

Az oxidatív stressz enzimek szerepe és az iszkémiás akut vesekárosodás markerei egerekben

Doktori tézisek

Kécsán-Révész Csaba

Semmelweis Egyetem Doktori Iskola
Elméleti és Transzlációs Orvostudományi Tagozat



Témavezetők: Dr. Hamar Péter, az MTA doktora, egyetemi tanár
Dr. Szénási Gábor, az MTA kandidátusa, tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Garami András, MTA doktora, egyetemi docens
Dr. Pap Domonkos, PhD, tudományos munkatárs

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Alpár Alán, az MTA doktora, egyetemi tanár

Tagok: Dr. Kellermayer Miklós, az MTA doktora, egyetemi tanár
Dr. Kovács Mihály, az MTA doktora, egyetemi tanár

Budapest
2025

Bevezetés

Az iszkémia-reperfúziós (I/R) károsodás az akut vesekárosodás (AKI) egyik vezető oka, amely komplex patofiziológiai mechanizmusokat foglal magában. Elsődleges kóroka az oxidatív stressz által kiváltott epitel és endotél károsodás, amely a vesetubulusok és az érrendszer működési zavarait idézi elő. Az I/R károsodást másodlagosan gyulladás követi és súlyosbítja. A veseszövet károsodását a szabályozott sejthalál különböző típusai kísérik. Ezen patomechanizmusok együttesen a vese strukturális és funkcionális károsodását eredményezik.

A véráramlás alacsony a vesevelőben: a külső velőbe a kéri véráramlás 10%-a, a belső velőbe körülbelül 1%-a jut. A vese véráramlás csökkenésekor az afferens és efferens arteriolák renális autoregulációja fenntartja a GFR-t, ami csökkenti a velő véráramlását és az oxigén tenziót. A csökkent oxigénellátás a tubuláris epiteliális sejteket, elsősorban a proximális tubuláris epiteliális sejteket károsítja, ami akut tubuláris nekrozishoz (ATN) vezet, különösen az S3 szegmensben és a velőben ('skip' lézió). Hipovolémiában/hipotenzióban a vasa recta összehúzásával a velői mikrocirkuláció romlik, ami károsítja az endotél sejteket. Az endotél permeabilitása fokozódása elősegíti a leukociták kitapadását és gyulladást indukál. A kapilláris elzáródások mikrokeringési elégtelenséghez vezetnek, tovább súlyosbítva az iszchémiát.

Az iszkémia során a hipoxia beindítja az anaerob anyagcserét. A redox enzimaktivitás zavara miatt leáll a terminális oxidáció a hipoxiás sejtek mitokondriumában. A membrán ionszorongás zavara a sejtek ödémájához vezet. A reperfúzió során az oxigén ellátás helyreáll és a reaktív oxigéngyökök (ROS) robbanásszerű termelése indul el, amely felborítja a redox homeosztázist. A redox egyensúlyhiányban oxidatív stressz lép fel, ami szöveti sérüléshez vezet.

Különbféle enzimek képesek ROS-t előállítani fiziológias és patológias körülmények között. A nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát-oxidáz (NADPH-oxidáz, NOX) és a xantin-oxidoreduktáz (XOR) enzimek a

legjelentősebb ROS források. A ROS által kiváltott epitél- és endotél-károsodás toxikus melléktermékek, ún. 'károsodással összefüggő molekuláris mintázatok' (DAMP) felhalmozódását eredményezi, amely citokin felszabadulással kísért leukocita infiltrációt indít el. A sérült tubuláris epiteliális sejtek különféle citokin termelése fokozza a leukocita infiltrációt. A beszűrődő leukociták, elsősorban a PMN granulocita neutrofilek és a mononukleáris monocita makrofágok súlyosbítják az elsődleges sérülést, gyulladást okozva a sérült szövetben. A leukociták citokineket és ROS-t szabadítanak fel, pozitív visszacsatolást hozva létre, amely fenntartja a gyulladást, és súlyosbítja a vesekárosodást.

