

Lek. Rafał Heryć

Renalaza, dopamina i norepinefryna jako markery rozwoju nadciśnienia tętniczego, u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek

STRESZCZENIE

Wstęp: Przewlekła choroba nerek (PChN) powstaje w wyniku wielu heterogenicznych szlaków chorobowych, które nieodwracalnie zmieniają funkcję i strukturę nerek na przestrzeni miesięcy lub lat. Rozpoznanie PChN opiera się na stwierdzeniu przewlekłego pogorszenia czynności nerek i ich strukturalnego uszkodzenia. Nadciśnienie tętnicze (NT) zwiększa ryzyko miażdżycowej choroby sercowo-naczyniowej, zastoinowej niewydolności serca i schyłkowej choroby nerek oraz jest głównym czynnikiem przyczyniającym się do zachorowalności i śmiertelności na całym świecie. Do przyczyn występowania NT zalicza się kłębuszkowe zapalenie nerek, cukrzycowe choroby nerek, uszkodzenie nerek w układowych chorobach tkanki łącznej (toczeń rumieniowaty układowy, twardzina układowa, układowe zapalenie naczyń itp.), a także nefropatię zaporową, cewkowo-śródmiąższowe zapalenie nerek, wielotorbielowatość nerek czy stany po urazie nerki, torbiele nerki czy rak nerkowokomórkowy. Nerka jest narządem istotnie zaangażowanym w regulację ciśnienia tętniczego krwi, głównie poprzez układ RAA. Zaburzenia w działaniu tego mechanizmu, poprzez szereg niekorzystnych zmian ogólnoustrojowych, prowadzą do uszkodzenia nerek i postępującej przewlekłej choroby nerek, zapoczątkowanych przez uszkodzenie kłębuszków nerkowych. Odkrycie renalazy w 2005 roku dawało nadzieje, na wyjaśnienie patogenezy nadciśnienia tętniczego w PChN. Zakładano bowiem, że renalaza może rozkładać katecholaminy i regulować napięcie współczulne i ciśnienie krwi. Kolejne doniesienia podważały jednak tą funkcję podkreślając raczej bezpośredni wpływ renalazy na regulację działania NAD(P)-zależnych dehydrogenaz, biorących udział w metabolizmie lipidów oraz produkcji wolnych rodników. Norepinefryna reguluje przepływ krwi przez nerki, szybkość przesączania kłębuszkowego i kanalikowe wchłanianie zwrotne sodu i wody, a także uwalnianie reniny i prostaglandyn oraz kontrolę neuronalną funkcji nerek. Od wielu lat naukowcy badają związek pomiędzy dopaminą, a nadciśnieniem tętniczym. W obrębie nerek działanie dopaminy obejmuje zahamowanie $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATPazy}$ i wymiany $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ +wzmaga wydalanie sodu z moczem. Zwiększa także przepływ krwi przez nerki i przesączanie kłębuszkowe, wpływa na natriurezę, biorąc udział w utrzymaniu równowagi gospodarki

sodowej. Dopamina działa również naczynio – rozszerzająco oraz hamuje sekrecję aldosteronu, który ze względu na znaczenie fizjologiczne, jest również ściśle powiązany z chorobami nerek. Wiele badań wykonywanych u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, których celem było oznaczenie stężenia renalazy, dopaminy i norepinefryny, wykazuje brak spójności. Pomimo licznych badań nad tymi związkami oraz ich znaczeniem w przewlekłej chorobie nerek i nieodłącznie z nią powiązanymi chorobami sercowo-naczyniowych, ich rola w patogenezie tych chorób nie jest do końca poznana. Ze względu na prawdopodobny wpływ na przewlekłą chorobę nerek oraz rozwój nadciśnienia tętniczego i wzajemne relacje między tymi stanami chorobowymi poszukiwanie dalszych korelacji i zależności przyczynowo - skutkowych stanowi niezwykle interesujący kierunek badań i może przyczynić się do potencjalnie lepszego poznania tych chorób, trafniejszej oceny rokowania pacjentów i rozwoju nowych terapii patofizjologicznych, zmniejszając tym samym i tak już znacznie podwyższone ryzyko sercowo-naczyniowe u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek.

