

Doktori (PhD) értekezés

Dr. Dócs János

NDZ7HG

**Végstádiumú vese: modell a progresszív
gyulladásos mikrokörnyezet és tumorgenezis
kapcsolatára**



Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Általános Orvos Szak

2022

1

A végstádiumú vesebetegség

A végstádiumú vesebetegség (ESRD) és annak jelentősége

A krónikus vesebetegség (CKD) napjaink egyik fő népbetegsége. 2017-re a betegek száma elérte a 700 milliót. 1,2 millió beteg halálát okozta, mely a következő évtizedekben az előjelzések alapján tovább fog emelkedni, 2040-re elérheti akár az évi 4 millió halálesetet. A CKD a veseelégtelenség utolsó (ötödik) és egyben legsúlyosabb stádiuma. Amennyiben a GFR értéke $15\text{mL/perc}/1,73$ testfelszín m^2 aluli érték, úgy kimondható a veseelégtelenség. Az ESRD, mint fogalom, arra az irreverzibilis klinikai folyamatra utal, amikor az érintett személy folyamatos vesepótló kezelésre (dialízis, vesetranszplantáció) szorul az életveszélyes uraemiás állapot elkerülésének céljából.

Az ESRD incidenciája és prevalenciája folyamatos növekedést mutat. A US Renal Data System adatai szerint évente 20.000-rel nő az ESRD betegek száma az USA-ban.

Az ESRD multifaktoriális eredetű. A betegek számának folyamatos növekedése számos etiológiai tényezőre vezethető vissza. Évtizedekkel korábban a glomerulonephritis volt az

egyik vezető oka a betegség kialakulásának. Napjainkban a fertőzőes eredetű ESRD betegek száma jelentősen csökken különösen a fejlett országokban, azonban a fejlődő országokban még mindig jelentős etiológiai tényező. A legfrissebb tanulmányok a magas vérnyomást és a cukorbetegséget nevezik meg a két legfőbb etiológiai faktorként. Az etiológiai faktorok között fontos még megemlíteni a policisztás vesebetegséget, a húgyúti rendszerben hosszasan fennálló obstrukciót (az obstrukció pontos kiváltóokától függetlenül), a vesiko-ureterális refluxot, a gyakori visszatérő pielonefritist és egyes gyógyszereket, mint például a non-steroid gyulladáscsökkentőket (NSAID), a calcinurin-inhibitorokat és az antiretrovirális gyógyszereket. Az emberek születéskor várható életkora folyamatosan nő. Az életkor növekedése is rizikófaktor a veseelégtelenség kialakulásának szempontjából, egyrészt ezért nő évről-évre a betegek száma, másrészt a fejlődő orvostudományak „köszönhetően” egyre több krónikus vesebeteg jut a végstádiumú veseelégtelenség stádiumába. Vesepótló kezelést világszerte 2,5 millió beteg kap, azonban az előbb részletezett okok miatt, számuk 2030-ra elérheti az 5,4 milliót.

A CKD csupán 2 %-a progrediál végstádiumú veseelégtelenségbe, azonban ennek a betegpopulációnak az ellátása is jelentős terhet ró és költséget igényel az egészségügyi rendszerektől. Az adatok jól mutatják, hogy nem csupán egészségügyi-, hanem komoly gazdasági problémával állunk szemben, melynek kezelése, elsősorban megelőzése, kulcsfontosságú a jövőt tekintve.

A végstádiumú vesebetegség szövettani vonatkozásai

A CKD idővel zsugorvесе kialakulásához vezet. A leggyakoribb ESRD jellemző hisztopatológiai eltérések tubuláris atrófiát, intersticiális gyulladást, fibrózist, artériakon-, arteriolákon- és glomerulusokon jelentkező súlyos szklerózist mutatnak. Ezen morfológiai elváltozások direkt és indirekt módon a funkcionális és struktúrális integritás megbontják, azok károsodásához vezetnek. Urémiás betegek esetében a vese morfológiai jellemzői, gyakran a kiindulási betegségtől függetlenül, hasonlóan nézhetnek ki, megnehezítve ezzel a primer betegség felismerését és diagnózisát. Dializált betegek esetén ez a jelenség kifejezettebb.

A vesepótló kezelések meghosszabbítják a betegek várható élettartamát, főleg, ha a betegségük csak a vesére limitált. Hosszantartó dialízis után, egy korábban ritkán látott, szövettanilag is jellegzetes képet összefoglalóan végstádiumú vesebetegségnek hívunk (ESRD).

Amennyiben diffúz cisztikus elváltozások is láthatóak a vesékben, szerzett cisztás vesebetegségről (acquired cystic renal disease ACRD) beszélhetünk. Évekig dializált betegeknél gyakran találkozhatunk az ACRD szövettani képével, amelyben intenzív sejtproliferáció figyelhető meg pre-neoplasias lesiókkal és akár ritka világossejtes veserák fajtákkal.