A ROS termelés enzimatiszus forrásai közül a NOX és XOR enzimeknek jelentős szerepet tulajdonítanak I/R-ben. Rágcsálók veséjében a NOX enzim NOX-1, -2 és -4 izoformában fordul elő. A különböző súlyosságú vese I/R károsodáshoz való hozzájárulásuk mértéke azonban nem ismert, és a NOX4 izoforma patológiás szerepe ellentmondásos. Az IRI-AKI elleni NOX vagy XOR gátlásnak terápiás potenciálja lehet. Azonban a ROS-források I/R-ben történő gátlásával kapcsolatos kiterjedt kutatások ellenére még nem sikerült hatékony módszer találni az AKI megelőzésére vagy kezelésére. A vese I/R komplex patomechanizmusa miatt az egyes kóroki tényezők jelentősége az I/R károsodás súlyosságával változhat.

Célkitűzés

A reaktív oxigéngyökök két fő enzimatiszus forrásának a különböző súlyosságú vesekárosodásban betöltött szerepe:

1. Milyen a NADPH-oxidázok (NOX) és a xantin-oxidoreduktáz (XOR) szöveti expressziójának és a neutrofil infiltrációnak az időbeli lefutása a I/R vesekárosodás strukturális és funkcionális dinamikájához képest?
2. A XOR gátlásával vagy csendesítésével csökkenthető-e a különböző súlyosságú I/R vesekárosodás?
3. Hozzájárul-e a vese-specifikus NOX4 izoforma a különböző súlyosságú vese IRI kórfolyamatához?

4. Megakadályozza-e a neutrofil hiány a különböző súlyosságú vese IRI-AKI patogenezisét?

A lipocalin-2 (Lcn-2) mint AKI marker érzékenysége és specificitásának vizsgálata különböző súlyosságú vese I/R után:

5. Az Lcn-2 elég érzékeny biomarker-e a szubklinikai IRI-AKI kimutatására, amely a hagyományos vesekárosodás markerekkel nem mutatható ki?

6. Alkalmas lehet-e az Lcn-2 specifikus markerként a vese- és nem vese eredetű károsodások megkülönböztetésére?

Módszerek

Vese iszkémia-reperfúzió

Hím C57BL/6 vad típusú és neutrofil hiányos Mcl1^{flox/flox}LysM^{Cre/Cre} hematopoietikus rendszerrel rendelkező csontvelő kiméra egereken egyoldali vese I/R műtetet végeztünk a bal vese ereinek 10 (szubklinikai), 15 (enyhe), 20 (mérsékelt) vagy 30 perces (súlyos iszkémia) leszorításával és egyidejű, ellenoldali nefrektómiával. Az áloperált egereken hasonló műtetet hajtottunk végre a vese erek leszorítása nélkül. Az egerek egy csoportján előzetes álműtet nélkül vizsgáltuk a veséket, hogy kiértékeljük az áloperált egerekben a műtéttel okozott változásokat. A reperfúzió időtartama 0, 1, 3, 6, 15, 24 vagy 48 óra volt.

RNS interferencia és farmakológiai enzimgátlás

NOX4 és XOR siRNS-t és negatív kontrollként nem kódoló siRNS-t használtunk. Két nappal az iszkémia előtt retrográd hidrodinamikus injekciót alkalmaztunk az siRNS beadására a bal vesevénán keresztül.

A NADPH-oxidáz inhibitor apocynint és a xantin-oxidáz inhibitor oxypurinolt a farmakokinetikai jellemzőik figyelembe vételével (i.v. és i.p. több dózisban) adagoltuk az állatoknak. A kontroll állatokat vívőanyaggal kezeltük.

Plazma urea és Lcn-2 ELISA

A glomeruláris filtrációt a plazma urea koncentráció mérésével becsültük meg enzimatis, kolorimetriás UV spektrofotometria módszerrel. A vér urea nitrogén (BUN) értékeket a módszerrel kapott urea értékekből kalkuláltuk. A vesekárosodás mértékét plazma Lcn-2 (NGAL) fehérje koncentráció meghatározásával becsültük meg ELISA módszerrel. Az Lcn-2 fehérje koncentrációt négyparaméteres logisztikus görbe illesztéssel számítottuk ki.

Vese szövettan és immunhisztokémia

A 4%-os pufferolt formaldehydben fixált veseszövet mintákat dehidratáltuk és paraffin viaszba (FFPE) ágyaztuk szövettani és immunhisztokémiai vizsgálat céljából. A vese morfológiáját hematoxilin-eozin (HE) és perjódsv-Schiff (PAS) festett vesemetszeteken mikroszkóposan értékeltük. Az akut tubuláris károsodást (ATI) 0-tól 4-ig terjedő skálán vakon pontoztuk.