Cel pracy: Ocena stężenia renalazy, dopaminy i norepinefryny u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, jako potencjalnych markerów rozwoju nadciśnienia tętniczego

Materiały i metody: Grupę badaną stanowiło 117 pacjentów Kliniki Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, u których stwierdzono przewlekłą chorobą nerek. Na podstawie rodzaju stosowanej terapii nerkozastępczej pacjentów podzielono na 4 grupy: hemodializowani (grupa HD A – przed wykonaniem hemodializy i HD B bezpośrednio po zakończeniu hemodializy danego dnia) – 32 pacjentów, dializowani otrzewnowo (DO) – 31 pacjentów, pacjenci z przeszczepieniem nerki – 24 pacjentów (grupa TE A przed przeszczepieniem i TE B 2-5 dni po przeszczepieniu nerki) oraz leczeni zachowawczo - 30 pacjentów (stadium PChN 2-5). Grupę kontrolną stanowiło 31 zdrowych ochotników. Pacjentom oraz zdrowym ochotnikom pobrano krew na K₂EDTA (8 ml). Miejscem pobrania krwi w przypadku pacjentów hemodializowanych była przetoka żylna-tętnicza. U pozostałych pacjentów (DO, TE A, TE B, leczeni zachowawczo i zdrowi ochotnicy) materiał pobrano z żyły obwodowej. W przypadku pacjentów poddawanych hemodializie pobranie było dwukrotne – przed (A) i po zabiegu (B). W uzyskanym materiale oznaczono stężenie renalazy, dopaminy i norepinefryny metodą ELISA z wykorzystaniem gotowych zestawów odczynnikowych (Cloud-Cloune Corp, USA; DLD Diagnostika GMBH, Niemcy) oraz czytnika do mikroplątek EnVision (Perkin Elmer). Otrzymane wyniki zostały poddane analizie statystycznej. Do analizy statystycznej wykorzystano dokładny test Fishera oraz Chi-kwadrat (dane jakościowe), test t-Studenta oraz ANOVA dla układów jednoczynnikowych (dane parametryczne), ANOVA Kruskala-Wallisa

a także test U-Manna Whitneya dla danych niesparowanych lub Wilcozona dla danych sparowanych (dane nieparametryczne). Siłę korelacji pomiędzy parametrami zmierzono korelacją rang Spearmana. Do określenia wieloczynnikowej oceny związków pomiędzy badanymi parametrami posłużono się modelem liniowej regresji wielokrotnej. Jako zmienne zależne stężenia renalazy, dopaminy i norepinefryny. Jako zmienne niezależne wprowadzono, wiek pacjentów, czas trwania dializy, przyczynę oraz stadium przewlekłej choroby nerek. Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu Statistica PL 13 Trial.

Wyniki: Terapia nerkozastępcza wpływa istotnie na stężenie renalazy, dopaminy i norepinefryny. Najwyższe stężenie renalazy zaobserwowano u pacjentów dializowanych otrzewnowo zaś najniższe wśród pacjentów przed wykonaniem hemodializy. Po hemodializie poziom renalazy istotnie wzrasta. Po przeszczepieniu nerki, stężenie renalazy nie zmieniło się istotnie. Najwyższe stężenie dopaminy stwierdzono u pacjentów leczonych zachowawczo, a najniższe u pacjentów przed wykonaniem hemodializy. Wysokie stężenie dopaminy występowało również po hemodializie (HD B) oraz po przeszczepieniu nerki. Po hemodializie poziom dopaminy istotnie wzrasta. Po przeszczepieniu nerki stężenie dopaminy jest wyższe niż przed przeszczepieniem. Nie jest to jednak różnica istotna statystycznie. Najwyższe stężenie NE stwierdzono u pacjentów leczonych zachowawczo i po przeszczepieniu nerki, a najniższe u pacjentów przed wykonaniem hemodializy. Również wysokie średnie stężenie norepinefryny występowało w grupie kontrolnej. Po hemodializie poziom NE istotnie wzrasta. Po przeszczepieniu nerki stężenie norepinefryny nie zmieniło się istotnie.