Már korábban említésre kerültek olyan progresszív struktúrális változások, mint a nagymértékű, főleg kalcium-tartalmú kristályokból álló lerakódások és az artéria intima rétegének megvastagodása. A vese epiteliális sejtjei fokozott proliferációval válaszolnak a kalcium-oxalát kristályok hatására. Az ESRD-re jellemző szövettani elváltozásokat már 40 évvel korábban is részletesen ismerték. Ismertek voltak a simaizom sejtek proliferációja és az artériák, arteriolák falában lejátszódó nekrotikus folyamatok. Leírták az artériák intimájának megvastagodását, a simaizom és endotél sejtek fokozott növekedése miatt. Megfigyelték az ESRD a tubulusok

elváltozásait, amelyeket klasszikus atrófiás tubulusokra, tiroidizáción átment tubulusokra, endokrin tubulusokra és szuper tubulusokra osztottak fel. Annak ellenére, hogy az ESRD vese atrófiás, hegesedett, igen jelentős proliferációs aktivitást mutat, főleg a klasszikus- és szuper tubulusok epitheliumában.

A vese cisztás elváltozásai, a szerzett cisztás vesebetegség (ACRD)

A hosszantartó dialízis hatására mindkétoldali vesében kialakuló cisztás elváltozásokat már korábban leírták. Szerzett cisztás vesebetegség esetén a normál szöveti struktúra integritása sérül és helyét krónikus gyulladás, valamint fibrotikus átrendeződés veszi át. Az ACRD diagnózisához az örökletes cisztás vesebetegségek kizárása, legalább 3 ciszta jelenléte és mindkét vese parenchimájának legalább 25%-os érintettsége szükséges. A ciszták többsége főleg a kortikális részében alakul ki, de a veseparenchima bárhol lehet érintett. A nagyobb ciszták falában intenzívebb sejtproliferáció van jelen.

A vesepótló kezelések hatására diffúz cisztikus elváltozásokat alakulhatnak ki mindkét oldali vesében, azonban fontos kiemelni, hogy ezen betegekben a primer betegség nem

mutat cisztaképződésre hajlamot. A vesesejtes daganat gyakoribb a ESRD, ACRD körében, mint az átlag populációban. Prospektív vizsgálat során a vesetranszplantációra váró beteg körében a klinikailag igazolt vesesejtes daganatok előfordulása 3,8%. Az átlag populációban a vesesejtes daganat rizikója 0,04%, amellyel könnyen felismerhető az éles kontraszt a két populáció között.

A dialízis időtartama egyértelműen negatívan befolyásolja az ACRD kialakulásának valószínűségét. 10 éves dialízis esetén a szövettani kép kialakulásának valószínűsége 100%. Az ACRD jelentősége az általa okozott számos komplikációhoz köthető. A leggyakoribb a ciszták rupturájából, fertőződéséből eredő haematuria, mely jelentkezhethet mikro- és makrohaematuria képében is. Habár a vesesejtes daganat kialakulása nem a leggyakoribb elváltozás a ACRD betegek körében, mégis ez a legfontosabb a beteg és a klinikus szempontjából is.

Vesesejtes tumorok ESRD/ACRD vonatkozásában

Dializált betegek esetében a vesesejtes daganatok relatív kockázata jelentősen magasabb az átlagpopulációhoz mérten. A daganat prevalenciája dializált betegek esetében 1,4-1,7%. Az ACRD-vel társultan előforduló vesesejtes daganatok időben

korábban alakulnak ki, az esetek 10%-ban kétoldaliak és az esetek harmadában multifokálisak. Habár gyakran multifokális vagy kétoldali daganat, a daganat nagyon ritkán ad tüneteket, mérete is ritkán haladja meg a 3cm-t.

A végstádiumú vesebetegek között a papilláris daganatok aránya szignifikánsan nagyobb. Az esetek felében papilláris típusú vesedaganat alakul ki, míg az átlagpopulációban a konvencionális vesedaganat 90%-os valószínűséggel alakul ki, a papilláris csupán az esetek 10%-ban. A végstádiumú veseelégtelen betegekben kialakuló vesesejtes daganatokban különböző szövettanilag csak rájuk jellemző jelenségek kerültek korábban leírásra. A tumorokban kalcium-oxalát lerakódás figyelhető meg, illetve előfordulhatnak óriás eosinofil sejtek.

Molekuláris genetikai elemzés alapján egyes ESRD/ACRD daganatok genetikai változásai megegyeznek az általános populációban előforduló vesesejtes daganatok jellemzőivel, míg mások csak részben vagy egyáltalán nem mutatják a legjellemzőbb kromoszóma-változásokat. Szokatlan tumor morfológia esetén az ESRD/ACRD-vel összefüggő tumorok némelyikének diagnózisa a klinikai tünetek és a molekuláris jellemzés után is bizonytalan. Habár további vizsgálatokra van szükség, a rendelkezésre álló adatok alapján nagy

valószínűséggel állíthatjuk, hogy az ESRD/ACRD-vel összefüggő vesesejtes daganatokk egy részének kialakulása eltér az átlagpopulációban előforduló tumorok onkogenezisétől és megkülönböztető, de nem egységes genetikai elváltozásokat mutat.

Az ESRD és ACRD kialakulása és a daganat patogenesis

A szövettani és molekuláris genetikai vizsgálatok ellenére az ESRD/ACRD vesék parenhimális és intersticiális sejtjeihez kapcsolható biológiai folyamatok, valamint a többszörös ciszták kialakulásához, a veseparenhima átalakulásához és a ritka daganatok kialakulásához vezető pontos molekuláris mechanizmusok jelenleg még ismeretlenek. Az ESRD során a vese szerkezeti és működési egysége megbomlik, először a krónikus gyulladás okozta hegesedés határozza meg a mikroszkópos képet, melyet a nefronok károsodása követ. Az ESRD vesében az atrófiás tubulosok sejtjeiben és a strómasejtekben nagyon intenzív sejtproliferáció látható.