A vese neutrofil infiltrációját és a tubuláris epiteliális sejt károsodását szöveti mikroarray (TMA) segítségével értékeltük. TMA metszeteken mieloperoxidáz (MPO) és Lcn2 immunhisztokémiai (IHC) festést végeztünk. A vese neutrofil infiltrációját MPO IHC, míg a tubuláris károsodást Lcn2 IHC módszerrel határoztuk meg. Az MPO immunfestést a QuantCenter szoftverrel, az Lcn2 festődés intenzitását ImageJ szoftverrel értékeltük.

Szöveti mRNS expresszió RT-qPCR analízissel

A vese minták RNS koncentrációját és tisztaságát NanoDrop 2000c spektrofotométerrel és 1%-os agaróz gél elektroforézissel ellenőriztük.

Az izolált RNS minták cDNS átírását reverz transzkripcióval végeztük. A NOX2, NOX4, p22^{phox}, Lcn-2, TNF- α , F4/80, NRF2, GPX3, HO-1 és XOR mRNS expresszióját SYBR[®] Green alapú valós idejű PCR-rel mértük. Az mRNS-ek expresszióját relatív kvantifikációs ($\Delta\Delta C_q$) módszerrel számítottuk ki.

Statistikai analízis

A csoportvarianciák homogenitását Bartlett teszttel ellenőriztük. Az eredményektől függően egyszempontos variancia analízist (ANOVA) alkalmaztunk Dunnett próbával vagy Kruskal-Wallis ANOVA tesztet Dunn próbával. Kétszempontos ANOVA-t alkalmaztunk az iszkémia és a neutrofil hiány hatásainak értékelésére. Kétszempontos ismételt mérési ANOVA-t, majd Sidak próbát használtuk az időbeli kísérletek eredményeinek összehasonlítására. A nullhipotézist elvetettük, ha a kétoldali p -érték elérte a statisztikai szignifikancia szintet ($*p < 0,05$).

Eredmények

Az iszkémia súlyossága és a vesekárosodás mértékének összefüggése

Tíz perces iszkémia után csak kisebb morfológiai változásokat (tubulus dilatáció) találtunk a vesékben. A tubulus dilatációs pontszám már 10 perces iszkémia után növekvő tendenciát mutatott, és 15 perces iszkémia után szignifikánsan megemelkedett az áloperált vesékhez képest.

Az I/R károsodás első egyértelmű morfológiai jeleit 15 perces vese iszkémia után észleltük. A magasabb urea retenció szintén vesekárosodást jelzett. Az enyhe strukturális és funkcionális károsodás alapján a 15 perces iszkémia miatti akut vesekárosodást enyhe IRI-nek minősítettük.

A tubuláris dilatáció, nekrosis és sejttörmelék pontszám jelentősen növekedett 20 perces iszkémia után, a vesekárosodást mérsékelt IRI-nek minősítettük. A szövettani károsodás mellett a BUN-ban is sokkal magasabb volt a 20 perces I/R csoportban, mint az áloperált csoportban.

A 30 perces vese iszkémia, amelyet súlyos IRI-ként határoztunk meg, kiterjedt tubulus tágulatot és nekrozist, valamint törmelékhalmozódást okozott a vesekéregben és a velőben, és a plazma BUN jelentősen nőtt. A tubuláris dilatációs pontszám volt a legérzékenyebb paraméter, amely már 10 perces iszkémia után növekvő tendenciát mutatott), és 15 perces iszkémia után szignifikánsan nőtt az áloperált csoporthoz képest. A tubuláris nekrosis és a tubuláris törmelék megjelenése először 15 perces iszkémia után volt megfigyelhető és arányosan növekedett 20 és 30 perces iszkémia után. Nem

volt szignifikáns szövettani változás a nem operált és az áloperált vesék között. A nem-operált csoporthoz képest az álműtét és a 10 perces iszkémia nem érintette a veseműködést. A BUN retenció az iszkémia időtartamával nőtt, ami a vesekárosodás arányos súlyosbodását jelzi.

