban

Az ACE az angiotenzin I-t AT2-vé alakítja és inaktiválja a bradikinint (72). A keringő AT2 szintet az ACE 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) (73). Ezekben az egyéneknél kétszer annyi AT2 termelődik, illetve bradikinin bomlik le, mint az II genotípusúakban.

Mind az AT2-nek, mind a bradikininnak fontos szerepe van az erek tónusának és a simaizom sejtek proliferációjának meghatározásában. A renin-angiotenzin rendszer fiziológiai szerepét először Tigerstedt és Bergman írták le több mint 100 évvel ezelőtt (74). Úttörő kísérleteik voltak az első lépései annak a múlt század egészén végighúzódnak, számos munkacsoportot foglalkoztató vizsgálat sorozatnak, amely nagyban hozzájárult az AT2 különböző kardiovaszkuláris kóros állapotokban, endotel diszfunkcióban, ateroszklerózisban, szívelégtelenségben betöltött szerepének a tisztázásához. Az utóbbi évek kutatásai szerint a D allél jelenléte összefügg a hipertónia, illetve hipertófiás kardiomiopátia magasabb prevalenciájával. Ez utóbbi betegcsoportban a hirtelen szívhalál is gyakoribb a DD genotípusú betegekben (75). Az ACE genotípusok akut miokardiális infektusban betöltött kockázati szerepe ellentmondásos, úgy tűnik a vizsgálati populáció egyéb sajátásaival van összefüggésben (76-77).

Az ACE DD genotípus számos vesebetegséggel is összefüggésbe hozható. Közülük az IgA nefropátia, a primer fokális szegmentális glomeruloszklerózis, a szteroid érzékeny nefritisz, az inzulin dependens diabétesz mellituszhoz társuló nefropátia és a vezikoureterális reflux lefolyása és a genotípus közötti kapcsolat bizonyított (78-82). A DD genotípusú

betegek az ACE gátló kezelésre is rosszabbul reagálnak, mint az ID, II genotípusú betegek. A fent felsorolt vesebetegségek prevalenciája, prognózisa, progressziója nem kizárólag az ACE genotípusától függ (83). A proteinúria foka, progressziója és a fenti polimorfizmus között Yoshioka és mtsai Henoch – Schonlein nefritisz betegekben összefüggést észleltek (84). Diabéteszes betegekben két munkacsoport nem talált korrelációt sem a durva proteinúria, sem a mikroalbuminuria (MA) és az ACE I/D polimorfizmus között, ugyanakkor Hadjadj és mtsai szignifikánsan nagyobb fokú mikroalbuminuriát észleltek DD genotípusú diabéteszes nefropátiás betegekben (85-87). Az ACE I/D polimorfizmus szerepét citosztaticus kezelés indukálta nefropátiában eddig nem vizsgálták.

Az ACE I/D polimorfizmus hatása túlmutat egyes szív-érrendszeri és vesebetegségek kórlelettanában megismert szerepén. Az utóbbi évek vizsgálatai alapján az ACE gén expresszió befolyásolja a nitrogén monoxid (88), az inflammatorikus citokinek termelését és az arra adott kardiovaszkuláris választ (89) ugyanúgy, mint az adrenomedullin (AM) szekréciót (90). Az ACE DD genotípusú betegekben a renin-angiotenzin rendszer aktivitása megnő, ami súlyosabb lefolyású adult respiratorikus disztressz szindrómát eredményez (91). Az újszülött, csecsemő- és gyermekkori meningococcus meningitisz letalitása nagyobb volt az ACE DD genotípusú, mint az ID és II genotípusú betegekben (92).

3. Anyagok és módszerek

3.1. Betegek

3.1.1. Az akut vesekárosodás vizsgálata

A szérum és a vizelet minták azon 92 leukémiás és szolid tumoros betegből származtak (52 fiú és 40 leány, átlagéletkor $8,6\pm 5,5$ év, tartomány: 0,5-25,0 év), akik a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Központ (DEOEC) Gyermekklinika Hemato-Onkológiai Osztályán 1999 október 1. és 2003 december 31. között álltak a GYOS által elfogadott protokollok szerinti kezelés alatt (2. táblázat).

3.1.1.1 A dexrazoxan protektív szerepének vizsgálata

A dexrazoxan protektív szerepét 6 olyan ALL-ben szenvedő betegben (4 fiú és 2 leány, átlagéletkor: $4,1\pm 2,1$ év, tartomány: 3,0-12,2 év) elemeztük, akiket 2000-2001-ben az ALL-BFM 95 protokoll előírása szerint, a GYOS tanulmány keretein kívül kezeltünk doxorubicinnel (DOX) és daunorubicinnel (DNR). A protokoll előírásának megfelelően ezek a betegek nem részesültek dexrazoxan védelemben az antraciklin kezeléssel párhuzamosan. Eredményeiket 6 olyan korban és nemben hasonló (4 fiú és 2 lány, átlagéletkor: $4,0\pm 1,2$ év, tartomány: 3,0-13,0 év) gyermek adataihoz hasonlítottuk, akik azonos időszakban a GYOS által módosított ALL-BFM 95 protokoll szerinti kezelésben részesültek, így a GYOS ajánlása szerint a kardiotoxicitás megelőzése érdekében dexrazoxan védelemben kapták meg az antraciklin kezelést. A betegek a DOX és a DNR kezelést megelőzően az antraciklinek 10-szeres dózisának megfelelő mennyiségű dexrazoxánt kaptak 100 ml Ringer-laktát infúzióban 30 percen át. Az antraciklin kezeléseket megelőzően és azokat követően mind a dexrazoxan profilaxisban részesülő, mind a dexrazoxan kezelést nem kapó betegekben több alkalommal végeztünk EKG és szívultrahang vizsgálatokat az akut és késői kardiotoxicitás kizárása, korai felismerése céljából.

3.1.2. A krónikus vesekárosodás vizsgálata

Száztizenöt (65 fiú és 50 leány, átlagéletkor: $14,6\pm 4,9$ év, tartomány: 7,1-25,3 év) a DEOEC Gyermekklinika Hemato-Onkológiai Szakrendelőjében ellenőrzött, tartós remisszióban levő (tartomány: 84-276 hónap) gyermek vér és vizelet mintáit tanulmányoztam. A betegek átlagéletkora a diagnózis megállapítása idején 5,3 év volt (tartomány: 0,3 – 20,2 év). Az átlagos követési idő 7,1 év volt (tartomány: 2,2-23,4 év).

A tartós remisszióban levő betegeket 3 csoportra osztottam, mivel a retrospektív tanulmány által átfogott 17 év során, 1984 és 2001 között, azonos daganatbetegség esetében is több különféle kemoterápiás protokollt alkalmaztunk. Hatvan leukémia-limfoma túlélőt (37 fiú és 23 leány, átlagéletkor: $7,2\pm 4,7$ év, tartomány: 0,5 -18,0 év), 22 WT beteget (14 fiú és 8 leány, átlagéletkor: $2,9\pm 2,3$ év, tartomány: 0,25-9,0 év) és 33 (más) szolid tumoros beteget (9 fiú és 24 leány, átlagéletkor: $4,2\pm 4,9$ év, tartomány: 0,5-17,0 év) vizsgáltam (3. táblázat). A leukémiás és limfomás betegek a BFM protokolloknak megfelelő kezelésben részesültek (93-95). A BFM protokollok közös eleme volt a nagy dózisu (HD) MTX, az antraciklinek, a CP valamint a magas rizikójú (HR) és a Burkitt leukémia/limfoma betegek esetében az IFO. Huszonegy WT beteg heminefrektómián esett át, pólus rezekciót 1 esetben végeztünk. A standard (SR) és a közepes rizikójú (IR) betegek (18 eset) vinkrisztin (VCR), epirubicin (EPI) és D-aktinomicin, míg a HR betegek (4 eset) az előbbieket mellett IFO és CARBO kezelésben részesültek. Tizenegy WT beteg lokális irradiációban is részesült. A szolid tumoros betegek: 16 neuroblastoma/primitív neuroektodermális tumor (PNET), 5 Ewing szarkoma, 4 csirasejtes tumor, 3 oszteoszarkoma, 2 központi idegrendszeri tumor, 2 retinoblastoma és 1 lágyrész szarkoma kezelési sémáiban szerepeltek az IFO a platina származékok és a HD MTX, vagy ezen szerek kombinációi.

3.1.4. Az ACE gén I/D polimorfizmus tekintetében vizsgált betegek

Az ACE I/D polimorfizmus vizsgálatot a DEOEC Gyermekklinika Hemato-Onkológiai Osztályán és Szakrendelésén kezelt illetve gondozott 207 onkológiai betegben

végeztem el (121 fiú és 86 leány, átlagéletkor: $10,9 \pm 5,4$ év tartomány: 0,5–24,0 év). A betegek ACE gén polimorfizmus és diagnózis szerinti megoszlása a 3. táblázatban található. A vizsgált gyermekek között 84 tartós túlélő (47 fiú és 37 leány, átlagéletkor: $13,6 \pm 3,5$ év, tartomány: 6,9-21,9 év) és 123 (70 fiú és 53 leány, átlagéletkor: $7,9 \pm 2,9$ év, tartomány: 0,5-25,0 év) 2000 és 2003 közötti időszakban újonnan kórismézett beteg volt. A tartós túlélő betegek átlagos követési ideje 6,1 év volt (tartomány: 2,1-21,4 év).

További 21 WT betegnek, akiket a Szegedi Tudomány Egyetem Gyermekklinikájának Hemato-Onkológiai Osztályán kezeltek és gondoztak, a szegedi Klinika Genetikai laboratóriumában történt meg a genotípezálása.

3.1.5. Súlyos keringési szövődmény vizsgálata lázas, neutropéniás betegekben

A citosztatikummal kezelt betegekben gyakran észleljük szövődményként a lázas neutropéniát, azonban a betegek csak kis hányadában alakul ki szeptikus sokk. Szeptikus sokkban a lázhoz a sokszervi tünetek társulnak, amelyeket hatékonyan jellemezhetünk a sokk indexszel, a percenkénti szívfrekvencia és a szisztolés vérnyomás [Hgmm] hányadosával. Sokkban tachikardiát és hipotóniát észlelünk, ezért a sokk indexet 1,0 felett tartjuk kórosnak (107, 108). A sokkos betegekben a fizikális vizsgálat, pulzusszámolás, vérnyomás és lázmérésen kívül teljes vérkép vizsgálat, vérgázanalízis, szérum C-reaktív protein koncentráció (CRP) [mg/L] és vörösvérsejtsüllyedés (We) mérés történt. Regisztráltam az intenzív osztályon (ITO) eltöltött napok számát. A súlyos keringési szövődmény vizsgálatának egy retrospektív (1986-1999) és egy prospektív (2000-2003) szakasza volt. A retrospektív szakaszban 1986 és 1999 között osztályunkon kezelt és a vizsgálat idején már remisszióban levő, tartós túlélő betegek kórlapjait tekintetem át és kerestem a szeptikus sokkra utaló klinikai jelek dokumentálását. A prospektív fázisban 2000 és 2003 között osztályunkon citosztatikummal kezelt betegek szeptikus sokkra utaló klinikai tüneteit regisztráltam.

3.1.6. Kontroll csoport

Kontrollként 144 nefrológiai, hematológiai szempontból egészséges, a klinikánk általános járóbeteg szakrendelésén akut betegség miatt rutin vérvételen és vizeletvizsgálaton átesett gyermek, „negatív kontroll” (85 fiú és 59 leány, átlagéletkor: $9,8 \pm 5,9$ év, tartomány: 1,1-22,6 év) adatait használtuk. „Pozitív kontroll”-ként 12 krónikus vesebetegségben szenvedő, hemodialízis kezelés alatt álló gyermek, (6 fiú és 6 leány, átlagéletkor: $17,1 \pm 7,1$ év, tartomány: 10,1- 24,3 év) adatait használtuk.

3.1.7.1. Általános kivizsgálás

Minden általunk vizsgált beteg a vonatkozó protokoll által előírt, illetőleg az aktuális klinikai állapotának megfelelő kivizsgálásban részesült. Kiemelten vizsgáltuk a lehetséges és fellépő akut és késői mellékhatások és szövődmények tüneteit.

3.1.7.2. Képakotó eljárások

A laboratóriumi eljárások kiegészítéseként hasi ultrahang (UH) vizsgálat történt, melynek során rögzítettem a vesék méretét, echogenitását és szerkezetét. Valamennyi beteg esetében készült mellkas röntgenfelvétel. Az antraciklin kezelésben részesülő betegek szív működését echokardiográfiával tanulmányoztuk. Emellett elvégeztük az alapbetegség, illetőleg annak szövődményei, a kezelés mellékhatásai következtében szükségessé váló képakotó vizsgálatokat.

3.1.8 A vizsgálatok engedélyezése

A vizsgálatot a DEOEC Etikai Bizottsága engedélyezte. A szülők és törvényes képviselők részletes orvosi felvilágosítás után írásbeli beleegyezésüket adták a vizsgálatokba.

3.2 Módszerek

3.2.1. A glomeruláris károsodás kimutatására alkalmazott módszerek

3.2.1.1 A szérum és vizelet kreatinin meghatározása

A szérumban kreatinin koncentrációt a 24 órás vizeletgyűjtés 12. órájában levett vérmintában, a vizelet kreatinin koncentrációt higiénés 24 órás gyűjtött vagy reggeli első mintában határoztuk meg. A szérumban és vizelet kreatinin koncentráció-mérés 2 pontos, alkalikus pikrát módszerrel (kinetikus Jaffe reakcióval) Hitachi 717 műszeren (Boehringer, Mannheim, Németország) történt.

