

**A PERINATALIS IDŐSZAK VÍZ- ÉS ELEKTROLYTFORGALMÁNAK,
VALAMINT AZ ÚJSZÜLÖTTEK UROGENITALIS TRACTUSÁNAK
ÁLLATKÍSÉRLETES ÉS KLINIKAI VIZSGÁLATA**

Dr Nyul Zoltán

**Baranya Megyei Kórház
„Kerpel-Fronius Ödön”
Gyermek-Egészségügyi Központ**

PhD értekezés tézisei

Doktori iskola vezetője:	Prof Dr Bódis József
Programvezető:	Prof. Dr. Sulyok Endre
Témavezető:	Prof. Dr. Sulyok Endre
Doktori Iskola:	PTE ETK Egészségtudományi Doktori Iskola P-3/C-4 program

Pécs, 2007

1 Bevezetés

A koraszülések gyakoriságának csökkentésére irányuló eredményes szülészeti törekvések mellett a csecsemőhalálozás javításában fontos szerepe van azoknak az erőfeszítéseknek, melyeket a gyermekgyógyászok az újszülöttek élettani sajátosságainak megismerésére, az újszülöttkori patológiás állapotok kórtanának tisztázására és a kóros állapotok megelőzésére és kezelésére végeznek. Ezen törekvések eredményeképp az utóbbi évtizedekben a koraszülöttek és ezen belül is az igen kis súlyú koraszülöttek neonatológiai ellátásában igen jelentős haladás történt.

A Pécsi Orvostudományi Egyetemen kiemelkedő hagyományai vannak az újszülöttkori sav-bázis egyensúly szabályozása és ehhez kapcsolódóan az elektrolitforgalmi zavarok kutatásának. E vizsgálatok eredményeképp sikerült feltárni az újszülöttkori elektrolitforgalom renális és endokrin szabályozásának legfontosabb elemeit, a sav-bázis egyensúly és az elektrolitháztartás sajátos kapcsolatát és az érés során bekövetkező változásokat.

A vizsgálatok igazolták, hogy alacsony súlyú koraszülöttekben élettani körülmények között is renális sóvesztés következik be, melynek eredményeképp negatív nátrium egyenleg és a plazma nátrium koncentrációjának csökkenése, az úgynevezett „késői hyponatraemia” alakul ki. Az egészséges koraszülöttekben azonos életkorban kialakuló késői hyponatraemia és metabolikus acidosis hátterében az elégtelen renális H^+ - Na^+ csere pathogenetikai szerepét igazolták és elsőként mutatták ki, hogy $NaCl$ szupplementálással az elektrolitforgalom átmeneti, de a koraszülöttek marginális szomatikus stabilitását jelző zavara megelőzhető, illetve korrigálható.

2 Célkitűzések

Az értekezésben összefoglalt vizsgálatainkkal az endogén ouabain-szerű anyag neonatális elektrolitforgalmi jelentőségét, a tüdő és az agyszövet fizikai víztartalmának perinatális változásait valamint a renális AQP-2 ürítés és az újszülött vese koncentráló képessége közötti kapcsolatot kívántuk tisztázni. Különös figyelmet fordítottunk annak megismerésére is, hogy a húgyutak normális működésének fenntartásában milyen szerepet játszanak azok az autokrin/parakrin módon ható vasoaktív anyagok, melyek expressziója az egészséges ureterben kimutatható (endothelin-1, adrenomedullin, nitrogén monoxid, neuropeptid-Y). Vizsgálatainkat modern laboratóriumi módszerek felhasználásával (RIA, HPLC, 1H -NMR spectroscopia, real-time PCR, immunohistochemia) széleskörű hazai és nemzetközi együttműködésben végeztük.

Eredményeink hozzájárulhatnak a perinatális időszak élettani folyamatainak és kóros történéseinek teljesebb megismeréséhez és alapjául szolgálhatnak a korábbiaknál eredményesebb terápiás eljárások bevezetésének. Az ureterben kimutatható vasoaktív hormonok kvantitatív analízisével a

húgyúti fejlődési rendellenességek kialakulásának mechanizmusához és a későbbi oki kezelés megtervezéséhez nyújthatunk hasznos információt.

