

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar

Belgyógyászati Tanszék és Klinika

**Az amiláz, mint lehetséges paraméter macskák
veseelégtelenségének korai diagnosztizálásában**

TDK dolgozat

Készítette: Péntek Eszter

Témavezető: Dr. Balogh Éva *klinikai
főállatorvos* Dr. Halmay
Dóra *klinikai állatorvos*

Budapest

2012

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS.....	2
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
2.1. Az amiláz	4
2.1.1. Az amiláz szerkezete, szerepe és termelődése	4
2.1.2. Az amiláz izoenzimeit.....	5
2.1.3. Makroamiláz	5
2.1.4. Az amiláz kimutatása, az enzimaktivitás mérése és a mérési hibák okai	7
2.1.5. Az amiláz ürülése.....	7
2.1.6. A szérumban amiláz szint növekedésének okai macskában.....	8
2.2 Kreatinin	8
2.2.1 A kreatinin szerkezete:.....	8
2.2.2 A kreatinin biológiai jelentősége	9
2.2.3. A kreatinin mérése	9
2.2.4. A kreatinin mérés eredményének értékelése vör mintában:	10
2.2.5. A kreatinin mérés eredményének értékelése vizelet mintában	10
2.3. Krónikus veseelégtelenség macskában.....	10
2.3.1. A krónikus veseelégtelenség áttekintése.....	11
2.3.2. A krónikus veseelégtelenség stádiumai	11
2.3.3. A krónikus veseelégtelenség etiológiája.....	11
2.3.4. A krónikus veseelégtelenség labordiagnosztikája	12
2.3.5. A krónikus veseelégtelenség diagnózisa.....	13
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	14
3.1. Amiláz és kreatinin értékek vizsgálata macskában	14
3.2. Az amiláz érték intervallumok százalékos aránya a veseelégtelenség stádiumai szerint.....	15
3.3. Az amiláz értékek változása a kreatinin értékek függvényében az összes korcsoportban.....	15
3.4. Az adatok felhasználásával a vizsgált populációban új amiláz intervallumok meghatározása korcsoportok szerint.....	15

3.5. Az amiláz klírensz/kreatinin klírensz hányados (C_{AM}/C_{CR}) meghatározása macskában kis egyedszám mellett.....	16
3.6. Az amiláz és kreatinin koncentráció mérés érzékenységi vizsgálata krónikus veseelégtelenségre ROC analízissel	16
4. EREDMÉNYEK	18
4.1. Amiláz és kreatinin értékek vizsgálata macskában	18
4.2. Az amiláz értékek változása a veseelégtelenség egyes stádiumaiban.	20
4.3. Az amiláz értékek változása a kreatinin értékek függvényében.....	23
4.4. Az amiláz érték és a kor összefüggés vizsgálata	24
4.5. Az amiláz klírensz/kreatinin klírensz hányados (C_{AM}/C_{CR}) meghatározása	26
4.6. Az amiláz és kreatinin koncentráció mérés érzékenységi vizsgálata krónikus veseelégtelenségre ROC analízissel	27
5. MEGBESZÉLÉS.....	28
5.1. Amiláz és kreatinin értékek vizsgálata macskában	28
5.2. Az amiláz értékek változása a veseelégtelenség egyes stádiumaiban korcsoportonként.....	29
5.4. Új amiláz intervallumok meghatározása korcsoportok szerint.....	30
5.5. Az amiláz klírensz/kreatinin klírensz hányados (C_{AM}/C_{CR}) meghatározása	30
5.6. Az amiláz és kreatinin koncentráció mérés érzékenységi vizsgálata krónikus veseelégtelenségre ROC analízissel	32
5.7. Összegzés:	32
6. ÖSSZEFOGLALÁS.....	33
7. SUMMARY.....	34
8. IRODALOMJEGYZÉK.....	35

1. BEVEZETÉS

Mivel az amilázt macskában az exocrin pancreas termeli, ezért joggal hihetnénk, hogy az enzim szintjének emelkedése pancreatitisre utal. Ennek ellenére, napjainkra már kísérletekkel bizonyított tény, hogy az amiláz koncentrációjának változása nem alkalmas macskában a pancreast

érintő betegségek diagnosztizálására. Munkámban arra keresem a választ, hogy mi befolyásolhatja macskában ennek a paraméternek a változását és hogy a mérési eredmények alapján mire következtethetünk.

Macskában az amiláz enzim természete, szerepe jelenleg még egy kevésbé kutatott téma az állatorvoslásban, így viszonylag kevés szakirodalmat találhatunk róla. A legtöbb írás a kutyák pancreatitis diagnosztizálásban betöltött szerepét említi. Macskák esetén az irodalmi hivatkozások abban szinte mindig egyetértenek, hogy pancreatitisben az emelkedése nem jellemző, így nem alkalmas ennek a kórképnek a diagnosztizálására.

Macskában az amiláz számottevően csak a hasnyálmirigyben termelődik, a többi szervben lévő koncentrációja a szérum szintjét nem haladja meg. Kiválasztása vesén keresztül történik, melynek mechanizmusa még nem teljesen tisztázott. Tudomásunk szerint az amiláz a vizeletben is megtartja aktivitását.

A vér- és vizeletbeli enzim szinteket három fő dolog befolyásolja: a vese kiválasztó funkciójának károsodása, gastrointestinális kórképek és az amiláz aktivitással rendelkező makroamiláz képződés, amelynek mérete megakadályozza a vesén keresztüli filtrációt.

Az a megfigyelés, hogy macskáknál idős korban eddig megmagyarázatlan módon megemelkedik a vérbeli amiláz koncentráció, adta a kiindulópontot TDK munkám témájához.

Megvizsgáltuk, hogy az amiláz vérbeli koncentrációja hogyan változik a korrallal, és szintjét hogyan befolyásolja a vesefunkció beszűkülése. Kíváncsiak voltunk továbbá a vizeletbeli szintjére és az amiláz/ kreatinin klirensz mértékére.

Vizsgálataink alapján fontosnak tartjuk kor szerinti referencia értékek létrehozását, mivel a laboratóriumokban a leleten szereplő normál tartományok általában a már nem kölyök, de még nem túl idős állatokra vonatkoznak, a korból adódó esetleges eltéréseket nem veszik figyelembe. Arra is választ kerestünk, hogy az amiláz mennyire megbízható paraméter macskák krónikus veseelégtelenségének (IRC) diagnosztizálásában. A kezdődő krónikus veseelégtelenségben szenvedő állatok élete ugyanis az időben megkezdett kezelés segítségével akár évekkal is meghosszabbítható nem kezelt társaikéhoz képest.

A veseelégtelenség diagnosztikája rendkívül összetett, és macskák esetében nem alkalmaznak jelenleg olyan rutin módszert, amely a krónikus veseelégtelenség korai stádiumát megbízhatóan jelezné. Éppen ezért tűztük ki azt a célt, hogy olyan paramétert találjunk, és kövessük nyomon a változását, amely a későbbiekben a mindennapi labordiagnosztikában is használható lesz.

2.IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az amiláz

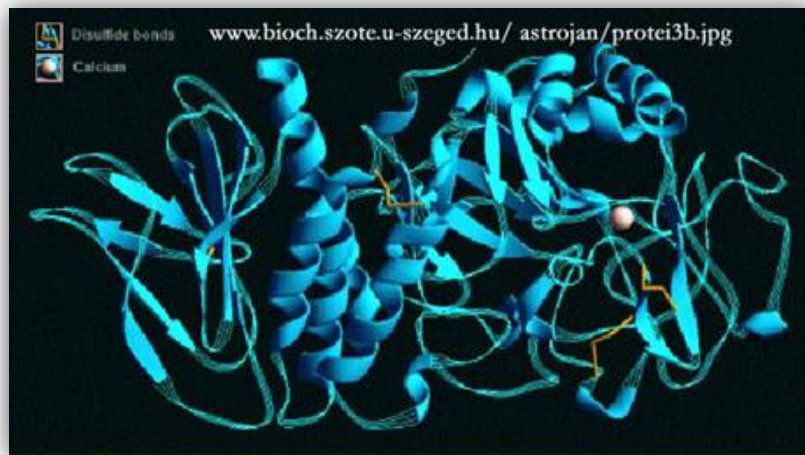
2.1.1. Az amiláz szerkezete, szerepe és termelődése

Az amilázok olyan kalcium dependens enzimek, amelyek a keményítő glükóz egységei közötti alfa(1-4) glikozidos kötéseket hidrolizálják.

Az állatok és emberek szervezetében elsődleges funkciójuk a táplálék keményítő tartalmának lebontása annak érdekében, hogy az a szervezet számára hasznosíthatóvá váljon, mivel a poliszacharid molekulák túl nagyok a felszívódáshoz. A növényi és mikrobiális sejtekben is amiláz enzimek hasítják a poliszacharidokat tartaléktápanyagként való felhasználáskor.

Mint a legtöbb emlősfajban, az amilázt a macskában és a kutyában is a pancreas termeli legnagyobb mennyiségben (Skude és Mardh, 1976). Viszont, ahogy már régebben megállapították, a nyálmirigyekben nem termelődik, ellentétben az emberrel és sok más állatfajjal szemben (Carlson és Lockhardt, 1908). Az amiláz szint mérésére irányuló vizsgálatok során kimutatták a jelenlétét a májban, belekben, tüdőben, szívben, lépben, vesében és vázizomban, de csak olyan mennyiségben, ami a szérumból származhatott. (McGeachin és Akin, 1979).

A hidrolázok csoportjába tartozó alpha-amiláz (endo-amiláz) kémiai neve alpha-1,4-D-glükán-glükonohidroláz. Az amilóznak csak a belső alpha-1,4-D-glükozidos kötéseit hidrolizálja véletlenszerűen. (Az amilóz a glükóz planáris polimere, ahol a glükózrészek $\alpha(1\rightarrow4)$ glikozidos kötéssel kapcsolódnak egymáshoz. Több ezer glükózegységből áll, és az amilopektinnel a keményítő két fő komponensét alkotják). Ennek eredményeképpen elágazó 6-7 glükóz egységből álló oligoszacharidok keletkeznek. Az amilózból maltotrióz és maltóz, az amilopektinből pedig maltóz, glükóz és "limit dextrin" keletkezik.



1. ábra: Az alpha-amiláz molekuláris szerkezete

2.1.2. Az amiláz izoenzimek

Az amiláz nem egységes enzim. Megkülönböztetünk a nyálmirigyben előforduló S-amilázt, hasnyálmirigy eredetű P-amilázt, a belekben termelődő intestinális amilázt és ún. M-amilázt (makroamiláz) (Gaál, 1999). Fajonként különböző az izoamilázok előfordulási aránya, sőt nem minden fajban van jelen mindegyik forma (Meyer, 1991). Emberben öt izoformája van, háromféle nyálmirigy eredetű amiláz (AMY1A, AMY1B, AMY1C) és kétféle hasnyálmirigy amiláz (AMY2A, AMY2B). Macskánál és kutyánál az S-amiláz és az intestinális amiláz hiányzik, és főként pancreasból származó amiláz mutatható ki szérumból és vizeletből (Meyer, 1991). A nyúlban megtalálható mind a háromféle izoenzim: a nyálmirigyből, pancreasból és a duodenumból származó. Patkányban nyálmirigy és pancreas eredetű amiláz van, viszont egérben bizonyítottan termeli a parotis, a pancreas, a máj és a bél is. Az aranyhörcsögnél a nemi traktusból származó enzimet is találunk, viszont a hasnyálmirigy eredetű amiláz nem mutatható ki sem szérumból, sem vizeletből. (Skude, 1976)

A különböző izoenzimek elektroforézissel különíthetők el.

2.1.3. Makroamiláz

2.1.3.1. A makroamiláz szerkezete és fizikai tulajdonságai

A makroamiláz egy amiláz aktivitással rendelkező makromolekuláris komplex (Berk et al., 1967), amelynek mérete (> 300 kD) megakadályozza a vesén keresztül történő filtrációt és klírenszt/kiürülést. Makroamiláz alatt értjük az amiláz immunglobulinokkal vagy néhány poliszachariddal alkotott komplexét, amely a vérben kering (Wilding, 1967). Élettani körülmények

között az összes mérhető amiláz aktivitásnak csupán kis hányadát teszi ki, kutyában ez kb. 14% (Vet Cornell Edu).

Makroamilázaemia humán vonatkozásban a hiperamilázémiás betegek 2,5 %-ában fordul elő. Az egészséges, normál amiláz szinttel rendelkező emberek 1 %-ában lehet észlelni (Klonoff, 1980). A komplexek, attól függően, hogy az amiláz milyen molekulához kapcsolódik, rendkívül heterogének. Amiben hasonlítanak, az a nagy méretük, ami miatt nem filtrálódnak a vesén át, megnövelve ezzel a szérum amiláz aktivitását (Berk et al., 1967).