3.2.1.2 Az endogén kreatinin clearance meghatározása

Az endogén kreatinin clearancet a $C_{Cr} = U_{Cr} \times V \times 1,73 \text{ m}^2 / S_{Cr} \times \text{testfelszín} [\text{m}^2]$ képlet alapján számítottuk, ahol U_{Cr} a vizelet kreatinin koncentráció [$\mu\text{mol/L}$], V a 24 órás gyűjtött vizelet mennyiség [mL/min], S_{Cr} a szérumban 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 használtuk, ahol l a testhossz [cm] (109). A kreatinin tubuláris szekréciójának gátlására a betegek (a pozitív kontrollokat kivéve) a vizeletgyűjtés alatt illetve az azt megelőző napon 6 mg/ttkg dózisban per os cimetidin kezelésben részesültek.

3.2.1.3 A szérumban cystatin C (cysC) meghatározása:

A cysC meghatározás szérumban mintákból a szérumban és vizelet kreatinin meghatározással párhuzamosan történt immunturbidimetriás módszerrel Hitachi 717 műszeren (Dako, Glostrup, Dánia) (110,111). A mérés során $10 \mu\text{L}$ szérumban mintát és $240 \mu\text{L}$ foszfát puffert pipettáztam a küvettaiba, amelyet 288 s -ig inkubált a műszer 37°C -on. Ezt követően $30 \mu\text{L}$ cysC reagens (latex patikulumokhoz kötött nyúl anti-cysC antitest) bemérése történt, amelyet követően 340 nm -en történt a reakcióelegy abszorbanciájának első meghatározása. Újabb 300 szekundum után történt a második abszorbancia mérés 340 nm -en. A két érték abszorbancia különbségéből határoztuk meg a cysC koncentrációt az ismert cysC koncentrációjú standard szérumban hígításainak turbiditási értékeiből készített kalibrációs görbe alapján. A méréshez használt összes reagens a DAKO Cystatin C PET Kit (Dako, Glostrup, Dánia) részét képezte.

3.2.1.4 A proteinúria meghatározása és jellemzése

A proteinúria vizsgálata a rutin vizeletvizsgálat részeként történt. A citosztatikus kezelésben részesített betegek esetében erre hetente legalább 1 alkalommal illetőleg valamennyi potenciális nefrotoxikus kezelés előtt és után 24 órával, a tartós túlélő betegekben valamennyi ellenőrző vizsgálat kapcsán került sor. Rutin vizeletvizsgálat céljára reggeli első higiénés, nagyobb gyermeknél középsugarú vizeletmintát használtunk. Az urina analízist Uriscan tesztsíkkal (Yeongdong Pharmaceutical Corp., Szöul, Korea) végeztem. A proteinúria a tesztsíkon jellegzetes zöld elszíneződésként ábrázolódott. A pozitív eredményt szulfoszalicilsav próbával erősítettem meg és durva proteinurának neveztem. Durva proteinúria esetén 24 órás gyűjtött vizeletmintából határoztam meg a fehérjeürítés mennyiségét és minőségét. A fehérjeürítés mennyiségét a 24 órás gyűjtött vizeletben kimutatható totál protein, IgG, albumin, β_2 mikroglobulin mennyiségének nefelometriával (BN 100 Nefelometer, Dade Behring, Marburg, Németország) történő meghatározásával vizsgáltam. A fehérjeürítés minőségi analízisre lecentrifugált, 1/50 térfogatra koncentrált vizeletben agaróz gélen (Vivaspin, Vivascience, Hannover, Németország) Hydrasis félautomata készülékkel (Sebia, Lisses, France) végzett elektroforézissel történt. Szelektív glomeruláris proteinúria esetén csak albumin, míg non-szelektív glomeruláris proteinúria esetén az albumin mellett csekély mennyiségben IgG is volt kimutatható. Tubuláris proteinúria esetén döntően nagy molekulású IgG ürült az albuminuria csekély mennyiségű volt.

3.2.1.5. A progresszív proteinúriás betegek ACE gátló kezelése és ellenőrzése

A progresszív proteinúriás betegeket ACE gátló kezelésben részesítettem és 3 havonta ellenőriztem a proteinúria mennyiségét illetőleg az egyéb glomeruláris és tubuláris markereket.

3.2.2. A tubulus funkciók vizsgálatára alkalmazott módszerek

3.2.2.1 A vizelet N-acetil- β -D-glukozaminidáz (NAG) aktivitásának mérése

A reggeli első higiénés vizelet NAG aktivitásának meghatározása Horak és mtsai módszerével beállított standard laboratóriumi eljárással történt (112,113). A fagyasztott vizeletet szobahőn felolvasztásra került, majd összekeverés után és centrifugálás következett (400g, 5p). Műanyag centrifugacsőben, 350µl VRA szubsztrát oldattal (ammonium 5-[4-(2'-acetamido-2-deoxi-β-D-glükopiranosiloxi)-3-metoxifenil-metilén]-2-tioxotiazolidin-4-1-3-etanol) történő 5 percen át 37 °C-on végzett inkubálást követően a reakció 25µl vizelet hozzáadásával indult. A „vak” reakció elegy a 350 µl szubsztrát mellett 25 ul desztillált vizet tartalmazott. 30 perc elteltével a reakció leállítására 375 µl 1,2 mmol/L KHCO₃ / K₂CO₃ (pH 9,85) pufferrel történt. Ezután 5 percen belül megtörtént a minták és a vakok fotometrálnása 505 nm-en, Spekol fotométerrel, SMCU 1 cm-es rétegvastagságú küvettában. A szubsztrát-vak abszorbanciája 0,16 alatt volt.

A meghatározott NAG értéket a vizelet kreatinin szintjéhez normalizáltam. Az így µmol/min/mmol dimenzióban kapott érték képezi a NAG indexet (NAG_i). Az így µmol/min/mmol dimenzióban kapott NAG indexet (NAG_i) az életkorkorfüggő normáltartományhoz viszonyítva relatív NAG értékéhez (NAG%) jutunk. Az életkor-specifikus normál értéket munkacsoportunk korábbi vizsgálatait során határoztuk meg (113).

3.2.2.2 Az MA meghatározása

Az MA mértékét 24 órás gyűjtött vizeletmintából beállított standard laboratóriumi eljárás-ként immunturbidimetriás módszerrel történt (Cobas Integra 400, Roche, Basel, Svájc) (114) Az eredményt mg/L egységben adtam meg. A reggeli első vizeletből 20 mg/L, míg 24 órás gyűjtött vizeletből 30 mg/L/24 óra érték felett tekintetem kórosnak.

3.2.2.3.A disztális tubulus funkció monitorozása

Disztális tubulus funkciót szérumból és a reggeli első vizelet ozmolaritás párhuzamos mérésével monitoroztuk VAPRO típusú ozmométeren. A készülék a harmatpont (gőznyomás) csökkenését méri és az alapján számolja az ozmolaritást mmol/kg H₂O-ban.

3.2.3. ACE gén I/D polimorfizmus vizsgálata

A polimorfizmus vizsgálatot a betegek komplett klinikai és hematológiai remissziója idején polimeráz láncreakcióval (PCR) végeztem. A perifériás vérből Ficoll-Paque gradiens izoláltam a mononukleáris sejteket. A határréteg sejteket 3X izotóniás foszfát pufferben (PBS, pH 7,4, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steienheim, Germany) mostam. Az utolsó mosást követően a sejtmorfológiát citospin kenetben ellenőriztem. A sejtpelletből azonnal elvégeztem a DNS kivonást, vagy a sejteket a kivonásig -20°C -on fagyasztottam. A DNS-t szilikon-guanidiumtiocianát módszerrel vontam ki (115). A polimorfizmus vizsgálat során az irodalmi ajánlásoknak megfelelő szekvenciájú: 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3' és 5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3' „sense” és „antisense” priméreket használtam. Az SZTE Gyermekklinikán történt PCR vizsgálat során 21 esetben egy további, I allélre specifikus primért: 5'-TCGAGACCATCCCGGCTAAAAC-3' is alkalmaztunk. A PCR reakció elegy 50 ng DNS templátot, 1x reakció puffert, 2,5 mmol MgCl_2 , minden egyes deoxinukleotid-trifoszfát (dNTP) 200 μmol mennyiségét, minden egyes primér 0,6 μmol -nyi mennyiségét és 1U AmpliTaq DNS polimerázt tartalmazott 25 μL végső térfogatban. A PCR program 4 percig 95°C -on, majd 36 cikluson keresztül 30 másodpercig 94°C -on, 45 másodpercig 58°C -on és 45 másodpercig 72°C -on zajlott. A 454 bázispár hosszúságú I allél PCR terméket és a 167 bázispár hosszúságú D allél terméket agaróz gél elektroforézissel választottam el egymástól (116).

Statisztikai analízis

A statisztikai elemzésekhez a SAS for Windows szoftvercsomagot használtuk. Mindent folytonos változót leíró statisztikával (esetszám, átlag, szórás) jellemeztünk. A cysC és S_{Cr} , a C_{Cr} és C_{Counahan} közötti összefüggést lineáris regressziós analízissel vizsgáltuk. A CysC, relatív NAG_i és a mikroalbumin koncentráció összehasonlításait egyszempontos varianciával (one-way ANOVA) végeztük el, ezt a kritikus különbségek elemzésére

Newmann-Keuls tesztel egészítettük ki. A cysC, NAG, mikroalbumin, szérum és vizelet ozmolaritás citosztatikus kezelés előtti és utáni értékeit Student-féle párosított t-próbával vetettük össze. A változók közti összefüggések vizsgálatára Pearson- és Spearman-féle korreláció-elemzést alkalmaztunk.

A proximális tubulus funkció DNR kezeléssel párhuzamos progresszív romlásának bizonyítására a betegek kezelés utáni NAG_i értékét a legelső kezelés előtti NAG_i értékhez hasonlítottuk. Valamennyi beteg legelső kezelés előtti NAG_i értéket 100 %-nak tekinttük és a százalékos érték emelkedését vizsgáltuk az egymást követő DNR kezeléseket során. A mérési pontokhoz egyenest illesztettünk és az egyenes vízszintestől való eltérését lineáris regressziós módszerrel vizsgáltuk.

Az ACE gén DD, ID és II genotípus prevalencia és a D illetve I allél frekvencia-számolás a különféle betegcsoportok között Pearson-féle Chi négyzet tesztel történt. Ugyancsak Pearson-féle Chi négyzet tesztet használtunk annak meghatározására, hogy a genotípus megoszlás illetve a gén frekvencia megfelel-e a Hardy Weinberg egyenletnek. Bonferroni-Dunn t-tesztet végeztünk annak érdekében, hogy a különféle citosztatikumokkal kezelt betegcsoportokban észlelt NAG_i és MA értékek és az ACE gén I/D polimorfizmusa közötti kapcsolatot megállapítsuk.

Minden statisztikai elemzés esetén a 0,05 alatti p értékeket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

Munkám során 207 beteg (92 daganatellenes kezelés alatt álló és 115 tartós túlélő) 1381 szérum és vizeletmintáját vizsgáltam 144 negatív kontrollként és 12 pozitív kontrollként tanulmányozott gyermek mintáival együtt. Meghatároztam 207 beteg és 144 kontroll gyermek ACE I/D polimorfizmusát.

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} ($r=0,95$, $p < 0,001$; 1 ábra) 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 kapcsán (4. táblázat). A kezelés utáni cysC értékek átlagértékei nem voltak olyan magasak, mint a krónikus vesebeteg, hemodializált 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 oszteosarkomás fiúnak, a masszív pleurális metasztázis következtében jelentős pleurális folyadékgyüleme volt. Az itt felhalmozódó MTX elhúzódó gyógyszerürülést, anúriát,

kreatinin szint-emelkedést 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 lecsapolása ellenére a gyermek légzésszavara progresszíven 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 ábrázolódott, amely az elhúzóú ürülést magyarázta. Ez a két eset a harmadik folyadéktérben felhalmozódó MTX szerepét demonstrálja az akut vesekárosodás előidézésében. A másik 6 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. $1,31\pm 0,36\ \text{mg/L}$, $p=0,007$).

2. Akut tubuláris toxicitás

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, idarubicin (IDA) és EPI kezelés után, mint a kezelés előtt nyert mintákban (5. táblázat). 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 (5. táblázat).

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 (3. ábra). Az átlag NAG_i érték háromszor volt magasabb a negyedik DNR kezelés után, mint az első kezelés után.

Vizsgáltuk a dexrazoxan hatását a DNR indukálta NAG exkrécióra. Az átlag NAG_i a dexrazoxan profilaxisban részesült betegek csoportjában szignifikánsan ($p < 0,05$) alacsonyabbnak ($0,69 \pm 0,25 \mu\text{mol/perc/mmol}$) bizonyult, mint azoknak a betegnek az esetében ($1,79 \pm 1,45 \mu\text{mol/perc/mmol}$), akik az antraciklin kezelés előtt nem kaptak dexrazoxánt. Nem volt szignifikáns hatása a dexrazoxan kezelésnek a DNR indukálta MA exkrécióra.

Az EKG és echokardiográfiás vizsgálat során egyik betegcsoportban sem észleltünk sem korai sem késői kardiotoxicitásra utaló eltéréseket.

2.2 Akut disztális tubulus funkció károsodás

A szérum és a reggeli első vizeletminta ozmolaritásának összehasonlítása alapján nem találtunk súlyos disztális tubulus funkció-károsodásra utaló eltérést egyetlen vizsgált citosztatikum kapcsán sem.

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 vizeletvizsgálat 30 proteinúriás beteg kivételével negatív volt. A hasi ultrahang vizsgálat során a WT betegek mintegy 10%-os ellenoldali vese hipertrófiáját észleltük. A proteinúriás gyermekek veséje UH vizsgálattal hiperechogénnek bizonyult.

3.1 Glomeruláris károsodás

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 (6. táblázat). A tartós remisszióban levő betegek 3 alcsoportját elemezve 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 (2. ábra). A szérum kreatinin koncentrációk is magasabbak voltak ebben a betegcsoportban ($71 \pm 21 \mu\text{mol/L}$), míg a klearance 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 hemodialízis megkezdése előtt ellenőrizte utoljára.