3 Anyag és módszer

Az endogén ouabain-szerű anyag renális kiválasztása NaCl szupplementált koraszülöttekben

A NaCl szupplementációban részesülő csoport /átlagos születési súly: 1578g (1280-1750g), gestatis kor: 30,4 hét (29-33 hét)/ és a kontroll csoport /átlagos születési súly: 1537g (1250-1810g), gestatis kor: 30,8 hét (28-34 hét)/ egyaránt 9-9 fiú újszülöttet foglalt magában. A NaCl szupplementáció protokollja szerint a vizsgált koraszülöttek a 8-21 nap között 3-5 mmol/kg/nap, 22-35 napos korban 1.5- 2.5 mmol/kg/nap NaCl-ot kaptak. A kontroll csoport NaCl szupplementációban nem részesült. Táplálásuk gyűjtött anyatejjel történt, a második hét végére a napi folyadékbevitel 150-180ml/kg-ig emelkedett. Valamennyi koraszülött zavartalan terhességből, per vias naturales, jó állapotban született; perinatalis asphyxia, infectio vagy cardiopulmonalis distress klinikai vagy laboratóriumi jelei nem voltak észlelhetők és a vizsgálatsorozat egész tartama alatt tünetmentes maradt. A vizsgálat etikai bizottsági hozzájárulás és minden újszülöttnél tájékoztatást követő szülői beleegyezés birtokában történt.

A vizsgált koraszülötteknél a 7. életnapon, majd 5 hetes életkorig hetente 24h-s vizeletgyűjtés történt és a gyűjtött mintából meghatározásra került a renális Na, K (lángfotometria), kreatinin (módosított Jaffé-reakció) valamint ouabain (RIA, HPLC) koncentráció. Folyamatosan ellenőriztük a plasma elektrolitok szinteket is. A statisztikai analízis során az ugyanazon alanyok ouabain excretiójának belül időbeni eltéréseinek elemzéséhez egymintás párosított, a szupplementált és a kontroll csoport összehasonlítására kétmintás t-próbát alkalmaztunk.

A tüdő és az agyszövet víztartalmának H^1 -NMR relaxációs vizsgálata foetalis és neonatalis nyulakban

A vizsgálatot 25 (n=17), 27 (n=14), 29 (n=17) és 31 (n=12) napos gestatis korú, electiv sectio caesareával született Pannon fehér nyúlfoetusokon végeztük. A kísérlet másik csoportját 18, terminusra (31 nap) született, 4 napos postnatalis korú nyúl képezte. Az állatokat letális dózisu subcutan pentobarbitállal elaltattuk, majd az összes víztartalom meghatározás, NMR relaxatio idő és szöveti hyaluronan (HA)-mérés céljából agymintákat illetve tüdő szövetmintákat nyertünk. A vizeterekben lezajló postmortem változások elkerülése céljából az NMR vizsgálatot közvetlenül az állatok leölését követően végeztük, a HA meghatározásig a mintákat -70°C-ra fagyasztva tartottuk.

A hyaluronsav meghatározás céljából a szövetmintákat súlymérés után lefagyasztottuk és fagyasztva-szártottuk 72h-n át. Az ismételt súlymérés után a víztartalmat nedves/száraz súly hányadosaként határoztuk meg. A száraz szövetmintát 2.5 U/ml puffer oldatban (0.05 M Tris aminomethan, 0.01 M CaCl₂, pH 7.2) pronase-val (protease p-5147, streptomyces griseus, Sigma, St Luis) kezeltük. Az enzimet 1 U/10mg szövet koncentrációban alkalmaztuk. Az enzimkezelés leállítása 10 perces, 100°C-os vízfürdővel történt, majd a HA tartalmat radiometriás assay kit (HA 50, Pharmacia, Uppsala, Svédország) segítségével határoztuk meg.