Az akut vesekárosodás időkinetikája iszkémia-reperfúzióban

A BUN fokozatosan emelkedett $19,2 \pm 2,0$ mg/dl-ről $77,9 \pm 4,5$ mg/dl-re 6 óra alatt, és $286,7 \pm 29,8$ mg/dl-re 48 óra alatt a 30 perces iszkiémiát követően. Az Lcn-2 plazmakoncentrációja és vese mRNA expressziója 15 óra alatt 10-szeres és 100-szoros szinten tetőzött az áloperált csoporthoz képest. A XOR mRNA expressziója 2,3-szorosára nőtt iszkémia után 6 órával a reperfúzió kezdetéhez képest. A XOR mRNA 15 órával az I/R után kezdett növekedni az áloperált vesékhez képest, 24 óránál ötszörösére emelkedett, és 48 óráig emelkedett maradt. A NADPH-oxidázok (NOX2, NOX4, p22^{phox}) expressziója 1-3 órával az iszkémia után érte el a csúcst, csökkent 15 órával az iszkémia után, de még 24 és 48 óra elteltével is emelkedett maradt. A NOX2 génexpresszióban egy kisebb második csúcst figyeltünk meg 24 óra elteltével, amikor a neutrofil infiltráció elérte a csúcsát. A NOX2, NOX4 és p22^{phox} mRNA expressziók hatszoros, négyszeres, illetve háromszoros növekedést értek el 3 órával a reperfúzió után.

A folyamatosan emelkedő BUN által becsült vesefunkció súlyos károsodást jelzett már akkor, amikor a NOX (és a XOR még nem) upregulálódott. A BUN szint, valamint a Lcn2 génexpressziójának és vérszintjének erőteljes növekedése megelőzte a XOR upregulációt.

Az ATI morfológiai jelei 3 órával az iszkémia után jelentek meg, és az ATI pontszám 3-ra emelkedett a reperfúziót követő 24. és 48. óra között 30 perces iszkémia után. Az MPO immunhisztokémia folyamatos neutrofil infiltrációt jelzett a belső velőben és a külső velő belső sávjában már 3 órával az iszkémia után. A neutrofilek 6 óra elteltével kezdtek megjelenni a kéregben és a külső medulla külső sávjában, és jelenlétük a sérült tubulusok körül az iszkémia utáni 15. órától volt jelentős. A 24 órás csúcs után az infiltráció kismértékben csökkent a 24. és a 48. óra között. Az iszkémia után

24 órával az ellaposodott epitelsejtekkel határolt dilatált tubulusok voltak a posztisztkémiás AKI elsődleges morfológiai markerei. A legnagyobb infiltrációt a külső medulla külső sávjában mutattuk ki, a legtöbb MPO-pozitív sejt a 24. órában fordult elő, és még a 48. órában is jelen voltak a nekrotikus tubulusok körül.

A NOX enzimek, de nem a XOR farmakológiai gátlása védő hatású az enyhe iszkémia-reperfúzióban

A különböző időtartamú (15, 20 és 30 perces) vese iszkémia után az összes vesekárosodás markert (BUN, Lcn-2 plazma koncentráció, vese génexpresszió és ATI pontszám) az iszkémia súlyosságával arányosan emelkedett az áloperált állatokhoz képest. A pán-NOX gátló apocynin védett a strukturális és funkcionális vesekárosodástól az enyhe, de nem a mérsékelt vagy súlyos iszkémia után. Az oxypurinol, a XO aktivitás inhibitora, egyik súlyosságú vese I/R után sem javította a vesefunkciót és a vese morfológiáját. A két inhibitor, az apocynin és az oxypurinol együttes hatékonysága hasonló volt, mint az apocynin önmagában.

A XOR és NOX4 géncsendesítése nem akadályozta meg az iszkémia utáni akut vesekárosodást

A XOR mRNS expressziója 24 órával a súlyos iszkémia után több mint ötszörösére, illetve az enyhe iszkémia után háromszorosára nőtt. A XOR siRNS enyhe iszkémiában teljesen, súlyos iszkémiában részlegesen megakadályozta a XOR mRNS upregulációját (mindkét esetben 66%-os in vivo csendesítési hatékonysággal). A vese NOX4 expressziója megduplázódott 24 órával súlyos iszkémia után, és kissé emelkedett volt 24 órával enyhe iszkémia után. A NOX4 siRNS kezelés kivédte a NOX4 expresszió iszkémia által kiváltott növekedését. A NOX4 RNS interferencia a NOX4 mRNS expresziót a kontroll szint alá csökkentette (csendesítési hatékonyság 71% a 30 perces, és 65% a 15 perces I/R kísérletben).

