

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Újabb ismeretek kutyák proteinuriájáról

Dr. Falus Fruzsina Anna

Témavezető: Dr. Manczur Ferenc, Ph.D.



Állatorvostudományi Egyetem
Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2024

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Újabb ismeretek kutyák proteinuriájáról

Dr. Falus Fruzsina Anna

Témavezető: Dr. Manczur Ferenc, Ph.D.



Állatorvostudományi Egyetem
Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2024

Témavezető:

.....

Dr. Manczur Ferenc, Ph.D.

Egyetemi docens

Belgyógyászati Tanszék és Klinika

Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

Készült 4 példányban. Ez a(z) ... sz. példány.

.....

Dr. Falus Fruzsina Anna

1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

Kutyák és macskák vizeletében kis mennyiségű fehérje jelenléte élettani. A proteinuria a fehérjék kóros mennyiségű megjelenését jelenti a vizeletben. Tartósnak számít a fehérjevizelés, ha kéthetes vagy hosszabb időközökkel három vagy több alkalommal is kimutatható. Az inaktív vizeletüledék melletti tartós fehérjevizelés a krónikus vesebetegségek, azon belül pedig a glomerulopathiák fő jellemzője. Számos tanulmány bizonyította, hogy a proteinuria jelenléte rövidebb túléléssel jár, mind az embereknél, mind kutyáknál és macskáknál is. Embereknél a vizeletbeli fehérjevesztés mértéke összefügg a krónikus vesebetegség progressziójával, és prognosztikai tényező diabéteszes nephropathiában és egyes szívbetegségekben. A fehérjevizelés gyógyszeres csökkentése meghosszabbítja mind az emberek, mind a kutyák és a macskák túlélését.

Az albuminuria az albumin kóros mértékű vesztesését jelenti a vizeleten keresztül. Emberekben az albuminuria a vesekárosodás legfontosabb markere, és a krónikus vesebetegség progressziójának legfontosabb előjelzője.

Az albuminuria, a vesebetegségek mellett, a keringési rendszer megbetegedéseinek biomarkere is lehet, amely előre jelezhet akut szív- és érrendszeri eseményeket (pl.: szívinfarktus, stroke). Az emberorvoslásban az albuminuria negatív prognosztikai tényező; mértéke fordítottan arányos a túléléssel bármely megbetegedés esetén, de legkifejezettebben a szív- és érrendszeri betegségekben.

Az állatgyógyászatban számos kutatás igazolta, hogy az albuminuria megelőzheti a proteinuria megjelenését, így nagy szerepe lehet a vesebetegségek korai diagnosztikájában. Az albuminuria negatívan korrelál a krónikus vesebetegségben szenvedő macskák, valamint a kritikus állapotú kutyák túlélésével. Az albuminuria szűrővizsgálatként történő mérése javasolt örökletes vesebetegségekben érintett fajtáknál, vagy olyan kutyáknál, melyeknél korai vesebetegség gyanúja áll fenn, továbbá magas vérnyomásban vagy proteinuriához vezető szisztémás betegségben szenvedő egyedeknél. Bár az albuminuria jelentősége a közelmúltban egyértelművé vált, kutyák albuminuriájának referencia intervallumát még nem határozták meg. Korábbi, különféle megbetegedések során végzett tanulmányok, a beteg állatok vizelet albuminértékeit egészséges kontrollcsoportokéval

hasonlították össze. Ezek a kontrollcsoportok 10–40 egyedből álltak. Egy megbízható referenciahatár meghatározásához, ezzel szemben, legalább 120 egyed szükséges.

Kutyákban albuminuriát már számos különböző betegség esetében leírtak: familiáris glomerulopathiák, leishmaniosis, diabetes mellitus, hipofízisfüggő hyperadrenocorticismus, krónikus vesebetegség, magas vérnyomás, kritikus állapottal járó betegségek, szisztémás gyulladásos válasz szindróma (SIRS), lymphoma, osteosarcoma. Kutyákban több vizsgálatban találtak membranoproliferatív glomerulonephritist spontán és kísérletileg kiváltott *Dirofilaria immitis* (szívféreg) fertőzés esetén. Így nem meglepő, hogy az albuminuria és a proteinuria gyakran jelentkezik szívféreg fertőzöttség esetén. Magyarországon a szívféreggel közeli rokonságban álló *Dirofilaria repens* (bőrféreg) prevalenciája magasabb, mint a *D. immitis*-é. A *D. repens* által okozott esetleges glomerularis károsodást eddig nem vizsgálták.