Harminc betegnél észleltünk durva proteinúriát, amely 20 betegnél spontán megszűnt a 12 hónapos követés során. A perzisztáló proteinúriás betegek 24 órás gyűjtött vizeletében kvantitatíven meghatároztam az ürített fehérje mennyiségét és elektroforézissel tanulmányoztam a minőségét. Öt betegnél észleltem glomeruláris és 5 betegnél kevert (glomeruláris és tubuláris) proteinúriát. 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. A glomeruláris proteinúria mellett ezeknek a betegeknek proximális tubuláris funkciójuk is károsodott, amelyet emelkedett MA (átlag: $33,0 \text{ mg/L}$) és NAGi (átlag: $1,13 \mu\text{mol/perc}/\text{mmol}$) jellemzett. A proteinúria mennyisége szignifikáns összefüggést mutatott a MA-val ($p < 0,05$). Más glomeruláris és tubuláris paraméterek és a proteinúria

menyisége között nem találtunk szignifikáns összefüggést. Az átlag 36 hónapos követési idő alatt 7 beteg esetében javult, 3 beteg esetében progrediált a proteinúria. Ezeknek a betegeknek, mint a többi tartós túlélőnek is, normál tartományba esett a vérnyomása. 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 év) 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.

3.2 Tubuláris károsodás

A proximális tubuláris funkciót a vizelet NAG_i-val és MA ürítéssel monitoroztuk. 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 (7. táblázat). A NAG % (247,4±20,8%) és MA (24,9±2,7 mg/L) szignifikánsan a szolid tumor túlélőkben emelkedett (p<0,05) az egészséges kontrollokkal összehasonlítva. Minden olyan korábbi WT betegnek, aki CARBO és IFO kezelésben részesült patológiás relatív NAG_i vagy vizelet MA értékei voltak, (178,2 ±10,5 % és 29,2±4,1 mg/L, rendre) szemben a standard és intermedier rizikójú WT betegekkel (92,7 ±8,1 % és 11,0±5,8 mg/L, rendre).

4. ACE gén I/D polimorfizmus vizsgálata

4.1. Az ACE I/D polimorfizmus megoszlása a daganatos betegekben és az egészséges kontrollokbán

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. Az allél megoszlás és a 3 ACE genotípus prevalenciája hasonló volt a kaukázusi egészséges populációhoz és megfelelt a Hardy Weinberg egyenletnek (91, 117). A WT túlélők D és I allél frekvenciája és ACE genotípus megoszlása sem különbözött a kontrolloktól és az egészséges kaukázusi populációtól (4. ábra).

4.2. Az ACE I/D polimorfizmus és a durva proteinúria proteinúria kapcsolata

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.

4.3. Proximális tubulus funkció károsodás és az ACE gén polimorfizmus kapcsolata

Vizsgáltam az ACE I/D polimorfizmus hatását a citosztatikum indukálta proximális tubulus károsodásra. A CP kezelt betegekben szignifikánsan magasabb ($p<0,005$) NAG_i érték, a DNR kezelt betegekben szignifikánsan ($p<0,05$) magasabb MA volt kimutatható az ACE gén DD genotípusú betegekben, mint az ID és II genotípusú betegekben (8. táblázat).

4.4. Az ACE I/D polimorfizmus és a lázas neutropeniás állapotban kialakuló súlyos keringés összeomlás kapcsolata

A 207 vizsgált beteg közül 199-nek volt lázas neutropeniás 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 ITO-ra kerültek súlyos keringési összeomlás miatt (9. és 10. táblázat). Valamennyi beteg lázas (a hónaljban mért hőmérséklet $>38,0$ °C) és súlyos neutropeniás (abszolút neutrofil szám $< 0,5$ G/L vagy 0,5 és 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. 23 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 (12. táblázat). 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.

Megbeszélés

1. Glomeruláris toxicitás

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 (118,119). 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 (110,120,121).

Saját vizsgálatainkkal elsőként igazoltuk, hogy a cysC pontosan tükrözi a glomeruláris funkciót daganatbeteg gyermekben (110,117). Következtetésünket az alábbi tények támasztották alá: a negatív kontrollok cysC koncentrációja a más kutatók által megállapított referencia tartományba esett (122). Szignifikáns korrelációt találtunk a cysC és az S_{cr} , valamint $1/cysC$ és $C_{Counahan}$ illetve az S_{cr} és $C_{Counahan}$ között. Mind a cysC, mint a S_{cr} szignifikánsan magasabb volt, illetve a C_{cr} és $C_{counahan}$ szignifikánsan alacsonyabb volt a krónikus vesebetegekben, mint a negatív kontrollokban. Hozzánk hasonló módon találtak összefüggést a cysC és az S_{cr} között Willems és mtsai különféle (nem daganatos) vesebetegségekben szenvedő gyermekekben. Az általuk talált, saját méréseim alapján meghatározott korrelációs koefficiensnél magasabb értéket a pontosabb kreatinin meghatározás magyarázhatja. Willems és mtsai a szérum kreatinin szintet nem Jaffe módszerével, hanem enzimatis módszerrel mérték (120).

A cysC koncentráció reciproka ($1/cysC$) és a C_{cr} között a kapcsolat nem bizonyultak szignifikánsnak. Ez a tény rámutat a vese clearance meghatározás nehézségeire gyermekekben. A C_{cr} kiszámításához pontos 24 órás vizeletgyűjtés szükséges, amely nehéz

feladat nem szobatiszta gyermekekben. A hasmenés és az együttműködés hiánya még az idősebb gyermekekben is pontatlanná teheti a vizeletgyűjtést. A cysC szérumszintjét alapvetően a GFR határozza meg, és értéke jó összefüggést mutat az "arany standard"-nak tartható $^{51}\text{Cr-EDTA}$ GFR meghatározással (123). Az inulin, ^{125}I -iodothalamate vagy $^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$ clearance-el ellentétben nincs szükség diagnosztikus, gyakran radioaktív anyagok infúziójára, ezért a cysC alkalmas a daganatos gyermekek glomeruláris funkciójának pontos monitorozására.

A kidolgozott metodikával a potenciálisan nefrotoxikus citosztatikumok akut glomerulotoxikus hatását vizsgáltam daganatos gyermekekben. Rossi és mtsai CPL, CARBO, IFO, CP, míg Thierry és mtsai nagy dózisu MTX kezelés esetén igazoltak akut glomerulotoxicitást (124,125). Vizsgálataim során a CARBO kivételével valamennyi, fent említett citosztatikus kezelés kapcsán szignifikáns emelkedést észleltem a cysC-ben. Különösen súlyos volt a glomerulus funkció károsodása abban a két MTX-szel kezelt betegben, akikben az elhúzódóan magas MTX szérumszint a harmadik folyadékterben történő felhalmozódás következménye volt. Egyetlen antraciklin antibiotikummal kapcsolatban sem észleltem akut glomeruláris toxicitást, amelyet a kardioprotektív, antioxidáns dexrazoxan (Cardioxane®, CHIRON, Amsterdam, The Netherlands) rutinszerű alkalmazásával magyarázhatunk.

2. Akut tubuláris toxicitás

2.1. Proximális tubulus károsodás

A proximális tubulusok károsodását a tubulus hámsejtekben termelődő enzimek és más tubuláris fehérjék fokozott ürítése jelzi. Egyszerű, pontos, jól reprodukálható módszer a reggeli első higiénés vizelet Horak és mtsai által leírt módszerrel történő NAG aktivitásának meghatározása (113,117). Munkacsoportunk korábbi vizsgálatai során kidolgozta a vizelet NAG aktivitásának gyerekbetegekben történő alkalmazását, értékelését a megfelelő életkorra

jellemző normál tartományok megállapításával (113). A proximális tubulus funkció monitorozására tradicionálisan használt eljárás az MA meghatározása. A módszert az utóbbi időben kevésbé tartjuk specifikus eljárásnak, ugyanis az MA nemcsak a proximális tubulus funkció károsodását, hanem a glomerulus funkció romlását is jelezheti (126).

Vizsgálataim megerősítették a platina származékok és az alkiláló ágensek jól ismert tubuláris toxicitását (127). Az eredmény arra utal, hogy a NAG exkréció monitorozása alkalmas módszer a proximális tubulus károsodás kimutatására daganatos gyermekbetegekben. Az MA a NAG_i-nál kevésbé érzékeny indikátora volt a proximális tubulus károsodásának, mivel szignifikánsan magasabb kezelés utáni MA értékeket csak CP és IFO alkalmazása kapcsán észleltünk. Ezzel szemben a NAG_i értékek az előbbieket mellett CPL, CARBO, DNR, IDA és EPI kezelést követően is szignifikánsan magasabbak voltak. MTX kezelés kapcsán 0,5-12,0 g/m² dózistartományban nem észleltünk proximális tubulus funkció-károsító hatást. Eredményeinkhez hasonló megfigyelést tett egy német munkacsoport, amely nem talált alfa-1-mikroalbumin- és NAG kiválasztás-növekedést MTX kezelést követően (128). Ellentétben ezzel a közleménnyel és saját eredményeinkkel, Deray és mtsai megnövekedett vizelet NAG ürítést észleltek MTX kezelést követően, de ez a munkacsoport – szemben a német és saját munkacsoportunk gyakorlatával - nem alkalmazott protektív módszerként leukovorin „rescue”-t (129).

Ismereteink szerint antraciklin származékok által okozott akut tubulus károsodást emberben még nem írták le. Vizsgálataink megerősítették, hogy a vizsgált antraciklin származékok közül három, a DNR, az EPI és az IDA a platina származékokhoz és alkiláló ágensekhez hasonlóan tubulotoxikus. Az antraciklin származékok közül a DNR bizonyult a legtoxikusabbnak. Meglepő módon DOX kezelést követően sem NAG sem MA ürítés emelkedést nem észleltünk, noha a DOX rágszálókban bizonyítottan tubulotoxikus (29). A jelenség feltehetőleg azzal magyarázható, hogy a legtöbb beteg, aki a kombinált citosztatikus

terápia részeként DOX kezelésben részesült, ALL-ben vagy NHL-ben szenvedett és a DOX kezelést a posztkonsolidációs fázisban kapta (93). Ezek a betegek megelőzőleg DNR és CP (SR és IR ALL és NHL betegek) és IFO (HR ALL és NHL betegek) kezelésben részesültek az indukció és az intenzifikáció során. Ez az előkezelés feltehetőleg olyan tubuláris funkció zavart eredményezett, amelyet már a DOX nem volt képes tovább befolyásolni.

A feltételezésnek megfelelően igazoltuk a proximális tubulus funkció progresszív romlását, a NAG exkréció növekedést olyan ALL-ben illetve NHL-ben szenvedő gyermekben, akik az indukciójuk során 2 (SR) -4 (IR és HR) ciklusban DNR kezelésben részesültek. Az indukcióban alkalmazott prednizolon, vinkrisztin, L-aszparagináz és DNR közül a DNR az egyetlen tubulotoxikus szer. A DNR-indukálta progresszív tubulopátia hasonló a CPL, CARBO, CP és IFO kezelés után észleltekhöz (18).

A dexrazoxánt az onkológiai gyakorlatban az antraciklin kezelés kardiotoxikus hatásának kivédésére használják. Alkalmazása az Amerikai Klinikai Onkológiai Társaság (ASCO) ajánlása szerint kizárólag klinikai tanulmány keretében indokolt (130). Korábbi kísérletes vizsgálatok igazolták, hogy az antraciklinek által okozott nefrotoxicitás patkányokban dexrazoxánnal kivédhető (131). Vizsgálataink során összehasonlítottuk a DNR kezelést követő proximális tubulus funkciót az ALL-es betegek két csoportjában. Az egyik betegcsoport nem a magyar tanulmány (a GYOS által módosított ALL-BFM 95 protokoll) keretében került ellátásra, ezért, az eredeti ALL-BFM 95 protokoll előírásai szerint, nem részesült dexrazoxan profilaxisban. A másik betegcsoportba olyan korban és nemben megfelelő betegek kerültek, akik a magyar tanulmány előírásai szerint 300 mg/m^2 dexrazoxánt kaptak 30 perccel a DNR infúziót (30 mg/m^2) megelőzően. Szignifikánsan emelkedett NAG_i -t észleltünk azokban a betegekben, akik nem kaptak dexrazoxánt szemben azokkal, akik kaptak, jelezve azt, hogy a dexrazoxan emberben is képes mérsékelni a tubuláris károsodást. Ezek alapján a megfigyelések arra is utalnak, hogy az antraciklin származékok által okozott,

általunk észlelt akut tubulopátia még kifejezettebb lehet azokban a betegekben, akik nem részesülnek dexrazoxan profilaxisban az antraciklin kezelés kapcsán. A vesefunkciós paraméterek romlását egyik betegcsoportban sem kísérték sem akut sem késői kardiotoxicitásra utaló jelek.

2.2 Disztális tubulus károsodás

A disztális tubulus funkció pontos, érzékeny jellemzése daganatbeteg gyermekben nehéz feladat. A vérgáz és szérum elektrolit mérések félrevezetőek lehetnek a disztális tubulus funkciót illetően, mivel a citosztatikus kezelés során nagy mennyiségben pótoljuk a folyadékot, a bikarbonátot és az elektrolitokat. A vizelet elektrolit-ürítés mérése a vizeletgyűjtés pontatlansága miatt sem megbízható. Ugyanilyen okok miatt nehezen standardizálható a foszfát clearance és a pontos cukorürítés meghatározása. A foszfát clearance mértékét a multifaktoriális kórereditű, daganatbeteg gyermekekben egyre inkább felismert jelentőségű fokozott csontlebontás is jelentősen befolyásolja (132). A disztális tubulus funkció pontos mérésének az eszköze az éjszakai vízmegvonás utáni reggeli első vizelet fajsúly és ozmolaritás párhuzamos mérése, illetőleg a 1-deamino-8-D-arginin-vazopresszin (DDAVP) próba. Mindezek nehezen kivitelezhetőek a citosztatikus kezelés során szükségszerűen alkalmazott 3000-4500 ml/m² napi folyadékforgalom mellett. Irodalmi adatok alapján használható, bár sok technikai nehézséggel terhelt a Tamm-Horsfall glikoprotein, valamint a vizelet ammónia meghatározás (133,134). Vizsgálataim során a szérum és a vizelet ozmolaritás párhuzamos mérésével monitoroztam a disztális tubulus funkciót. Ennek a módszernek az alkalmazásával súlyos disztális tubulus funkció-romlást nem észleltünk.