A XOR és a NOX4 hatékony csendesítése ellenére a vesefunkció nem javult sem súlyos, sem enyhe vese I/R után. Az siRNS-sel csendesített

csoportokban és a nem kódoló siRNS-sel kezelt I/R állatokban hasonló morfológiai károsodást mutatunk ki, ami megerősíti, hogy ezen oxidatív enzimek célzott csendesítése nincs terápiás hatással a vese I/R károsodására.

A NOX enzim farmakológiai gátlása apocyninnel mérsékelte a gyulladást és fokozta az antioxidáns védelmet enyhe vese iszkémia után

Az apocynin enyhítette a vese funkcionális és morfológiai károsodását enyhe iszkémia után, amit a gyulladással és az antioxidáns aktivitással összefüggő génexpresszió változások is igazoltak. Enyhe I/R következtében a vese TNF- α mRNS 15-szörösére, az F4/80-é 60-szorosára, a HO-1-é pedig 7-szeresére nőtt, míg a GPX3 génexpressziója a kontroll 50%-ára csökkent. Az enyhe I/R azonban nem tapasztaltunk upregulációt az NRF2 mRNS expresszióban 24 órával az iszkémia után az áloperált csoporthoz képest. Az apocynin kezelés 2,8-szorosára növelte a vese NRF2 mRNS expresszióját, és további 6-szoros HO-1 génexpresszió növekedést okozott (44-szeres növekedés az áloperált csoporthoz képest). Az apocynin csökkentette a TNF- α és az F4/80 mRNS expressziót a vivőanyaggal kezelt I/R csoporthoz képest, és elmaradt az iszkémia utáni GPX3 génexpresszió csökkenés az I/R vesében.

A neutrofil hiányos egerek védettek az enyhe vese iszkémia-reperfúziós károsodással szemben

A csontvelő transzplantált (Mcl-1 ^{Δ Myelo}) neutrofil funkcionális knockout egerek keringéséből gyakorlatilag hiányoztak a neutrofil granulociták. A neutrofilek aránya nőtt a vad típusú (WT) egerek vérében az I/R után 24 órával 20 perces iszkiémiát követően. A BUN és Lcn-2 koncentrációk jelentősen emelkedtek a WT állatokban az áloperáltakhoz képest. A neutrofil-hiányos Mcl-1 ^{Δ Myelo} egerekben enyhébb, de szignifikáns növekedést tapasztaltunk a BUN és Lcn-2 koncentrációkban 20 perces I/R után. Ezzel szemben a BUN és Lcn-2 koncentráció, a vese Lcn-2 mRNS expresszió és az ATI pontszám szignifikánsan alacsonyabb volt a neutrofil-hiányos egerekben, mint a WT egerekben enyhe (15 perc) vese I/R után. A szövettani metszetek megőrzött struktúrát mutattak a neutrofilhiányos egerek veséjében.

A TNF- α , F4/80 és HO-1 génexpressziója nőtt, a GPX3 csökkent, és az NRF2 nem változott WT egerekben 24 órával az enyhe I/R után. Ezzel szemben az I/R ezen mRNS-ek egyikét sem változtatta meg szignifikánsan a neutrofilhiányos egerek veséjében. Az álműtött állatokkal összehasonlítva a Mcl-1 ^{Δ Myelo} egerek veséjében nem találtunk szignifikáns szövettani károsodást enyhe I/R után.

Lipocalin-2 expresszió vese iszkémia-reperfúzió után

A nem operált egerekben csak a vesekéregben figyeltünk meg enyhe, diffúz citoplazmatikus Lcn2 festődést, a velőben nem. A vesekéreg Lcn2 festődés intenzívebb és kiterjedtebb volt az áloperált egerekben, és a velőben is megjelent. Az I/R károsodás elsősorban a velőben növelte az Lcn2 festődést. Érdekes módon a vesekéregben az Lcn2 festődés területe és intenzitása jelentősen és hasonlóan nőtt az összes, iszkémia-reperfúzióval vagy anélkül műtött egerben.