A makroamilázokat a nem komplexben lévő amiláztól egyértelműen el lehet különíteni pl. kromatográfiás módszerrel, ultracentrifuga segítségével vagy elektroforézissel (Klonoff, 1980). Különböző fajokban változó az immunglobulinok affinitása az amilázhoz, sőt még fajon belüli izoenzimhez is: pl. a humán pancreas és parotis eredetű izoamilázokhoz. Eddig emberben IgA- és IgG-hez kötődő amilázt írtak le, az enzim nem kötődik viszont IgM-, IgE- és IgD-molekulához (Kobayasi et al., 1978).

2.1.3.4 A makroamiláz előfordulása, klinikai jelentősége emberben

A makroamilázaemia változatos ideig áll fenn. Gyakran pancreastól független betegségekre utal (Keogh et al., 1978). Észlelték átmeneti, nem specifikus jelenlétét különféle akut és krónikus betegségnél is. Utalhat különféle betegségek okozta dysproteinaemiára, vagy korai markere lehet néhány szisztémás betegségnek is (Klonoff, 1980). Nagyobb gyakorisággal számoltak be róla azoknál a betegeknél, akiknél a humorális immunitás zavart szenvedett (autoimmun betegség, rák), vagy olyan betegségeknek, amiknek a kimenetele pancreatitishez vezetett (alkoholizmus, cukorbetegség, cholelithiasis, felszívódási zavar). A makroamilázaemia, úgy tűnik, magasabb arányban fordul elő hiperamilázémiás betegeknél, de jelentkezhet normális amiláz szint mellett is. (Fridhandler et al., 1971)

Egy tanulmányban 108 makroamilázémiás beteg klinikai állapotát írták le, amelynek során hét alapbetegség gyakoribb előfordulását tapasztalták: Ezek az alkoholizmus, a pancreatitis, a rák, a cukorbetegség, az epekő, autoimmun megbetegedés és a malabsorptio. (Klonoff, 1980) Állatoknál az amiláz glükoproteinekkal komplexbe lépve hoz létre makroamilázémiát pl FIP, immunbetegségek, lymphoma, myeloma esetében. Cukorbetegségben pedig glükóz-amiláz komplex jön létre (Gaál, 1999).

2.1.4. Az amiláz kimutatása, az enzimaktivitás mérése és a mérési hibák okai

Az α -amiláz a keményítő, a glikogén és az egyéb α -glükóz polimerek 1-4- α -glikozidos kötéseinek véletlenszerű endohidrolízisét katalizálja. A hasnyálmirigy választja ki az emésztőtraktusba, ahol részt vesz az élelmiszer eredetű polyszacharidok hidrolitikus bontásában, aminek a végeredménye glükóz (Batchelor et al., 1990). Az amiláz pH optimuma 6.9-7. Működéséhez kalcium- és kloridionra van szükség (Ramasubbu *et al.*, 1996).

Élettani aktivitásának értéke laboratórium- és módszertanfűggő. Jól vizsgálható. Mintegy 200 fűle módszer létezik a mérésűre. Az α -amiláz meghatározására hűromfűle módszert alkalmaznak a mindennapokban: ezek az ún. amyloclasticus, a saccharometricus és chromogenicus vizsgálatok (Levitt et al., 1979).

Az **amyloclasticus módszer** a keményítű jellegű szubsztrátok bontását méri viszkozimetriás, jodometriás-turbidimetriás, vagy nephelometriás eljűrással. Ezek ritkán használt mérési módszerek (Batchelor et al., 1990).

A **saccharogenicus módszer** a cukrok kialakulását méri redukáló képessűgűk vagy specifikus enzimatisus folyamataik alapján. Az utűbbiak kűzű tartozű kolometrikus és spektrofotometriás eljűrások specifikus kromofűrok mérésűn alapulnak.

A **chromogén módszerekben** szintetikus szubsztrátokat használnak, amik a reakciű során szűnes termékkű alakulnak, mennyisűgűk pedig spektrophotometriásan mérhetű (Gaál, 1999). Az eljűrás rendkűvűl egyszerű, őrűzenysűge nagy, így az amiláz őrűtűk vűltűzésűnak nyomon kűvetésűre is alkalmas (Batchelor et al., 1990). A chromogén szubsztrátok lűnyegűben olyan festűkek, amik kovalens kűtűssel egy poliszacharid gerinchez kapcsolűdnak. Az amiláz hatásűra oldhatű festűk-fragmentumok keletkeznek, amelyek mennyisűge 405 nm-en spektrofotometriásan mérhetű a hidrolizátatlan szubtrátumok eltűvolítűsa után (Batchelor et al., 1990). Ilyen festűkek pl. a klinikai labordiagnosztikűban nűpsűrű p-niro-phenil –oligoszacharidok (Batchelor et al., 1990).

A sűrűmban mérhetű őrűssz-amiláz őrűlettani őrűtűke hűsevűkben labor- és módszerfűggűen 800-1000 U/l alatti (Gaál, 1999).

Hibűsan magas őrűedműnyt kapunk, ha amiláz mérűs elűtű plazmaexpanderkűnt hidrox-i-etil-keműnyítű (HAES) oldatot alkalmazunk, aminek makroamiláz kűpűzű tulajdonsűga van.

2.1.5. Az amiláz őrűrűlűse

Az alpha-amiláz humán vizsgálatok alapján mintegy 80 %-a a vesűken keresztűl választűdik ki. A glomerulusokon keresztűl filtrálűdik, a tubulusok kűzel 50 %-ban reabszorbeáljűk (Goldberg,

1975). Arról, hogy aktív amiláz megjelenik-e a húsevők vizeletében, az irodalmi adatok ellentmondásosak. Különböző tanulmányokban a vizelet amiláz aktivitási eredményei nagyon változatosak voltak vagy nem is találtak a vizeletben amilázt (Eto et al., 1969). Ezt azzal magyarázták, hogy csökkent amiláz aktivitást okozhat a vizelet alacsony kalcium és protein szintje, mind a kettő szükséges a normális működéshez) (O'Donnel et McGeeney, 1975). Kimutatták, hogy kutyákban a tubuláris reabszorpciónak nincs jelentősége és nem találtak a vizeletben inaktivált vagy inhibált (Jacobs, 1988). Emberben bizonyított a vizelet amiláz aktivitása és az $C_{AM}:C_{CR}$ mérés diagnosztikai jelentősége (Levitt, 1979). Kutyában az $C_{AM}:C_{CR}$ hasonló, mint emberben (Hudson és Strombeck, 1978) Macskában erre irányuló vizsgálatokat nem végeztek. Kis mennyiségű amilázt a máj Kupffer-sejtjei is felvesznek.

2.1.6. A szérum amiláz szint növekedésének okai macskában

Macskában az amiláz - a kutyától eltérően – pancreatitis diagnosztizálására nem alkalmas, hiszen hasnyálmirigy gyulladás esetén aktivitásának emelkedése nem is jellemző. Egyes laboratóriumok egyenesen értelmetlennek tartják macskában az amiláz mérést.

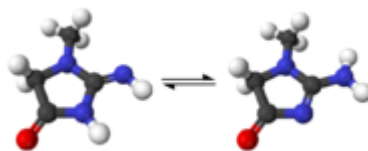
Macskák esetében az amiláz aktivitás növekedésének több oka lehet. Elsősorban a veseelégtelenség miatt emelkedik meg a szérum amiláz koncentrációja. Az amiláz a glomerulusokon keresztül filtrálódik, hiányos működése hatással van az enzim szérum és vizelet szintjére. Emiatt jellemző, hogy aktivitása jelentősen megnövekszik a veseelégtelenség oligo-anuriás szakaszában krónikus veseelégtelenségben (IRC, chronic renal failure), glomerulusfiltráció csökkenés miatt (Gaál, 1999). Az amiláz szint emelkedése tapasztalható még a következő betegség csoportokban: krónikus gyulladásokban (különösen gastrointestinalis gyulladás esetén), obturációs ileusban, bélbeli fekélyképződés és bélperforáció esetén.

Többszörösére emelkedik az amiláz aktivitás makroamiláz-képződés fennállásakor, mint a poliklonális gammopathia (pl. FIP, autoimmun betegség) és a monoklonális gammopathia (pl. lymphoma, myeloma) (Gaál, 1999).

2.2 Kreatinin

2.2.1 A kreatinin szerkezete:

A kreatinin egy nem fehérje természetű, nitrogéntartalmú anyag, molekula tömege 113 D. Az izomműködés során a kreatin-foszfát lebontásából keletkező végtermék. A kreatin-foszfátnak naponta kb. 2 %-a alakul át kreatininné. Élettani körülmények között termelésének mértéke állandó, értéke függ az izomtömeg/testnagyság arányától.



2. ábra A kreatinin molekuláris szerkezete (Wikimedia Commons)

2.2.2 A kreatinin biológiai jelentősége

A kreatinin a vesén keresztül választódik ki. Kis molekulatömegű anyag lévén a glomerulusokon keresztül maradéktalanul filtrálódik. A tubulusokon keresztül gyakorlatilag nem szekretálódik és reabszorpciója sincs. Ha a vese kiválasztó funkciója zavart szenved (vagyis a glomerularis filtrációs ráta /GFR/ csökkenésekor), akkor a vér kreatinin szintje megemelkedik. Vérbeli koncentrációját a karbamidhoz képest kevésbé befolyásolják extrarenális tényezők, emiatt a veseműködés és glomeruláris funkció megállapítására az egyik legalkalmasabb paraméter. Növekedése csak jelentős nephron károsodás esetén figyelhető meg: a GFR egynegyedére való csökkenése esetén értéke 100-150 %-kal emelkedik. Ezért elmondható, hogy önmagában és egyszeri méréssel nem alkalmas a korai stádiumú veseelégtelenség kimutatására.

Az idő előtti vesekárosodás mértéke jobban megbecsülhető pl. a kreatinin klírensz mértékéből, viszont ennek vizsgálata nem gyakorlatias, a mindennapi labordiagnosztikában nem használatos. Kutyaiban lehetőség van még a vérből történő cystatin-C és a mikroalbuminuria kimutatására, ezek mindegyike a korai, tüneteket még nem okozó veseelégtelenség felismerésére lett kifejlesztve.

Macskában a vizelettel ürülő albumin meghatározást (sok fals pozitív eredmény) és a cystatin-C mérést (befolyásolja az etetés) egyes szerzők nem tekintik jó indikátornak az idült veseelégtelenség kezdeti stádiumának detektálásában, mert egyik sem elég specifikus. (http://www.laboklin.de/pdf/de/news/laboklin_aktuell/lab_akt_0903.pdf)

2.2.3. A kreatinin mérése

A kreatinin kimutatását elsősorban vérből (szérumból, plazmából) és vizeletből végezzük, utóbbi esetben a vizelettel kiválasztásra kerülő egyéb anyagok meghatározásakor (pl. fehérje) van jelentősége. Mivel a kreatinin ürülése állandó, fontos viszonyítási alapul szolgál a vizelet sűrűségétől függő molekulák meghatározásában (ilyenkor arányukat mindig a kreatininhez viszonyítva adjuk meg, és ez a hányados állandó).

A kreatinin kimutatására többféle metódus is létezik, a leggyakoribb az ún. Jaffé-féle kinetikus módszer. Ennek lényege, hogy a kreatinin pikrinsavval alkalikus közegben narancssárga ionkomplexet képez, a bekövetkező abszorbancia változás pedig 505 nm-es hullámhosszon spektrofotométerrel mérhető. Vizelet esetén minden esetben szükség van a vizelet 1:10-1:200 arányú hígítására, mivel a vizeletben rendkívül magas a kreatinin koncentrációja (akár 20000 $\mu\text{mol/l}$). Fontos, hogy a ketonanyagok, a cefalosporinok, az aszkorbinsav és a glükóz is reakcióba lépnek a pikrinsavval, de a reakció kompetitív és a kreatinin reakciósebessége a nagyobb.

A kreatinin tartalom élettani értéke a vérplazmában/szérumban állatfajonként változó. Macskában laboratóriumtól függően 40-140 $\mu\text{mol/l}$ koncentráció tekinthető élettaninak. A vizelet kreatinin tartalma 10-100-szorosa a vérplazmáénak, koncentrációja a vízháztartás függvényében tág határok között változhat (Gaál, 1999).

2.2.4. A kreatinin mérés eredményének értékelése vér mintában:

A *hypokreatininémiának* nincs diagnosztikai jelentősége, az alacsony értéket a cachexia, a haemodilutio vagy a minta hosszú időn keresztüli tárolása okozza.

A *hypercreatininaemia* a vese eredetű problémákon kívül (csökkent glomeruláris filtráció, vese fibrózis, -amyloidosis), dehidráció, sok hús etetése, túlfajlett izomzat, heveny izomgyulladás, -sérülés és -necrosis eredményeképpen jöhet létre.

2.2.5. A kreatinin mérés eredményének értékelése vizelet mintában

Önálló jelentősége sem a csökkenésnek, sem az emelkedésnek nincs, mivel a vizelet kreatinin tartalma a szervezetben fennálló térfogatviszonyok szerint változik. A vizelet kreatinin értékére vonatkoztatva adjuk meg viszont néhány ürülő anyag (hormon, fehérje, enzimek) mennyiségét, amit ugyancsak befolyásol a vízháztartás állapota, így azonban lehetővé válik azok mennyiségi értékelése.