NMR spectroscopia előkészítésére a 200 mg súlyú szövetmintákat 5 mm átmérőjű NMR üvegcsővekbe helyezve 40°C-on 5 percig inkubáltuk. A mágneses rezonancia vizsgálat (MRS) komputerizált Bruker Minispec PC 140 hordozható 0.96 T-s (40MHz) MR spectroscoppal történt. 180° és 90° pulzusok között 8 különböző mérést végezve került meghatározásra a T₁ relaxatio idő. Az ismétlési időt a T₁ 5-szörösének tekintettük. A T₂ relaxatio időt a Carr-Purcell-Meiboom-Gill sequencia használatával nyertük; 1000, 1 ms idejű echo alkalmazásával. Mindegyik pontot 5 mérés átlaga képezte. Az adatok tárolása és analysise PC-n történt, a szöveti vízfракciók mobilitásuk szerinti mennyiségi meghatározására a T₂ relaxatio görbék multiexponenciális analysisét alkalmaztuk, a nem lineáris legkisebb négyzetek módszerének felhasználásával. A szabad inductioju proton relaxatio exponenciális mintát mutat. Amennyiben a vizsgált szövetminta különböző relaxatio hányadossal rendelkező, egymástól független víztereket tartalmaz, ezen függvény multiexponenciális egyenlettel leírható. A (T₂₁ és T₂₂ relaxatio görbével jellemzett) kötött és szabad vízkompartmentek meghatározására biexponentialis illesztést használtunk.

Pyeloureteralis obstrukcióval született gyermekek stenoticus ureterszakaszainak vizsgálata

Congenitalis pelviureteralis stenosis miatt, Anderson-Hynes szerint műtött 8 gyermek /átlagéletkor: 4,1 év (6 hét-12 év)/ stenoticus ureterszakaszai képezték a vizsgálati mintát. A diagnosis a radiológai, scintigraphiai leletekre alapult. Kontrollszövetként tumor nephrectomián /n:7, átlagéletkor: 73 év (56-84 év)/ vagy hólyagtumor resection áttesett felnőtt páciensek uretermintái szolgáltak. A szövetmintákat közvetlenül a kimetszés után folyékony nitrogénben lefagyasztottuk és a feldolgozásig -70°C-on tároltuk.

A génexpressziós vizsgálatok céljából RNA-zol kit használatával (WAK Chemie, Medical GmbH, Bad Homburg, GFR) a szövetmintákból total RNS-t izoláltunk, majd spectrophotographiával meghatároztuk a koncentrációjukat. Az így nyert RNS 2pg-ját 40 ul volumenű elegyben 39°C-on 60 percig reverse transcriptionnak vetettük alá. A génexpresszió monitorizálására real-time PCR analízist használtunk. Mértük a NPY, az endothelin-1, a közelmúltban felfedezett, simaizomrelaxáns hatással rendelkező adrenomedullin (AM), valamint a különböző nitrogén-monoxid synthase izoformok, a neuronális (nNOS), endothelialis (eNOS) és indukálható (iNOS)

génjének mRNS expresszióját. Kontrollként glyceraldehyd-3-phosphat dehydrogenase (GAPDH), CD31, simaizom-actin (Smactin) és a neuronális marker protein gén termék 9.5 (PGP) housekeeping gének szolgáltak. Külső referenciaként a target-gén PCR termékének sorozathígítása szolgált. A vizsgált célszekvenciákhoz (target) a Primer Express (Perkin Elmer) program segítségével választottunk oligonucleotidokat, azonos PCR kondíciókat eredményező paraméterek beállításával.

Vizelet aquaporin-2 kiválasztás koraszülött és érett újszülöttekben

A vizsgálati csoportokat per vias naturales született 5 egészséges koraszülött (átlagos gestatio kor 30.6 hét /30-32/; átlagos születési súly: 1570g /1480-1670/) és terminusra született 9 egészséges újszülött (átlagos gestatio kor 39.2 hét /37-40/; átlagos születési súly: 3218g /2760-4270/) képezte. Mindkét csoport újszülöttjeinek testsúlya a gestatio korra számított 10-es és 90-es percentil közé esett. A gestatio időtartam meghatározása az UH- vizsgálattal megerősített anyai menstruációs anamnesisen illetve a megszületést követően vizsgált érettségi jeleken (Dubowitz-score) alapult. Minden esetben az 1 perces Apgar érték 7-nél magasabb volt, a cardiorespiratoricus adaptatio zavartalan volt és a perinatalis időszak eseménytelenül zajlott. Az édesanyák normál étrendet kaptak, nem részesültek diureticus terápiában, kórelőzményükben nem szerepelt renalis vagy cardiovascularis megbetegedés. Az érett újszülöttek vizsgálatára az 1., 3. és 5. életnapon került sor, 62ml/kg, 86ml/kg és 116ml/kg megfelelő napi folyadékbevitel biztosítása céljából 5%-os glucose oldattal kiegészített anyatejes táplálás mellett. A koraszülött újszülöttek a vizsgálatsorozatban a 7. életnapon majd hetente 6 hetes korig vettek részt. A napi folyadékbevitel (158-195ml/kg) eléréséhez az anyatejes táplálás kiegészítésére szintén 5%-os glucose oldatot kaptak. A vizsgálat során mindkét csoport alanyaitól osmolalitas, kreatinin és AQP-2 meghatározás céljából az utolsó táplálást követően 3-4 h-val reggeli vizeletmintavételre került sor.

