



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

lek. med. Krzysztof Dosekoc

Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego
Katedra i Zakład Medycyny Rodzinnej
Akademii Medycznej we Wrocławiu

**Stężenia wybranych czynników proangiogennych w surowicy pacjentów
hemodializowanych z i bez choroby nowotworowej oraz po przeszczepie nerki**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor:

prof. dr hab. n. med. Andrzej Steciwko

Katedra i Zakład Medycyny Rodzinnej
Akademii Medycznej we Wrocławiu

Recenzenci:

prof. dr hab. n. med. Ewa Żukowska-Szczołowska

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

prof. dr hab. n. med. Danuta Zwolińska

Katedra i Klinika Nefrologii Pediatricznej
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wrocław

15 lutego 2013

Krzysztof Duskocz

CURICULUM VITAE

DANE PERSONALNE:

Imię i Nazwisko: Krzysztof Duskocz

Data i miejsce urodzenia: 24.04.1969r. Nysa

WYKSZTAŁCENIE:

1988-1994 Studia na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ukończone uzyskaniem tytułu lekarza.

DZIAŁALNOŚĆ ZAWODOWA:

X 1994 – X 1995 Staż podyplomowy w Dolnośląskim Centrum Onkologii.

X 1995 – X 2001 Młodszy, a następnie starszy asystent Oddziału Wewnętrznego Szpitala Publicznego w Nysie.

VIII 1996 – X 2001 Kierownik Działu Medycznego Zakładu Karnego w Nysie.

XI 2001 – IX 2004 Ordynator Stacji Dializ Szpitala Publicznego w Nysie.

IX 2004 – nadal Kierownik, a następnie Dyrektor Medyczny NZOZ „Diaverum” Stacji Dializ w Nysie, poza tym od 2004 stale pracujący w poradni nefrologicznej, a od początku działalności lekarskiej również w praktyce lekarza rodzinnego.

SPECJALIZACJE

III 1998 – Pierwszy stopień specjalizacji z chorób wewnętrznych.

XI 2011 - Drugi stopień specjalizacji z chorób wewnętrznych.

XI 2006 - Nefrologia.

KURSY I CERTYFIKATY:

- Udział w licznych kursach usg w tym usg Doppler w Dolnośląskiej Szkole Ultrasonografii i Roztoczańskiej Szkole Ultrasonografii.
 - Certyfikaty Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego w zakresie w badań usg i usg Doppler.
 - Udział w kursach EKG.
 - Udział w licznych kursach krajowych i zagranicznych (ERA-EDTA) w dziedzinie nefrologii: Kopenhaga 2002, Berlin 2003, Istambuł 2005, Sztokholm 2008, Mediolan 2009.
 - Certyfikat z akupunktury.
-

DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWA:**2009-2012**Autor 3 publikacji

1. STRESZCZENIE

Choroby nowotworowe znacznie częściej występują w populacji pacjentów leczonych nerkozastępczo. W dalszym rozwoju tych chorób szczególną i najprawdopodobniej zasadniczą rolę odgrywa neoangiogeneza. W ostatnich latach udowodniono istotny wpływ na ten proces takich czynników proangiogennych jak naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) oraz angiopoetyna 1 i 2 (ANG-1 i ANG-2) – ocenianych w tym badaniu. W wielu badaniach wykazano związek nasilenia angiogenezy z rozwojem choroby nowotworowej i gorszym rokowaniem. Ponadto w wielu stanach chorobowych takich jak np.: astma oskrzelowa, reumatoidalne zapalenie stawów, wrzodziejące zapalenie jelita grubego czy zwyrodnienie płamki żółtej stwierdzono zaburzenia angiogenezy. Z kolei możliwość wpływania na jej przebieg stwarza nowe perspektywy terapeutyczne nie tylko w onkologii, ale również w kardiologii, okulistyce, alergologii i innych dziedzinach medycyny. Pacjenci ze schyłkową niewydolnością nerek poddawani hemodializoterapii, a szczególnie chorzy po transplantacji nerki stanowią specyficzną grupę chorych o zdecydowanie podwyższonym (3,7 krotnym u chorych hemodializowanych poniżej 35 r.ż.) ryzyku rozwoju choroby nowotworowej. Nadal nie wyjaśniono przyczyn tego zjawiska. Wiąże się je przede wszystkim z upośledzeniem funkcji układu odpornościowego, jak również dodatkowo częstszym współwystępowaniem zakażeń wirusowych. U chorych po transplantacji nerki dodatkowy i istotny wpływ wywiera rodzaj stosowanej immunosupresji. Po przeszczepie nerki istnieje marginalnie niskie ryzyko transmisji nowotworu od dawcy do gospodarza. Nowotwór u nich może powstać także „de novo”, możliwe jest nawracanie wcześniej leczonego procesu nowotworowego i niewykluczone uaktywnienie tzw. „zmian drzemiących”. Dodatkowym, istotnym problemem medycznym, szczególnie u chorych hemodializowanych w przypadku wystąpienia choroby nowotworowej, jest niechętna kwalifikacja tej grupy chorych do chemioterapii. Ponieważ istnieją badania przyżyciowe wskazujące na ubytek mikrokrążenia u chorych hemodializowanych, a dodatkowo dochodzi także do kumulacji różnych toksyn, dlatego właśnie u nich interesująca powinna być ocena stężeń czynników proangiogennych. Ponadto pacjenci z chorobą nowotworową i wydolnymi nerkami często prezentują odmienne od osób zdrowych stężenia czynników proangiogennych, dlatego szczególnie ciekawe może być badanie stężeń tych czynników wśród chorych hemodializowanych z dodatkowo współistniejącą chorobą nowotworową. Nikt dotychczas nie zgłębiał tego zagadnienia. W ostatnich latach zidentyfikowano wiele czynników odpowiedzialnych za stymulację i hamowanie angiogenezy. Poza dobrze już poznanym i opisanym naczyniowo-śródbłonkowym czynnikiem wzrostu (VEGF) zaangażowanym w inicjację angiogenezy niedawno odkryto również inne czynniki odpowiedzialne za dalsze etapy angiogenezy do których należą angiopoetyny: 1 i 2 (ANG-1 i ANG-2). Należy zdawać sobie sprawę z faktu, że w proces powstawania nowych naczyń poza czynnikami proangiogennymi zaangażowane są również: macierz pozakomórkowa, białka adhezyjne, mikrocząsteczki, progenitorowe komórki śródbłonka, układ krzepnięcia, chemokiny i być może inne nie znane nam jeszcze składniki.