A növekvő iszkémiás idők fokozatosan emelkedő Lcn2 festődéssel jártak a velő külső és belső sávjában. Így az iszkémia idő önmagában csak a medulláris, nem pedig a kéreg Lcn2 festődését fokozta. A proximális tubulusok hámsejtjeiben a jellegzetes pontszerű Lcn2 festődési mintázat volt jelen a nem- és áloperált egerekben is, de súlyos (30 perces) iszkémia után intenzívebb volt. A tubuláris törmelék és a nekrotikus tubulusok szintén Lcn2-pozitívak voltak súlyos iszkémia után.

Lipocalin-2 plazma koncentrációja, vizelet ürítése és vese expressziója, mint vesekárosodás markerek vese iszkémia-reperfúzióban

A vizelet kreatininre (uCr) normalizált vizelet Lcn2 ürítés (uLcn2) korrelált a 24 órás uLcn2 ürítéssel. A plazma Lcn2 koncentráció, a vese Lcn2 mRNS expresszió és a Lcn2 kiválasztás szignifikánsan nőtt álműtét után a nem műtött kontrollhoz képest. Az Lcn2 mRNS vese expressziója és plazma koncentrációja hasonlóan nőtt a 10 perces iszkémia és az álműtét után. A vizelet Lcn2 ürítés azonban sokkal jobban emelkedett 10 perces iszkémia,

mint álműtét után. Így csak a vizelet Lcn2 ürítés különböztette meg a 10 perces vese iszkémiát az álműtétől.

A 20-30 perces vese iszkémia jelentősen emelte a vese Lcn2 mRNS expresszióját és a plazma Lcn2 koncentrációját. A vesekárosodás Lcn2 által jelzett súlyosbodása korrelált az iszkémia időtartamával.

Kiszámítottuk az Lcn-2 kiválasztás és a plazma Lcn-2 szint arányát. Az u/pLcn2 értékek hasonlóak voltak a nem operált és az áloperált csoportokban. Az u/pLcn2 arány szignifikánsan megnőtt enyhe iszkémia után az áloperált egerekhez képest, és tovább emelkedett súlyosabb iszkémia után. A vizelet Lcn2 ürítés álműtét és 10 perces iszkémia utáni különbségének további analiziséhez összehasonlítottuk a kiválasztott uLcn2-t a becsült filtrált Lcn2-vel (fLcn2) mindkét csoportban. A kiválasztott uLcn2 körülbelül 6-szor magasabb volt, mint a számított fLcn2 a 10 perces iszkémia után, de hasonlóak voltak álműtét után és műtét nélkül, ami arra utal, hogy a posztiszkémiás veséből nagy mennyiségű Lcn2 került ki a vizeletbe.

Az u/pLcn2 diagnosztikus értékét Receiver Operating Characteristics (ROC) görbe elemzéssel hasonlítottuk össze más vesekárosodás markerekkel. Csak a vizeletből származó Lcn2 különböztette meg sikeresen a 10 perces iszkémiát az álműtétől. Ezen kívül csak az u/pLcn2 arány különböztette meg a 10 perces iszkémiát az álműtétől a nem operált kontrollokkal szemben. A Lcn2 plazmaszint és mRNS expresszió csak a 15, 20 és 30 perces iszkémiát különböztette meg az álműtétől, valamint az áloperált és a nem operált csoportokat egymástól.

Következtetések

A NADPH oxidáz gének (NOX2, NOX4 és p22^{phox}) vese expressziója gyorsan (1-3 óra), a xantin-oxidoreduktáz (XOR) expressziója lassan emelkedett vese iszkémiát követően. A NOX gének, de nem a XOR expressziója fokozódott I/R okozta funkcionális és morfológiai károsodás megjelenése előtt, ami a NOX elsődleges kóroki szerepét valószínűsíti a vese I/R károsodás patomechanizmusában. A neutrofil infiltráció dinamikája szorosan követi az elsősorban NOX-függő oxidatív stresszel okozott kezdeti

károsodást, ami a sérülés egy későbbi, másodlagos fázisához vezet, amelyet reaktív oxigéngyökök (ROS) termelése és gyulladás jellemez.

A XOR és a NOX4 (Renox) nem vesz részt az AKI patogenezisében. A lokális NOX1 és NOX2 és a fagocita NOX2 lehetnek az enyhe AKI fő tényezői, de nem elsődleges kóroki tényezők a súlyos vese I/R károsodásban. A NOX kóroki jelentősége az I/R súlyosbodásával csökken.