A vizelet osmolalitas Knauer osmometerrel, a kreatinin mérése módosított Jaffé módszer szerint történt. A vizelet aquaporin-2 (AQP-2) szint meghatározását magas szenzitivitású radioimmunoassay-val végeztük. A statisztikai értékeléshez Mann-Whitney tesztet használtunk.

Az endogén ouabain-szerű anyag renális kiválasztása NaCl szupplementált koraszülöttekben

Alacsony sóbevitel esetében negatív Na egyensúly alakult ki a 4. hét végére, melyet a plasma Na-szint szignifikáns esése és folyamatosan csökkenő excretio jelzett. Ezzel szemben, a NaCl szupplementációban részesülő koraszülött újszülöttek plasma Na szintje a normál tartományban maradt, ugyanakkor a Na excretio fokozódott.

A szupplementációt megelőzően mindkét vizsgálati csoportban hasonló ouabain excretiót észleltünk. A kontrollcsoportban a vizelet ouabain az 1. héten mért 180 ± 9.7 pg/kg/h-ról szignifikánsan emelkedett a 3. héten regisztrált 260.1 ± 11 pg/kg/h-ig ($p < 0.01$), ezt követően azonban ezen a szinten maradt. A sóbevitel növelése a vizelet ouabain ürítés jelzett, de nem szignifikáns csökkenésével járt az első két héten (146 ± 16.8 pg/kg/h az 1. héten és 92.1 ± 16.6 pg/kg/h a 2. héten); a vizsgálat későbbi szakaszaiban további változásokat nem észleltünk. Szignifikánsan eltérő ouabain ürítés ($p < 0.001$) mutatkozott a 2- 5. között a két vizsgált csoportban.

A fenti megfigyelésekhez hasonlóan bizonyultak a kreatininre korrigált ouabain excretio postnatalis változásai is és a 2-5 hét közötti intervallumban hasonlóképpen szignifikánsan magasabb értékeket ($p < 0.001$) találtunk a NaCl szupplementációban nem részesült koraszülöttek esetében. Míg alacsony sóbevitel mellett a ouabain és a Na-excretio között összefüggés nem volt észlelhető, a NaCl szupplementációban részesülő koraszülöttek esetében a két paraméter szoros korrelációt mutatott ($r = 0.66$, $p < 0.001$).

Az agy és a tüdőszövet víztartalmának ^1H -NMR relaxációs vizsgálata foetalis és neonatalis nyulakban

A gestatio előrehaladtával a nedves/száraz súly hányadossal jellemzett agyszöveti víztartalomban fokozatos, lassú csökkenést regisztráltunk a kezdeti, 25. napon mért 9.6 ± 0.3 -tól a 9.3 ± 0.2 (27. nap, $p < 0.01$), 9.2 ± 0.2 (29. nap, $p < 0.001$), 9.1 ± 0.3 (31. nap, $p < 0.001$) értékekig, melyet a 4. postnatalis napon mért 8.7 ± 0.3 -as ($p < 0.001$) kifejezett esés követett. A T_1 , T_2 relaxációs idők hasonló trendet mutattak; a T_1 1524 ± 101 ms és 1494 ± 50 ms között változott a foetalis periódusban, majd 1382 ± 84 ms-ra csökkent postnatalisan ($p < 0.001$). A T_2 relaxációs idő postnatalis esését (200.6 ± 7.1 ms, $p < 0.001$) azonban már a 25-29. gestációs naphoz képest (229 ± 10.4 ms - 233 ± 7.1 ms) a 31. napon (220 ± 21.9 ms) megfigyelhető szignifikáns csökkenés vezette be ($p < 0.05$).