2.3. Krónikus veseelégtelenség macskában

A krónikus veseelégtelenség macskában egy gyógyíthatatlan, progresszív betegség, amelyre a vese fokozatos funkciócsökkenése jellemző. Az egyik leggyakoribb idősebb macskákat érintő betegség, ami a vezető halálokok között is szerepel. (Gauer, 2005)

2.3.1. A krónikus veseelégtelenség áttekintése

Krónikus veseelégtelenség esetén egy elhúzódó, progresszív visszafordíthatatlan vesekárosodás áll fenn. A vese jelentősen megkisebbedik és szerkezetében drámai változások következnek be. A funkcionális szövet helyén fibrotikus szövet jelenik meg, így a vese kevésbé képes kiszűrni és eltávolítani a vérben lévő salakanyagokat. A szerkezeti változásokat a funkcionális hiányosságok csak sokkal később követik, így a krónikus veseelégtelenség sokszor csak hosszú hónapok, esetleg évek elmúltával válik klinikailag nyilvánvalóvá. Bár 3 éves kor alatt a veleszületett betegségek miatt a gyakoriságában átmeneti növekedés látható, prevalenciája az életkor előrehaladtával jellemzően 5-6 éves kortól növekszik. (Jepson RE. et al., 2009) Tizenöt év feletti macskák közül egyes szerzők szerint minden ötödik, más szerzők szerint minden második állat esik áldozatául a betegségnek (Francey T. és Schweighauser A., 2008, Laboklin, 2009) Általában macskáknál háromszor gyakrabban fordul elő, mint kutyaénál.

2.3.2. A krónikus veseelégtelenség stádiumai

A krónikus veseelégtelenséget általában különböző stádiumokba sorolják (International Renal Interest Society Classification of Stages of Kidney Disease) a laboratóriumi vizsgálatok és klinikai tünetek alapján (IRIS Guidelines).

Az **első stádiumban** a vesekárosító folyamat már fennáll, de azotémia és klinikai tünetek még nem alakulnak ki. Sajnos a vesebetegség nagyon ritkán kerül diagnosztizálásra ebben a szakaszban. A **második stádiumban** a betegség előrehaladtával a GFR az élettani érték 25 %-a alá csökken, azotémia jelenik meg, de klinikai tünetek még mindig nem figyelhetők meg. Ebben a szakaszban jelentkezhet a vese koncentrálókéességének károsodása és a vizelet térfogat növekedése. A **harmadik stádiumban** a GFR tovább csökken, és már jelen vannak mind az azotémia, mind a klinikai tünetek. A **negyedik stádiumban** további progresszió, súlyosabb azotémia és klinikai tünetek észlelhetők.

2.3.3. A krónikus veseelégtelenség etiológiája

Nagyon sokfajta kiváltó tényezője lehet, de ezt a legtöbb esetben nem lehet meghatározni. A legtöbb macskánál a krónikus veseelégtelenség a vese intersticiális gyulladása miatt alakul ki, mindenféle nyilvánvaló ok nélkül (idiopátiás intersticiális nephritis). Az intersticiális fibrosis súlyossága pozitív korrelációban áll a GFR nagyságának csökkenésével és negatívan korrelál a prognózissal.

Létezik azonban néhány jól ismert ok, ami a kórkép kialakításában játszik szerepet. Ha ezek felismerhetők, akkor a célzott kezelésnek köszönhetően megállítható a betegség progressziója.

Az elsődleges folyamat azonosítása különösen az első és a második stádiumban fontos a prognózis és a kezelési terv megalkotása miatt. A krónikus veseelégtelenség ismert okai között szerepelnek a macrovascularis kórképek (szisztémás hypertensio, coagulopathiák, krónikus hyperfusio), a microvascularis kórképek (szisztémás és glomeruláris hypertensio, glomerulonephritis, fejlődési rendellenességek, congenitális kollagén defektus, amyloidosis), interstitialis károsodások (pyelonephritis, neoplasia, obstruktív uropathia, allergiás és immunmediált nephritis) és a tubularis károsodások (tubularis reabsorptios elégtelenség, krónikus low-grade nephrotoxikózis, obstruktív uropathia).

A glomeruláris, a tubulointerstitiális és az érrendszeri elváltozások miatt kialakult generalizált krónikus vesebetegség megjelenési képei gyakran hasonlóak, függetlenek a kiváltó októl. Szövettanilag is csak az interstitialis fibrózis kimutatható.

2.3.4. A krónikus veseelégtelenség labordiagnosztikája

A krónikus veseelégtelenségben szenvedő macskáknál a vizeletvizsgálat elengedhetelen. Még akkor is, ha már a nephronok kétharmada funkcióképtelen és kevésbé alkalmas a vizelet koncentrálására. Ilyenkor ugyanis a vizelet sűrűsége 1.035 alatt van.

A vesén keresztüli fehérjevesztés miatt megnövekszik a **fehérje/kreatinin arány (PCR)** a vizeletben, ezért ez a mérés használható a vizeletkoncentrációs próba helyett, ami macskában nem praktikus. A PCR jó markere a korai CRF kimutatásnak, mert kimutatja a veseműködési zavart a plazmabeli kreatinin növekedés előtt (Francey et al., 2010).

A **mikroalbuminuria** (< 300 mg/l) egy nagyon érzékeny paraméter, de sajnos kevésbé specifikus a krónikus veseelégtelenségre macskáknál, sok fals eredmény születik (Heine, 2008).

A vérszérumban a **nitrogén tartalmú anyagok** -például a karbamid és a kreatinin (uréma/azotémia)- és a **foszfát** (hiperfoszfatémia) mennyisége megnövekszik. A **kálium**-tartalom általában csökken (hypokalaemia). (Neiger, 2005) Ha a kiváltó ok a vesetesteckékben hat, **hypoalbuminaemia** és **hypercholesterinaemia** alakulhat ki.

A **cystatin C** vizsgálat macskákban nem értékelhető, mert etetés után néhány órán át erősen csökkent koncentráció mérhető, emellett pajzsmirigy túlműködés és glükokortikoid kezelés hatására pedig megnövekedik a vérszintje (Laboklin, 2009).

A legérzékenyebb módszer a vesefunkció vizsgálatára a **közvetlen GFR mérés**, amivel még az azotémia megjelenése előtt diagnosztizálható a krónikus veseelégtelenség. Azonban ez csak nehezen kivitelezhető, a mindennapi diagnosztikában nem használható.

2.3.5. A krónikus veseelégtelenség diagnózisa

Általában a vesekárosodás addig nem jár klinikai tünetekkel, míg a nephronok károsodási aránya nem haladja meg a 75%-ot (Stádium 3 és 4). A veseműködés zavarából adódó legkorábbi klinikai tünetek: a polydipsia és a polyuria. További károsodás azotémiához vezet újabb klinikai tünetek nélkül, és végül a klinikailag nyilvánvaló urémiás szindróma alakul ki. Ahogy évek alatt a betegség súlyossága a harmadik stádiumból negyedik stádiumává alakul, úgy jelenik meg sorban az anorexia, súlyvesztés, dehydratio, orális fekély, hányás és hasmenés.

Fizikai és képalkotó vizsgálatokkal a harmadik és negyedik stádiumban általában szabálytalan alakú, kis méretű veséket találunk, míg normális vagy megnagyobbodott vese figyelhető meg neoplasia, hydronephrosis vagy glomerulonephritis esetében. (Seyrek-Intas, Kramer, 2008)

Előrehaladott CRF esetén normochrom, normocyter, aregeneratív anaemia alakul ki. (Nieger, 2005)

Fentiekből jól látszik, hogy a veseelégtelenség diagnosztikája rendkívül összetett, és macskában nemigen akad olyan rutin módszer jelenleg, ami a krónikus veseelégtelenség korai stádiumát megbízhatóan jelzi. Éppen ezért tűztük ki azt a célt, hogy olyan paramétert találjunk, és kövessük nyomon a változását, amely a későbbiekben a mindennapi labordiagnosztikában esetleg használható lesz.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Amiláz és kreatinin értékek vizsgálata macskában

A vizsgálat során a SZIE Állatorvos-tudományi Kar Belgyógyászati Tanszék Klinikára 2004 és 2011 között behozott betegek kreatinin és amiláz értékeit dolgoztuk fel. N=923 különböző korú és nemű, európai rövidszőrű macskát vontunk be a vizsgálatba. A FAB (Feline Advisory Bureau) besorolása alapján a következő korcsoportokat hoztuk létre:

1. táblázat: korcsoport beosztás

Korcsoport	Év
Kölyök	0-2
Felnőtt	2-10
Öreg	10-15
Aggastyán	>15

Az amiláz értékeket a következők szerint két csoportba soroltuk:

2. táblázat: amiláz csoport beosztás

Amiláz koncentráció	Megjegyzés
normális	élettani
emelkedett	élettaninál magasabb

Az állatokat a szérum kreatinin koncentrációjuk alapján négy csoportba soroltuk, amit az IRIS (International Renal Interest Society) és a ESVNU (European Society of Veterinary Nephrology and Urology) veseelégtelenség stádiumokba való besorolása alapján alkottunk meg.

3. táblázat: veseelégtelenség stádiumaiba való besorolás kreatinin szint alapján

Stádium	Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	Kreatinin (mg/dl)	Megjegyzés
1	<140	<1.6	Nincs azotémia
2	140-250	1.6-2.8	Enyhe azotémia
3	251-440	2.9-5	Mérsékelt azotémia
4	>441	>5	Súlyos azotémia

Biokémiai vizsgálat

Kreatinin meghatározás:

Vizelet esetén minden esetben desztillált vízzel 100x-ára hígítottuk a mintákat. Az eredményeket $\mu\text{mol/l}$ -ben adtuk meg. A mérést Daytona Rx (Randox) automatával, spektrofotométerrel, 505 nm hullámhosszon, Jaffe módszerrel végeztük.

Amiláz meghatározás

Az amiláz meghatározása heparinos plazmából, Daytona Rx (Randox) kolometriás módosított IFCC módszerrel történt, 405 nm-es hullámhosszon. Az eredményeket U/l adtuk meg

3.1.1. Az amiláz érték intervallumok százalékos aránya a korcsoportok szerint

Az amiláz kategóriák és a korcsoportok összefüggését khi-négyzet próbával és Fisher-féle egzakt teszttel vizsgáltuk, és mozaikdiagrammal ábrázoltuk.

3.1.2. A kreatinin érték intervallumok százalékos aránya a korcsoportok szerint

A kreatinin kategóriák és a korcsoportok összefüggését khi-négyzet próbával és Fisher-féle egzakt teszttel vizsgáltuk, és mozaikdiagrammal ábrázoltuk.

3.2. Az amiláz érték intervallumok százalékos aránya a veseelégtelenség stádiumai szerint korcsoportonként

Különböző korcsoportokon belül az amiláz és a kreatinin kategóriák összefüggését khi-négyzet próbával és Fisher-féle egzakt teszttel vizsgáltuk, és mozaikdiagrammal ábrázoltuk. Ezzel a teszttel azt lehet vizsgálni, hogy a magas amiláz kategóriába tartozó egyedek magas kreatinin tartományba esnek-e bele.

3.3. Az amiláz értékek változása a kreatinin értékek függvényében az összes korcsoportban

Az amiláz értékek függését a kreatinin értékektől az összes korcsoportban szórásdiagrammal ábrázoltuk. Az adatokat mindkét változónál logaritmikusan transzformáltuk.

3.4. Az adatok felhasználásával a vizsgált populációban új amiláz intervallumok meghatározása korcsoportok szerint

Az amiláz koncentráció és a kor (hónapban) összefüggését lineáris regresszióval vizsgáltuk és szórásdiagrammal ábrázoltuk az amiláz érték és a kor (hónapok) összefüggését. Meghatároztuk a regressziós egyenes 95%-os konfidencia intervallumát, illetve az adatok a 95%-os predikciós intervallumát (10. ábra).

Az adatok felhasználásával új amiláz tartományokat alkottunk korcsoportonként úgy, hogy meghatároztuk a korcsoportonkénti amiláz átlagok 95%-os konfidencia intervallumát (11. ábra, 13. táblázat)

3.5. Az amiláz klírensz/kreatinin klírensz hányados (C_{AM}/C_{CR}) meghatározása macskában kis egyedszám mellett

Munkánk során a SZIE Állatorvos-tudományi Kar 2012-ben Kisállat Klinikájáról $n=7$ egészséges, és $n=3$ vesebeteg egy időben levett vér és vizelet mintákból vizsgáltuk a kreatinin és amiláz koncentrációkat és meghatároztuk az amiláz klírensz/kreatinin klírensz hányadost (C_{AM}/C_{CR}), amit a következő képlet alapján számoltunk ki:

$$\frac{\text{vizelet amiláz (U/l)} \times \text{szérum kreatinin (mg/dl)}}{\text{szérum amiláz (U/l)} \times \text{vizelet kreatinin (mg/dl)}}$$

Vérvétel és laboratóriumi vizsgálatok

A vérvétel minden esetben éber állapotban a v. cephalica antebrachii-ből 20-22 G injekciós tű segítségével történt. A különböző laboratóriumi vizsgálatok céljára alvadásban heparinnal gátolt vérmintákat gyűjtöttünk. A vizeletet cystocentesissal nyertük.