Celem głównym tej pracy było:

- Ocena stężeń wybranych czynników proangiogennych ANG-1, ANG-2, VEGF w badanych grupach.
- Ustalenie czy istnieją różnice w zakresie stężeń badanych czynników proangiogennych pomiędzy grupami.
- Ustalenie czy istnieją korelacje pomiędzy badanymi czynnikami w obrębie poszczególnych grup.
- Ustalenie czy przeszczep nerki wpływa na stężenia ANG-1, ANG-2 i VEGF.

Cele dodatkowe:

- Ustalenie czy istnieje zależność pomiędzy typowymi wykładnikami stanu zapalnego takimi jak CRP i leukocytoza, a badanymi czynnikami proangiogennymi.
- Ustalenie czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem hemoglobiny, ferrytyny oraz ilością płytek, a badanymi czynnikami proangiogennymi.

Materiał i metody: badaniem objęto grupę 144 osób. Planując badanie zakładano utworzenie pięciu niejednorodnych grup: I - KTR – grupa kontrolna potencjalnie zdrowych osób (n=40; 31 kobiet i 9 mężczyzn) w wieku 40,6±11,2 lat; II - NPL – grupa chorych z chorobą nowotworową (guzy lite) i wydolnymi nerkami (n=26; 18 kobiet i 8 mężczyzn) w wieku 55,4±10 lat; III - HD – grupa chorych hemodializowanych bez choroby nowotworowej (n=39; 11 kobiet i 28 mężczyzn) w wieku 63,3±13 lat; IV - HD+NPL – grupa chorych hemodializowanych ze współistniejącą chorobą nowotworową (n=14; 4 kobiety i 10 mężczyzn) w wieku 65,5±11,1 lat; V - KTX – grupa chorych po udanym przeszczepie nerki (n=25; 8 kobiet i 17 mężczyzn) w wieku 50,1±10,2 lat.

Jako materiał diagnostyczny celem wykonania oznaczeń głównych i dodatkowych wybrano surowicę. Oznaczenia główne w zakresie VEGF, ANG-1, ANG-2 wykonano używając do tego celu zakupionych testów

immunologicznych ELISA firmy R&D systems, Inc. oznaczonych odpowiednio DVE00, DANG10, DANG20, i przeznaczonych do oceny poziomu tych czynników w surowicy, plazmie i supernatancie komórkowym.

W przypadku odczynnika przeznaczonego do oznaczeń VEGF użyto typu testu detekującego izoformę VEGF – A (165), jako najaktywniejszą biologicznie i najszerszej reprezentowaną w ustroju ludzkim oraz najczęściej używaną przez badaczy do tego typu oznaczeń.

Dodatkowo wszystkim uczestnikom badania oznaczono stężenia: CRP, ferrytyny, hemoglobiny i glukozy oraz ilość leukocytów i płytek krwi, a także wykonano testy na obecność zakażeń wirusami hepatotropowym typu B i C (HBs antygen i HCV przeciwciała). Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej. Obliczenia statystyczne były dokonywane w programie Statistica 9.1 oraz MS Excel 2007.