Wykazano wpływ przyczyny przewlekłej choroby nerek na stężenie renalazy, dopaminy i norepinefryny. Najwyższe stężenie renalazy wykazano u pacjentów, u których przyczyna PChN jest inna niż nefropatia cukrzycowa, nadciśnienie tętnicze, kłębuszkowe zapalenie nerek i wielotorbielowatość nerek. Najniższe stężenie wykazano u pacjentów, u których przyczyną PChN jest ADPKD oraz nadciśnienie tętnicze. Najwyższe stężenie dopaminy stwierdzono u pacjentów, u których przyczyną PChN było kłębuszkowe zapalenie nerek, ale również wysokie wartości uzyskano u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i u których przyczyny przewlekłej choroby nerek były inne niż wyżej wymienione. Najniższe stężenie uzyskano u pacjentów z nefropatią cukrzycową i ADPKD. Najwyższe stężenie norepinefryny stwierdzono u pacjentów, u których przyczyną PChN było ADPKD lub przyczyna była nieznana. Najniższe stężenie uzyskano u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i biorąc pod uwagę przede wszystkim medianę stężeń NE również u pacjentów z nefropatią cukrzycową. Wykazano wpływ stadium przewlekłej choroby nerek na stężenie renalazy zarówno uwzględniając stadia 1-5 (gdzie stadium pierwsze to osoby z grupy kontrolnej), jak i uwzględniając stadia 3-5 (gdzie stadium

trzecie i czwarte to osoby leczone zachowawczo, a piąte to pacjenci kwalifikowani do dializy lub przeszczepienia nerki). Niskie stężenie renalazy wykazano w stadium pierwszym i piątym. Od stadium drugiego stężenie to rosło, osiągając najwyższe wartości w stadium czwartym. Wykazano wpływ stadium przewlekłej choroby nerek na stężenie norepinefryny, ale tylko uwzględniając stadia od trzeciego do piątego. Najwyższe stężenie NE wykazano w stadium piątym, a zdecydowanie najniższe w stadium trzecim i czwartym. Nie stwierdzono wpływu stadium PChN na stężenie dopaminy.

Wykazano wpływ czasu trwania dializy na stężenie renalazy. Najniższe stężenie renalazy wykazano u pacjentów dializowanych od dwóch do trzech lat, przy czym w początkowym okresie dializoterapii stężenia renalazy były bardzo zbliżone. Najwyższe stężenie renalazy stwierdzono u pacjentów dializowanych powyżej 5 lat.

Wykazano umiarkowanie silną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem renalazy, a czasem trwania dializoterapii liczonych w miesiącach.

Biorąc pod uwagę tylko pacjentów, u których przyczyną PChN było nadciśnienie tętnicze, wykazano wpływ czasu trwania dializy na stężenie renalazy. Najniższe stężenie renalazy wykazano u pacjentów dializowanych do 12 miesięcy, a najwyższe u dializowanych od trzech do czterech lat. Wśród tej grupy nie było osób dializowanych powyżej 4 lat.

Wykazano umiarkowanie silną dodatnią korelację pomiędzy czasem trwania dializoterapii, a stężeniem dopaminy, w grupie pacjentów, u których przyczyną PChN było nadciśnienie tętnicze.

Wykazano liczne korelacje pomiędzy wszystkimi badanymi związkami, a stężeniem parametrów biochemicznych (kreatynina, cholesterol, trójglicerydy, HDL, LDL, albumina białko całkowite, glukoza), a także takimi czynnikami jak: czas trwania dializy, wiek, płeć, GFR, przyczyny czy stadium PChN, zarówno w grupie badanej jak i kontrolnej.

Na podstawie wieloczynnikowej analizy regresji stwierdzono, że takie parametry jak wiek pacjentów, czas trwania dializy, przyczyny i stadium PChN miały wpływ na stężenie renalazy i norepinefryny odpowiednio w około 27% dla oraz w 11%. Wraz z wiekiem dochodzi do spadku stężenia renalazy o odpowiednio 0,35 ng/ml rocznie, a wraz z czasem trwania dializy dochodzi do wzrostu stężenia renalazy o 0,37 ng/ml a także wzrostu stężenia norepinefryny wraz z czasem trwania dializy o 0,34 nmol/L rocznie.

Wnioski: Rodzaj stosowanej terapii nerkozastępczej wpływa na stężenie renalazy, dopaminy i norepinefryny. Poza rodzajem terapii stosowanej u pacjentów z PChN, czynnikami istotnie wpływającymi na stężenie renalazy, dopaminy i norepinefryny są czas trwania dializoterapii, przyczyny oraz stadium PChN. Stężenie renalazy, dopaminy i norepinefryny może nas

informować o postępie przewlekłej choroby nerek, prawdopodobieństwie incydentów sercowo – naczyniowych, u pacjentów z PChN. Mogą nas także informować o rokowaniu pacjenta, a w przypadku pacjentów leczonych zachowawczo mogą być predyktorem leczenia nerkozastępczego, hospitalizacji i śmiertelności pacjentów z PChN.