3. Tartós túlélő betegek nefrotoxicitása

3.1. Glomeruláris károsodás

Vizsgálataim során tanulmányoztam a tartós remisszióban levő, daganatos betegségükből gyógyult gyermekek késői vesekárosodását. A betegek széles spektrumát

vizsgáltam, mind a diagnózis, mind a túlélési idő tekintetében. Hasonló stratégiájú tanulmány adatait eddig kevés munkacsoport közölte (135-138). A tanulmány stratégiájából adódóan ugyanakkor vizsgálataim kevésbé voltak alkalmasak az individuális citosztatikumok, illetve citosztatikum kombinációk hatásának az elemzésére, mivel a gyermekeket különféle citosztatikus kombinációkkal kezeltük és az azonos betegségre alkalmazott kezelési protokollok is számottevően változtak az évek során. Az egyes, potenciálisan nefrotoxikus citosztatikum csoportok elemzésére úgy nyílt lehetőség, hogy a leukémia/limfoma, WT és egyéb szolid tumor túlélőket külön elemeztük, mert a vesefunkciót alapvetően befolyásoló hatások, mint a heminefrektómia, az alkalmazott citosztatikumok spektruma jellegzetesen különböztek a három betegcsoportban, de a betegcsoportokon belül hasonlóak voltak.

Mind glomeruláris, mind tubuláris funkció károsodást ritkábban és kevésbé súlyos formában észleltünk a betegekben, mint a többi vizsgáló. Tanulmányomban az átlagos utánkövetési idő hosszabb volt, mint a közölt vizsgálatokban, ami lehetőséget teremtett a vesefunkció regenerálására (138-141). Több megfigyelés szerint a CPL és az IFO okozta vesekárosodás utáni vesefunkció javuláshoz akár 7 év is szükséges lehet (140-141).

A WT túlélők esetén a cysC koncentráció a kontroll csoporthoz képest szignifikánsan, átlag 22%-al emelkedett. Dialízist igénylő krónikus veseelégtelenség csak egy WT-aniridiás betegben alakult ki. A WT túlélők magas cysC értéke a heminefrektomiával hozható összefüggésbe. Ugyanakkor a HR WT túlélők esetében észlelhető, kiemelkedően magas cysC érték az ezen betegek kezelésében alkalmazott IFO és CARBO járulékos kóroki szerepét támasztja alá. A leukémia/limfoma és más szolid tumoros betegségből gyógyult gyermekek esetében a cysC érték nem különbözött az egészséges kontrollcsoportétól, ami a glomerulus funkció jelentős regenerációjára utal.

Súlyos perzisztáló proteinúria, mint a glomeruláris károsodás másik indikátora, 10/115 betegben alakult ki, 4 leukémia/limfoma, 2 szolid tumor és 4 WT túlélőben. A glomeruláris

proteinúria spontán javult 24 hónapon belül 7 betegben, ACE gátló kezelés hatására 3 betegben.

3.2. Tubuláris károsodás

A csökkent proximális tubuláris funkciót a lizoszómális enzim, a NAG_i megnövekedett exkréciója jelezte a leukémia/limfomás betegek 38%-ában, a szolid tumoros betegek 54%-ában és a WT túlélők 20%-ában. Fink és mtsai drámaian magas enzimuriát észleltek egy hónappal a csontvelő traszplantációt (CSVT) követően. Az általam vizsgált betegek között 3 autológ CSVT túlélő fordult elő. Közülük 2 betegnek magas korszpecifikus NAG_i (0,37 és 0,95 $\mu\text{mol}/\text{perc}/\text{mmol}$) és magas cysC (1,83 és 1,09 mg/L) értéke volt. Két beteg szenvedett hepatorenális szindrómában (HRS), amely Fink és mtsai megfigyeléséhez hasonlóan magas enzimuriával járt (137). Az utóbbi évek vizsgálatai szerint az endotel sérülés, ami HRS-ben is megfigyelhető, felelős lehet a szérum NAG_i aktivitás megemelkedésért, főként csökkent glomeruláris funkció esetén (142).

Más vizsgálatokhoz hasonlóan, eredményeink szerint a platina származékok, a CP, IFO és HD MTX illetve ezen szerek kombinációi vezetnek késői tubuluskárosodáshoz daganatos gyermekekben (13, 17, 143). Patológias NAG_i és MA ürítést találtunk a HR WT túlélőkben, akik, szemben a normális NAG_i és MA értéket mutató standard és intermedier rizikójú WT-os gyermekkel, IFO és CARBO kezelésben részesültek. A proximális tubulus funkció-károsodás a HR WT túlélők mellett a (más) szolid tumoros betegekben volt a leggyakoribb és legsúlyosabb. A szolid tumoros betegek többsége részesült IFO, CP, platina származék vagy HD MTX kezelésben, önállóan vagy kombinációban. A leukémia/limfomás betegek nem részesültek platina kezelésben és a CP-t kisebb kumulatív dózisban kapták, mint a szolid tumoros betegek többsége. Csak a HR és a Burkitt leukémia/limfoma betegek kaptak IFO-t. A legnagyobb kumulatív dózisban az oszteoszarkoma túlélők részesültek MTX kezelésben.

3.3. A daganatos gyermekek nefrotoxicitásának monitorozására alkalmas protokoll

Saját eredményeim és az irodalmi adatok figyelembevételével a korai és késői nefrotoxicitás monitorozására a következő diagnosztikus panell ajánlható könnyű kivitelezhetősége, elvárható specificitása és szenzitivitása alapján. A glomeruláris funkciót megbízhatóan jellemzi a szérum cysC és kreatinin koncentrációja. A proximális tubulus funkció monitorozására a vizelet NAG_i és MA ürítés, míg súlyos disztális tubulus károsodás kimutatására a szérum és vizelet ozmolaritás párhuzamos mérése alkalmas. Durva proteinúria esetén 24 órás gyűjtött vizeletből összfehérje, albumin IgG, illetve a β_2 mikroglobulin meghatározást, valamint elektroforézis vizsgálatot végzünk (13. táblázat).

4.1 ACE I/D polimorfizmus és a vesekárosodás kapcsolata

Számos adat utal arra, hogy az ACE aktivitás patogenetikai szerepet tölthet be a proteinúria által előidézett vesekárosodás létrejöttében (73). Vizsgálatainkkal nem tudtuk bizonyítani az ACE polimorfizmus és a citosztatikus kezelés indukálta késői glomeruláris proteinúria közötti kapcsolatot, a proteinúriás betegek ACE gén D allél prevalenciája, feltehetőleg a kis esetszám miatt, nem különbözött szignifikánsan a kontroll csoporttól.

Vizsgálataink során a citosztatikum indukálta proximális tubulus károsodás és az ACE I/D polimorfizmus közötti kapcsolatot is elemeztük. Eredményeim szerint a CP kezelt betegekben szignifikánsan ($p < 0,005$) magasabb volt a NAG_i, a DNR kezeltékben szignifikánsan ($p < 0,05$) magasabb volt az MA a DD genotípusú betegekben, mint az ID és II genotípusú betegekben. A CP és DNR proximális tubulus károsító hatása - részben vizsgálataim alapján - ismert, azonban ezen citosztatikumok tubulotoxikus hatása és genetikai hajlamosító tényezők közötti kapcsolatra utaló megfigyeléssel idáig nem talákoztunk az irodalomban.

4.2. ACE gén I/D polimorfizmus vizsgálata súlyos keringés összeomlás miatt kezelt lázas neutropéniás betegekben

Vizsgálataimmal elsőként igazoltuk a D allél és a DD genotípus megnövekedett prevalenciáját a súlyos keringés összeomlásban szenvedő lázas, neutropéniás daganatos gyermekben. Bár az ITO-n való elhelyezés mechanikus kategóriának tűnhet a keringési elégtelenség fokának megítélésében, a mindennapi klinikai gyakorlatban jól jelzi a folyamat súlyosságát.

Az eredményeimet befolyásolhatta, hogy a vizsgálataim retrospektív fázisában az 1986 és 1999 között elhaltakat nem genotípezáltam, ezért lehetséges, hogy az intenzív kezelést igénylő D allélel illetve DD genotípusal rendelkező betegek számát alábecsültem. Szembetűnőbb lehetne a D allélnek a letalitásra kifejtett hatása, ha nemcsak a túlélőket vizsgáltam volna.

Az eredményeket nem magyarázhatjuk azzal, hogy a DD genotípusú betegeknek nagyobb genetikai hajlama volt a daganat vagy a lázas neutropénia kialakulására: i) A daganatos gyermekek I/D allél megoszlása nem különbözött szignifikánsan a kontrolloktól. ii) Majdnem minden (199/207) betegnek volt lázas neutropéniás epizódja. iii) Az enyhe és közepes súlyos keringési elégtelenségben szenvedő betegek, akik nem igényeltek intenzív ellátást, I/D allél megoszlása nem különbözött szignifikánsan az összes daganatos betegétől és a kontrolloktól és a kaukázusi egészséges populációtól (117). iv) A betegek korban és kezelési intenzitásában hasonlóak voltak a különböző ACE genotípusok esetén. v) A különféle diagnosztikai alcsoportok ACE genotípus megoszlása nem különbözött szignifikánsan egymástól (28).

Az igazolt összefüggés paradoxnak tűnik, hiszen korábbi in-vitro és in-vivo megfigyelések szerint (72,88,89) fokozott AT2-indukálta vazokonstriktor és csökkent bradikinin-indukálta vazodilatátor válasz várható inkább, mint hipotenzió. A D allél hatását

azonban nem szűkíthetjük a keringő AT2 és bradikinin szintek által mediált vazokonstriktóra. Szeptikus sokkban, D allél jelenlétében nemcsak a szisztémás, hanem a lokális ACE aktivitás is fokozódik a miokardiumban (89,144), az érfalban (91,92), a tüdőben (91,92,144), a vesében (92,145), a mellékvese velőállományában (145) és a fehérvérsejtekben (73,146). A megnövekedett ACE expresszió következtében a proinflammatorikus citokinek (90) és a nitrogén oxid (NO) termelése fokozódik (88), amelyek „downregulálják” az AT2 1 és 2 típusú receptorait (145), miközben a nagymennyiségű AT2 megnöveli a vaszkuláris permeabilitást (147), az adrenomedullin termelést (90) és megzavarja a szarkoplazmatikus retikulumban zajló Ca^{++} transzportot (148). Mindezek a tényezők vezethetnek a szepszis esetén kialakuló keringés összeomláshoz. Hasonló mechanizmust feltételeznek a gyermekkori meningococcus szepszis súlyossága és az ACE gén D alléljének jelenléte között (93). Megfigyeléseink arra utalnak, hogy az ACE D allél jelenléte a lázas neutropéniás daganatos betegeket a keringés összeomlás kialakulására hajlamosítja. Ez a betegcsoport intenzív kardiovaszkuláris monitorozást igényel, hogy a kemoterápiás kezelés következtében létrejövő infekciók keringési komplikációinak a morbiditását és letalitását csökkentsük. További prospektív multicentrikus vizsgálatok szükségesek, hogy a lehetséges hajlamosító tényezők, mint a diagnózis, kezelési intenzitás, életkor, nem, és rassz patomechanizmusban betöltött szerepét tisztázzuk. Az agresszívebb kardiovaszkuláris kezelés hatását, így az ACE gátló kezelés gyermekeken való kiterjedtebb alkalmazását, a későbbiekben próbáljuk elemezni.

6. Összefoglalás

Értekezésemben a citosztatikumok által okozott akut és késői glomeruláris és tubuláris károsodást tekintetem át. A 1381 szérum és a vizelet minta 207 leukémiás és szolid tumoros betegtől származott (92 daganatellenes kezelés alatt álló és 115 tartós túlélő), akik a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Központ Gyermekklinika Hemato-Onkológiai Osztályán 1999. október 1. és 2003. december 31. között álltak kezelés alatt a Magyar Gyermekonkológiai Hálózat protokolljai szerint, illetve akiket járóbetegként ellenőriztünk. A glomeruláris funkció ellenőrzése a szérum kreatinin és cystatin C meghatározással, a proximális tubulus funkció vizsgálata az N-acetyl- β -D-glucosaminidáz (NAG) ürítés és mikroalbuminuria mérésével történt. Meghatároztam a betegek angiotenzin konvertáló enzim (ACE) inszerciós (I)/deléciós (D) polimorfizmusát a polimorfizmus és a citosztatikum-indukálta nefropátia lehetséges kapcsolata miatt. Akut glomeruláris károsodást ciszplatin (CPL), metotrexát (MTX), ciklofoszfamid (CP) és ifoszfamid (IFO) kezelések idéztek elő. Késői glomeruláris károsodás csak az egy vesével rendelkező Wilms tumoros betegekben volt kimutatható, különös tekintettel azokra, akik karboplatin (CARBO) és IFO kezelésben is részesültek. A proximális tubulusok akut károsodása CPL, CARBO, CP, IFO, daunorubicin (DNR), idarubicin (IDA) és epirubicin (EPI) kezelés esetén volt megállapítható. Emelkedett NAG exkréciót a leukémia-limfoma, a szolid tumor és WT túlélők 38, 54 és 20 %-ában találtam, rendre. A CP kezelést követően szignifikánsan magasabb volt ($p < 0,05$) a NAG exkréció, míg a DNR kezelést követően szignifikánsan ($p < 0,05$) magasabb volt az MA mértéke az ACE DD genotípusú betegekben, mint az ID és II genotípusúakban. A súlyos keringés összeomlás miatt az intenzív osztályon kezelt lázas neutropéniás betegek D allél frekvenciája és a DD genotípus prevalenciája szignifikánsan magasabb volt, mint a keringési összeomlás miatt kezelésre nem szoruló lázas neutropéniás tumoros betegekben és a kontrollokban.