Wyniki (wybrane):

1. Stężenie ANG-2 wzrasta kilkakrotnie wśród chorych hemodializowanych (grupa HD), najsilniej u tych z towarzyszącą chorobą nowotworową (grupa HD+NPL) z tendencją do normalizacji po udanym przeszczepie nerki (grupa KTX). Z kolei u chorych onkologicznych z wydolnymi nerkami wzrost jej stężeń nie osiągnął poziomu istotności statystycznej (grupa NPL).

2. Stężenia ANG-1 uległy znacznemu i statystycznie istotnemu obniżeniu w grupie hemodializowanych (grupa HD), ale nie u tych z towarzyszącą chorobą nowotworową (grupa HD+NPL). W pozostałych grupach (grupy: NPL i KTX) stężenia ANG-1 również pozostawały obniżone, nawet po przeszczepie nerki.

3. Najwyższe stężenia VEGF odnotowano w grupie hemodializowanych z chorobą nowotworową (grupa HD+NPL), a najniższe w grupach: hemodializowanych bez nowotworu i kontrolnej (grupy HD i KTR) i tylko pomiędzy hemodializowanymi z i bez choroby nowotworowej (grupy HD+NPL i HD) wykazano różnice istotne statystycznie.

Istotne było stwierdzenie, że ilość płytek dodatkowo korelowała ze stężeniem ANG-1 najsilniej wśród hemodializowanych (grupa HD), następnie w grupach: kontrolnej (KTR) oraz u chorych z chorobą nowotworową i prawidłową funkcją nerek (NPL). Wykazano wpływ stanu zapalnego na podwyższenie stężeń ANG-2 u chorych hemodializowanych z i bez choroby nowotworowej (grupy: HD i HD+NPL), a także addytywny wpływ hemodializy i choroby nowotworowej na stężenia ANG-2 oraz efekt interakcji hemodializy i choroby nowotworowej na stężenia VEGF.

Wnioski. Na podstawie wykonanych badań sformułowano następujące wnioski:

1. U wszystkich chorych hemodializowanych, tych z chorobą nowotworową jak i bez (grupy: HD+NPL i HD), znacznie wzrasta stężenie ANG-2. Najsilniej poziom ANG-2 wzrasta u chorych hemodializowanych ze współistniejącą chorobą nowotworową (grupa HD+NPL) i wynika to z addytywnego wpływu hemodializy i choroby nowotworowej.

2. Stężenie ANG-1 we wszystkich badanych grupach poza grupą hemodializowanych z chorobą nowotworową (grupa HD+NPL) ulega obniżeniu, a najniższy poziom występuje wśród hemodializowanych bez choroby nowotworowej (grupa HD).

3. Po udanym przeszczepie nerki podwyższone stężenia ANG-2 u hemodializowanych (grupa HD) ulegają normalizacji, a stężenia ANG-1 nadal pozostają obniżone, poziom VEGF pozostaje bez zmian.

4. We wszystkich badanych grupach dochodzi do zmian stosunku stężeń ANG-1/ANG-2 na korzyść ANG-2 w odniesieniu do grupy kontrolnej. Zmiany te najwyraźniej występują wśród wszystkich hemodializowanych, a szczególnie przy współistnieniu choroby nowotworowej (grupa HD+NPL).

5. Stężenia VEGF wzrastają jedynie w grupie chorych hemodializowanych ze współistniejącą chorobą nowotworową (grupa HD+NPL) w porównaniu do hemodializowanych bez choroby nowotworowej (grupa HD). Dodatkowo u chorych hemodializowanych ze współistniejącą chorobą nowotworową (grupa HD+NPL) występuje bardzo silna dodatnia korelacja pomiędzy stężeniami VEGF i ANG-1.

6. ANG-2 może być czułym marker uszkodzenia śródbłonna jak również stanu zapalnego przewyższającym swą mocą diagnostyczną CRP, co wymaga potwierdzenia w dalszych badaniach.

7. Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy ilością płytek krwi, a poziomem ANG-1 szczególnie silna i istotna statystycznie w grupach: kontrolnej (KTR), hemodializowanych bez choroby nowotworowej (HD) i w grupie z chorobą nowotworową oraz dobrą funkcją nerek (NPL).

8. Stan zapalny wśród hemodializowanych z i bez choroby nowotworowej (grupy HD+NPL i HD) wpływa na podwyższenie stężeń ANG-2, nie wpływa na stężenia ANG-1 i VEGF.

9. Stężenie CRP dodatnio korelowało ze stężeniem ferrytyny u chorych hemodializowanych z chorobą nowotworową (grupa HD+NPL) oraz z ilością leukocytów u badanych z chorobą nowotworową i dobrą funkcją nerek (grupa NPL), a także u chorych po przeszczepie nerki (grupa KTX).

10. Nie wykazano silnych zależności pomiędzy stężeniem hemoglobiny, ferrytyny i ocenianymi czynnikami proangiogennymi: ANG-1, ANG-2, VEGF.