IX SUMMARY

Introduction: Chronic kidney disease (CKD) arises from multiple heterogeneous disease pathways that irreversibly change kidney function and structure over months or years. The diagnosis of CKD is based on the finding of chronic renal impairment and structural damage.

Hypertension (HT) increases the risk of atherosclerotic cardiovascular disease, congestive heart failure, and end-stage kidney disease, significantly contributing to morbidity and mortality worldwide. The causes of HT include glomerulonephritis, diabetic kidney disease, kidney damage in systemic connective tissue diseases (systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, systemic vasculitis, etc.), as well as obstructive nephropathy, tubulointerstitial nephritis, polycystic kidney disease or conditions after kidney injury, kidney cysts or renal cell carcinoma.

The kidney is an organ significantly regulating blood pressure, mainly through the RAA system. Through a series of unfavorable systemic changes, disturbances in the operation of this mechanism lead to kidney damage and progressive chronic kidney disease initiated by damage to the glomeruli.

The discovery of renalase in 2005 gave hope to explaining the pathogenesis of hypertension in CKD. It was assumed that renalase could break down catecholamines and regulate sympathetic tone and blood pressure. Subsequent reports, however, undermined this function, emphasizing the rather direct effect of renalase on regulating the activity of NAD(P)-dependent dehydrogenases involved in lipid metabolism and the production of free radicals. Norepinephrine regulates renal blood flow, glomerular filtration rate, tubular sodium, water reabsorption, renin and prostaglandin release, and neuronal control of renal function. Scientists have studied the relationship between dopamine and hypertension for many years. In the kidneys, the effects of dopamine include inhibition of Na^+-K^+ -ATPase and Na^+/K exchange and +increase urinary sodium excretion. It also increases renal blood flow and glomerular filtration and affects natriuresis, taking part in maintaining the balance of sodium metabolism.

Dopamine also has a vasodilating effect and inhibits the secretion of aldosterone, which, due to its physiological importance, is also closely related to kidney diseases. Many studies in patients with chronic kidney disease that have measured renalase, dopamine, and norepinephrine levels are inconsistent. Despite numerous studies on these compounds and their importance in chronic kidney disease and its inherent cardiovascular diseases, their role in the pathogenesis of these diseases is not fully understood. Due to the probable impact on chronic kidney disease, the development of hypertension, and the mutual relations between these disease states, the search for further correlations and cause-and-effect relationships is an exciting research direction. It may contribute to a potentially better understanding of these diseases, a more accurate assessment of patient prognosis, and the development of new pathophysiological therapies, thereby reducing the already significantly elevated cardiovascular risk in patients with chronic kidney disease.

Aim of the study: Assessment of renalase, dopamine, and norepinephrine levels in patients with chronic kidney disease as potential markers of hypertension development

Materials and methods: The study group consisted of 117 patients of the Department of Nephrology, Transplantology and Internal Diseases of the Pomeranian Medical University in Szczecin, diagnosed with chronic kidney disease. Based on the type of renal replacement therapy used, the patients were divided into 4 groups: hemodialysis patients (group HD A - before hemodialysis and HD B immediately after hemodialysis on a given day) - 32 patients, peritoneal dialysis (PD) - 31 patients, patients with kidney transplantation - 24 patients (TE A group before transplantation and TE B group 2-5 days after kidney transplantation) and conservatively treated - 30 patients (CKD stage 2-5). The control group consisted of 31 healthy volunteers. Patients and healthy volunteers were blood drawn on K2EDTA (8 ml). The place of blood collection in the case of hemodialysis patients was the venous-arterial fistula.

The material was collected from a peripheral vein in the remaining patients (DO, TE A, TE B, conservatively treated, and healthy volunteers). For patients undergoing hemodialysis, the collection was done twice - before (A) and after the procedure (B). The concentration of renalase, dopamine, and norepinephrine in the obtained material was determined by ELISA using ready-made reagent kits (Cloud-Cloune Corp, USA; DLD Diagnostika GMBH, Germany) and the EnVision microplate reader (Perkin Elmer). The obtained results were subjected to statistical analysis. For statistical analysis, Fisher's exact test and Chi-square test (qualitative data), Student's t-test and ANOVA for one-way designs (parametric data), Kruskal-Wallis ANOVA and U-Mann Whitney test for unpaired data or Wilcoxon test for paired data were used (non-parametric data). Spearman's rank correlation measured the strength of the correlation between the parameters. A multiple linear regression model was used to determine the multivariate assessment of relationships between the parameters studied. Renalase, dopamine, and norepinephrine concentrations were entered as dependent variables. The age of patients, duration of dialysis, cause, and stage of CKD were entered as independent variables. Statistical analysis was performed using the Statistica PL 13 Trial software.