Summary

Acute and late glomerulo- and tubulotoxic effects of cytostatic drugs in children with cancer were investigated. Renal function was evaluated in 1381 serum and urine samples obtained from 207 children with cancer (92 on current chemotherapy, 115 long term survivors), who were treated according to standard protocols applied by the Hungarian Pediatric Oncology Group (HPOG) at the Hematology/Oncology Ward and Outpatient Clinic of the Department of Pediatrics, Medical and Health Science Center of the University of Debrecen (MHSCUD) between October 1, 1999 and December 31, 2003. Glomerular function was assessed by serum cystatin C (cysC) and creatinine concentrations, proximal tubular function by urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity (NAG) and microalbuminuria (MA). Insertion (I)/deletion (D) type polymorphism of the angiotensin convertase enzyme (ACE) gene was determined to investigate the influence of ACE polymorphism on cytostatic therapy-induced nephropathy. Acute glomerular injury was observed after cisplatin (CPL) methotrexate (MTX), cyclophosphamide (CP) and ifosfamide (IFO) treatment. Late injury was present only in Wilms tumor patients, mostly having received carboplatin (CARBO) and IFO. Acute proximal tubular damage occurred after CPL, CARBO, CP, IFO, daunorubicine (DNR), epirubicine and idarubicine treatment. Pathologically elevated urinary NAG was noted in 38% of leukemia/lymphoma, 54% of solid tumor and 20% of WT survivors. In CP treated patients, a significantly higher ($p < 0.005$) NAG excretion whereas in DNR treated patients a significantly ($p < 0.05$) higher MA was observed in association with the DD genotype of ACE polymorphism as compared with the ID and II genotypes. The frequency of the D allele and the prevalence of the DD genotype were significantly higher among febrile neutropenic patients with severe circulatory compromise requiring treatment in the intensive care unit than among the other patients and controls.

7. Irodalomjegyzék

7. 1. Az előző fejezetekben hivatkozott közlemények jegyzéke

1. D'Angio JG: Perspectives in pediatric oncology. *Gyermekgyógyászat* 1998;49:314-318
2. Bleyer WA: The impact of childhood cancer on the United States and the world. *CA Cancer J Clin* 1990;40:355-367
3. Török S, Borgulya G, Schuler D: A gyermekkori rosszindulatú daganatok gyakoriságának és túlélési mutatóinak változásai 1988-1997 között az országos gyermektumor regiszter adatai alapján. *Orvosi Hetil* 2001;142:1211-1215
4. Donckerwolcke RM, Coppes MJ: Adaptation of renal function after unilateral nephrectomy in children with renal tumors. *Pediatr Nephrol* 2001;16:568-574
5. van Holte JK, Ho P, Harmon W, et al.: Outcome of children after renal transplantation for Wilms' tumor and Drash syndrome: a report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:538
6. Cherubini C, Barbera G, Giulio SD, et al.: Lymphomas and IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:1722-1723
7. Kuzmanovska D, Sahpazova E, Kocova M, et al.: Pheocromocytoma associated with reversible renal artery stenosis. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:2092-2094
8. Haas M, Öhler L, Watzke H, et al.: The spectrum of acute renal failure in tumor lysis syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:776-779
9. Kun LE, Moulder JE. General principles of radiation therapy. In: Pizzo PA, Poplack DG (eds): *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. Lippincott Co., Philadelphia, 1993. pp. 273-302
10. Erdlenbruck B, Pekrun A, Roth C, et al. :Cisplatin nephrotoxicity in children after continuous 72-h and 3X1-h infusions. *Pediatr Nephrol* 2001;16:586-593

11. Caceres W, Baez L, Aponte I, et al.: Current role of chemotherapy protectors in cancer treatment *Bol Asoc Med PR* 1997;89:184-218
12. Lam M, Adelstein DJ: Hypomagnesinaemia and renal magnesium wasting in patients treated with cisplatin. *Am J Kidney Dis* 1986;8:164-169
13. Rossi R, Danzebrink S, Hillebrand D, et al.: Ifosfamide-induced subclinical nephrotoxicity and its potentiation by cisplatin. *Med Pediatr Oncol* 1994;22:27-32
14. Safirstein R, Winston J, Goldstein M: Cisplatin nephrotoxicity. *Am J Kidney Dis* 1986;8:356-367
15. Hannermann J, Bawnann K: Nephrotoxicity of cisplatin, carboplatin and transplatin. *Arch Toxicol* 1990;64:393-400
16. Abelson HT, Fosburg MT, Beardsley GP, et al.: Methotrexate-induced renal impairment: clinical studies and rescue from systemic toxicity with high dose leucovorin and thymidine. *J Clin Oncol* 1983;1:208-216
17. Koch Nogueira PC, Hadj-Aissa A, Schell M, et al.: Long-term nephrotoxicity of cisplatin, ifosfamide, and methotrexate in osteosarcoma. *Pediatr Nephrol* 1998;12:572-575
18. Rossi R: Nephrotoxicity of cytostatic therapy. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:1902-1906
19. Li J, Gwilt P: The effect of malignant effusions on methotrexate disposition. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002;50:373-382
20. Bárdi E, Szegedi I, Kiss C: Harmadik folyadékter szerepe a methotrexát toxicitás kialakulásában, esetbemutatók kapcsán. *Gyermekgyógyászat (nyomtatás alatt)*
21. Toffoli, G, Veronesi A, Boiocchi M, et al.: MTHFR gene polymorphism and severe toxicity during adjuvant treatment of early breast cancer with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil (CMF). *Ann Oncol* 2000;11:373-374

22. Stark AN, Jackson G, Carey PJ, et al.: Severe renal toxicity due to intermediate-dose methotrexate. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989;24:243-245
23. Prasad VK, Lewis IJ, Aparicio SR, et al.: Progressive glomerular toxicity of ifosfamid in children. *Med Ped Oncol* 1996;27:149-155
24. Pratt CB, Meyer WH, Jenkins JJ, et al.: Ifosfamide, Fanconi's syndrome and rickets. *J Clin Oncol* 1991;9:1495-1499
25. Heney D, Wheeldon J, Rushworth P: Progressive renal toxicity due to ifosfamide. *Arch Dis Child* 1991;66:966-970
26. Connors TA, Cox PJ, Farmer P B, et al.: Some studies of the active intermediates formed in the microsomal metabolism of cyclophosphamide and isophosphamide. *Biochem Pharmacol* 1973;23:115-129
27. Rossi R, Kleta R, Ehrich JHH: Renal involvement in children with malignancies. *Pediatr Nephrol* 1999;13:153-162
28. Mimnaugh EG, Trush MA, Gram TE: A possible role for membrane lipid peroxidation in anthracycline nephrotoxicity. *Biochem Pharmacol* 1986;35:4327-4335
29. Jiang XY: A model of daunorubicin induced nephrotic syndrome in the rat. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih* 1989;69:288-290
30. Morel D, Guez S, Merville P, et al.: Recurrent renal failure associated with hypersensitivity to allopurinol. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:780-781
31. Hopp L, Bernandi J, Reeves G: Amphotericin B-induced partial nephrogenic diabetes insipidus in a child. *Pediatr Nephrol* 2001;16:594-597
32. Murphy JL: Renal tubular acidosis in children treated with trimethoprim-sulfamethoxazole during therapy for acute lymphoid leukemia. *Pediatrics* 1992;89:1072-1074

33. Tune BM: Nephrotoxicity of beta-laktam antibiotics: mechanisms and strategies for prevention. *Pediatr Nephrol* 1997;11:768-772
34. Vigier ROV, Truttmann AC, Schmocker KZ: Aminoglycosides and renal tubular magnesium homeostasis in humans. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:822-826
35. Korzets Z, Elis A, Bernheim J: Acute granulomatous interstitial nephritis due to nitrofurantoin. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:713-715
36. Frimat L, Hestin D, Hanesse B, et al.: Acute renal failure due to vancomycin alone. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:550-551
37. Jongejan HTM, Provoost AP, Molenaar JC: Potentiated nephrotoxicity of cisplatin when combined with amikacin comparing young and adult rats. *Pediatr Nephrol* 1989;3:290-295
38. Odum J, Costa DC, Freth M, et al.: Cryoglobulinaemic vasculitis caused by intravenous immunoglobulin treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:403-406
39. Jones DP, Mahmoud H, Chesney R: Tumor lysis syndrome: pathogenesis and management. *Pediatr Nephrol* 1995;9:206-212
40. Lange B, Angio GD, Ross AJ, et al.: Oncologic emergencies. In: Pizzo PA, Poplack DG (eds): *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. Lippincott Co., Philadelphia, 1993. pp. 951-972
41. Pui CH, Mahmaud HH, Wiley JM, et al.: Recombinant urate oxidase for the prophylaxis or treatment of hyperuricemia in patients with leukemia or lymphoma. *J Clin Oncol* 2001;19:697-704
42. Ozols RF, Corden BJ, Jakob J, et al.: High dose cisplatin in hypertonic saline. *Ann Intern Med* 1984;100:19-24

43. Bianchetti MG, Kanaka C, Lüthy AR, et al.: Chronic renal magnesium loss, hypocalcuria and mild hypokalaemic metabolic alkalosis after cisplatin. *Pediatr Nephrol* 1990;4:219-222
44. Fervenza FC, Rabkin R: The role of growth factors and ammonia in the genesis of hypokalemic nephropathy. *J Ren Nutr* 2002;12:151-159
45. McCullough PA, Sandberg KR: Chronic kidney disease and sudden death: strategies for prevention. *Blood Purif* 2004;22:136-142
46. Struthers AD, MacDonald TM: Review of aldosterone- and angiotensin II- induced target organ damage and prevention. *Cardiovasc Res* 2004;61:663-670
47. Thierry FX, Vernier I, Dueymes JM, et al.: Acute renal failure after high-dose methotrexate therapy. Role of hemodialysis and plasma exchange in methotrexate removal. *Nephron* 1989;51:416-417
48. Mashiach E, Sela S, Weinstein T, Cohen HI, Shasha SM, Kristal B: Mesna: a novel renoprotective antioxidant in ischaemic acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:542-551
49. Alberta DS: Protection by amifostine of cyclophosphamide-induced myelosuppression. *Semin-Oncol* 1999;26:37-40
50. Borsi JD, Csaki C, Ferencz T, et al.: Administration of Ethiol (Amifostine) to child with medulloblastoma to ameliorate haematological toxicity of high dose carboplatin. *Anticancer-Drugs* 1996;7:121-126
51. Budd GT, Ganapathi R, Wood L, et al.: Approaches to managing carboplatin-induced thrombocytopenia: focus on the role of amifostine. *Semin Oncol* 1999;26:41-50
52. Capizzi RL: Amifostine reduces the incidence of cumulative nephrotoxicity from cisplatin: laboratory and clinical aspects. *Semin Oncol* 1999;26:72-81

53. Budd GT, Ganapathi R, Bukowski RM, et al.: Clinical effects of amifostine (Ethyol) in patients treated with carboplatin. *Eur J Cancer* 1996;32:43-45
54. Hasinoff BB, Hellmann K, Herman EH, et al.: Chemical, biological and clinical aspects of dexrazoxane and other bisdiopiperazines. *Current Medicinal Chemistry* 1998;5:1-28
55. Zima T, Tesar V, Crhovska J, et al.: ICRF-187 (dexrazoxane) protects from adriamycin induced nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:1975-1979
56. Gaedeke J, Fels LM, Bokemeyer C, et al.: Cisplatin nephrotoxicity and protection by silibirin. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:55-62
57. Gregg ALM, Darin JD, Bianchi MD: Protective effects of vitamin c against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose-dependent study. *Pharmacol Res* 2000;41:405-411
58. Jeong JC, Hwang WM, Yoon CH, et al.: *Salviae radix* extract prevents cisplatin-induced acute renal failure in rabbits. *Nephron* 2001;88:241-246
59. Milner LS, Wei SH, Houser MT: Amelioration of glomerular injury in doxorubicin hydrochloride nephrosis by dimethylthiourea. *J Lab Clin Med* 1991;118:427-434
60. Usta Y, Ismailoglu UB, Bakaloglu A, et al.: Effects of pentoxifilline in adriamycin-induced renal disease in rats. *Ped Nephrol* 2004;19:840-843
61. Nakamoto Y, Motohashi S, Kasahara H, et al.: Irreversible tubulointerstitial nephropathy associated with prolonged, massive intake of vitamin C. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:754-756
62. Heymann SN, Rosen S, Silva P, et al.: Protective action of glycine in cisplatin nephrotoxicity. *Kidney Int* 1991;40:273-279

63. Winiarska K, Drozak J, Wegrzynowicz M, et al.: Relationship between glyconeogenesis and glutathione redox state in rabbit kidney-cortex tubules. *Metabolism* 2003;52:739-746
64. Fink MP: Ethyl piruvate: a novel treatment for sepsis and shock. *Minerva Anesthesiol* 2004;70:365-71
65. Gonzalo A, Telleria D, San Millan JLet al.: Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and antiproteinuric response to renoprotective therapy. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:1050-1051
66. Irwin KC, Brouhard BH, Satoh S, et al.: Effects of enalapril on adriamycin-induced nephrosis. *Pediatr Nephrol* 1992;6:448-450
67. Montagh PB, Heriksson R, Grankvist K. Metoclopramide inhibits cytotoxicity of cisplatin and enhances the cytotoxicity of epirubicin. *Pharmacol Toxicol* 1995;76:146-148
68. Chan MK, Chan KW: Amelioration of gentamycin nephrotoxicity by phospholipids. *Nephrol Dial Transplant* 1991;6:608-614
69. Murakami H, Yayama K, Chao J, et al.: Atrial natriuretic peptide gene delivery attenuates gentamycin-induced nephrotoxicity in rats. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:1376-1384
70. Bagnis C, Beaufils H, Jacquiaud C: Erythropoetin enhances recovery after cisplatin-induced acute renal failure in the rat. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:932-938
71. Csaki C, Ferencz T, Schuller D, et al.: Recombinant human erythropoietin in the prevention of chemotherapy-induced anaemia in children with malignant solid tumors. *Eur J Cancer* 1998;34:364-367