A vesében található ciszták többsége egyrétegű lap- vagy köbhámmal bélelt. ESRD vesében a cisztát bélelő epithelium-, akár a tubulusokban megtalálható epithelium intenzív hiperplasiás aktivitást mutat. Az atípusos cisztákban a

legkifejezettebb a hyperplasia, ezen cisztákban a ciszták falát atípusos sejtek alkotják, melyek gyakran formálnak papillárisan növekvő precancerosus elváltozásokat. A ciszták bennéke víztiszta, szalmasárga, esetleg a cisztaruptura vagy infúzióhoz köthető vérzés következtében vöröses, barnás árnyalatú, folyadék. A tubulusok kitágulásából jönnek létre a ciszták, a tubulus sejtek fokozott proliferációjával és a tubulus proximalis és distalis részének záródásával. A ciszták és a később kialakuló tumorok legnagyobb része a proximalis tubulusokból alakul ki.

A vese strukturális átalakulásának a pontos molekuláris mechanizmusa nem ismert, számos a folyamatban fontos szerepet betöltő faktor azonban már ismert. A vese kiválasztó működésének elégtelensége miatt a szervezetben felszaporodnak olyan toxikus ágensek, melyek egészséges emberben távoznának a vizelettel. Az uraemia az összes szervre hatással van. A megnövekedett mennyiségű toxikus anyagok a sejtekben található örökítőanyagot károsítják. 1988-ban már leírásra került az uraemiához köthető testvérkromatida kicserélődés vagy a mikronukleusz kialakulása. A DNS repair mechanizmusok hatékonysága uraemiás betegek esetében 60% körüli szintre csökken, mely a vesepótló kezelésekkel normál szintre emelhető.

Az urémiás betegekben kialakuló toxikus hatások súlyos mitokondriális károsodást okozhatnak. A mitokondriális örökítőanyag sokkal érzékenyebb a genotoxikus hatásokra és ezért gyakrabban fordul elő mutáció benne. A mutációk gyakoribb előfordulása a különböző protektív és repair mechanizmusok hiányában keresendő. A mitokondriális DNS mutációjának következtében intracellularis reaktív oxigéngyökök (ROS) fokozott termelődése várható az elektron transzport lánc defektusa miatt. Az emelkedett ROS szint a DNS további károsításával akár daganat létrejöttét is okozhatja.

Az ESRD vesékben kialakuló tumorok mind genetikai, mind a szövettani jellemzőiben jelentősen eltér az átlagpopulációban előforduló tumoroktól. Genetikai vizsgálatok során olyan kromoszomális és DNS eltéréseket azonosítottak, amelyek az átlagpopulációban előforduló vesedaganatokban nem mutathatók ki. A rákmegelőző léziók gyakorisága, a szokatlan szövettani és genetikai jellemzők arra utalnak, hogy a fibrotikus, krónikus gyulladással járó mikrokörnyezetnek van szerepe az ESRD/ACRD-ben látható tumorok kialakulásában.

A mikrokörnyezet szerepe az ESRD/ACRD asszociált tumorok esetében

Urémiában a mérgező vegyületek mennyisége megnövekedett, melyek toxikus és metabolikus stressz alatt tartják a nefron sejtjeit. Ezenkívül a növekedési faktorok, mint a hepatocita növekedési faktor (hepatocyte growth factor, HGF), a hepatocita növekedési faktor receptor (hepatocyte growth factor receptor, MET) és az inzulinszerű növekedési faktor (insuline-like growth factor, IGF-1) fokozott expressziója is hozzájárul a vesesejtek fokozott proliferációjához és így a vese átépüléséhez. Más tanulmányok a hipoxia által indukálható faktor-2 (HIF-2) és a hipoxia által indukálható faktor-1 α (HIF-1 α) szerepének jelentőségét hangsúlyozzák, amelyek a vesék neo-vaszkularizációjához vezethetnek. A gyulladás okozta oxidatív stressz karcinogenetikus hatása már régóta ismert tény. A sejtekre gyakorolt oxidatív és metabolikus stressz és a különböző citokinek, köztük az interleukin 6 (IL-6) hatására létrejövő ROS a hipoxia által indukálható faktor-1 (HIF-1) emelkedett kifejeződéséhez vezetnek. A HIF-1 a nuclear factor kappa béta (NF κ B) útvonalon a különböző gyulladást elősegítő fehérjék szintéziséhez vezet, amelyeknek jelentős szerepe van az ESRD és ACRD vesékben kialakult gyulladással kapcsolatos kaszkádban. A

normál sejtekben a thioredoxin-interacting fehérje (TXNIP) és thioredoxin (TXN) szabályozza a sejtműködéshez szükséges megfelelő ROS szintet. A TXNIP fokozott kifejeződése elősegíti az intracellularis ROS képződését azáltal, hogy gátolja a TXN működését.