Biokémiai vizsgálat

Kreatinin:

Vizelet esetén minden esetben desztillált vízzel 100x-ára hígítottuk a mintákat. Az eredményeket $\mu\text{mol/l}$ -ben adtuk meg. A mérést Daytona Rx (Randox) automatával, spektrofotométerrel, 505 nm hullámhosszon, Jaffe módszerrel végeztük.

Amiláz

Az amiláz meghatározása heparinos plazmából, Daytona Rx (Randox) kolometriás módosított IFCC módszerrel történt, 405 nm-es hullámhosszon. Az eredményeket U/l adtuk meg.

A vérmintákat a mintavétel után 2 órán belül lecentrifugáltuk. Kizártuk a lipémiás, ikterusos és hemolitikus mintákat. A mérést vagy azonnal, vagy a szérum lefagyasztása után 2 napon belül elvégeztük.

3.6. Az amiláz és kreatinin koncentráció mérés érzékenységi vizsgálata krónikus veseelégtelenségre ROC analízissel

Vizsgálatunk során a SZIE Állatorvos-tudományi Kar Kisállat Klinikáján 2011 első félévében, UH vizsgálattal krónikus veseelégtelenséget megállapított macskák ($n=22$) és egészséges macskák ($n=12$) amiláz és kreatinin értékeik diagnosztikai hatékonyságát hasonlítottuk össze.

„A diagnosztikai hatékonyság jellemzésének egyik módszere a ROC analízis, illetve azt elemző ROC görbe (Receiver Operating Characteristic plots), amely szemléletesen mutatja a vizsgálat relevanciáját. A ROC görbe az 1-diagnosztikai specificitás [valódi negatív/(tévesen pozitív+valódi negatív)] függvényében az egyes diagnosztikai határértékek alapján fejezi ki a diagnosztikai szenzitivitást [valódi pozitív/(valódi pozitív+tévesen negatív)]. A diagnosztikai szenzitivitás az adott diagnosztikai határértéknél a vizsgálat által kórosnak minősített egyének száma és a megbetegedésben szenvedők számainak aránya.

A diagnosztikai hatékonyság annál a tesztnél a legjobb, amelynek az diagnosztikai szenzitivitása és a diagnosztikai specificitása is a legjobb, ekkor a ROC görbe az egységnégyzet bal felső sarkából a jobb felsőbe tart.

Az a teszt bizonyul jobbnak, amelyben a betegek és az egészségesek eredményei között kevesebb az átfedés, vagyis kevesebb a tévesen pozitív vagy a tévesen negatív eredmény. Ha a ROC görbe pontjai az egységnégyzet bal alsó és jobb felső csúcsát összekötő diagonális egyenesen helyezkednek el, akkor a teszt diagnosztikai hatékonysága zéró. Amelyik érték görbéje közelít a diagonális egyeneshez, annak a diagnosztikai értéke, kisebb. Ezt az összehasonlítást segíti elő a ROC görbe alatti terület kiszámítása (T). Ha a terület maximális (=1), akkor a betegek és az egészségesek teljesen elkülönülnek a vizsgálati eredményeik alapján.” (Fazekasné és Góth)

A ROC görbét az irodalomban ismertetett módszer szerint készítettük, a T értéket a görbe alatti trapézok területeinek összegzéseiből kaptuk. A szérum amiláz enzim aktivitás és kreatinin koncentráció meghatározása korábban leírt módon történt. A vizsgálat során 22 krónikus veseelégtelenségben szenvedő macska és 12 egészséges állat eredményeit használtuk fel.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Amiláz és kreatinin értékek vizsgálata macskában

4.1.1. Az amiláz kategóriák és a korcsoportok összefüggésének vizsgálata

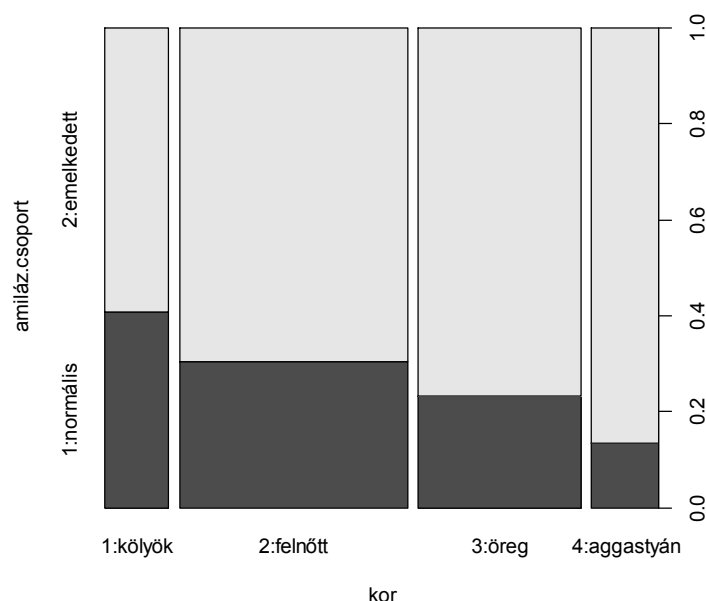
Macskákban az amiláz szint kortól való függését vizsgáltuk. Az 4. táblázat, 5. táblázat, és 3. ábra az amiláz korral való növekedését szemlélteti. Az amiláz koncentráció méréseinek eredményei igazolják, hogy a kor és az amiláz szintek között pozitív korreláció van. Az 4. táblázatból jól látszik, hogy az állatok egyre nagyobb százaléka tartozik magasabb amiláz szintű csoportba. Khi-négyzet próbával is szignifikáns összefüggést találtunk a korcsoportok és az amiláz kategóriák között. (khi-négyzet érték: 26.5165, $df = 3$, p-érték: $<0,0001$) Az idősebb állatokhoz magasabb amiláz kategória tartozott. A Fisher-féle egzakt teszttel kapott p-érték alapján is szignifikáns összefüggést találtunk (p-érték: $<0,0001$).

4. táblázat: Az egyes amiláz kategóriákba és korcsoportokba tartozó egyedek százalékos aránya

	normális amiláz szint	emelkedett amiláz szint	összes
kölyök	40.7%	59.3%	100%
felnőtt	30.5%	69.5%	100%
öreg	23.3%	76.7%	100%
aggastyán	13.3%	86.7%	100%

5. táblázat: Az egyes amiláz kategóriákba és korcsoportokba tartozó egyedek száma (n=923)

	normális amiláz szint	emelkedett amiláz szint	összes
kölyök	46	67	113
felnőtt	123	280	403
öreg	67	221	288
aggastyán	16	104	120



3. ábra: Mozaikdiagram az egyes amiláz kategóriákba és korcsoportokba tartozó egyedek eloszlására

4.1.2. A kreatinin kategóriák és a korcsoportok összefüggésének vizsgálata

Ebben a csoportosításban arra voltunk kíváncsiak, hogy korcsoportonként milyen megoszlást mutat a különböző súlyosságú veseelégtelenség-kategóriák eloszlása.

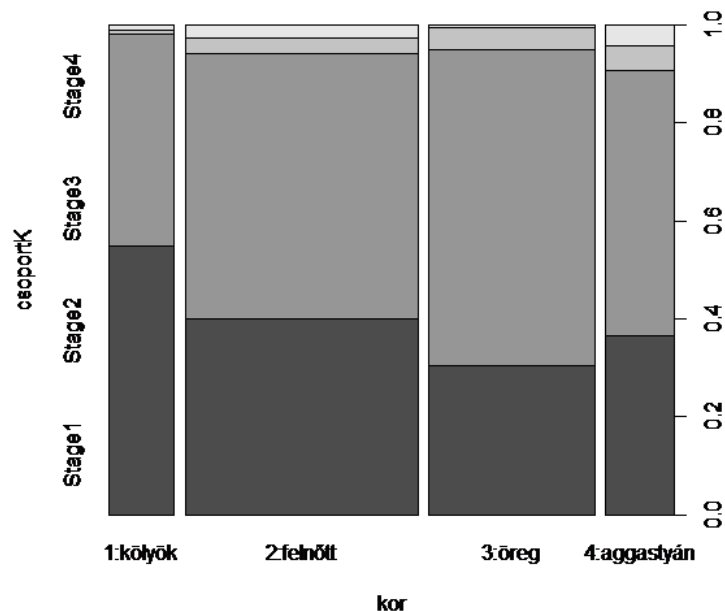
Megvizsgáltuk macskákban a kreatinin kortól való függését is. A 6. és 7. táblázat mutatja korcsoportokra osztva, hogy az egyedek melyik kreatinin csoportba tartoznak. A plazmabeli kreatinin aktivitás értékek a 4. ábrán láthatók a korcsoport függvényében. A különböző korcsoportú macskák enzimaktivitásának eredményei khi-négyzet próbával korcsoportonként szignifikáns eltérést mutattak ($p=0,00016$, khi-négyzet érték: 32.4894, $df=6$.) A kreatinin értékek a kor növekedésével egyre emelkednek. A Stádium 3 és Stádium 4 kategóriába kis egyedszám tartozott. Az ábrákról leolvasható, hogy a kor előre haladtával egyre több egyed tartozik a Stádium 2 kategóriába a kölyök csoporthoz képest.

6. táblázat: Az egyes kreatinin kategóriákba és korcsoportokba tartozó egyedek százalékos aránya

	Stádium1	Stádium 2	Stádium 3	Stádium 4
kölyök	54,9%	43,4%	0,9%	0,9%
felőtt	40,0%	54,3%	3,2%	2,5%
öreg	30,6%	64,6%	4,5%	0,3%
aggastyán	36,7%	54,2%	5,0%	4,2%

7. táblázat: Az egyes amiláz kategóriákba és korcsoportokba tartozó egyedek száma (n=923)

	Stádium 1	Stádium 2	Stádium 3	Stádium 4	összes
kölyök	62	49	1	1	113
felőtt	161	219	13	10	403
öreg	88	186	13	1	288
aggastyán	44	65	6	5	120



4. ábra: Mozaikdiagram az egyes kreatinin stádiumokba és korcsoportokba tartozó egyedek eloszlására

(csoportK= kreatinin csoportok)

4.2. Az amiláz értékek változása a veseelégtelenség egyes stádiumaiban korcsoportonként.

4.2.1. Az amiláz értékek változása a veseelégtelenség egyes stádiumaiban kölyök korcsoportban

Kölyök korcsoportban végzett mérések alapján az amiláz és a kreatinin csoportok függetlenek egymástól. A kreatinin koncentráció növekedés nem vezetett amiláz enzim aktivitás növekedéséhez, valamint a khi-négyzet próba szerinti összefüggés sem volt szignifikáns ($p=0.337$, khi-négyzet érték: 3.2722, $df=3$) és a szórádiagram sem mutat összefüggést (5. ábra).

8. táblázat: Az egyes amiláz kategóriákba és kreatinin stádiumokba tartozó kölykök százalékos aránya

	normális amiláz szint	emelkedett amiláz szint	összes
Stádium1	41.9	58.1	100%
Stádium2	36.7	63.3	100%
Stádium3	100.0	0.0	100%
Stádium4	100.0	0.0	100%

9. táblázat: Az egyes amiláz kategóriákba és kreatinin stádiumokba tartozó kölyök egyedek száma ($n=113$)

	normális amiláz szint	emelkedett amiláz szint	összes
Stádium1	26	36	62
Stádium2	18	31	49
Stádium3	1	0	1
Stádium4	1	0	1

4.2.2. Az amiláz értékek változása a veseelégtelenség egyes stádiumaiban felnőtt korcsoportban

Felnőtt korcsoportban a táblázatban összefoglalt adatokból látszik, hogy az amiláz és a kreatinin koncentráció emelkedése között statisztikusan szignifikáns összefüggés van. Fisher-féle teszttel $p=0.03173$ értéket kaptunk, ami azt jelenti, hogy az emelkedett kreatinin értékekhez magasabb amiláz koncentráció tartozik. (khi-négyzet érték: 8.087, $df=3$, p -érték = 0.04425.) A szórádiagramon is látszik némi összefüggés, bár a lineáris regressziót a szórási kiegyenlítetlensége miatt nem végeztük el (6. ábra).