A neutrofil hiány megvédte az egereket (Mcl-1^{ΔMyelo}) az enyhe I/R károsodással szemben, ami arra utal, hogy a neutrofilek döntő szerepet játszanak az enyhe vese I/R károsodásban, de relatív hozzájárulásuk mértéke az I/R súlyosbodásával csökken.

A NOX enzimek farmakológiai gátlása kettős mechanizmusú lehet enyhe iszkémiás vesekárosodásban, a vese és a neutrofilek ROS termelésének gátlása mellett a neutrofilek infiltrációjának későbbi csökkenése is hozzájárulhat a védő hatásához.

Eredményeink alátámasztják a lipocalin-2 (Lcn2/NGAL) diagnosztikai jelentőségét a vese iszkémia-reperfúzióban (I/R), és részletes adatokat szolgáltatnak az Lcn2-ről az akut vesekárosodás (AKI) egérmodelljében.

Az Lcn2 plazma koncentráció hasonló érzékenységgel képes kimutatni a súlyos vese I/R károsodást, mint a hagyományos markerek, pl. a BUN. Ezzel szemben a vese I/R károsodás enyhe vagy nagyon korai stádiumait csak a vizelet Lcn2 kiválasztás növekedése jelzi, még a BUN emelkedés előtt. A vizelet Lcn2 ürítés plazma Lcn2-re történő normalizálása (u/pLcn-2) segíthet megkülönböztetni a közvetlen vesekárosodást az Lcn2 emelkedés extrarenális okaitól. A plazma Lcn2 koncentráció nem specifikus vese biomarker, ezért az érzékenyebb és vesespecifikus vizeletürítést kell alkalmazni a vese I/R károsodás diagnosztizálására. A vizelettel történő Lcn2 kiválasztás specifikus és érzékeny biomarker a vese I/R károsodás diagnosztizálására.

A disszertációhoz kapcsolódó saját publikációk jegyzéke

1. **Révész C**, Kaucsár T, Godó M, Bocskai K, Krenács T, Mócsai A, Szénási G, Hamar P. Neutrophils and NADPH Oxidases Are Major Contributors to Mild but Not Severe Ischemic Acute Kidney Injury in Mice. *Int J Mol Sci.* 2024; 25(5):2948.
2. Kaucsár T, Godó M, **Révész C**, Kovács M, Mócsai A, Kiss N, Albert M, Krenács T, Szénási G, Hamar P: Urine/Plasma Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin Ratio Is a Sensitive and Specific Marker of Subclinical Acute Kidney Injury in Mice. *PLoS ONE*, Jan 2016.

A disszertációhoz nem kapcsolódó saját publikációk jegyzéke

1. Pethő ÁG, **Révész C**, Mészáros T, Sáfár O, Rosivall L, Domán J, Szénási G, Gigacz T, Dézsi L. Pathophysiological changes in patients during hemodialysis and blood reinfusion predict potential development of hemodialysis reactions. *Renal Failure.* 2025;47(1):2500662.
2. **Révész C**, Wasik AA, Godó M, Tod P, Lehtonen S, Szénási G, Hamar P: Cold Saline Perfusion before Ischemia-Reperfusion Is Harmful to the Kidney and Is Associated with the Loss of Ezrin, a Cytoskeletal Protein, in Rats. *Biomedicines* 9(1):30, January 2021.
3. Kökény G, Fang L, **Révész C**, Rosivall L: The Effect of Combined Treatment with the (Pro)Renin Receptor Blocker HRP and Quinapril in Type 1 Diabetic Rats. *Kidney and Blood Pressure Research* 42(1):109-122, April 2017.
4. Szalay Cs I, Erdélyi K, Kökény G, Lajtár E, Godó M, **Révész C**, Kaucsár T, Kiss N, Sárközy M, Csont T, Krenács T, Szénási G, Pacher P, Hamar P: Oxidative/Nitrative Stress and Inflammation Drive Progression of Doxorubicin-Induced Renal Fibrosis in Rats as Revealed by Comparing a Normal and a Fibrosis-Resistant Rat Strain. *PLoS ONE*, Jun 2015.
5. Wasik AA, Koskelainen S, Hyvönen ME, Musante L, Lehtonen E, Koskeniemi K, Tienari J, Vaheri A, Kerjaschki D, Szalay Cs, **Révész C**, Varmanen P, Nyman TA, Hamar P. Holthöfer H, Lehtonen S: Ezrin Is Down-Regulated in Diabetic Kidney Glomeruli and Regulates Actin