A T_2 relaxációs görbe biexponenciális elemzése lehetővé teszi a kötött és szabad vízfrakciókat jellemző gyors (T_{21}) illetve lassú (T_{22}) komponensekre való bontást. A T_{21} a gestációs idővel

párhuzamosan emelkedett 102.4±40.6 ms-ról (25. nap) 135.5±64.3 ms-ig (31. nap), amit 92.6±28.8 ms-ra (4. nap) történő postnatalis csökkenés követett. A T_{22} a 25. napon mért 234.2±9.7 ms-os értékről a 29. napig 293.4±130.9 ms-ig emelkedett, majd folyamatos csökkenést mutatott a 224.2±19.2 ms-os (31. nap, $p<0.001$) és 206.0±8.4 ms-os (postnatalis 4. nap, $p<0.001$) értékekig. Ennek eredményeképp, a T_{21} relaxációs komponenssel reprezentált kötött vízfrakció a 25. napon a teljes agyszöveti víztartalom 4.4±1.8%-át tette ki, majd a 29. napon elérve a 19.3±26.2%-os maximális értéket ($p<0.01$) fokozatosan süllyedt 6.8±8.0%-ig (31. nap) illetve 4.6±5.3%-ig (postnatalis 4. nap, $p<0.05$). Miközben az agyszövet teljes víztartalma a gestációs időszakban a 29-31. nap között mindössze 0.8%-kal mérséklődött, az ennek megfelelő T_2 relaxációs idő csökkenése 4.6%-os volt. A T_{21} -ből származtatott kötött vízfrakció négyeszeresére emelkedett a gestatio 29. napjára, amit a 4. postnatalis napra a kezdeti értékre történő gyors esés követett. Ezen eredményekből az agyszöveti víztartalomnak a gestatio előrehaladtával fellépő átrendeződésére következtethetünk.

A koraszülött nyúl agy HA-koncentrációja a 25. napon észlelt 2095±273.4 ug/g értékről jelentősen csökkent a 27. (1541±168.8 ug/g, $p<0.001$) és a 29. napra (1527±316.0 ug/g, $p<0.001$); ezt követően átmeneti emelkedést regisztráltunk (1826±292.0 ug/g, $p<0.05$) a 31. napon. Az érett újszülött nyulak agyszövetének HA-koncentrációja összehasonlítva a koraszülöttekével postnatalisan extrém alacsony értéket (1144±126.3 ug/g, $p<0.001$) ért el.

A tüdőszövet nedves/száraz súly hányadossal számított víztartalma a 25. gestációs nap (8.8±0.5) és a 29. nap (8.8±0.4) között lényegében változatlan, a 31. naptól azonban mérsékelte (7.7±0.7, $p<0.001$), majd a 4. életnapon kifejezett csökkenés (5.91±0.3, $p<0.001$) volt mérhető. Hasonló tendenciák észlelhetők a T_1 , T_2 relaxációs idők vonatkozásában, amennyiben átmeneti emelkedést (1300±100 ms T_1 és 191.5±25.8 ms T_2 a 25. praenatalis napon; 1430±80 ms T_1 / $p<0.001$ / és 248.5±19.2 ms T_2 / $p<0.001$ / a 27. napon) követően mindkét érték csökkent.

A T_2 relaxációs görbe biexponenciális analízisével elkülönített kötött (T_{21}) és szabad (T_{22}) víztérfrakciók a 27. napig növekedtek, majd a vizsgálati periódus végéig progresszív csökkenést mutattak. A 25-29. napig terjedő gestációs időszakban a teljes tüdőszöveti víztartalom 31-34%-át tette ki a kötött frakció, amely a 31 napon 21.6±8.0%-ra ($p<0.001$), a postnatalis 4. napon 16.6±9.4%-os hányadra csökkent ($p<0.001$).