Első vizsgálatunk célja az volt, hogy meghatározzuk kutyákban az albuminuria referencia intervallumát, több, mint 120 egészséges kutya bevonásával. Második célunk a fajtaspecifikus referenciaintervallumok meghatározása volt, abban az esetben, ha szignifikáns

különbséget találtunk a különböző fajták albuminuriája között. Az agarak esetében ismert, hogy egyedi referenciaértékekkel rendelkeznek. Egy korábbi kutatásban azt találták, hogy több albumint ürítenek a vizelettel, mint más fajták, így az ő vizsgálatuk elengedhetetlen volt. Beagle kutyák fajtaspecifikus referenciaintervallumainak meghatározása hasznos lehet, mivel gyakran használják őket kísérleti állatként.

Második vizsgálatunk célja a *D. repens* esetleges a szívférgességhez hasonló glomerularis károsodást okozó hatásának felmérése volt. Ebben a kutatásban azt vizsgáltuk, hogy a bőrférgességgel fertőzött kutyáknál kimutatható-e nagyobb mértékű proteinuria vagy albuminuria, mint az azonos körülmények között tartott, nem fertőzött kutyáknál. Azt is szeretnénk volna megfigyelni, hogy a proteinuria vagy az albuminuria mértéke csökken-e moxidektin spot-on kezelés hatására. Vizsgálatunk elsődleges céljai mellett néhány laboratóriumi paramétert (hematológia, szérum karbamid és kreatinin, vizeletsűrűség) is összehasonlítottunk a fertőzött és nem fertőzött kutyák között.

2. Anyag és módszer

Az első vizsgálatba 164 klinikailag egészséges kutyát vontunk be, melyek két különböző kutyapopulációból származtak. Az első csoportot az Állatorvostudományi Egyetem Kisállatklinikájára, éves egészségügyi vizsgálatra érkező, klinikailag egészséges, 1 és 12 év közötti, különböző fajtájú, hím és nőstény kutyák alkották. A második csoportba 1 és 12 év közötti, klinikailag egészséges laboratóriumi beagle kutyák kerültek, mindkét nemből. Ezek a beagle kutyák egy másik vizsgálatban egészséges kontrollként szerepeltek, semmilyen kezelésben vagy beavatkozásban nem részesültek. A vizsgálatot a Pest Megyei Kormányhivatal Élelmiszerlánc-biztonsági, Állat-Növény- és Talajvédelmi Főosztálya engedélyezte (PEI/001/1708-4/2015). A kutyák egészségügyi vizsgálata (fizikális vizsgálat, vér- és vizeletvizsgálat) az eredeti vizsgálat része volt; az albuminuria referenciaintervallumának meghatározásához a megmaradt vizeletmintákat használtuk fel.

A kutyák egészségi állapotát kórtörténükkel, fizikális vizsgálatukkal, valamint laboratóriumi vizsgálatokkal mértük fel (rutin vér és vizeletvizsgálat). Kizártuk azokat a kutyákat, amelyeknél a fizikális vizsgálat során

eltérések mutatkoztak, vagy amelyeknél bármely gyulladásos paraméter (eosinophil-/ neutrophil granulocytá/ lymphocytá sejtszám, C-reaktív fehérje, globulinok) vagy veseparaméter emelkedett volt, továbbá, amelyeknél érdemi hematológiai vagy biokémiai elváltozásokat találtunk, illetve amelyek microfilaraemiások voltak. A vizsgálatból kizártuk a proteinuriás (UPC $\geq 0,2$), pyuriás vagy hematuriás kutyákat is.

A vizeletmintákat cystocentesissel vagy spontán ürített minta felfogásával vettük. A vizelet albuminszintjét immunoturbidimetriás módszerrel határoztuk meg, majd az albuminürítést a vizelet albumin/kreatinin arányával (UAC) fejeztük ki. Mivel egészséges kutyáknál az UAC-értékek közel esnek a nullához (vagy akár nulla is lehet), az alsó referenciahatár irreleváns. Ezért a 95%-os felső referenciahatárt (amely kizárja a referenciapopuláció 5%-át) nemparametrikus módszerrel becsültük meg, annak 90%-os nemparametrikus konfidencia-intervallumával együtt. Mivel a referencia egyedeket véletlenszerűen választottuk ki, jól ismert populációkból, majd tapasztalt állatorvosok mérték fel egészségi állapotukat, minden referenciaértéket megtartottunk, és nem zártunk ki a kiugró értékeket. Az agarak és a beagle kutyák eredményeit alcsoportonként is elemeztük. Az

alcsoportok eredményeit Kruskal-Wallis-tesztel hasonlítottuk össze. A spontán ürített, és cystocentesissal vett minták UAC-eredményeit kétmintás T-próbával hasonlítottuk össze. Az UAC életkortól való függését Spearman-féle rangkorrelációval értékeltük.