Beszámoltak a proto-onkogének megváltozott expressziójáról, a c-erbB-2 amplifikációjáról, a c-jun aktiválódásáról és a connexin 32 hipermetilációjáról. Leírták a citokinek, például az IL-6, az interleukin-8 (IL-8) és a vascular endothelial growth factor (VEGF) fokozott expresszióját ESRD/ACRD vesékben. Diabétesz miatt kialakult nefropátiában (DNP) a proximalis tubulusok sérülése a Toll-like receptor 2 (TLR2) és a Toll-like receptor 4 (TLR4) kifejeződéséhez és gyulladós folyamat elindításához vezet. Egy globális génexpressziós vizsgálattal az ESRD/ACRD vesékre jellemző specifikus génexpressziós ujjlenyomatot írtak le, amelyben funkcionálisan egymással összekapcsolódó gének, mint citokinek és kemokinek, valamint keratinok fordultak elő. Ezenkívül számos, a sejtek proliferációjával összefüggő gén került felismerésre. A real-time polimerase chain reaction (RT-PCR) valamint immunhisztológiai vizsgálat megerősítette, hogy

a gének jelentős része valóban csak ESRD/ACRD vesékben fejeződik ki.

ESRD-ben szenvedőknél a vérben keringő 1,25-(OH)₂D₃ (D-vitamin) szintje alacsonyabb. A sejtproliferáció szabályozásában a D-vitaminnak jelentős szerepet tulajdonítanak és tumorelles hatását is igazolták. A keringő D-vitamin szintjét a vesében két hidroxiláz szabályozza. Az 1 α -hydroxylase (CYP27B1) a D-vitamin biológiailag aktív formájának szintéziséért felelős, míg a 24-hydroxylase (CYP24A1) a D-vitamin katabolizmusát szabályozza (14). Kísérletes munkák utaltak arra, hogy a D-vitamin metabolizmusának zavara összefüggésben állhat a karcinogenezissel.

Célkitűzések

Az eddigi irodalmi adatok alapján ismert, hogy az ESRD vesében gyakrabban keletkezik vesetumor, amelynek szövettani és genetikai jellemzői különböznek a normál populáció daganataitól. Egy korábbi feltételezés alapján az ESRD vesében kialakult mikrokörnyezetnek lehet ebben szerepe. Ennek megerősítésére megvizsgáltuk a gyulladásos mikrokörnyezet kialakulásában szerepet játszó gének expresszióját immunhisztológiával:

a, meghatároztuk a citokinek, mint az IL-6, a Colony stimulating factor 2 (CSF2), a Transforming growth factor β (TGF β), és az Interleukin 1 β (IL1 β) sejtekhez kötött expresszióját

b, megvizsgáltuk a fibrotikus stróma kialakulásában és a vese átépülésében szerepet játszó gének kifejeződését, mint az α smooth muscle actin (α SMA), a Fibronectin 1 (FN1), a Laminin subunit α 3 (LAMA3), a Laminin subunit β 3 (LAMB3), a Laminin subunit γ 2 (LAMC2).

c, megvizsgáltuk a vese szerkezet átrendeződéséhez és a tumorok keletkezéséhez szükséges metalloproteinázok, mint a Matrix metalloproteinase 9 (MMP9) és a Matrix metalloproteinase 12 (MMP12) kifejeződését.

d, összefüggést keresünk az ESRD vesében jelentősen csökkent számú tubulusok és a D-vitamin receptor, valamint a CYP24A1 és CYP27B1 szöveti kifejeződése között.

e, megvizsgáltuk a gyulladás okozta oxidatív stressz hatására létrejövő ROS szabályozásában szerepet játszó TXNIP-TXN redox rendszer hatását.

Anyagok és módszerek

Vizsgált anyag

12 mintát vizsgáltunk, melyek ESRD/ACRD betegek veséinek daganatos érintettsége miatt távolítottak el. Ezek a minták a Heidelbergi Egyetem Urológiájáról, a Bad-Hersfeld Kórházból Németországból, a cambridge-i Radcliffe Kórházból, az Egyesült Királyságból és a Ljubljana-i Egyetem Patológiai Intézetéből, Szlovéniából származnak. Szövettanilag 6 vese végstádiumú veseelégtelen (ESRD) és 6 mintában intenzív ciszticus elváltozások figyelhetők meg (ACRD). Minden esetben nephrectomia történt, egy beteg sem esett át vesetranszplantáción. A minták a nephrectomiát követően azonnali feldolgozáson estek át.

Minden vese 4%-os formaldehid oldatos fixáláson esett át a későbbi szövettani vizsgálatok céljából. Minden veséből több száz paraffin blokkba ágyazott minta készült. A későbbiekben hematoxylin-eozin festett metszetek a bennük észlelt elváltozások alapján -ciszta, kis prekursor lézió, tumor- további csoportokra osztottuk. A fő tumoros folyamatot a Heidelbergi- és a Tickoo által kidolgozott klasszifikáció szerint értékeltük. Öt tumort papillaris vesesejtes carcinomaként, hat másik vesét konvencionális vesesejtes carcinomaként azonosítottunk. Egy oncocytomát, 2 ACRD associált eosinophil-vacuolizált tumort, 2 chromophobe-like tumort, és 1 világossejtes papillaris vesecarcinomát találtunk a 12 mintában. Összesen 65 kis papillaris-, 42 chromophobe-like- és 24 eosinofil vacuolizált pre-cancerous lesiót azonosítottunk a 12 vesében. Az anyag felhasználását a Heidelbergi és a Pécsi Egyetemek Etikai bizottsága engedélyezte. Az embrionális vesék Pécsi Tudományi Egyetem Nőgyógyászati osztályáról, legális abortusz kapcsán kerültek feldolgozásra.