10. táblázat: Az egyes amiláz kategóriákba és kreatinin stádiumokba tartozó felnőtt százalékos aránya

kreatinin.csoport	normális amiláz szint	emelkedett amiláz szint	összes
Stádium1	36.0%	64.0%	100%
Stádium2	27.4%	72.6%	100%
Stádium3	38.5%	61.5%	100%
Stádium4	0.0%	100.0%	100%

11. táblázat: Az egyes amiláz kategóriákba és kreatinin stádiumokba tartozó felnőtt egyedek száma

kreatinin.csoport	normális amiláz szint	emelkedett amiláz szint	összes
Stádium1	58	103	161
Stádium2	60	159	219
Stádium3	5	8	13
Stádium4	0	10	10

4.2.3. Az amiláz értékek változása a veseelégtelenség egyes stádiumaiban az öreg korcsoportban

A 12-13. táblázatokból és a 7. ábrából kiolvasható, hogy az öreg korcsoportban is nő a kreatinin értékkel az amiláz érték. Viszont a Stádium 3 és Stádium 4 csoportok a kis egyedszám miatt statisztikailag nem értékelhetők.

12. táblázat: Az egyes amiláz kategóriákba és kreatinin stádiumokba tartozó öregek százalékos aránya

	normális amiláz szint	emelkedett amiláz szint	összes
Stádium1	26.1%	73.9%	100%
Stádium2	22.6%	77.4%	100%
Stádium3	15.4%	84.6%	100%
Stádium4	0.0%	100.0%	100%

13. táblázat: Az egyes amiláz kategóriákba és kreatinin stádiumokba tartozó öreg egyedek száma

	normális amiláz szint	emelkedett amiláz szint	összes
Stádium1	23	65	88
Stádium2	42	144	186
Stádium3	2	11	13
Stádium4	0	1	1

4.2.4. Az amiláz értékek változása a veseelégtelenség egyes stádiumaiban aggyastán korcsoportban

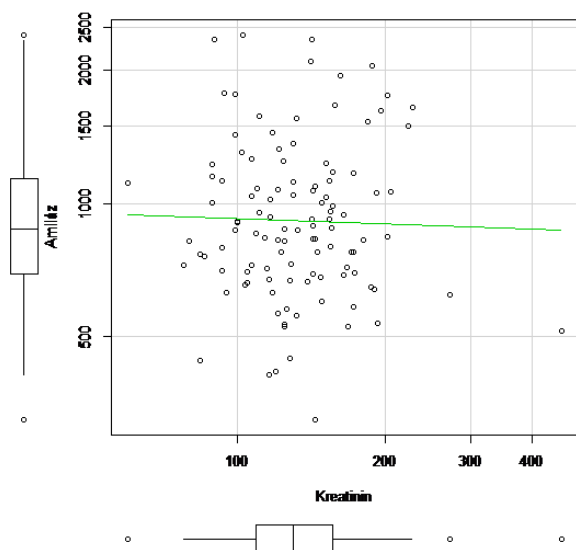
Szintén szignifikáns összefüggést találtunk Fisher-féle egzakt teszttel az amiláz és a kreatinin csoportok között aggyastán korban. ($p=0.0024$). Ha előrehaladottabb kreatinin stádiumba tartozik egy egyed, akkor az emelkedett amiláz koncentrációjú csoportba tartozik. (khi-négyzet érték: 15.9753, $df=3$, p -érték = 0.001147)

14. táblázat: Az egyes amiláz kategóriákba és kreatinin stádiumokba tartozó aggyastánok százalékos aránya

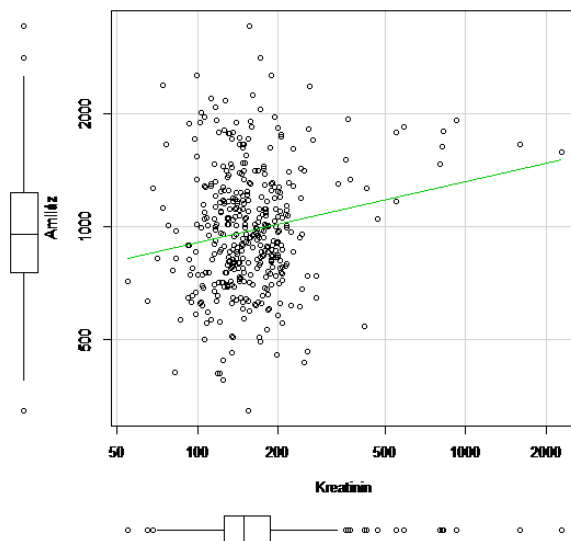
kreatinin.csoport	normális amiláz szint	emelkedett amiláz szint	összes
Stádium1	29,5%	70,5%	100%
Stádium2	4,6%	95,4%	100%
Stádium3	0,0%	100,0%	100%
Stádium4	0,0%	100,0%	100%

15. táblázat: Az egyes amiláz kategóriákba és kreatinin stádiumokba tartozó aggyastán egyedek száma

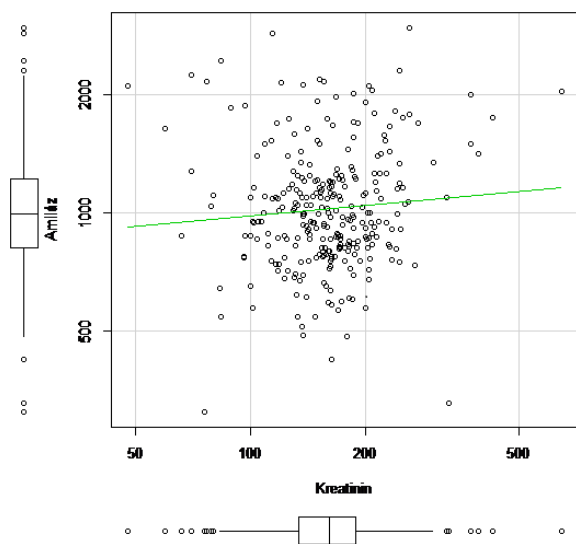
kreatinin.csoport	normális amiláz szint	emelkedett amiláz szint	összes
Stádium1	13	31	44
Stádium2	3	62	65
Stádium3	0	6	6
Stádium4	0	5	5



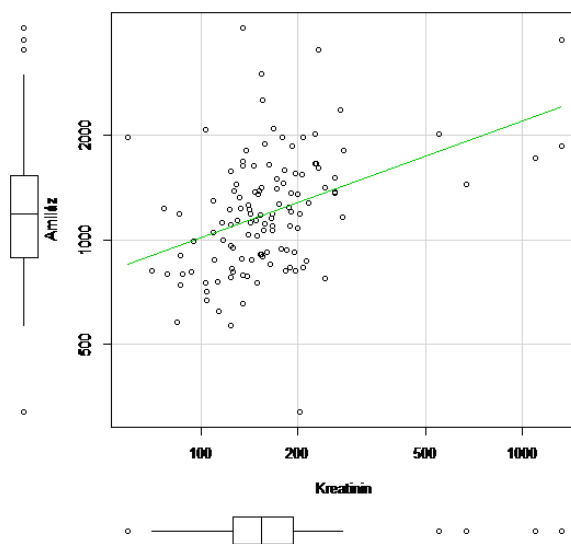
5. ábra: Szórásdiagram az amiláz és kreatinin értékek összefüggésére kölyök korcsoportban. Mindkét változó logaritmus transzformált értékei láthatók. A marginális bloxplotok a változók eloszlását mutatják. Az egyenes a legkisebb négyzetek módszerével lett illesztve.



7. ábra: Szórásdiagram az amiláz és kreatinin értékek összefüggésére felnőtt korcsoportban. Mindkét változó logaritmus transzformált értékei láthatók. A marginális bloxplotok a változók eloszlását mutatják. Az egyenes a legkisebb négyzetek módszerével lett illesztve.

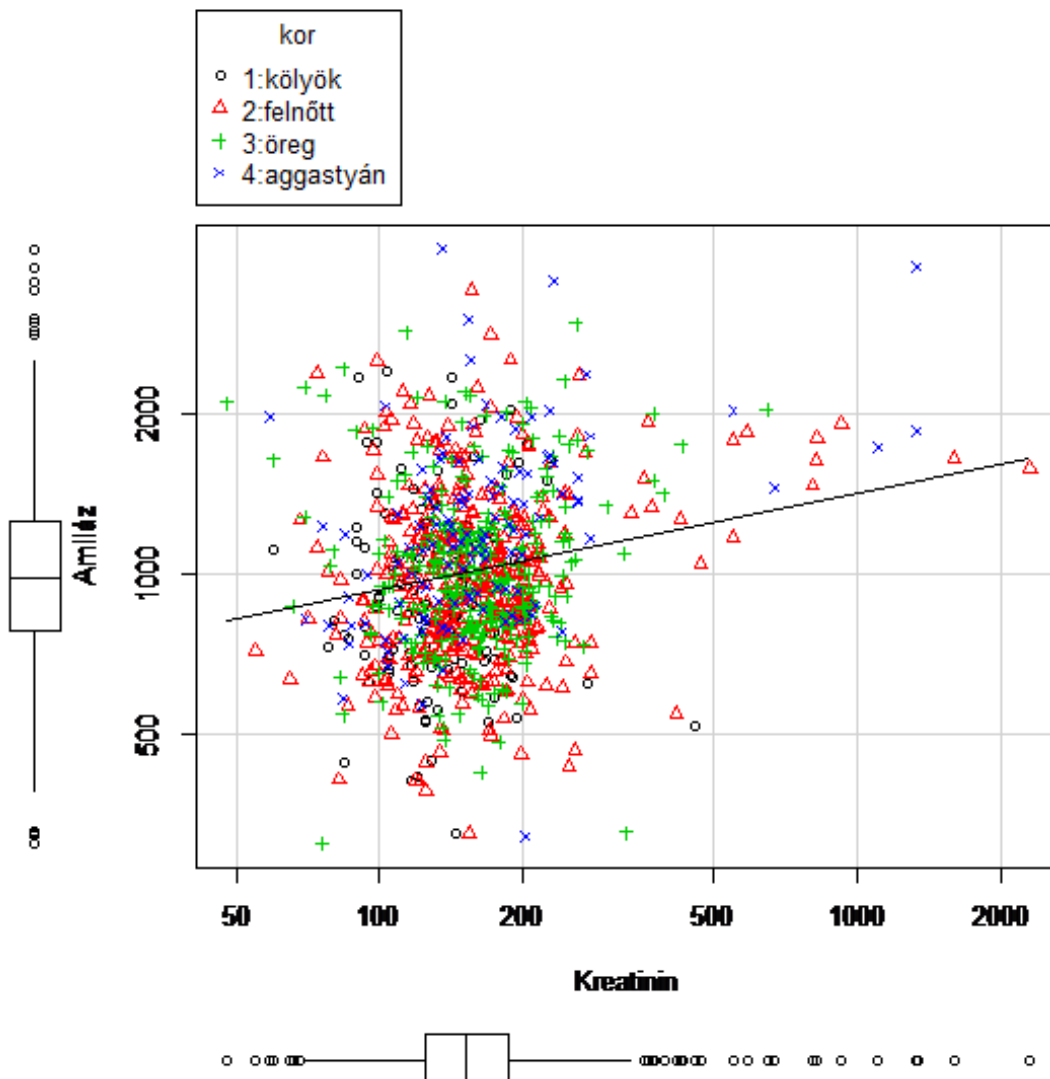


6. ábra: Szórásdiagram az amiláz és kreatinin értékek összefüggésére felnőtt korcsoportban. Mindkét változó logaritmus transzformált értékei láthatók. A marginális bloxplotok a változók eloszlását mutatják. Az egyenes a legkisebb négyzetek módszerével lett illesztve.



8. ábra: Szórásdiagram az amiláz és kreatinin értékek összefüggésére aggastyán korcsoportban. Mindkét változó logaritmus transzformált értékei láthatók. A marginális bloxplotok a változók eloszlását mutatják. Az egyenes a legkisebb négyzetek módszerével lett illesztve.