- Reorganization and Glucose Uptake via GLUT1 in Cultured Podocytes. American Journal Of Pathology, Apr 2014.
6. Kaucsár T, Bodor Cs, Godó M, Szalay Cs I, **Révész C**, Németh Z, Mózes M, Szénási G, Rosivall L, Sőti Cs, Hamar P: LPS-Induced Delayed Preconditioning Is Mediated by Hsp90 and Involves the Heat Shock Response in Mouse Kidney. PLoS ONE, Mar 2014.
 7. Kaucsár T, **Révész C**, Godó M, Krenács T, Albert M, Szalay Cs I, Rosivall L, Benyó Z, Bátкаи S, Thum T, Szénási G, Hamar P: Activation of the miR-17 Family and miR-21 During Murine Kidney Ischemia-Reperfusion Injury. Nucleic Acid Therapeutics, Vol. 23, Nr. 5, 2013.
 8. Masszi G, Novák A, Tarszabó R, Horváth EM, Buday A, Ruisanchez E, Tőkés AM, Sára L, Benkő R, Nádasy GL, **Révész C**, Hamar P, Benyó Z, Várbiró Sz: Effects of vitamin D3 derivative--calcitriol on pharmacological reactivity of aortic rings in a rodent PCOS model. Pharmacological reports, 65(2): 476-83, Mar 2013.
 9. Masszi G, Buday A, Novák A, Horváth EM, Tarszabó R, Sára L, **Révész C**, Benkő R, Nádasy GL, Benyó Z, Hamar P, Várbiró Sz: Altered insulin-induced relaxation of aortic rings in a dihydrotestosterone-induced rodent model of polycystic ovary syndrome. Fertility and sterility, 99(2): 573-78, Feb 2013.
 10. Weiszhar Z, Czucz J, **Révész C**, Rosivall L, Szebeni J, Rozsnyay Z: Complement activation by polyethoxylated pharmaceutical surfactants: Cremophor-EL, Tween-80 and Tween-20. European journal of pharmaceutical sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences, 45(4): 492-98, Sep 2011.
 11. Rác Z, Godó M, **Révész C**, Hamar P.: Immune Activation and Target Organ Damage Are Consequences of Hydrodynamic Treatment but Not Delivery of Naked siRNAs in Mice. Nucl Acid Ther., 2011 Jun; 21(3):215-24.
 12. Fugmann T, Borgia B, **Révész C**, Godó M, Forsblom C, Hamar P, Holthöfer H, Neri D, Roesli C.: Proteomic identification of vanin-1 as a

- marker of kidney damage in a rat model of type 1 diabetic nephropathy. *Kidney Int.*, 2011 Aug; 80(3):272-81.
13. Forgács Z, Kubinyi G, Sinay G, Bakos J, Hudák A, Surján A, **Révész C**, Thuróczy G.: 1800 MHz-es GSM-szerű sugárzás hatása hím egerek gonádműködésére és hematológiai paramétereire. [Effects of 1800 MHz GSM-like exposure on the gonadal function and haematological parameters of male mice.] *Magy Onkol*, 2005; 49(2): 149-51.
 14. **Révész C**, Forgács Z, Lázár P, Mátyás S, Rajczy K, Krizsa F, Bernard A, Gáti I: Effect of Ni^{2+} on primary human ovarian granulosa cells in vitro. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 2004, 14(5): 287-292.
 15. Forgács Z, Somosy Z., Révész C, Jánossy G., Thuróczy G: Effect of 50 Hz magnetic field exposure on the adherent cell contacts of primary mouse Leydig cells in culture. *Acta Biol Szeged*, 2003, 47(1-4): 27-30.
 16. Forgács, Z, Némethy, Z, **Révész, C**, Lázár, P.: Specific amino acids moderate the effects of Ni^{2+} on the testosterone production of mouse Leydig cells in vitro. *J Toxicol Environ Health, Part A*, March 2001, 62(5): 349-358.