Tissue microarray (TMA)

A vizsgálat során a korábban részletezett paraffin blokkokat használtuk fel tissue microarray (TMA) készítéséhez. A blokkok hematoxin-eozin festésen átesett és a tipikus morfológiai struktúrával rendelkező metszetek egy részéből TMA készült. A HE festett metszetek fénymikroszkópos vizsgálata során a megfelelő hely kijelölésre került, majd a paraffinba ágyazott szövetblokkból, hozzáértő személy és Manual Tissue Arrayer készülék segítségével 0.6 mm átmérőjű szövethengereket emeltünk ki.

Immunohisztokémia

Immunohisztokémiára 16 paraffinblokkba ágyazott ESRD/ACRD vesét választottuk ki. A kiválasztás során egymás utáni metszeteket alkalmaztunk a különböző antitestek által kapott eredmények későbbi összehasonlítására. A vizsgálat során felnőtt és embrionális veséket is elemeztünk az antitest lokalizációs vizsgálatának céljából. TMA minták vizsgálata során 3-5 tű biopsziás mintát vizsgáltunk minden ESRD/ACRD asszociált tumor kapcsán.

1. **Táblázat.** Felhasznált antitestek

Antitest	Gyártó
anti-VDR, ab134826	Abcam, Cambridge, UK
anti-CYP27B1, EPR20271	Abcam, Cambridge UK
anti-CYP24A1, HPA022261	Sigma-Aldrich, St-Louis, MO, USA
anti IL6 PA1-26811	Thermo Fisher, Budapest, Hungary
anti-CSF2, TA808009	Origene, Rockville, MD, USA
anti-TGF β , PA1-26811	Thermo Fisher, Budapest, Hungary
anti- α SMA, ab124964	Abcam, Cambridge, UK
anti FAPa ab207178	Abcam, Cambridge, UK
anti-FN1, ab32419	Abcam, Cambridge, UK
anti-MMP12, NBP1-31225	Novus Biologicals, Littleton, CO, USA
anti-LAMA3 HPA009309	Sigma-Aldrich, Budapest, Hungary
anti-LAMB3 HPA008069	Sigma-Aldrich, Budapest, Hungary
anti-LAMC2 HPA024638	Sigma-Aldrich, Budapest, Hungary
anti-TXN, HPA055752	Atlas Antibodies, Bromma, Sweden
anti-TXNIP, EPR14774	Abcam, Cambridge, UK
anti HIF1a ab51608	Abcam, Cambridge, UK

Eredmények

Az ESRD/ACRD esetekre és tumoraikra vonatkozó részletes klinikai és szövettani adatokat az értekezés tartalmazza.

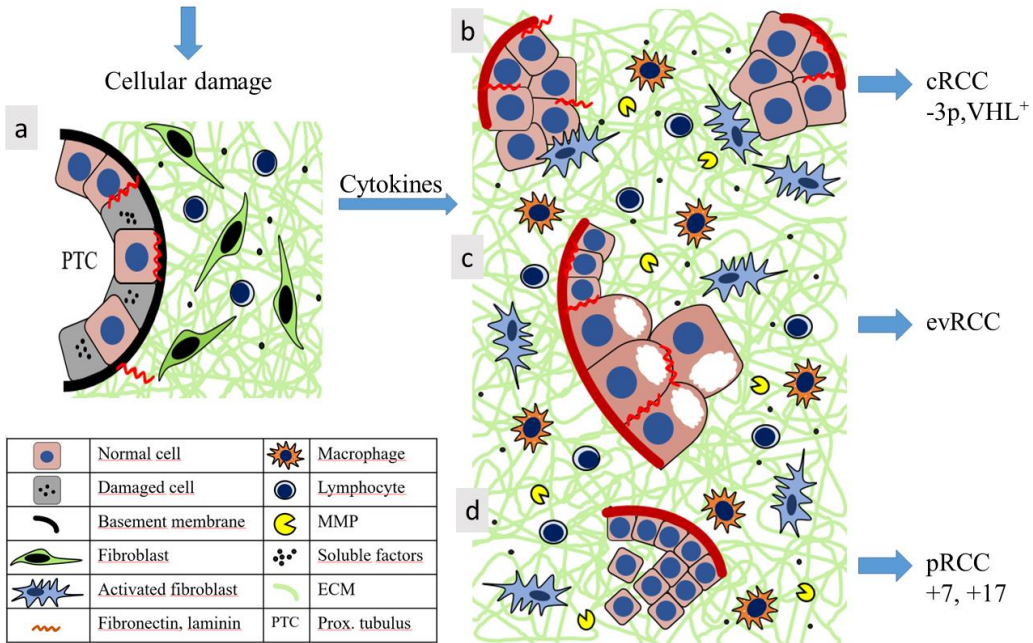
ESRD vese és fokozott tumorgenezis

Az ESRD vese szöveti képét az idült gyulladásos mikrokörnyezet dominálja, amelybe vagy cisztikusan átalakult vagy teljesen rendezetlen sejtcsoportokba tömörült epiteliális sejtek találhatóak. A gyulladásos mikrokörnyezetet jelentős részét az ECM és az ebben oldott növekedési faktorok, citokinek és proteinázok teszik ki. A gyulladásos mikrokörnyezetben számos sejtes elem fordul elő, mint aktivált fibroblasztok, immunsejtek, makrofágok, limfociták. A proliferáló endotelialis sejtek és periciták szintén a mikrokörnyezet részét képezik. Ezek a mezenhimális sejtek szoros kölcsönhatásban vannak az epiteliális sejtekkel. A citokinek folyamatos expressziója, az aktivált fibroblasztok állandó jelenléte, az ebből, valamint a beszűkült vérellátásból adódó oxidatív és metabolikus stressz és ennek következtében kialakult genetikai instabilitás jelentős szerepet játszik a vesetumorok kialakulásában. Ehhez járul az a tény, hogy maguk az epiteliális sejtek is jelentős átalakuláson mennek keresztül, mert működés hiányában átalakítják