4.3. Az amiláz értékek változása a kreatinin értékek függvényében az összes korcsoportban

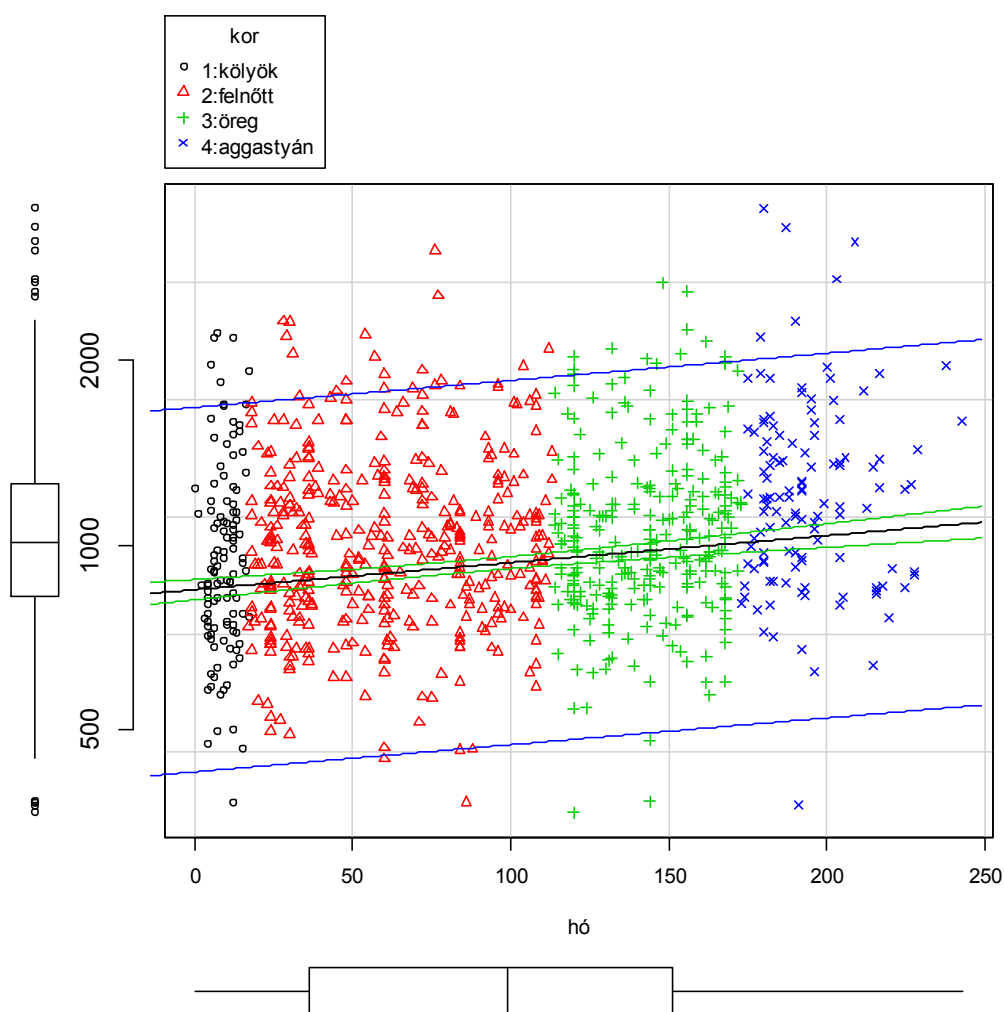


9. ábra: Szórásdiagram az amiláz és kreatinin értékek összefüggésére az összes korcsoportban. Mindkét változó logaritmikusan transzformált értékei láthatók. A marginális bloxplotok a változók eloszlását mutatják. Az egyenes a legkisebb négyzetek módszerével lett illesztve. (a különböző korcsoportok különböző színnel lettek jelölve)

Az amiláz értékek függését a kreatinin értékektől a 9. ábrán szórásdiagrammal ábrázoltuk. Az adatokat mindkét változónál logaritmikusan transzformáltuk. Az ábrából leolvasható, hogy magas kreatinin értékekhez csak magas amiláz értékek tartoznak. Az is kitűnik, hogy a 200 és 400 mikromol/l közötti kreatinin értékekhez egyes esetekben normál amiláz érték tartozik.

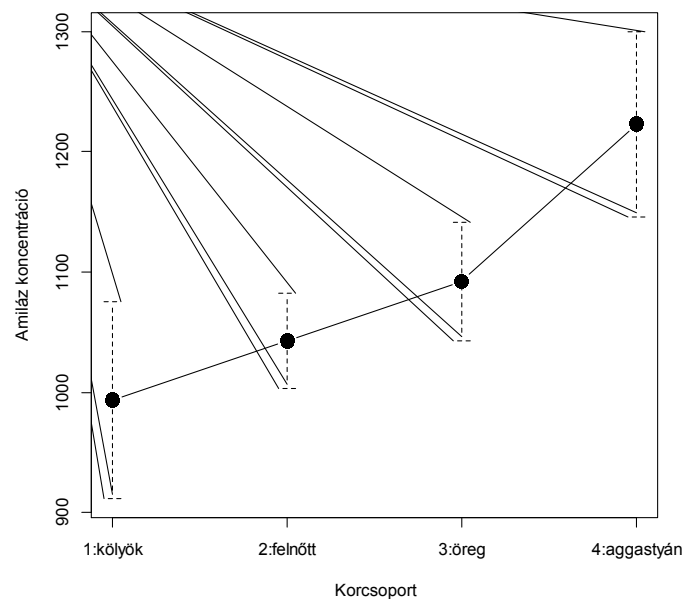
4.4. Az amiláz érték és a kor összefüggés vizsgálata

Az amiláz koncentráció és a kor (hónapban) összefüggését néztük lineáris regresszióval. A vizsgálat eredménye alapján, az amiláz szignifikánsan függött a kortól (meredekség=1,27, $R^2=0,03$, $p\text{-érték}<0,001$). Az egyre idősebb macskáknál egyre magasabb amiláz szint mérhető. A 95%-os konfidencia sáv, amibe az illesztett egyenes 95%-os megbízhatósággal beleesik, nagyon szűk, a predikciós sávval ellentétben. A predikciós sáv az a sáv, ami egy új megfigyelést 95%-os valószínűséggel tartalmazni fog. Tehát, ha tudjuk egy adott macska korát, 95%-os biztonsággal meg tudjuk mondani, milyen intervallumba esik az amiláz szintje. Az amiláz értékek nagy variabilitást mutatnak minden korcsoporton belül, ez okozza a predikciós sáv szélességét.



10. ábra: Szórásdiagram az amiláz (U/l) és kor (hónapban) összefüggésére és a lineáris regresszió illesztett egyenese, az egyenes 95%-os konfidencia sávja (zöld sáv) és az adatok 95%-os predikciós sávja (kék sáv) az y-tengely logaritmizálva van. (a különböző korcsoportok különböző színnel lettek jelölve)

A 11. ábrából és 16. táblázatból láthatjuk, hogy emelkedik a korcsoportonkénti amiláz koncentráció átlag és a hozzá tartozó konfidencia intervallum. Így 95%-os biztonsággal meghatározhatjuk az egyes korcsoportba tartozó macskák amiláz szint intervallumát. Ezek szerint a kölyök korcsoport amiláz átlaga 933 U/l, és az egyedek 95 %-os biztonsággal tartoznak a 912-1075 U/l tartományba.. A felnőtt korcsoport legtöbb tagjának amiláz szintje 1007-1090 U/l, az öregeké 1043-1142 U/l és az aggastyánoké pedig 1194-1411 U/l intervallumba tartozik.



11. ábra: Az amiláz koncentrációk korcsoportonkénti átlaga és az átlagok 95%-os konfidencia intervallum

16. táblázat: Konfidencia-intervallum az amiláz koncentrációkra az egyes korcsoportokon belül.

	Elemzés	Pontbecslés	Standard hiba	Konfidencia intervallum alsó határa	Konfidencia intervallum felső határa
kölyök	113	933	41,39	912	1075
felnőtt	403	1049	21,11	1007	1090
öreg	288	1092	25,08	1043	1142
aggastyán	120	1303	54,78	1194	1411

4.5. Az amiláz klírensz/kreatinin klírensz hányados (C_{AM}/C_{CR}) meghatározása macskában kis egyedszám mellett

A kontroll állatok szérum és vizelet amiláz értékei tág határok között mozogtak, a $C_{AM}:C_{CR}$ hányados értéke minden esetben 1 alatt volt. A $C_{AM}:C_{CR}$ arány 5-ből két esetben 1 fölé emelkedett.

17. táblázat: Kontroll macskák szérum és vizelet amiláz aktivitása, illetve C_{AM}/C_{CR} hányadosa

egyed	szérum amiláz (U/l)	vizelet amiláz (U/l)	szérum kreatinin (mg/dl)	vizelet kreatinin (mg/dl)	$C_{AM}:C_{CR}$
1	862	155	0,93	180	0,094
2	466	183	0,95	230	0,162
3	754	105	0,98	83	0,165
4	1294	140	1,15	260	0,048
5	1288	165	1,08	180	0,077
6	868	14	1,14	24	0,076
7	704	7	0,69	15	0,046

18. táblázat: Vesebeteg macskák szérum és vizelet amiláz aktivitása, illetve C_{AM}/C_{CR} hányadosa

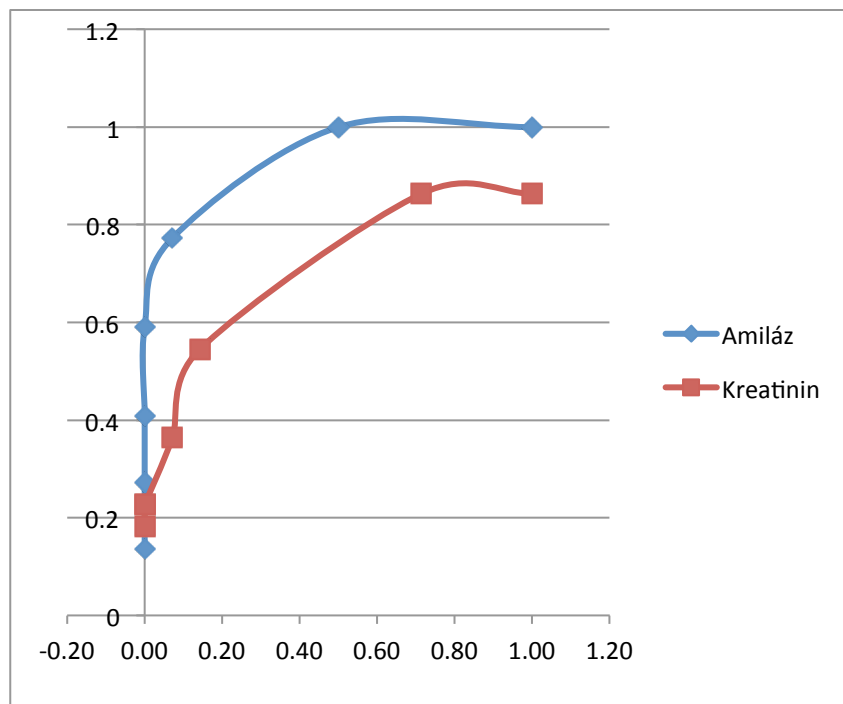
egyed	szérum amiláz (U/l)	vizelet amiláz (U/l)	szérum kreatinin (mg/dl)	vizelet kreatinin (mg/dl)	$C_{AM}:C_{CR}$
8*	837	52	6,24	53	0,738
8*	1154	52	8,78	42	0,935
8*	1519	74	9,93	46	1,056
9	1106	94	4,43	27	1,406
10	777	4	1,54	27	0,029

*:Naponta ugyanazon állatból vett vérminták 3 napon át

4.6. Az amiláz és kreatinin koncentráció mérés érzékenységi vizsgálata krónikus veseelégtelenségre ROC analízissel

Az 12. ábra az $n=953$ vizsgált állat közül véletlenszerűen kiválasztott, krónikus veseelégtelenségben szenvedő $n=22$ macska vizsgálati eredményeiből készült ROC ábrázolást mutatja.

A kreatinin görbéje alatti terület ($T=0,758$) kisebb, mint az amiláz görbéje alatti terület ($T=0,938$)



12. ábra: Az amiláz és a kreatinin értékek alapján rajzolt ROC görbék

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. Amiláz és kreatinin értékek vizsgálata macskában

Az eredmények feldolgozásakor csak a mért kreatinin és amiláz értékeket vettük figyelembe. A rendelkezésre álló klinikai adatok nem adtak lehetőséget az egyéb esetleg fennálló betegségek pontos felderítésére.

5.1.1. Az amiláz kategóriák és a korcsoportok összefüggésének vizsgálata

Az eredmények alapján szignifikáns különbségeket tapasztaltunk a korcsoportok között, és az is kimutatható volt, hogy a kor előrehaladtával egyre több egyed amiláz értéke tartozott a kórosan magas értékek közé. Ennek okaként a veseműködés beszűkülését feltételezhetjük, vagyis a vesén át ürülő amiláz a csökkent klírensz (a glomerulus filtráció romlása) miatt felhalmozódik a vérben. Ha az amiláz érték ilyenfajta emelkedését a gyakorlati életben is fel szeretnénk használni, azaz „veseparaméterként” értékelni, ki kell zárni minden egyéb okot, ami amiláz-szint emelkedéssel jár a szervezetben.

Emberben az S-amiláz izoenzim szint változásának számos oka ismert (Medscape, 2012). Ilyenek például az akut vagy krónikus pancreatitis, a nyálmirigy megbetegedései, csökkent metabolikus klírensz (pl. veseelégtelenség, hepatitis, májcirrhosis), bélbetegségek, pl. vékonybél gyulladás, mesenterialis infarktus, bél obstrukció, rupturált méhen kívüli terhesség, petefészek cysta, ektópiás amiláz termelés a tüdőben, és a petefészekben, a colon malignus megbetegedései, pheochromocytoma, thymoma és multiplex myeloma, emlődaganat, acidosis. Előfordulhat továbbá hasi műtétek utáni állapotban, és az olyan ritka kórképekben, mint az SLE, ciprofloxacín terápia esetén, pneumoniában, feji trauma, égés, organofoszfát-mérgezés esetén.