Results: Renal replacement therapy significantly affects renalase, dopamine, and norepinephrine levels. The highest concentration of renalase was observed in patients undergoing peritoneal dialysis and the lowest among patients before hemodialysis. Renalase levels increase significantly after hemodialysis. Renalase levels did not change significantly after kidney transplantation. The highest dopamine concentration was found in patients treated conservatively and the lowest in patients before hemodialysis. High dopamine levels were also observed after hemodialysis (HD B) and kidney transplantation. After hemodialysis, the level

of dopamine increases significantly. After a kidney transplant, dopamine levels are higher than before the transplant. However, this is not a statistically significant difference. The highest concentration of NE was found in patients treated conservatively and after kidney transplantation and the lowest in patients before hemodialysis. High mean norepinephrine levels were also present in the control group. After hemodialysis, the level of NE increases significantly. Norepinephrine levels did not change significantly after kidney transplantation. The influence of the cause of chronic kidney disease on the concentration of renalase, dopamine, and norepinephrine have been demonstrated. The highest levels of renalase were found in patients with CKD other than diabetic nephropathy, hypertension, glomerulonephritis, and polycystic kidney disease. The lowest concentration was found in patients with CKD caused by ADPKD and hypertension. The highest dopamine concentration was found in patients with CKD caused by glomerulonephritis. However, high values were obtained in patients with hypertension whose causes of chronic kidney disease were other than those mentioned above. The lowest concentration was obtained in patients with diabetic nephropathy and ADPKD. The highest levels of norepinephrine were found in patients with CKD due to ADPKD or an unknown cause. The lowest concentration was obtained in patients with arterial hypertension and, taking into account primarily the median NE concentrations, also in patients with diabetic nephropathy.

The effect of the stage of chronic kidney disease on the renalase concentration was demonstrated both in terms of stages 1-5 (where stage 1 is people from the control group) and taking into account stages 3-5 (where stages 3 and 4 are patients treated conservatively, and stage 5 are patients qualified for dialysis or a kidney transplant). Low renalase levels were demonstrated in stages one and five. From the second stage, this concentration increased, reaching the highest values in the fourth stage.

The effect of the chronic kidney disease stage on the concentration of norepinephrine was demonstrated, but only taking into account stages from three to five. The highest concentration of NE was found in stage five and the lowest in stages three and four. There was no effect of the CKD stage on dopamine concentration.

The effect of dialysis duration on renalase levels has been demonstrated. The lowest renalase levels were found in patients dialyzed for two to three years, and renalase levels were very similar in the initial dialysis period. The highest levels of renalase were found in patients on dialysis for more than 5 years. A moderately strong positive correlation was found between the concentration of renalase and the duration of dialysis in months. Considering only patients with hypertension as a cause of CKD, the effect of dialysis duration on renalase levels was

demonstrated. The lowest renalase concentration was found in patients dialyzed for up to 12 months and the highest in those dialyzed for three to four years. There were no dialysis patients in over 4 years in this group. A moderately strong positive correlation was found between the duration of dialysis and dopamine concentration in patients with CKD due to arterial hypertension.

Numerous correlations were found between all the tested compounds and the concentration of biochemical parameters (creatinine, cholesterol, triglycerides, HDL, LDL, albumin, total protein, glucose), as well as such factors as the duration of dialysis, age, sex, GFR, causes or stage of CKD, both in the study group and in the control group.

Based on multivariate regression analysis, parameters such as patient age, duration of dialysis, cause, and stage of CKD have affected renalase and norepinephrine levels by approximately 27% and 11%, respectively. Renalase decreases with age by 0.35 ng/mL per year, respectively, renalase increases by 0.37 ng/mL with a duration of dialysis, and norepinephrine rises with a dialysis time of 0.34 nmol/L per year.

Conclusions: The type of renal replacement therapy affects the renalase levels, dopamine, and norepinephrine, CKD stage. The concentration of renalase, dopamine, and norepinephrine can inform us about the progression of chronic kidney disease and the likelihood of cardiovascular events in patients with CKD. They can also tell us about the patient's prognosis. In the case of patients treated conservatively, they can be a predictor of renal replacement therapy, hospitalization, and mortality in patients with CKD.