72. Murphey LJ, Gainer JV, Vaughan DE, et al.: Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism modulates the human in vivo metabolism of bradykinin. *Circulation* 2000;102:829-832
73. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, et al.: An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343-1346
74. Tigerstedt R, Bergman PG: Nere-Und Kreisluf. *Scandinavisches Archiv fur Phisologie* 1898;8:223-271
75. Marian AJ, Yu Q, Workman R, et al.: Angiotensin converting enzyme polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Lancet* 1993;342:1085-1086
76. Tiret L, Kee F, Poirier O, et al.: Deletion polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene associated with parental history of myocardial infarction. *Lancet* 1993;341:991-992
77. Keaveney B, McKenzie C, Parish S, et al.: Large-scale test of hypothesised associations between the angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5,000 cases and 6,000 controls. International studies of Infarct Survival (ISIS) collaborators. *Lancet* 2000;355:434-442
78. Oktem F, Sirin A, Bolge I, et al.: ACE I/D gene polymorphism in primary FSGS and in steroid-sensitive nephritic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004;4:384-389
79. Jacobsen P, Tarnow L, Carstensen B, et al.: Genetic variation in the Renin-Angiotensin system and progression of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:2843-2850
80. Santos NM, Ault BH, Gharavi AG, et al.: Angiotensin converting enzyme genotype and outcome in pediatric IgA nephropathy. *Pediatr Nephrol* 2002;17:496-502

81. Marre M, Bernadet P, Gallois Y, et al.: Relationships between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic retinal and renal complications. *Diabetes* 1994;43:884-388
82. Ohtomo Y, Nagaoka R, Kaneko K, et al.: Angiotensin converting enzyme gene polymorphism in primary vesicoureteral reflux. *Pediatr Nephrol* 16: 648-652, 2001-2004
83. Navis G, de Jong PE, de Zeeuw D.: I/D polymorphism of the angiotensin convering enzyme gene: a clue to the heterogeneity in the progression of renal disease and in the renal response to therapy? *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:1097-1100
84. Yoshioka T, Xu XY, Yoshida H, et al. Deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene predicts persistent proteinuria in Henock – Schonlein nephritis. *Arch Dis Child* 1998;79:394-399
85. Huang XH, Rantalaiho V, Wirta O, et al. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and diabetic albuminuria in patients with NIDDM followed up for 9 years. *Nephron* 1998;80:17-24
86. Frandin S, Goulet-Salmon B, Reznik Y, et al.: Relationship between polymorphism in the renin-angiotensin system and nephropathy in type 2 diabetes patients. *Diabetes Metab* 2002;28:27-32
87. Hadjadj S, Gallois Y, Alhenc-Gelas F, et al.: Angiotensin-I-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and high urinary albumin concentration in French type 2 diabetes patients. *Diabet Med* 2003;20:677-682
88. Prasad A, Narayanan S, Waclawiw MA, et al.: The insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene determines coronary vascular tone and nitric oxide activity. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1579-1586

89. van Dijk MA, Kroon I, Kamper AM, et al.: The angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and responses to angiotensins and bradykinin in the human forearm. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;35:484-490
90. Eto T, Kato J, Kitamura K: Regulation of production and secretion of adrenomedullin in the cardiovascular system *Regul Pept* 2003;112:61-69
91. Marshall RP, Webb S, Bellingan GJ, et al.: Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is associated with susceptibility and outcome in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:646-650
92. Harding D, Baines PB, Brull D, et al.: Severity of meningococcal disease in children and the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:1103-1106
93. Schrappe M, Reiter A, Zimmermann M, et al.: Long-term results of four consecutive trials in childhood ALL performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 1995, Berlin-Frankfurt-Munster. *Leukemia* 2000;14:2205-2222
94. Creutzig U, Ritter J, Zimmermann M, et al.: Improved treatment results in high-risk pediatric acute myeloid leukemia patients after intensification with high-dose cytarabine and mitoxanthrone: results of Study Acute Myeloid Leukemia-Berlin-Frankfurt-Munster 93. *J Clin Oncol* 2001;19: 2705-2713
95. Reiter A, Schrappe M, Parwaresch R, et al. (1995) Non-Hodgkin's lymphomas of childhood and adolescence: results of a treatment stratified for biologic subtypes and stage—a report of the Berlin-Frankfurt-Munster Group. *Clin Oncol* 1995;113:359-372
96. Schellong G, Potter R, Bramswig J, et al.: High cure rates and reduced long-term toxicity in pediatric Hodgkin's disease: the German-Austrian multicenter trial DAL-HD-90. The German-Austrian Pediatric Hodgkin's Disease Study Group. *J Clin Oncol* 1999;17:3736-3744

97. Schuler D, Somló P, Koos R, et al.: The treatment of malignant scala posterior tumors in children: II. Preliminary result of the pre- and postoperative adjuvant chemotherapy of scala posterior tumors. *Med Pediatr Oncol* 1993;21:274-279
98. Tweddle DA, Pinkerton CR, Lewis IJ, et al.: OPEC/OJEC for stage 4 neuroblastoma in children over 1 year of age. *Med Pediatr Oncol* 2001;36:239-242
99. Marx M, Langer T, Graf N, et al.: Multicentre analysis of anthracycline-induced cardiotoxicity in children following treatment according to the nephroblastoma studies SIOP No. 9/ GPOH and SIOP 93-01/ GPOH. *Med Pediatr Oncol* 2002;39:18-24
100. Koscielniak E, Jurgens H, Winkler K, et al.: Treatment of soft tissue sarcoma in childhood and adolescence. A report of the German Cooperative Soft Tissue Sarcoma Study. *Cancer* 1992;70:2557-2567
101. Oberlin O, Habrand JL: Ewing's sarcoma: towards a common protocol for adults and children. *Cancer Radiother* 2000;4:141s-144s
102. Ozaki T, Flege S, Kevric M, et al.: Osteosarcoma of the pelvis: experience of the Cooperative Osteosarcoma Study Group. *J Clin Oncol* 2003;21:334-341
103. Schouten-van Meeteren AYN, Mole AC, Imhof SM, et al.: Chemotherapy for retinoblastoma: an expanding area of clinical research. *Med Pediatr Oncol* 2002;38:428-438
104. Calaminus G, Schneider DT, Bokkerink JP, et al.: Prognostic value of tumor size, metastases, extension into bone, and increased tumor marker in children with malignant sacrococcygeal germ cell tumors: a prospective evaluation of 71 patients treated in the German Cooperative protocols Maligne Keimzelltumoren (MAKEI) 83/86 and MAKEI 89. *J Clin Oncol* 2003;21:781-786

105. Ninane J, Perilongo G, Stalens JP, et al. Effectiveness and toxicity of cisplatin and doxorubicin (PLADO) in childhood hepatoblastoma and hepatocellular carcinoma: a SIOP pilot study. *Med Pediatr Oncol* 1991;19:199-203
106. Minkov M, Grois N, Heitger A, et al.: Treatment of multisystem Langerhans cell histiocytosis. Results of the DAL-HX 83 and DAL-HX 90 studies. DAL-HX Study Group. *Klin Padiatr* 2001;212:139-144
107. Bernstein D. The cardiovascular system. In: Behrman, RE, Kliegman, RM, Jenson, HB, eds. *Nelson Textbook of Pediatrics*. W B Saunders Co., Philadelphia, 2000: 1337-1450.
108. Braun J, Behre HM. Intensivtherapie. In: Schaffler, A, Braun, J, Renz, U, *Klinikleitfaden; Untersuchung, Diagnostik, Therapie, Notfall*. Springer-Verlag, Heidelberg, 1992:63-87
109. Counahan R, Chantler C, Ghazali S, Kirkwood B, Rose F, Barrat TM. Estimation of glomerular filtration rate from plasma creatinine concentration in children. *Arch Dis Child* 1976;51:875-878
110. Bárdi E, Bobok I, Oláh VA, et al.: Cystatin C is a suitable marker of glomerular function in children with cancer *Pediatr Nephrol* 2004;10:1145-47
111. Kyhse-Andersen J, Schmidt C, Nordin G.: Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinin for glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1994;40:1921-1926
112. Bazzi C., Petrini C., Rizza V. Urinary N-acetyl- β -glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:1890-1896

113. Oláh VA, Csathy L, Varga J, et al.: Reference ranges for urinary NAG indices in healthy children determined with three colorimetric methods. *Ann Clin Biochem* 1994;31:87-88
114. Teppo AM.: Immunoturbidimetry of albumin and globulin in urine. *Clin Chem* 1982;28:1359-1361
115. Boom R, Sol C, Beld M, et al.: Improved silica-guanidiniumthiocyanate DNA isolation procedure based on selective binding of bovine alpha-casein to silica particles. *J Clin Microbiol* 37:615-619,1999
116. Tiret L, Rigat B, Visvikis S, et al. Evidence from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet* 1992;51:197-205
117. Bárdi E, Oláh VA, Bartyik K, et al.: Late effects on renal glomerular and tubular function in childhood cancer survivors. *Pediatr Blood Cancer* 2004;43:668-673
118. Risch L, Herklotz R, Blumberg A, et al.: Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin c concentrations in renal transplant patients. *Clin Chem* 2001;47:2055-2059
119. Fricker M, Wiesli P, Brandle M, et al.: Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin c. *Kidney Int* 2003;63:1944-1947
120. Willems HL, Hilbrands LB, Calseyde JFVD, et al.: Is serum cystatin C the marker of choice to predict glomerular filtration rate in pediatric patients? *Ann Clin Biochem* 2003;40:60-64
121. Bokenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, et al.: Cystatin C-A new marker of glomerular filtration rate in children independent age and height. *Pediatrics* 1998;101:875-888
122. Newmann DJ: Cystatin C. *Ann Clin Biochem* 2002;39:89-104

123. Tenstad O, Roald AB, Grubb A, et al.: Renal handling of radiolabelled human cystatin C in the rat. *Scand J Clin Lab Investig* 1996;56:409-414
124. Rossi R, Kleta R, Ehrich JHH: Renal involvement in children with malignancies. *Pediatr Nephrol* 1999;13:153-162
125. Thierry FX, Vernier I, Dueymes JM, et al.: Acute renal failure after high dose methotrexate therapy. *Nephron* 1989;51: 416-417
126. Hoy W, McDonald SP: Albuminuria: marker or target in indigenous populations. *Kidney Int* 2004;92:S25-31
127. Goren MP, Wright RK, Pratt CB, et al.: Potentiation of ifosfamide neurotoxicity, haematotoxicity, and tubular nephrotoxicity by prior cis-diamminedichloroplatinum(II) therapy. *Cancer Res* 1987;47:1457-1460
128. Hempel L, Misselwitz J, Fleck C, et al.: Influence of high-dose methotrexate therapy (HD-MTX) on glomerular and tubular kidney function. *Med Pediatr Oncol* 2003;40:348-354
129. Deray G, Khayat D, Cacoub P, et al.: The effects of diltiazem on methotrexate-induced nephrotoxicity. *Eur J Clin Pharmacol* 1989;37:337-340
130. Hensley ML, Schuchter LM, Lindley C, et al.: American Society of Clinical Oncology Clinical practice guidelines for the use of chemotherapy and radiotherapy protectants. *J Clin Oncol* 1999;17:3333-3335
131. Herman EH, Zhang J, Chadwick DP, et al.: Comparison of the protective effects of amifostine and dexrazoxane against the toxicity of doxorubicin in spontaneously hypertensive rats. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000;45:329-334
132. Atkinson SA, Halton JM, Bradley C, et al.: Bone and mineral abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia: influence of disease, drugs and nutrition. *Int J Cancer Suppl* 1998;11:35-39

133. Jelakovic B, Benkovic J, Cikes N, et al.: Antibodies to Tamm-Horsfall protein in endemic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:2645-2649
134. Rostum R, Maltby P, Jackson JS, et al.: Renal tubular protein degradation and urinary ammonia in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1992;7:1153
135. Skinner R, Pearson AD, Coulthard MG, et al.: Assessment of chemotherapy-associated nephrotoxicity in children with cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1991;28:81-92
136. Kakihara T, Imai C, Uchiyama M, et al.: Impaired tubular excretory function as a late side effect of chemotherapy in children. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003;25:209-214
137. Fink JC, Cooper MA, Burkhart KM, et al.: Marked enzymuria after bone marrow transplantation: a correlate of veno-occlusive disease-induced "hepatorenal syndrome". *J Am Soc Nephrol* 1995;6:1655-60
138. Kopecna L: Late effects of anticancer therapy on kidney function in children with acute lymphoblastic leukemia. *Bratisl Lek Listy* 2001;102:357-360
139. Arndt C, Morgenstern B, Miser J, et al.: Renal function following combination chemotherapy with ifosfamide and cisplatin in patients with osteogenic sarcoma. *Med Pediatr Oncol* 1999;32:93-96
140. Ashraf MS, Skinner R, Pearson AD, et al.: Late reversibility of chronic ifosfamide-associated nephrotoxicity in a child. *Med Pediatr Oncol* 1997;28:62-64
141. Brock PR, Kolioukas DE, Barratt TM, et al.: Partial reversibility of cisplatin nephrotoxicity in children. *J Pediatr* 1991;118:531-534
142. Olah VA, Price RG, Csathy L, et al.: Age difference of serum β -N-acetylhexosaminidase (NAG) activity. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:305-306
143. Loebstein R, Atanackovic G, Koren G, et al.: Risk factors for long-term outcome of ifosfamide-induced nephrotoxicity in children. *J Clin Pharmacol* 1999;39:454-461

144. Lasocki S, Iglarz M, Seince PF, et al.: Involvement of renin-angiotensin system in pressure-flow relationship: role of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism. *Anesthesiology* 2002;96:271-275
145. Bucher M, Ittner KP, Hobbahn J, et al. Downregulation of angiotensin II type 1 receptors during sepsis. *Hypertension* 2001;38:177-182
146. Costerousse O, Allegrini J, Lopez M, et al: Angiotensin I-converting enzyme in human circulating mononuclear cells: genetic polymorphism of expression in T-lymphocytes. *Biochem J* 1993;290:33-40
147. Bucher M, Hobbahn J, Kurtz A. Nitric oxide-dependent down-regulation of angiotensin II type 2 receptors during experimental sepsis *Crit Care Med* 2001;29:1750-1755
148. Ji Y, Ren X, Zhao Y, et al.: Role of intracardiac angiotensin II in cardiac dysfunction of rat during septic shock. *Chin Med J (Eng)* 1996;109:864-867

7.2. A saját közlemények jegyzéke

7.2.1. 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;10:1145-47 **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. *Pediatric Blood and Cancer* (published online) **IF:1.737**
5. **Bárdi E**, Szegedi I, Kiss C: Harmadik foyadéktér 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 *Docrors Guide*. *Wekly 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).