Kiemelkedő ok embereknél a makroamilazémia, ami egy jóindulatú állapot, amelyben immunglobulinok vagy poliszaharidok kapcsolódnak az amilázhoz, és e nagy makromolekula megnöveli a felezési időt, és lecsökkenti a vese klírenszet. A hipreamilazémiás páciensek kb. 2-5%-ának van egyidejűleg makroamilazémiája is. A kihívást az jelenti, hogy a makroamilázok megszorodása miatti hiperamilazémiát elkülönítsék a pancreatitisben jellemző, nem makroamilázok okozta amiláz emelkedéstől.

Macskában nagyon ritkán emelkedik meg az amiláz érték pancreatitis esetén, ezért pancreatitis diagnózisára egyáltalán nem ajánlott. Magasabb lehet krónikus veseelégtelenségben, csökkent glomerulus filtrációs ráta esetén és bélbetegségek, vagy bél obstrukció fennállásakor (Vet

Cornell Edu). Metilprednisolon egyszeri adása is megemelheti az amiláz értéket (Sharkey et al., 2007). Szintén fontos tényező a makroamilázémia megléte, amely diabetes mellitusban, FIP esetén és multiplex myelomában fordulhat elő (Gaál, 1999)

5.1.2. A kreatinin kategóriák és a korcsoportok összefüggésének vizsgálata

Azt tapasztaltuk, hogy a kor emelkedésével egyre több egyed tartozott a magasabb kreatinin kategóriákba. Az az érdekes megfigyelés adódott, hogy mind a felnőtt, mind pedig az öreg és aggastyán csoportban a legtöbb egyed a 2-es stádiumba tartozott. Ha ezt az állapotot preklinikai stádiumnak tekintjük, úgy vélhetjük, hogy ilyenkor van még a vesének tartalék kapacitása, és kompenzációs képessége. A kreatinin érték emelkedésével a funkcionáló veseszövet mennyisége egyre csökken, a veseműködés egyre inkább beszűkül, a túlélési idő pedig lecsökken. Emiatt a 3-as. és 4-es stádiumba kevesebb állat tartozik.

5.2. Az amiláz értékek változása a veseelégtelenség egyes stádiumaiban korcsoportonként

Mivel az amiláz nagyrészt a vesén keresztül ürül ki, tapasztalati tény, hogy veseelégtelenség esetén megnő a koncentrációja a vérben. Felmerül az a lehetőség is, miszerint az amiláz érték emelkedése esetleg előbb jelezheti a veseelégtelenséget, mint a kreatinin szint növekedése. A kölyökcsoportban az amiláz és kreatinin értékek változása közt nem találtunk szignifikáns összefüggést. Feltételezhető, hogy ezen csoportba zömmel egészséges veseműködésű egyedek tartoznak, az amiláz koncentráció növekedését pedig veseműködéstől független okok (pl. bélbetegségek) idézhették elő. Azt vártuk, hogy a nem kölyök csoportokban a kreatinin szint emelkedésével (azaz az egyre magasabb stádiumok esetén) az amiláz érték is szignifikánsan növekedni fog bármely korcsoportban. Megfigyeltük, hogy a 4-es stádiumú állapotban – a kölyköket kivéve – egyik korcsoportban sincs az amiláz érték normál tartományban, és a mintánkban a kiugróan magas kreatinin értékekhez mindig magas amiláz érték tartozott. A 9,11,13,15 táblázatból és az 5-8 ábrából kiolvashatjuk, hogy a 2-es stádiumhoz tartozott a legtöbb emelkedett amiláz értékkel rendelkező egyed. Ennek egyik oka lehet, hogy a súlyosabb vesebetegséggel küszködő állatok túlélése rövidebb, ezért kisebb valószínűséggel kerültek a mintánkba.

Az eredményeket tovább elemezve az is kiderült, hogy a magas kreatinin értéket a 2-es és 3-as stádiumú csoportokban nem minden esetben követte az amiláz érték kóros emelkedése (9. ábra). Ennek magyarázata az lehet, hogy ezekben az esetekben az azotaemia praerenalis okokra (pl. dehidráció, hipovolaemia) vagy akut veseelégtelenségre volt visszavezethető; illetve hogy nem

minden típusú vese eredetű elváltozás befolyásolja az amiláz ürülését (egyes irodalmi adatok szerint az amiláz pontos ürülési mechanizmusa még nem tisztázott teljesen, és azt feltételezik, hogy csak a glomerulus károsodás esetén nő meg az össz-amiláz koncentráció a vérben (Jacobs RM, 1988)).

Mindenképpen adódik a kérdés: magas amiláz érték esetén macskában gondolnunk kell-e mérsékeltebb-súlyosabb veseelégtelenség fennállására, különösen olyan esetekben, amikor egyidejűleg normál kreatinin értékek mérhetők. Ehhez mindenképp ki kell zárni azokat az egyéb okokat, amelyek az összamiláz koncentráció megnövekedését eredményezhetik (ld. fenn). Macskában ismert módon a pancreatitis nem emeli az amiláz szintet (Parent et al., 1995). Növelheti viszont krónikus gyulladás bárhol a szervezetben, obturatio ileus, bélbeli fekélyképződés, bélperforatio és a makroamilázok mennyiségének megszorodása pl. poliklonális és monoklonális gammopathia esetén (hiszen mérete révén ürülése korlátozott). Kulcskérdésnek tűnik tehát annak eldöntése, hogy jelen vannak-e ezek a makroamilázok a szervezetben.

5.4. Új amiláz intervallumok meghatározása korcsoportok szerint

A lineáris regresszió eredményei alapján mindenképpen szükségesnek látszik a korcsoportonkénti amiláz intervallumok megadása. A statisztikai módszerek segítségével minden korcsoportra megalkottuk a regressziós egyenes konfidencia sávját, illetve a predikciós sávot, amelybe 95%-os valószínűséggel beleesnek az egyedek. Az új intervallumok lehetővé teszik annak megbecsülését, hogyha ismerjük egy adott egyed életkorát, 95%-os valószínűséggel meg tudjuk adni, hogy ez alapján milyen amiláz érték várható az esetében. Az általunk számolt tartomány a klinikán megfordult összes állat (különböző betegségekben szenvedő és egészséges együtt) mérési eredményéből állt össze, így csak azt tudjuk megállapítani, hogy egyes egyedek (legyenek egészségesek vagy betegek) milyen széles amiláz intervallumba fognak tartozni. Ezért is kaptunk olyan széles predikciós sávot. De ezek alapján is megállapítható volt, hogy korral egyértelműen nő a referencia tartomány, mivel az egyes korcsoportok amiláz átlaga és a hozzá tartozó intervallum értéke szignifikánsan nő. Ezért javasoljuk, klinikailag egészséges állatok amiláz értékei alapján új amiláz referencia tartomány meghatározását minden korcsoportban, hogy az idősebb macskák emelkedettebb értékeit ne nézzük tévesen kórosnak.

5.5. Az amiláz klírens/kreatinin klírens hányados (C_{AM}/C_{CR}) meghatározása macskában

Szerettünk volna egy praktikus, viszonylag könnyen kivitelezhető módszert találni, amely alkalmas lehet a korai veseelégtelenség – még klinikai tünetekben nem megnyilvánuló – jelzésére. Itt elsősorban humán adatokra, az általuk használt C_{AM}/C_{CR} hányados kalkulálására támaszkodtunk.

A kontroll csoport mellett igazoltan vesebeteg macskák amiláz klírenszt vizsgáltuk. A kis egyedszám miatt messzemenő következtetések nem vonhatók le eredményeink alapján, de mindenképpen jó kiinduló pontnak tekinthetjük további vizsgálatokhoz. Ha abból a feltételezésből indulunk ki, hogy krónikus veseelégtelenség esetén a beszűkült veseműködés miatt csökken az amiláz klírensz, azt várjuk, hogy a vizeletben mért amiláz koncentráció értéke alacsonyabb lesz az egészséges állatokéhoz képest, egyidejű szérum amiláz növekedés mellett. Mivel sok esetben ilyenkor a makroamilázok képződése tehető felelőssé a csökkent klírenszért, joggal várhatjuk a C_{AM}/C_{CR} arány csökkenését vesebeteg macskákban. A kis egyedszám miatt statisztika nem készült jelen esetben, az viszont megállapítható volt, hogy az értékek nem úgy alakultak, ahogy a humán vizsgálatok alapján elvártuk volna. Mivel macskáknál akut pancreatitisben az esetek többségében nem nő a szérum amiláz mennyisége, így a vizelettel történő ürítés, és várhatóan a C_{AM}/C_{CR} arány sem lesz nagyobb. Érdekes kérdés annak vizsgálata, hogy mik azok az állapotok, amelyek macskában az arányt megemelik.

Embereknél az arányt az akut pancreatitis és a makroamilazémia elkülönítésére használják. A normál érték felnőtteknél 1-5% (Kratz et al., 2004). Az amiláz-kreatinin klírensz arány embereknel segít elkülöníteni az akut pancreatitist az egyéb kondícióktól, de elsősorban a makroamilazémiától. (Levitt, 1982). Az 5%-nál magasabb érték leginkább akut pancreatitist utal, viszont ha az arány 1 %-nál kisebb, makroamilazémia áll fenn

Macskák esetén is szükségesnek látjuk a makroamilazémia egyéb módon történő kimutatását (pl. az amiláz frakciók gél-elektroforézissel történő szétválasztása) és összevetését $C_{AM}:C_{CR}$ hányadossal. Ezzel a módszerrel kimutatható lenne a klírensz hányados és a makroamiláz közötti összefüggés és ezáltal meghatározhatóvá válna a makroamiláz jelentősége macskában. Azoknál a macskánál, amelyeknél makroamiláz fordul elő hyperamilazémia mellett, kizárhatóvá válna a vese betegség és a gastrointestinális kórképek megléte.

Arra a megfigyelésre jutottunk, hogy az amiláz érték magasabb volt a koncentrált vizeletben és ez akár következetesebb változást mutathat, mint a kreatinin ürülése. Vizsgálataink alapján exsiccált állatok szérum amilázának, több mint 5-7%-a megjelent a vizeletben. Ezzel a módszerrel akár az exsiccatio számszerűsíthetővé tehető, a jelenlegi becslések helyett. További kellő számú mérés esetén megalkotható lenne, egy számszerű skála a kiszáradás mértékére és a rehidráltási állapotra.

5.6. Az amiláz és kreatinin koncentráció mérés érzékenységi vizsgálata krónikus veseelégtelenségre ROC analízissel

Véletlenszerűen kiválasztottunk $n = 22$ vesebeteg állatot, melynek az ultrahang lelete is alátámasztotta a vesebetegség tényét. A 12. ábrán szereplő görbék alakja alapján kimondható, hogy a szérum kreatinin meghatározás limitáltabb értékű ($T=0,7581$). A görbe alakja alapján mondható, hogy alacsony diagnosztikai határértékeknél érzékenyebb indikátor a kreatinin meghatározás, mint a nagyobb értékeknél. Az amiláz diagnosztikai hatékonysága pedig statisztikailag jobb, mert görbéje jobban eltér a diagonális egyenestől, és görbe alatti területe nagyobb a kreatininénél ($T=0,9383$); a paraméter klinikai használhatóságát azonban nem csak a statisztikai értékelhetősége, de specificitása is befolyásolja.

Megállapítottuk, hogy normális kreatinin szint melletti amiláz emelkedés esetén gondolni kell szubklinikai veseproblémára és javasolt további vizsgálatokat végezni ebben az irányban.

5.7. Összegzés:

Munkánk során arra kerestünk választ, hogy van-e létjogosultsága macskákban az amilázt veseparaméterként figyelembe venni. Vizsgálatainkkal, amelyek különböző korú, nemű és egészségű állapotú egyedeket foglaltak magukba, kimutattuk, hogy a veseelégtelenség és a kor előrehaladtával az amiláz értékek is emelkednek. A véletlenszerűen vizsgálatra kiválasztott, vesebetegségben szenvedő és egészséges macskák ROC analízise bebizonyította, hogy az amiláz koncentráció eltérése a kreatinin szintnél előbb, vagyis érzékenyebben jelezheti a veseelégtelenség meglétét. Megállapítottuk, hogy indokolt lehet a normál amiláz intervallumok korcsoportonkénti megadása laborleletekben. Kis egyedszámú állományban megfigyeltük az amiláz vizelettel történő ürülését, vagyis klírenszét is. Hogy ennek a vizsgálatnak van-e helye a rutin diagnosztikában, ahhoz további vizsgálatok szükségesek. Ez a vizsgálat mindenképpen ismételtsre szorul nagyobb egyedszámmal, figyelembe véve a kor okozta lehetséges szérum amiláz eltéréseket. Eredményeinket jó kiindulásnak tartjuk annak igazolására, hogy az amiláz mérés, illetve amiláz klírensz meghatározás helyt kaphat a vesebetegségek rutin diagnosztikájában, mivel a ma használatos paraméterek csupán a vesefunkció kb. 75%-ának elvesztése után emelkednek a normál érték fölé. Így a jelenlegi rutin diagnosztikai módszerekre hagyatkozva csak 1-2 év késéssel kezdik meg a vesebetegség célzott irányú vizsgálatát és kezelését.