Kutatásunk második részében egy keresztmetszeti vizsgálat végeztünk. A vizsgálatba 65 klinikailag egészséges, 1 és 10 év közötti laboratóriumi beagle kutyát vontunk be. A kutyákat *D. repens* fertőzésre szűrtük, majd „fertőzött” vagy „kontroll” csoportba soroltuk őket. Kizártuk azokat a kutyákat, amelyeknél a fizikális vizsgálat során rendellenességet tapasztaltunk, továbbá amelyeknél a fehérvérsejtszám vagy a szérum C-reaktív fehérje koncentrációja gyulladáshoz utalt, és amelyeknél rendellenes vesefunkcióra volt gyanú, valamint, amelyeknél jelentős hematológiai vagy biokémiai elváltozások mutatkoztak. Kizártuk továbbá a *D. immitis*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophylum* vagy *Borrelia sensu lato* fertőzésre gyanús kutyákat. A pyuriás vagy haematuriás kutyákat és a pozitív vizelettenyésztési eredményű kutyákat szintén kizártuk a vizsgálatból.

Módosított Knott-tesztet végeztünk a *D. immitis* és a *D. repens* microfiláriák kimutatására. A *D. immitis*

antigének kimutatására minden kutyánál két különböző tesztet alkalmaztunk. A pozitív Knott-teszttel rendelkező kutyák esetében PCR-tesztet végeztünk a *D. repens* és a *D. immitis* fertőzés megkülönböztetésére. A kutyákat akkor tekintettük „*D. repens*-fertőzött”-nek, ha microfilaraemiások voltak, és a PCR-tesztjük pozitív volt *D. repens* fertőzésre, de negatív *D. immitis* fertőzésre, továbbá mindkét *D. immitis* antigéntesztjük negatív volt. A microfilaraemiát nem mutató és két negatív *D. immitis* antigénteszttel rendelkező kutyákat a „kontroll” csoportba soroltuk.

A vizeletmintákat cystocentesissal vettük. Átfogó vizeletvizsgálatot végeztünk, beleértve a vizeletüledék mikroszkópos vizsgálatát, a fehérje/kreatinin arány (UPC) és az UAC mérését, valamint a vizelet tenyésztéses vizsgálatát.

Azoknál a kutyáknál, melyeknél a nyomon követés megvalósítható volt, megismételtük az UAC és az UPC mérését egy, vagy két adag moxidektin spot-on kezelés után.

Elsődleges nullhipotézisünk az volt, hogy a *D. repens*-fertőzött kutyáknál ugyanolyan mértékű proteinuria és albuminuria fordul elő, mint az azonos körülmények között tartott nem fertőzött kutyáknál. A két

csoport összehasonlítására a Mann-Whitney U-tesztet használtuk. A vizsgálatunk másodlagos kimenetelére vonatkozó nullhipotézis az volt, hogy a *D. repens* fertőzés megszüntetése után a proteinuria vagy az albuminuria nagysága nem változik. E hipotézis tesztelésére a Wilcoxon-féle előjeles rang tesztet végeztük el. Az egyéb változókat, normális eloszlású adatok esetén kétmintás T-próbával hasonlítottuk össze a fertőzött és a nem fertőzött kutyák között. A Mann-Whitney U-tesztet alkalmaztuk, ha a változók nem normális eloszlásúak voltak.

3. Az értekezés új tudományos eredményei

1. Tanulmányunkban elsőként határoztuk meg kutyák vizelet albumin/kreatinin arányának (UAC) referenciaintervallumát 124 egészséges kutyán, mely magabiztos alapul szolgálhat további kutatások, illetve a klinikum számára:

Kutyák UAC referenciaintervalluma 0 – 19 mg/g. A humán referenciaintervallum valamivel magasabb: 0 – 30 mg/g, de nagyon hasonló a kutya UAC felső határának 90%-os konfidenciaintervallumához (13 – 28 mg/g), amelyet ebben a vizsgálatban találtunk.