citoszkeleton profiljukat és plasztikusabbá válnak. Ilyen körülmények között, a fokozott citokin és növekedési faktor termelése mellett nem váratlan az a megfigyelés, hogy az ESRD vese nem egy nyugvó, hanem egy jelentős sejtproliferációt mutató szerv.

Ha figyelembe vesszük a részletes szövettani és immunhisztokémiai elemzést és a génexpressziós ujjlenyomatból származó adatokat, a következő fejlődési utak rajzolódnak ki az ESRD/ACRD-ben kiinduló tumorok típusokra.

Oxydative, metabolic and toxic stress IME: tissue and ECM remodelling, RONS



A végstádiumú vese és a különböző tumorok kialakulásának a feltételezett patomechanizmusa.

Konvencionális veserák (cRCC). A fibrotikus gyulladással járó vese stromájában egy-két hámsejt vagy lazán összefüggő epitel sejtcsoportok fordulnak elő, amelyek valószínűleg a proximális tubulusok gyulladással, nekrotikus destruktív folyamatok után visszamaradt sejteknek felelnek meg. Ezeket a sejtcsoportokat nem veszi körül fénymikroszkópos szinten

felismerhető bazális membrán. Véleményünk szerint ezek a sejtek képezik a cRCC potenciális kiindulási alapját. A cRCC 95%-ára az egyik kromoszóma 3-as rövid karjának vesztese és mintegy 60%-ban a Von Hippel-Lindau (VHL) gén mutációja jellemző. Előzetes vizsgálatból tudjuk, hogy normál felnőtt vesében az embrionális fejlődés során történő fokozott mitotikus aktivitás miatt a 3p kromoszóma régió elvesztése, a VHL gén egy példányával nem ritka jelenség, így az ESRD vesében előforduló rendezetlen sejtcsoportok egy-egy sejtjében a kromoszóma 3p hiány előfordulása várható. A RONS magas koncentrációja VHL és/vagy Permeable reactive barrier myc box 1 (PRMB1) gének mutációját okozhatja. Amennyiben VHL mutáció egy kromoszóma-változást hordozó sejtben történik és ez a sejt a mikrokoznyezetben lévő fokozottan kifejeződő növekedési faktorok hatására proliferálni kezd, tumor alakulhat ki. Érdekes módon, az általános populációban (a VHL szindróma kivételével) nem mutattak ki prekursor elváltozásokat, de ESRD/ACRD vesékben, átlagban 3-4 mikroszkópos méretű világossejtes elváltozást fordul elő. Az a lelet is azt erősíti, hogy míg az átlag populációban a proximális tubulus sejtjei normál mikrokoznyezetben vannak, addig az

ESRD vesében a bazális membrán nélküli sejtcsoportok egy pro-tumorigén mikrokörnyezetbe ágyazottak.

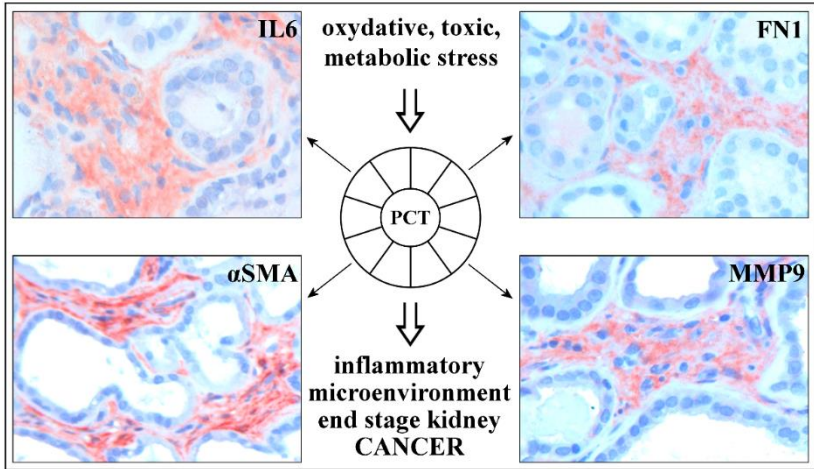
Az eosinofil vakuolizált vesetumor (evRCC) szinte kizárólag csak végstádiumú, ACRD vesékben fordul elő. Egy nagy, több intézményt lefedő vizsgálatban ACRD vesékben szinte minden második daganatot evRCC-ként diagnosztizáltak. Az evRCC előfordulása számos pre-neoplasztikus elváltozáshoz kapcsolódik, amelyek hasonló szövettani mintát mutatnak. Kisebb vagy nagyobb ciszták, nagy eozinofil vakuolizált sejtekkel bélelve kizárólag ACRD vesékben láthatók. Néhány cisztában átmenetet figyeltünk meg a kis köbsejtekből a nagy eozinofil vakuolizált sejtek felé. Véleményünk szerint az evRCC ACRD vesékben előforduló hasonló cisztákból származik.