Érdemes volna további vizsgálatokat végezni annak eldöntésére is, hogy az időskori emelkedett amiláz értékek hátterében a vesefunkció csökkenése mellett milyen egyéb folyamatok állhatnak. Ilyenek lehetnek például idős macskák különböző mintáinak (gyomor, bél, pancreas, stb.) szövettani vizsgálata a gyulladások gyakoriságának kimutatására és ezen eredmények összevetése a különböző laboradatokkal.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az amiláz macskában az egyik legkevésbé vizsgált és a laboratóriumi kérésekben is csak ritkán szereplő paraméter. Ennek egyik oka, hogy – bár nagyrészt a hasnyálmirigy által termelt enzimről van szó – ebben a fajban éppen pancreatitisben nem jellemző az emelkedése. Érdekesebbnek tűnik az enzim egy másik jellemzőjének kihasználása. Természetéből és méretéből adódóan az amiláz kb. 80 %-ban a vesén át választódik ki, a glomerulusokon keresztül filtrálódik, és egy kis része a tubulusokon reabszorbeálódik. A plazmában különböző immunglobulinokkal és poliszacharidokkal komplexet képez, és ún. makroamiláz keletkezik. Ezek a komplexek fizikai tulajdonságaikat tekintve nagyon heterogén, nagyméretű molekulák, ezért nem tudnak a vizelettel ürülni és visszamaradva nagy enzimaktivitást okoznak a szérumban. A makroamilázokat különböző módszerekkel a normális amiláztól egyértelműen el lehet különíteni, így különbséget lehet tenni a makroamilazémia és a hiperamilazémia között. Tapasztalat szerint idős macskákban a hiperamilazémia legfőbb oka az IRC. Vizsgálatunk célja annak a hipotézisnek az alátámasztása volt, hogy az amiláz alkalmas lehet az IRC korai detektálására, akár a klinikai tünetek megjelenése előtt. Munkánk során különböző életkorú macskák amiláz és kreatinin értékeinek változását vizsgáltuk. A vizsgálat első részében 2004 és 2011 között a Szent István Egyetem Állatorvostudományi Karának Kisállat Klinikáján vizsgált $n=929$ európai rövidszőrű macska véreredményét dolgoztuk fel különböző statisztikai módszerekkel. Ennek során négy korcsoportot (kölyök: 0-2 év, felnőtt: 3-10 év, idős: 11-14 év, aggasztán: 15 év felett) hoztunk létre. A kreatinin értékeket az IRIS veseelégtelenség stádiumokba való besorolása alapján osztottuk fel (Stádium 1: $<140 \mu\text{mol/l}$, Stádium 2: $140-250 \mu\text{mol/l}$, Stádium 3: $251-440 \mu\text{mol/l}$, Stádium 4: $>441 \mu\text{mol/l}$). A kapott amiláz értékeket normál, mérsékelten emelkedett, több mint kétszeresére emelkedett csoportokra bontottuk. A kapott értékeket a következő szempont alapján dolgoztuk fel: korcsoportonkénti amiláz és kreatinin megoszlás, az egyes korcsoportokon belül a különböző stádiumú veseelégtelenségek szerinti amiláz érték megoszlás. A vizsgálatunk második felében az amiláz vesén keresztüli ürülését vizsgáltuk $n=15$ egészséges (kontroll) európai rövidszőrű macska amiláz klírenszenek meghatározásával. Ennek során szérum amilázt, vizelet amilázt és amiláz/kreatinin klírensz arányt mértünk módosított IFCC módszerrel.

Összefoglalva megállapítottuk, hogy macskákban a szérum amiláz illetve az amiláz/kreatinin klírensz arány alternatívája lehet az IRC korai felismerésének.

7. SUMMARY

The least examined, even in laboratory request rarely acting parameter in feline is amylase. One of the reasons- even it is an enzyme produced by pancreas-is the non-significant increase of the enzyme level in cases of pancreatitis. It seems to be more interesting to focus on another characteristic of this enzyme. In 80 per cents of cases the amylase is filtered by kidney, through glomeruli and a small amount is reabsorbed by tubuli, due to its size and nature. Amylase complexes with immunoglobulins and polysaccharides in blood plasma, forming the so called macroamylase. According to their physical properties, these complexes are heavily heterogeneous large molecules, so they are unable to be excreted in the urine and cause intensive enzyme activity in the serum. Macroamylasemia and hyperamylasemia can be distinguished by separation of the macroamylase and amylase. According to the statistics, the main reason of hyperamylasemia in older feline is IRC. The goal of our study was the corroboration of our hypothesis that the IRC can be detected by measuring the amylase level before the appearance of the clinical symptoms. During our investigation we detected the differentiation in levels of creatinine and amylase of cats of various ages. The first part of our analysis was to process the blood test results of n=929 European shorthair cats that were investigated at Small Animal Clinic of Szent István University Faculty of Veterinary Science between the years of 2004-2011, with the help of numerous statistical methods. We formed four age-groups (junior: 0-2 years, mature: 3-10 years, senior: 11-14 years and geriatric: older than 15 years) in our study. We categorized the levels of creatinine by the IRIS classification of stages of kidney disease (stage 1: $<140\ \mu\text{mol/l}$, stage 2: $140\text{-}250\ \mu\text{mol/l}$, stage 3: $251\text{-}440\ \mu\text{mol/l}$, stage 4: $>441\ \mu\text{mol/l}$). The amylase values were grouped into „normal”, „moderate increased” and „more than doubled” categories. The results have been processed by the following aspects: the partition of amylase and creatinine concentration in different age-groups and the partition of amylase values in different age-groups according to the different stages of the experienced kidney diseases. In the second part of our work we have examined the excretion of amylase in cases of n=15 healthy (control) European shorthair cats by determining the amylase clearance. During this, we measured serum amylase level, urine amylase level and amylase clearance/creatinine clearance ratio using modified IFCC method.

In summary, on the one hand we have determined the significant correlations between the age-groups and amylase levels, the age-groups and creatinine levels and in most cases the age-groups and amylase-creatinine level, respectively. On the other hand, we defined that the serum amylase value and the amylase clearance/creatinine clearance ratio may contribute to the early detection of IRC.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- Batchelor MJ, Williams SC, Green MJ: Determination of amylase. United States Medisense Inc. Cambridge, MA, 4912041, 1990 URL: <http://www.freepatentsonline.com/4912041.html> (Letöltés ideje: 2012. 10. 03.)
- Berk JE, Kizu H, Wilding P, et al (1967): Macroamylasemia: A newly recognized cause for elevated serum amylase activity. N Engl J Med 277:941-946
- Carlson AJ., Luckhardt AB. (1908): On the diastases in the blood and the body fluids. Am. J. Physiol. 12: 148-164
- Deniz Seyrek-Intas und Martin Kramer (2008): Bild gebende Diagnostik der Niere bei Katzen. Vet. Focus 18: 23–30
- Eto K, Pairent FW, Appert HE, Howard JM (1969): Renal excretion of amylase and lipase by dogs. Arch Surg 98: 241-244
- Fazekasné Kis Mária, Góth László: A ROC analízis alkalmazása az enzim diagnosztikában. URL: http://www.mldt.hu/upload/labor/document/labor_medicina/fazekasne_cikk.htm (Letöltés ideje: 2012. 10. 15.)
- Francey T, Schweighauser A (2008): Klinische Epidemiologie von Nierenerkrankungen bei der Katze. Vet. Focus 28: 2–7
- Fridhandler L., Berk JE., Ueda M. (1971): Macroamylasemia: Rapid detection method. Clin Chem 17: 423-426
- G. F. Grauer (2005): Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. In: Vet Clin Small Animal 35: 581–596
- Gaál T (1999): Állatorvosi klinikai laboratóriumi diagnosztika. SÍK Kiadó, Budapest
- Goldberg DM, Spooner. (1975): Amylase, isoamylase and macroamylase. Digestion 13: 56-75
- Heine R (2008): Labordiagnostik bei feline Nierenerkrankungen. Vet. Focus 18: 16–22
- Hudson EB, Strombeck DR (1978): Effects of funktional nephrectomy on the disappearance rates of canine serum amylase and lipase. Am J Vet Res 39: 1316-1321
- IRIS Guidelnes URL: http://www.iris-kidney.com/guidelines/en/staging_ckd.shtml (Letöltés ideje: 2012. 10. 01.)
- Jacobs RM, Hall RL, Rogers WA (1982): Isoamylase in clinically normal and diseased dogs. J Vet Clin Pathol 11: 26-32

- Jepson RE et al (2009): Evaluation of predictors of the development of azotemia in cats. *J. Vet. Intern. Med.* 23: 806–813
- Keogh JB, McGeeney KF, Drury M, Counihan TB, O'Donnell MD (1978): Renal clearance of pancreatic and salivary amylase relative to creatinine in patients with chronic renal insufficiency. *Gut*, 19: 1125-1130
- Klonoff DC (1980): Macroamylasemia and other immunoglobulin-complexed enzyme disorders (Medical Progress). *West J Med* 133: 392-407
- Kobayaslli T, Nakayama T, Kitamura M (1978): Electrophoretic identification of serum immunoglobulins linked to amylase: Macroamylase. *Clin Chim Acta* 86: 261-265
- Kratz A, Ferraro M, Sluss PM, et al. (2004): Case recods of the Massachusetts General Hospital: laboratory values. *N Engl J Med* 351(15): 1549-1563
- LABOKLIN Labor Für Klinische Diagnostik GMBH & CO. KG URL: http://www.laboklin.de/pdf/de/news/laboklin_aktuell/lab_akt_0903.pdf (Letöltés ideje: 2012. 10. 25)
- Levitt MD (1979): Clinical use of amylase clearance and isoamylase measurements. *Mayo Clin Proc* 54: 428-431
- Levitt MD, Johnson SG, Ellis CJ, et al (1977): Influence of amylase assay technique on renal clearance of amylase-creatinine ratio. *Gastroenterology* 72: 1260-1263
- McGeachin RL., Akin JR. (1979): Amylase levels in the tissues and body fluids of the domestic cat (*Felis catus*). *Comp Biochem Physiol B.* 63(3): 437-9
- Medscape reference URL: <http://emedicine.medscape.com/article/186389overview#aw2aab6b4> (Letöltés ideje: 2012. október 25.)
- Meyer H, Kienzle E. (1991): Dietary protein and carbohydrates: relationships to clinical disease. *Proc Purina Int Nutr Symp*: 13-26
- O'Donnel MD, McGeeney KF (1975): Alpha-amylase and glucoamylase activities of canine serum. *Comp Biochem Physiol* 50B: 269-274
- Parent CR, Washabau J, Williams DA, et al. (1995): Serum trypsin-like immunoreactivity, amylase and lipase in the diagnosis of feline acute pancreatitis. *J Vet Intern Med.*: 9: 194
- Ramasubbu N, Paloth V, Luo Y, Brayer GD, Levine MJ. (1996): Structure of human salivary α -amylase at 1.6 Å resolution: Implications for its role in the oral cavity. *Acta Crystallagaphic; D52*: 435-446
- Sharkey LC, Ployngam T, Tobias AH, Torres SM (2007): Effects of a single injection of methylprednisolone acetate on serum biochemical parameters in 11 cats. *Vet Clin Pathol.* 36(2): 184-7
- Skude G., Mardh PA. (1976): Isoamylases in blood, urine, and tissue homogenates from some experimental mammals. [Scand J Gastroenterol.](#) 11(1): 21-6

Thierry Francey T, Müller E (2010): Chronische Nierenerkrankung – Früherkennung und Bedeutung der Phosphate. Veterinärspiegel 3: 107–112

Thierry Francey, Ariane Schweighauser (2008): Klinische Epidemiologie von Nierenerkrankungen bei der Katze. Vet. Focus 28: 2–7

Vet Cornell Edu, Cornell University, College of Veterinary Medicine URL:

<http://ahdc.vet.cornell.edu/clinpath/modules/chem/amylase.htm> (Letöltés ideje: 2012. 11. 03.)

Wilding P, Cooke WT, Nicholsonl GI (1964): Globulin-bound amylase. Ann Intern Med 60: 1053-1059

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném őszinte köszönetemet kifejezni Dr. Balogh Évának, hogy munkámat témavezetőként irányította, felmerülő kérdéseimre mindig válaszolt és lehetővé tette, hogy dolgozatomat a Belgyógyászati Tanszék és Klinikán készítssem el. Köszönettel tartozom Dr. Halmay Dórának is, ugyancsak témavezetőmnek, az értékes meglátásaiért és a dolgozat elkészítésében nyújtott instruálásért.

A statisztikai elemzés kivitelezéséhez kapott hasznos tanácsokat köszönöm Kovács Szilviának.