A gestatio előrehaladtával a száraz szövetre vonatkoztatott HA-concentratio fokozatos csökkenését regisztráltuk (870.8±205.2 ug/g a 25.napon, 162.6±32.4pg/g a 31 napon / $p<0.001$ /), megszületést követően azonban - a tüdőszöveti víztartalom, különösen a kötött frakció párhuzamosan bekövetkező esése ellenére - a HA kétszeresére (347.3±708 ug/g / $p<0.001$ /) emelkedett. A tüdőszöveti víztartalom pozitív korrelációt mutatott a T_1 ($r=0.87$, $p<0.001$) és a T_2 ($r=0.93$,

$p < 0.001$) relaxációs időkkal valamint a T_2 analízisével számított kötött (T_{21}) vízfrakcióval ($r = 0.67$, $p < 0.001$). A HA-koncentráció csak a teljes szöveti víztartalommal korrelált ($r = 0.39$, $p < 0.001$), a T_1 ($r = 0.15$, n.s.), T_2 ($r = 0.22$, n.s.) relaxációs időktől és a T_{21} komponenstől ($r = 0.24$, n.s.) függetlennek bizonyult.

Pyeloureteralis obstrukcióval született gyermekek stenoticus ureterszakaszainak vizsgálata

CD31-hez (endothel-specifikus housekeeping marker) viszonyítva szignifikánsan emelkedett endothelin-1 (ET-1) és GAPDH-re (általános housekeeping gén) vonatkoztatva csökkent adrenomedullin (AM) expressziót észleltünk a stenoticus ureterszakaszokban. Az nNOS, eNOS, iNOS és NPY mRNS tartalom tekintetében nem különbözött a stenoticus és a kontroll szövetminta. Az egyéb peptiderg és nitreg rendszerekkel összehasonlítva az NPY-expresszió lényegesen alacsonyabbnak adódott.

Vizelet aquaporin-2 kiválasztás koraszülött és érett újszülöttekben

Az érett újszülöttek vizelet AQP-2 koncentrációja az 1. postnatalis napon volt a legmagasabb (74 ± 20 nmol/ul), a 3. és az 5. napon 30 ± 12 nmol/ul illetve 44 ± 13 nmol/ul szintre esett. Alapvetően hasonló változásokat mutatott a vizelet creatinin excretio is, azonban kifejezettebb csökkenést mértünk (470 ± 83 mg/l az 1. napon vs. 132 ± 8 mg/l az 5. napon; $p < 0.001$). Ennek eredményeképpen a kreatinire korrigált AQP-2 kiválasztás a 1., 3. és 5. napon 194 ± 45 fmol/mgCr, 121 ± 36 fmol/mgCr és 322 ± 90 fmol/mgCr értékeknek adódott. Ezzel ellentétes trend volt megfigyelhető a vizelet osmolalitás tekintetében; a postnatalis kor előrehaladtával fokozatos csökkenést észleltünk (1. nap 260 ± 39 mOsm/l, 3. nap 188 ± 55 mOsm/l / $p < 0.05$ /, 5. nap 69 mOsm/l / $p < 0.01$ /).

5 Összefoglalás

Az értekezés első részében különböző sóbevitel mellett a koraszülöttek ouabain (EDLF) excretiójának vizsgálatait ismertettük. Kimutattuk, hogy a NaCl-szupplementált koraszülöttek ouabain ürítése szignifikánsan alacsonyabb a kontrollcsoportéhoz képest. Eredményeink azon irodalmi adatokat erősítik, melyek szerint nincs közvetlen okozati összefüggés a volumenexpansio és az adrenalis ouabain produkció között. Számos korábbi kísérleti megfigyelésre támaszkodva elsőként feltételeztük, hogy koraszülöttekben az EDLF termelése illetve secretiója a renin-angiotensin-II rendszer szabályozása alatt áll. A NaCl- szupplementációban részesülő csoportban a ouabain és a NaCl excretio között kimutattott pozitív korreláció az EDLF-nek az excesszív sóbevitel eliminációjában játszott szerepére utal.