Papilláris vesetumor (pRCC). Jelenleg is vita folyik a pRCC-k eredetéről a normál populációban, valamint az ESRD/ACRD vesében. Több mint 25 évvel ezelőtt azt javasolták, hogy a pRCC az élet folyamán fennmaradó, nem teljesen differenciált embrionális sejtekből származik. Ezt az elméletet erősíti, hogy minden normál populációban kialakuló pRCC átlagosan 42 nefrogén rest-szerű léziót hordoz és átlagosan 13 nefrogén rest-szerű lézió társul az ESRD/ACRD vesékben megfigyelt pRCC esetében. A kis papilláris

elváltozások/adenomák gyakoriságát az általános populációban Apitz már 1944-ben dokumentálta. Azt is javasolta, hogy az adenoma az embrionális vese differenciálódásának zavara miatt alakul ki, és a vese szklerózisa csak ezen elváltozások számát és nagyságát növeli. Az adatok alapján elmondható, hogy a szklerotikus ESRD vesében kimutatott papilláris elváltozások olyan embrionális nyugvó sejtekből alakulnak ki, amelyek az erős gyulladással mikrokörnyezet tumorigén hatására kezdtek növekedni. Az ESRD/ACRD vesékben előforduló pRCC-k túlnyomó többségének genetikai változásai hasonlóak az általános populációban az ESRD/ACRD-vel nem összefüggő pRCC-kben megfigyeltékhez.

Következtetések

Vizsgálatunk az ESRD/ACRD kialakulásához vezető patomechanizmus jobb megértését célozta. A vese teljes szerkezeti átépüléséhez és így a vese működés beszűküléséhez illetve teljes megszűnéséhez vezető irreverzibilis gyulladással mikrokörnyezet patomechanizmusát vizsgáltuk immunhisztológiával.



A végstadiumú vesében előforduló változások és tumorgenezis rövid összefoglalása.

a, A proximális tubulusok bármilyen okból, oxidatív, toxikus vagy metabolikus stressz miatt bekövetkezett károsodása elindít egy visszafordíthatatlan folyamatot, amelynek során kialakul egy gyulladós mikrokörnyezet.

b, Ennek fenntartásában jelentős szerepe van az IL-6 folyamatos kifejeződésének, de más citokinek, mint az IL-8, CSF2 és TGFB is részt vesznek a gyulladós mikrokörnyezet fenntartásában és az ECM átalakításában.

c, Az ECM celluláris komponensét nagy részben aktivált fibroblasztok és immunsejtek teszik ki. Az α SMA pozitív aktivált fibroblasztoknak fontos szerepe van az ECM fibrilláris részének képzésében és az epiteliális sejtekkel való állandó kommunikációban.

d, Az α SMA pozitív miofibroblasztok jelentős mennyiségű FN1-t termelnek. A fibronectin elengedhetetlen az ECM fibrilláris fehérje hálózatának összeállításában, beleértve a kollagént, fibrillint, fibrinogént, fibulint, integrint és trombospondint. Az aktivált fibroblasztok jelentős szerepet játszanak az ECM pro-tumorigén átalakításában is.

e, A MMP-ok mint az MMP9 és MMP12 kifejeződés jelentős szerepet játszik az ESRD/ACRD vesék átépülésében, a proliferáló epiteliális sejtek körüli ECM lebontásában és egyúttal a tumorok kialakulásában.

f, A fibrotikusan átépült vese és a benne fennmaradó hámsejtek CYP27B1 és VDR expressziójának jelentős csökkenése és így a D-vitamin protektív hatásának kiiktatása szintén hozzájárul a daganatok kialakulásához

g, A TXN/TXNIP redox rendszer károsodása összefügg az ESRD/ACRD vesében kialakult gyulladással. A TXN/TXNIP megváltozott kifejeződése az ESRD/ACRD-hez társuló evRCC-ban és ezek prekursor lézióiban az oxidatív-reduktív rendszer elváltozás oki szerepére utal.

A gyulladás és a daganatos megbetegedés fokozott kockázata közötti összefüggés az utóbbi időben jól dokumentált. Például vírusos hepatitis és a májrák, a *Helicobacter pylori* fertőzés és gyomorrák, a schistosomiasis és a húgyhólyag laphámrákja, vagy a humán papilloma vírus és a méhnyakrák kialakulása közötti kapcsolat ismert. Korábbi és jelen vizsgálataink alapján úgy véljük, hogy ezekhez a példákhoz hozzáadhatjuk az ESRD/ARCD-ben előforduló gyulladással mikrokörnyezet és a hozzá kapcsolódó gyakori daganatos megbetegedés közötti összefüggést. A tumor tulajdonképpen egy soha nem gyógyuló sebnek tekinthető. Az ESRD/ACRD vesében megfigyelt irreverzibilis, progrediáló gyulladással és fibrotikus folyamatot is egy soha nem gyógyuló sebnek felel meg, amely végül egy másik soha nem gyógyuló seb, egy daganat kialakulásához vezethet.

Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Kovács Gyulának, aki lehetőséget adott, hogy megalapozhassam kutatómunkámat. Megtiszteltetés számomra, hogy Vele dolgozhattam. Munkánk során mindvégig motivált, támogatót, tanított. Közös munkánk során megosztotta velem élete során szerzett tapasztalatait, mellyel jelentősen hozzájárult fejlődésemhez.

Köszönöm emellett a Pécsi Tudományegyetem Urológiai Klinikájának, hogy lehetővé tették számomra a tudományos munkát.

Köszönettel tartozom emellett a Debreceni Egyetem Urológiai Klinika orvoskollégáinak, akik tekintettel voltak a kutatómunka- és a dolgozat megírására fordított időmre.

Köszönöm a fent említettek mellett a Heidelbergi Molekuláris Onkológiai Labor munkatársainak, hogy korábbi munkájuk eredményeit felhasználhattam.

Nem utolsó sorban köszönettel tartozom családomnak és feleségemnek, akik megértésükkel, türelmükkel támogattak mindvégig.

Közlemények

Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények jegyzéke.

Janos Docs, Danial Banyai, Tibor Flasko, Arpad Szanto, Gyula Kovacs. Impaired Vitamin D Signaling Is Associated with Frequent Development of Renal Cell Tumor in End Stage Kidney. *Anticancer Res.* 2020; 40:6525-6530 **IF: 2.480**

Janos Docs, Daniel Banyai, Lehel Peterfi, Gyula Kovacs. The TXNIP/TXN redox system in remodelling of end stage kidney and development of renal cell tumour. *JCMM* (under review)

Janos Docs, Lilla Domonkos, Daniel Banyai, Gyula Kovacs. End stage kidney: a model of progressive inflammatory microenvironment and renal carcinogenesis. (in preparation)

Az értekezés témájához nem csatlakozó közlemények

Dócs János, Varga Attila, Farkas Antal, Bognár Csilla, Flaskó Tibor, Benyó Mátyás; Szervmegtartó műtét a here térfoglaló folyamata esetén. *Magyar Andrológia.* 2016; 2:39-42.

Dócs János, Flaskó Tibor, Molnár Zsuzsanna, Benyó Mátyás; A spermiumok monomorf morfológiai rendellenességei: macrozoospermia és globozoospermia. *Magyar Andrológia.* 2018; 3:75-79.

Dócs János, Flaskó Tibor, Takács Olívia Diána, Benyó Mátyás; A krónikus kismencedei fájdalom szindróma kivizsgálása, kezelése és andrológiai vonatkozásai. *Magyar Andrológia.* 2019; 2:53-56.

Berzi Csaba, **Dócs János**, Flaskó Tibor; A radikális prostatectomia előtt alkalmazott neoadjuváns hormonkezelés

hatékonysága szervre lokalizált magas rizikójú prosztataadaganatokban. Magyar Urológia. 2020; 32/2:53-57.

Berczi Csaba, **Dócs János**, Flaskó Tibor; Cytoreductiv radikális prostatectomiával szerzett tapasztalataink oligometastaticus prosztataadaganatok esetében. Orvosi hetilap. 2021; 162/13:483-487.

Az értekezés témájához nem csatlakozó előadások

Dócs János, Somogyi Tamás, Murányi Mihály, Flaskó Tibor; Az urothelialis rendszer teljes exstirpatioja multicentrikus transitiocelluláris carcinoma végső megoldásaként. P3; 31. Fűvészkereti Urológus Napok. 2018 Február 16-17. Budapest

Murányi Mihály, Kiss Zoltán, Somogyi Tamás, **Dócs János**, Flaskó Tibor; Metasztatikus adrenocorticalis carcinoma sikeres kezelése; P4; 31. Fűvészkereti Urológus Napok. 2018 Február 16-17. Budapest

Somogyi Tamás, **Dócs János**, Murányi Mihály, Flaskó Tibor; Kezdeti tapasztalataink az Arista AH vérzésesillapító por használatával; P19; 31. Fűvészkereti Urológus Napok. 2018 Február 16-17. Budapest

Dócs János, Flaskó Tibor, Kiss Zoltán, Varga Dániel; Multicentrikus transitiocelluláris carcinoma végső megoldásaként végzett teljes urothelialis rendszer exstirpatio; P4; A Magyar Uroonkológusok Társasága IX. Kongresszusa. 2018 május 25-26. Budapest

Mátyás Benyó, **János Dócs**, Márk Molnár, Gyula Drabik; Tibor Flaskó Andrological microsurgery at the University of Debrecen. P130 A-0070; 10th European Congress of Andrology; 11-13. October 2018 Budapest Hungary

Dócs János, Kiss Zoltán, Murányi Mihály, Flaskó Tibor;
Recidív pénisz stranguláció. Magyar Urológusok Társasága
XXXIII Kongresszusa. 2018 október 18-20. Budapest

Dócs János, Drabik Gyula, Szegedi Krisztián, Murányi Mihály,
Kiss Zoltán, Flaskó Tibor; BCG instilláció okozta hypersensitiv
pneumonia. P2; 32. Fűvészkerti Urológus Napok. 2019 Február
15-16. Budapest

Dócs János, Drabik Gyula, Szegedi Krisztián, Berczi Csaba,
Flaskó Tibor; Urothelialis carcinoma vesetranszplantált beteg
esetében. P3; A Magyar Uroonkológusok Társasága X.
Kongresszusa. 2019 Május 24-25. Budapest