7.2.2. 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 histiocytosisal szerzett magyarországi tapasztalataink. Magyar Onkológia2004;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

7.2.3. Lektorált folyóiratban megjelent idézhető kongresszusi absztraktok

1. **Bardi E**, Szegedi I, Udvardi E, Kiss C, Renyi 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. **Bardi 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**

7.2.4. Nemzetközi és országos kongresszusokon tartott előadások és poszterek

Bárdi E, Tóth J, Szokoly V: Keresztezett dystopias multicisztás vese. Magyar Gyermekgyógyász Társaság (MGYT) Nagygyűlése, Szeged,1998

- Bárdi E**, Kőrösi T, Aranyosi J, Maródi L: Habitualis abortus kivédése IVIG-el. Debrecen, Magyar Szülész és Nőgyógyász Ultrahangos Társaság Űlése, 1999
- Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Kappelmayer J, Kiss C: Cystatin C meghatározás gyermekkorban. MGYT Nagygyűlése, Debrecen, 2000
- Bárdi E**, Bobok I, Kiss C: ACE gén polimorphismus vizsgálat eredményei tumoros és leukémiás gyermekekben. MGYT Gyermeknephrológiai Szekció Űlés, Budapest, 2001
- Bárdi E**, Bobok I, Kiss C: A malignus betegségben szenvedő gyermekek ACE gén polymorphismus vizsgálata. MGYT Nagygyűlése, Pécs, 2001
- Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Oláh É, Kappelmayer J, Kiss C: A citosztatikus kezelés akut és késői mellékhatásai. MGYT Gyermeknephrológiai Szekció Űlés, Seregélyes, 2002
- Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Oláh É, Kappelmayer J, Kiss C: A citosztatikus kezelés késői mellékhatásai. MGYT Gyerekhemato-Onkológiai Szekció XXXI. Űlése, Debrecen, 2002
- 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
- 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
- Bárdi E**, Bobok I, Oláh VA, Kappelmayer J, Kiss C: Evaluation of kidney function of long-term childhood cancer survivors. Europaediatrics, Prága, Csehország, 2003

Bárdi E, Bobok I, Oláh VA, Kappelmayer J, Kiss C: Megelőzheti-e a dexrazoxane az antracyclinek nephrotoxicitását? Fiatal Gyermekorvosok Országos Találkozója, Szeged, 2004

Bárdi E, Oláh VA, Kappelmayer J, Kiss C: Citosztatikumok akut és késői mellékhatása. MGYT Nagygyűlése, Debrecen, 2004

Bárdi E, Szegedi I, Kiss C: Harmadik folyadéktér szerepe a metotrexát toxicitás kialakulásában, esetbemutatók kapcsán. Fiatal Gyermekorvosok Országos Találkozója, Budapest, 2005

Bárdi E, Bobok I, Oláh VA, Jenei C, Kappelmayer J, Kiss C: Akut tubulus károsodás daganatos gyermekben. MGYT Gyermeknephrológiai Szekció Ülés, Pécs, 2005

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. Új megállapítások

1. Hazánkban elsőként végeztem daganatos beteg gyermekek nefrotoxicitásának átfogó vizsgálatát.
2. Elsőként igazoltam, hogy a szérumban lévő cysC koncentráció meghatározása alkalmas módszer a daganatos beteg gyermekek glomerulus funkciójának jellemzésére.
3. Hazánkban elsőként hívtam fel a figyelmet a harmadik folyadékter 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.

9. 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 genotípezését 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 Gyermeklinka 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, Nefrológiai Tanszék látták el építő jellegű tanácsukkal.

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

1. táblázat: A citosztatikumok vesekárosító hatásának lokalizációja és mechanizmusa.

A prevenció lehetőségei

Citosztatikum	Vesekárosodás lokalizációja és mechanizmusa	Prevenációs és terápiás lehetőségek
Platina származékok <i>Ciszplatin</i>	Proximális tubulus S ₃ (SeMg↓), Henle kacs (koncentrálási képesség↓) <ul style="list-style-type: none"> • DNS károsítás • Anyagcsere ↓ • Lipid peroxidáció 	<ul style="list-style-type: none"> • Hidrálás • Hipertóniás oldatok • Amifostin • Cave: ifoszfamid, bleomycin
<i>Karboplatin</i>	Kevésbé toxikus mint a ciszplatin, de hatása azonos	<ul style="list-style-type: none"> • Mint ciszplatin
<i>Metotrexát</i>	Akut veseelégtelenség, késői tubulus funkció károsodás	<ul style="list-style-type: none"> • Kezelés előtt 3. folyadékterek felderítése, MTHFR polimorfizmus, vesefunkció ellenőrzés • Hidrálás • Alkalmazás • Leukovorin, karboxipeptidáz G, Plazmaferezis
Alkiláló szerek <i>Ifoszfamid</i>	tubuláris károsodás (aminosav, elektrolit, glükóz ürítés, foszfát diabétesz), Fanconi-szindróma, csontritkulás, progrediáló glomeruláris funkció romlás	<ul style="list-style-type: none"> • Hidrálás • MESNA, acetil-cisztein • Kumulatív dózis csökkentés • Cave: fiatal életkor, platina származékok
<i>Ciklofoszfamid</i>	Kevésbé toxikus mint az ifoszfamid	<ul style="list-style-type: none"> • Mint ifoszfamid
Antraciklin származékok <i>Daunorubicin, Doxorubicin, Epirubicin, Idarubicin, Mitoxantron</i>	Proximális tubulus károsodás Lipid peroxidáció	<ul style="list-style-type: none"> • hidrálás • dexrazoxan

MTHFR: metilén-terahidrofolát reduktáz

2. táblázat: Az akut toxicitás során vizsgált 92 beteg kórisméje és kezelési protokolljaik

Diagnózis	Betegek száma	Kezelés
Akut limfoblasztos leukémia	25	ALL-BFM 95 ⁹³ / ALL IC-BFM 2002
Akut mieloid leukémia	6	AML-BFM 98 ⁹⁴
Non-Hodgkin limfoma	8	NHL-BFM 95 ⁹⁵
Hodgkin limfoma	13	DAL-HD ⁹⁶
Központi idegrendszeri tumorok	11	MGYT GYOS agytumor protokoll ⁹⁷
Neuroblastoma	8	OPEC/OJEC ⁹⁸
Wilms tumor	6	SIOP ⁹⁹
Ewing szarkoma	3	CWS ¹⁰⁰ /Euro-Ewing ¹⁰¹
Oszteoszarkoma	2	COSS ¹⁰²
Retinoblastoma	1	CEV ¹⁰³
Lágyrész szarkóma	1	CWS ¹⁰⁰
Csírsejtes tumorok	3	BEP ¹⁰⁴
Hepatoblastoma	2	PLADO ¹⁰⁵
Langerhans sejtes hisztiocitózis	3	DALHX ¹⁰⁶

3. táblázat: A késői toxicitás során vizsgált 115 beteg kórisméje és kezelési protokolljaik

Diagnózis	Betegek száma	Kezelés
Akut limfoblasztos leukémia	48	ALL-BFM 90/95 ⁹³
Akut mieloid leukémia	3	AML-BFM 93/98 ⁹⁴
Non-Hodgkin limfoma	4	NHL-BFM 95 ⁹⁵
Hodgkin limfoma	5	DAL-HD ⁹⁶
Központi idegrendszeri tumorok	2	MGYT GYOS agytumor protokoll ⁹⁷
Neuroblastoma	15	OPEC/OJEC ⁹⁸
Wilms tumor	22	SIOP ⁹⁹
Ewing szarkoma	6	CWS ¹⁰⁰ /Euro-Ewing ¹⁰¹
Oszteoszarkoma	3	COSS ¹⁰²
Retinoblastoma	2	CEV ¹⁰³
Lágyrész szarkoma	1	CWS ¹⁰⁰
Csirasejtes tumorok	4	BEP ¹⁰⁴

4. táblázat: Citosztatikus kezelés előtt és után mért cisztatin C (cysC) koncentrációk

Gyógyszer (No)	Kezelés előtt átlag±SD	Kezelés után átlag±SD	p
CPL (16)	1,14±0,48	1,37±0,32	=0,035
CARBO (11)	1,09±0,42	1,21±0,41	=0,099
CP (40)	1,06±0,41	1,18±0,36	=0,009
IFO (16)	1,11±0,43	1,31±0,33	=0,002
MTX (34)	1,09±0,31	1,51±1,04	=0,023
DNR (24)	1,13±0,29	1,15±0,18	=0,531
DOX (34)	1,14±0,42	1,15±0,29	=0,900
IDA (10)	1,15±0,36	1,17±0,38	=0,820
EPI (12)	1,12±0,39	1,23±0,33	=0,121
Kombináció (78)	1,13±0,49	1,31±0,36	=0,007

CPL: ciszplatin, CARBO: karboplatin, CP: ciklofoszfamid, IFO: ifoszfamid, MTX: metotexát, DNR: daunorubicin, DOX: doxorubicin, IDA: idarubicin, EPI: epirubicin
(No): mintaszám. A cysC koncentrációt mg/L dimenzióban fejeztem ki.

5. táblázat: A proximális tubulus károsodást jelző, a vizelet kreatininhez normalizált N-acetil-β-D-glükózaminidáz aktivitás (NAG_i) és mikroalbumin (MA) értékek különféle citosztatikus kezelés előtt és után nyert vizelet mintákban

Kezelés	Kezelés előtt NAG _i ±SD	Kezelés után NAG _i ±SD	p	Kezelés előtt MA±SD	Kezelés után MA ±SD	p
CPL	1,79±1,90	7,57±10,16	=0,007	44,63±42,48	66,91±16,98	=0,503
CARBO	2,45±3,26	4,49±4,73	=0,007	18,45±13,59	32,29±31,60	=0,059
CP	2,99±9,15	3,27±4,71	=0,006	22,26±45, 21	40,79±80,19	=0,032
IFO	3,25±3,59	8,39±7,18	=0,006	56,61±11,19	182,51±29,61	=0,014
DNR	2,18±3,54	8,84±9,48	=0,000	9,96±3,81	10,37±3,33	=0,632
DOX	2,25±2,41	2,72±3,82	=0,319	32,82±65,91	44,31±13,55	=0,549
EPI	2,23±3,48	8,39±4,83	=0,002	33,68±26,47	44,06±6,42	=0,557
IDA	2,47±2,05	6,50±5,22	=0,038	11,26±6,47	19,15±17,46	=0,261
MTX	2,28±2,35	2,32±2,92	=0,920	12,70±6,70	19,74±24,70	=0,111

CPL: ciszplatin, CARBO: karboplatin, CP: ciklofoszfamid, IFO: ifoszfamid, DNR: daunorubicin, DOX: doxorubicin, EPI: epirubicin, IDA: idarubicin, MTX: metotrexát.

A NAG_i és az MA dimenziói μmol/min/mmol és mg/L, rendre.

6. táblázat: A betegek és kontrollok cystatin C és szérum kreatinin koncentrációi és a glomeruláris filtrációs ráta (GFR) értékei

	Betegek	Negatív kontrollok	Pozitív kontrollok
Cystatin C (mg/L)	1,05±0,27* **	0,94±0,20***	5,64±1,36* ** * **
Szérum kreatinin (μmol/L)	66±17	64±21	628±378
GFR (ml/perc/1,73 m²)	102±35	103±31	20±17

A táblázatban az átlag ± szórás értéket tüntettem fel.

*, **, *** szignifikáns ($p < 0,05$) különbséget jelöl a csoportok között

7. táblázat: A különféle betegcsoportok és kontrollok relatív vizelet NAG_i és mikroalbuminuria (MA) értékei

Betegek	Relatív NAG_i átlag±SD [%]	MA átlag±SD [mg/L]
Leukémia-limfoma	107,6±67,0	16,4±2,1
Wilms tumor	129,4±12,7	16,6±2,4
Szolid tumor	247,4±20,8*	24,9±2,7**
Negatív kontrollok	95,3±28,9*	15,8±1,2**
Pozitív kontrollok	2730±2277	84,4±54,5

Relatív NAG_i a kórspecifikus normál tartomány (100 %) százalékában kifejezve.

*,** -al jelöltük a csoportok közötti statisztikailag szignifikáns különbséget (p<0,05).