A perinatalis időszak vízforgalmának megértéséhez elengedhetetlen a víz molekuláris szintű viselkedésének ismerete. Munkacsoportunk az agy és a tüdő víztartalmának, H^1 -NMR spectroscopiával elkülöníthető, különböző motilitási tulajdonsággal rendelkező vízfractionoknak, valamint az igen jelentős vízkötő tulajdonsággal rendelkező hyaluronsavnak a gestatio és a közvetlen postnatalis élet során bekövetkező érési változásait és összefüggéseit kutatta. Eredményeink alapján az agyszövetet a foetalis időszakban emelkedett HA-koncentráció és víztartalom, ezen belül is a szabad motilitású fractio túlsúlya jellemzi. Ezen paramétereknek a postnatalis életben bekövetkező, de már a gestatio végén megkezdődő csökkenése függetlennek bizonyul a kötött vízfraction változásaitól, ami arra enged következtetni, hogy a foetalis agy víztartalmának átrendeződésében a hyaluronsav nem játszik lényeges szerepet.

A tüdőszövet vizsgálata megerősíti azon korábbi megfigyelést, hogy a tüdőből történő folyadékeltávolítás az effektív postnatalis gázcsere biztosítása érdekében már a születést megelőzően megindul. Eredményeink továbbá adatokkal szolgálnak a tüdő víztartalmának fizikai sajátosságait illetően, kimutatva a kötött vízfraction csökkenését és a szabad motilitású komponensnek a perinatalis időszakban bekövetkező párhuzamos emelkedését. Az agyszövet vizsgálatakor kapott eredményhez hasonlóan a tüdő vonatkozásában sem találtunk összefüggést a kötött motilitású vízfraction és a HA-tartalom között.

A koraszülött és érett újszülöttek AQP-2 ürítésének vizsgálata megerősíti az előzetes megfigyelést, hogy az AQP-2 az újszülöttek vizeletében alacsony koncentrációban ürül, továbbá excretiója az érés során változik. Koraszülöttekben és érett újszülöttekben az élet első hetében megfigyelhető AQP-2 excretio nem mutat szignifikáns különbséget, mely az AVP által regulált AQP-2 szintézis és intracelluláris transzport érésének postnatalis faktoraire hívja fel a figyelmet. Vizsgálataink a renális AQP-2 és a renális koncentráló kapacitás disszociációját mutatják, felvetve az AVP-AQP-2 tengely és AVP-tól független tényezők egymástól aszinkron érését, változását.

Rámutattunk arra, hogy az éretlen vese magas HA tartalma a renális koncentrálóképeség fontos limitáló tényezője és szerepet játszhat az újszülött excesszív vízkészleteinek kiürítésében és a sikeres postnatalis adaptáció feltételeinek biztosításában.

Számos paracrin/autocrin módon ható vazoaktiv hormon, peptid illetve ezek szintézisét végző enzim mutatható ki az urogenitalis tractusban, melyek szerepe még tisztázatlan. A congenitalis ureter obstrukcióval operált betegek stenoticus szövetmintáin végzett molekuláris genetikai vizsgálataink rálátást engedhetnek egyes korélettani vonatkozásaikra. Vizsgálataink az endothelin-1 fokozott és az adrenomedullin csökkent génexpresszióját igazolták, mely eltérések, tekintetbe véve physiologiai hatásukat, jól korrelálnak a stenoticus segmensekben megfigyelhető microanatomiai elváltozásokkal.

Megállapításaink összefoglalása:

1. Natrium-klorid szupplementációban részesülő koraszülöttek ouabain excretioja csökken, a natrium és ouabain-ürítés korrelációja a ouabainnak a só-eliminációjában lehetséges szerepére utal.
2. Az agyban és a tüdőben már a gestatio végén megindul a vízterek átrendeződése és ebben a hyaluronsav nem játszik szerepet.
3. A renális AQP-2 kora- és érett újszülöttekben független a vese koncentráló kapacitásának változásától.
4. Veleszületett pyeloureteralis obstruációban az endothelin fokozott és az adrenomedullin csökkent génexpresszója figyelhető meg.

6 Köszönetnyilvánítás

Kiemelt köszönettel tartozom Dr. Sulyok Endre Professzor Úrnak, aki az értekezés alapjául szolgáló vizsgálatoknak mindvégig irányítója, munkámnak kezdetektől fogva bátorító, segítő támogatója, tanárom volt.

