

A neuregulin-1 (NRG-1) és a kisspeptin antagonistá peptide 234 (KP-234) hatásainak vizsgálata krónikus veseelégtelenség patkány modelljében

Az idült (krónikus) veseelégtelenség (KVE) egy összetett mechanizmusú betegség, amelynek előfordulási gyakorisága egyre nő világszerte. A vesefunkciók károsodása következtében bonyolult változások jönnek létre a szervezetben, számos szövödményt létrehozva. Ezek közül ki kell emelni a szív-érrendszer elváltozásait, mivel napjainkban a KVE-ben szenvedők leggyakrabban szív-érrendszeri szövödményekben halnak meg. A KVE kiváltotta szívkárosodás gyakran jelenik meg idült szívelégtelenség formájában a szívre szétszórta kiterjedő károsodásokkal: a szívizomsejtek mérete megnő a vérnyomásnövekedés ill. vízviisszatartás ellensúlyozására, majd idővel a kompenzációs mechanizmus kimerülésével a szívizomsejtek helyére hegszövet kerül. A KVE kiváltotta idült szívelégtelenség pontos mechanizmusa még nem teljesen feltérképezett. Ezért jelen projekt célja a KVE kiváltotta idült szívelégtelenség kifejlődésének a megértése új molekuláris mechanizmusok vizsgálatával, amelyek akár kezelési célpontok is lehetnek a későbbiekben. Célunk új ígéretes molekuláknak, a neuregulin-1-nek (NRG-1) ill. a kisspeptin antagonistá KP-234 peptideknek a tesztelése, amelyek mérsékelhetik a KVE kiváltotta idült szívelégtelenség kifejlődését. A kísérleteink elvégzéséhez 250-300 g tömegű, hím, ivarérett Wistar laborpatkányokat használunk, melyekben izoflurán gáznarkotikummal végzett altatásban két műtétben egy hét különbséggel távolítjuk el az állatok egyik veséjét ill. a másik vese 2/3-át az alsó ill. a felső pólus levágásával (5/6 veseeltávolítás) az idült (krónikus) veseelégtelenség létrehozására. A műtét egy ülésben nem végezhető, mivel a veseállomány 5/6-ának az egyszerre történő elvesztése heveny veseelégtelenséget okozna jelentős halálozással. A kontrollcsoport esetében altatásban álműtétet hajtunk végre, ahol csak a vesetokok kerülnek eltávolításra. Mindkét operációt követően a hasi sebet Povidon-jód oldattal fertőtlenítetjük, illetve az állatokat műtét utáni fájdalomcsillapításban 4 napig ill. antibiotikum kezelésben részesítjük a fertőzés elkerülésére. Idült veseelégtelenség modellünkben vesepótló kezelést még nem igénylő korai fázisát vizsgáljuk 10 hét követési idővel. A szív alakjának és működésének a megítélésére szívuultrahangos vizsgálatot végzünk valamennyi csoportban a 2., 5. ill. 9. követési heteken izoflurán gáznarkotikummal történő altatásban. A szívuultrahangos vizsgálat nem jár fájdalommal, az izoflurános altatásra az állatok mozdulatlanságának a biztosítása érdekében van csak szükség. A 2. és 5. követési heteken az szívuultrahangos vizsgálatot követően, de még az izoflurános altatás hatása alatt az állat lábának a szőrtelenítése után a nagy lábvénaából vért veszünk keringő idült veseelégtelenségre utaló paraméterek mérésére. A 10. követési hét első napján a kísérlet terminálása során pentobarbitálos altatást követően kerül sor a hasi aortából a vérvételre, keringő gyulladásos, szív- és vesekárosodásra utaló vérparaméterek meghatározásának a céljából. A 10. követési hét első napján a kísérlet terminálása során pentobarbitálos altatásban véres úton vérnyomást mérünk a nyaki artériába vezetett kanül segítségével, majd a hasi aortából való vérvételt követően kerül sor először a szív, majd a tüdő, a vese és tibia eltávolítására súly- ill. hossz mérés, valamint későbbi biokémiai (qRT-PCR, Western blot, ELISA) és szövettani vizsgálatok céljából. Összesen 65 db állat bevonását tervezzük. Az állatszám csökkentése érdekében előzetes elemszámbecslést végeztünk statisztikai program segítségével, hogy a lehető legalacsonyabbra csökkentjük a felhasznált állatok számát. Az állatokat ért ártalmak csillapítása érdekében szakképzett személyek végzik a munkafolyamatokat, az állatok életkörülményei és tartása optimális, biztosítjuk a fájdalomcsillapítást és az életfunkciók állandó követését és rögzítését. Az állatok kínjainak csökkentése érdekében humánus végpontot határozzunk meg, amihez a laborunkban egy pontozásos rendszert állítottunk fel. Ehhez 24-óránként felmérjük az állatok általános állapotát (szőrzet

állapota, testtartás, aktivitás), nézzük a megrezzenési reakciót, és mérjük a testhőmérsékletet, valamint az állatok súlyát. Mindegyik felmért állapotra 0-tól 2-ig terjedő pontszámot adunk (2 a legsúlyosabb állapotot jelöli) és a pontszámokat összesítjük. Amikor az összesített pontszám eléri a 8-at és a megrezzenési reakcióra sem kapunk választ, vagy ha a testhőmérsékletük 30°C alá lecsökken, akkor az állatok az életét a kísérlet vége előtt, kíméletesen kioltjuk pentobarbitallal történő túlaltatással. Az élő állaton végzett kísérletet ebben a modellben nem tudjuk helyettesíteni egyéb modellel. Azonban az ártalom-haszon arányt elemezve megállapíthatjuk, hogy a kísérleti állatok felhasználása árán hasznos előrelépést tehetünk az idült veseelégtelenség talaján kialakult szívelégtelenségben szenvedő betegek szív-és érrendszeri szövődeményeinek a mérséklése és jövőbeli kezelése érdekében.