8. táblázat: Az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) inszerciós (I)/ deléciós polimorfizmusa jelentősen befolyásolja az N-acetil-β-D-glükózaminidáz aktivitás (NAG_i) a ciklofoszfamid kezelt illetve a mikroalbuminuria (MA) mértékét a daunorubicin kezelt betegekben

ACE genotípus	NAG_i (átlag±SD)	MA (átlag±SD)
DD	3,8±9,5*	11,2±6,6**
ID/II	3,1±4,9*	9,5±6,5**

*, ** szignifikáns különbségeket jelöl ($p < 0,05$) a csoportok között.

A NAG_i és az MA dimenziói $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mmol}$ és mg/L , rendre

9. táblázat: Az ACE gén polimorfizmus meghatározáson átesett betegek diagnózis és ACE genotípus megoszlása (n=207)

Diagnózis/Genotípus	DD (n=71)	ID (n=92)	II (n=44)
ALL SR/IR	19	35	15
ALL HR	10	4	2
AML és MDS	3	6	2
NHL I/II stádium	2	5	3
NHL III/IV stádium	0	1	1
Hodgkin limfoma I/II stádium	2	3	1
Hodgkin limfoma III/IV stádium	4	6	1
Központi idegrendszeri tumorok	7	4	2
Neuroblastoma	6	9	6
Retinoblastoma	1	0	0
Wilms tumor	9	9	7
Csont tumorok	1	3	1
Langerhans sejtes hisztiocitózis	0	0	1
Csírasejtes tumorok	4	1	0
Lágyrész szarkoma	1	6	1
Hepatoblastoma	2	0	1
Kor (átlag±szórás) év	11,3±6,9	12,7±6,1	10,8±5,8

ALL: akut limfoblasztos leukémia, SR: standard rizikó, IR: intermedier rizikó, HR: magas rizikó, AML: akut mieloid leukémia, MDS: mielodiszplaziás szindróma, NHL: non-Hodgkin limfoma

10. táblázat: A lázas, neutropeniás, súlyos keringés összeomlásban szenvedő, daganatos gyermekek klinikai és laboratóriumi paraméterei

A betegek klinikai és laboratóriumi paraméterei (No 26)*	Minimum-maximum	Medián	Átlag ±SD	Referencia tartomány
Pulzus szám/perc	116-210	154	158±26	Korfüggő ¹⁰⁹
Vérnyomás [Hgmm]	61/25-140/82	85/47	89/47±19/15	Korfüggő ¹⁰⁹
Sokk index (109)	1,1-3,3	1,8	1,9±0,5	<1,0
PO ₂ [Hgmm]†	32,7-152,8	55,75	63,6	>70,0
PCO ₂ [Hgmm]†	15,0-49,3	33,5	33,9±7,9	36,0-44,0
O ₂ szaturáció [%]†	58,4-99,0	89,5	87,4±11,9	≥95,0
Láz [°C]	38,1-39,8	38,5	38,5±0,7	≤37,0
Abszolút neutrofil szám [G/L]	0,1-0,9	0,3	0,4±0,3	>3,5
C-reaktív protein [mg/L]	17-410	183	195±133	<5
Vörösvérsejt süllyedés [mm/h]	34-200	70	80±42	<10

*az intenzív osztályra való felvételkor, †kapilláris vérminták.

11. táblázat: A súlyos keringés összeomlásban szenvedő 26 beteg diagnózis, ACE genotípus és életkor szerinti megoszlása.

Diagnózis/Genotípus	DD (n=18)	ID (n=5)	II (n=3)
ALL SR/IR	4	1	1
ALL HR	7	1	1
AML és MDS	2	0	0
NHL I/II stádium	1	0	1
NHL III stádium	0	1	0
Hodgkin limfoma I stádium	0	1	0
Központi idegrendszeri tumorok	2	0	0
Neuroblastoma	0	0	0
Retinoblastoma	0	0	0
Wilms tumor	0	1	0
Csont tumorok	1	0	0
Langerhans sejtes hisztiocitózis	0	0	0
Csira sejtes tumorok	1	0	0
Lágyrész szarkoma	0	0	0
Hepatoblastoma	0	0	0
Életkor (átlag±szórás) év	7,6±4,3	7,4±4,8	4,1±2,1

ALL: akut limfoblasztos leukémia, SR: standard rizikó, IR: intermedier rizikó, HR: magas rizikó, AML: akut mieloid leukémia, MDS: mielodiszplaziás szindróma, NHL: non-Hodgkin limfoma

12. táblázat: Az ACE gén I és D alléljének, illetve a D/D, I/D és I/I genotípusok megoszlása a súlyos keringés összeomlásban szenvedő és nem szenvedő lázas neutropeniás daganatos gyermekben és a kontrollokban

	Betegek		Kontrollok (No 144) §
	Súlyos keringés összeomlás miatt kezelt		
	Igen (No 26*§)	Nem (No 181*)	
I allél No/%	13/25	164/45	114/40
D allél No/%	30/75	198/55	174/60
II genotípus No/%	4/15	40/22	21/15
ID genotípus No/%	5/19	84/46	71/49
DD genotípus No/%	17/66	57/32	52/36

*§ a csoportok közötti szignifikáns különbséget jelzi ($p < 0,05$).

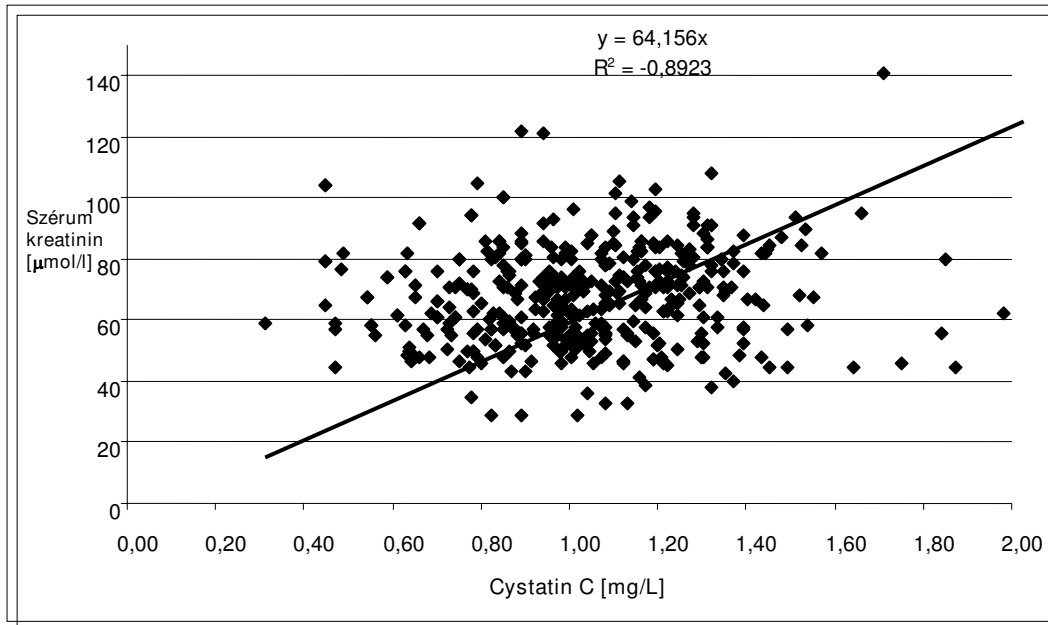
A genotípus megoszlás megfelelt a Hardy Weinberg ekvilibrumnak. A χ^2 érték 0,981, 0,694 és 0,92, rendre a szignifikancia szint $p=0,322$, $p=0,405$ és $p=0,337$, rendre, volt.

No: betegszám

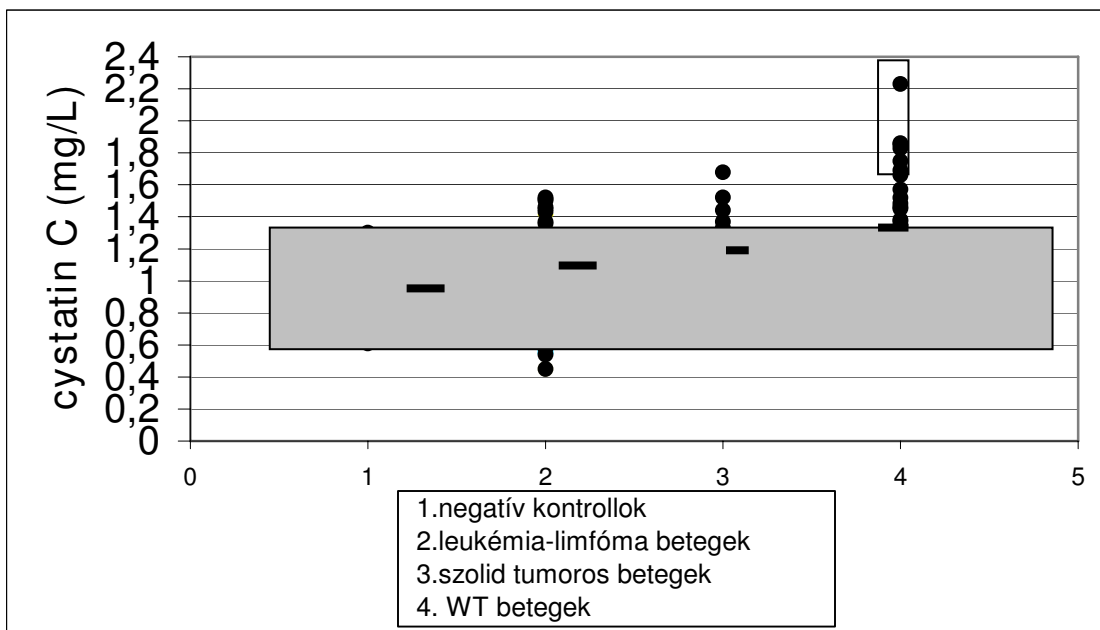
13. táblázat: Ajánlás a daganatos gyermekbetegek vesekárosodásának kivizsgálására.

Módszer	Vizsgált funkció
Cystatin C koncentráció, szérum kreatinin koncentráció	Glomerulus funkció
Durva proteinúria reggeli első vizeletből (tesztesíkkal, szulfoszalicilsav próbával)	Glomerulus és tubulus károsodás
Kvantitatív fehérje meghatározás 24 órás gyűjtött vizeletből	Glomerulus és tubulus károsodás
Vizelet fehérje elektroforézis 24 órás gyűjtött vizeletből	Glomerulus és tubulus károsodás
N-acetil- β -D-glükózaminidáz aktivitás meghatározása reggeli első higiénés vizeletmintából, a vizelet kreatinin koncentrációjával párhuzamosan (NAG _i)	Proximális tubulus funkció
Szérum és vizelet ozmolaritásának párhuzamos meghatározása reggeli első vizeletből és vénás vérmintából	Súlyos disztális tubulus károsodás kimutatása

1. ábra: A szérumban lévő cystatin C és kreatinin koncentrációk közötti korreláció

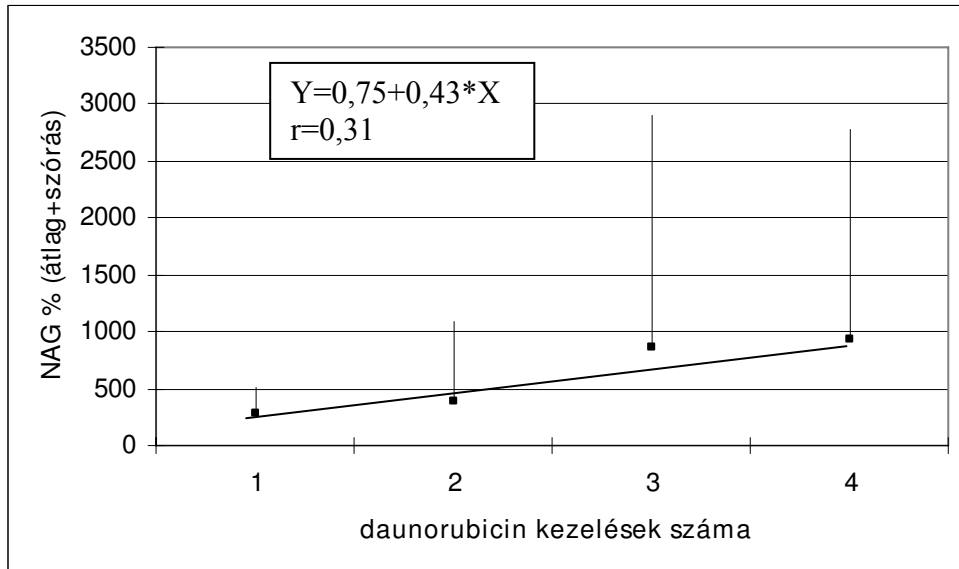


2. ábra: A kontrollok, leukémia-limfoma, szolid tumor és Wilms tumor (WT) túlélők glomeruláris funkciót jelző cystatin C koncentrációinak megoszlása



A pontok a vizsgált személyek aktuális értékeit jelzik. Az árnyékolt terület a referencia tartományt tükrözi. A vonalak az átlag értéket jelzik. A téglalap reprezentálja a magas rizikójú WT betegeket. Statisztikailag szignifikáns különbség állapítható meg ($p < 0,05$) a WT és a negatív kontrollok cystatin C értékei között.

3. ábra Az N-acetil-β-D-glükózaminidáz ürítés változása konsekutív daunorubicin kezelési ciklusok után



A minták N-acetil-β-D-glukozaminidáz (NAG) aktivitását a betegek kezelés előtt mért NAG aktivitásának (100 %) százalékában fejeztük ki (NAG%). Az átlagértéket a fekete kockák, a szórást (SD) a függőleges vonalak jelzik. Az átlagértékhez lineáris regressziós egyenest illesztettük. Az egyenes meredeksége szignifikánsan ($p<0,05$) eltér a vízszintestől.

4. ábra: Az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) gén inszerciós/deléciós (I/D) polimorfizmus megoszlása a kontrollok, az összes tumoros beteg, a Wilms tumoros betegek és a proteinúriás betegek között