Köszönetet szeretnék mondani prof. Dr Wolfgang Rascher professzor Úrnak, az Erlangeni Egyetem Gyermekklinika igazgatójának, hogy lehetőséget biztosított számomra, hogy molekuláris biológiai laboratóriumában dolgozhassak és így részese lehettem kiváló munkacsoportjának.

Köszönetem fejezem ki prof. Dr Gunnar Sedin professzornak az Uppsalai Egyetem Gyermekklinika igazgatójának a labordiagnosztikai lehetőségek biztosításáért és hasznos tanácsaiért.

Köszönet illeti mindazon munkatársaimat, akikkel együtt dolgozhattam a vizsgálatok során és akiktől sokat tanulhattam.

Közlemények az értekezés tárgykörében

1. Sulyok E, Nyul Z. Hyaluronan-related limited concentration by the immature kidney. *Med Hypotheses*. 2005;65(6):1058-61. Epub 2005 Sep 6. IF: 0.607
2. Nyul Z, Vajda Z, Vida G, Sulyok E, Frokier J, Nielsen S. Urinary aquaporin-2 excretion in preterm and full-term neonates. *Biol Neonate*. 2002;82(1):17-21. IF: 0.81
3. Knerr I, Nyul Z, Miller J, Rosch W, Dotsch J, Repp R, Weidner W, Rascher W. Increased endothelin-1 and decreased adrenomedullin gene expression in the stenotic tissue of congenital pelvi-ureteric junction obstruction in children. *BJU Int*. 2001 May;87(7):667-71. IF: 0.84
4. Sulyok E, Nyul Z, Bogner P, Berenyi E, Repa I, Vajda Z, Doczi T, Sedin G. Brain water and proton magnetic resonance relaxation in preterm and term rabbit pups: their relation to tissue hyaluronan. *Biol Neonate*. 2001 Jan;79(1):67-72. IF: 1.072
5. Sedin G, Bogner P, Berenyi E, Repa I, Nyul Z, Sulyok E. Lung water and proton magnetic resonance relaxation in preterm and term rabbit pups: their relation to tissue hyaluronan. *Pediatr Res*. 2000 Oct;48(4):554-9. IF: 2.794
6. Worgall S, Rascher W, Gyodi G, Nyul Z, Baranyai Z, Sulyok E. Urinary excretion of endogenous ouabain-like substance is reduced in NaCl supplemented premature infants. *Biol Neonate*. 1997;72(6):337-44. IF: 0.932

Kumulatív impact factor: 9,673

Egyéb közlemények

1. Nyul Z, Harangi F, Varszegi D, Zombai E. Vesicobullous lesions in a child. Bullous pemphigoid (BP). *Arch Dermatol*. 1997 Jun;133(6):776-7, 779-80. IF: 2.358
2. Dotsch J, Hogen N, Nyul Z, Hanze J, Knerr I, Kirschbaum M, Rascher W. Increase of endothelial nitric oxide synthase and endothelin-1 mRNA expression in human placenta during gestation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001 Aug;97(2):163-7. IF: 0.884
3. Nyul Z, Hadzsiev K, Andrásföszky Zs, Harangi F, Maródi L. DiGeorge-szindróma in vitro fertilizációval született gyermekben. *Gyermekgyógyászat*. 2005;56(2): 153-157.

Nemzetközi előadások, posztterek

1. Nyul Z, Dittrich K, Miller J, Dotsch J, Repp R, Weidner W, Rascher W. Increased endothelin-1 and decreased adrenomedullin gene expression in the stenotic tissue of congenital pelvi-ureteric junction obstruction in children. *IPNA Congress, London, 1999*
2. Knerr I, Repp J, Haenze J, Nyul Z, Kapellen T, Dotsch J, Rascher W. Ist das humane endogene Retrovirus IDDMK_{1,22} ein mögliches Kandiudaten-Autoimmun-Gen bei Diabetes mellitus Typ-1?. *Paediatrische Forschung mitteleuropäischer Laender in Wien, 1998 (poszter)*
3. Nyul Z, Bogner P, Berenyi E, Repa I, Vajda Z, Doczi T, Sedin G, Sulyok E. Brain water in fetal and newborn rabbits as assessed by H1-NMR relaxometry: its relation to tissue hyaluronan. *ESPN Congress XXX, Prága, 1999. (poszter)*