2. Sem a fajta, sem az életkor, sem a nem, sem a testsúly vagy a vizeletgyűjtés módja nem befolyásolja kutyák UAC-értékeit:

Nem találtunk szignifikáns különbséget az UAC-értékekben a beagle kutyák (n=23), az agarak (n=30) és a többi kutyafajta között. Korábbi vizsgálatokkal ellentétben, az UAC nem mutatott szignifikáns összefüggést az állatok életkorával. Az albuminuria kimutatására a klinikusok maguk választhatják meg a vizeletgyűjtés módját (cystocentesis vagy felfogott, spontán ürített vizelet), az alapján, hogy melyik a biztonságosabb vagy kényelmesebb módszer az adott egyed esetében.

3. A *D. repens*-fertőzött kutyák szignifikánsan több albumint ürítenek a vizeleten keresztül, mint a nem fertőzöttek:

Albuminuriát (UAC >19 mg/g) a *D. repens*-szel fertőzött csoportban a kutyák 35%-ánál mutattunk ki, míg a kontrollcsoportban csak 12%-ban volt jelen. Bár a fertőzött csoportban több volt a jelentősen proteinuriás (UPC >0,5) kutya (23%), mint a kontrollcsoportban (6%), az UPC-értékek nem különböztek szignifikánsan a fertőzött és a kontrollcsoport között. Az albuminuria jelenléte felveti a *D. repens* fertőzés okozta korai glomeruláris károsodás gyanúját, hasonlóan a *D. immitis*-hez.

4. A *D. repens* fertőzés megnövekedett eosinophil granulocytaszámot és vérlemezkeszámot okoz, míg úgy tűnik, hogy nem okoz azotaemiát vagy csökkent vizeletsűrűséget:

Eosinophilia a *D. repens*-fertőzött kutyák 39%-ánál, thrombocytosis pedig 42%-ánál volt jelen (ezzel szemben a kontrollcsoportban mindkét eltérés előfordulása 12% volt). A fiziológiás szérum kreatinin- és karbamidértékek, valamint vizeletsűrűség nem zárja ki a glomerularis károsodást, mivel a

glomerularis betegségek gyakran jelentkeznek elfogadható vizeletkoncentráló képességű, nem azotaemiás kutyáknál is.

4. Az értekezés témájában született publikációk

Falus F. A., Szabó K. É., Becker Zs., Müller L., Fok É., Balogh N., Manczur F. 2023. Albuminuria and proteinuria in dogs infected with *Dirofilaria repens*: A cross-sectional study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 37(3), 992-997.

Falus F. A., Vizi Zs. Szabó K.É., Müller L., Reiczigel J., Balogh N., Manczur F. 2022. Establishment of a reference interval for urinary albumin-to-creatinine ratio in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 51(4), 585–590.

Falus F. A., Manczur F. 2018. Kutyák és macskák proteinúriája II. rész: Kutyák és macskák proteinúriájának gyógykezelése: Irodalmi összefoglaló. Proteinuria in dogs and cats Part 2. Treatment of proteinuria in dogs and cats. Literature review. *Hungarian Veterinary Journal*, 140 (3), 135-149.

Falus F. A., Székely D. Manczur F. 2017. Kutyák és macskák proteinúriája: Irodalmi összefoglaló I. rész. Proteinuria in dogs and cats Part 1. Literature review. *Hungarian Veterinary Journal*, 139(2) 89-100.

5. Az értekezés témájában készült poszterek, megtartott előadások

Falus F. A., Vizi Zs., Török B., Manczur F. 2020.
Evaluation of the diagnostic value of urinary albumin to
protein ratio in proteinuric dogs. Research
Communications of the 29th ECVIM-CA Congress,
Journal of Veterinary Internal Medicine 34 (1).

Manczur F., **Falus F. A.**, Kubik N., Müller L., Vizi Zs.;
Sterczer Á., Rabnecz Gy. 2018. Microalbuminuria in
dogs infected with *Dirofilaria repens*. Research
Communications of the 27th ECVIM-CA Congress,
Journal of Veterinary Internal Medicine 32 (1) 531.

Manczur F., **Falus F. A.**, Vizi Zs. 2017.
Microalbuminuria in healthy dogs. Research
Communications of the 26th ECVIM-CA Congress,
Journal of Veterinary Internal Medicine 31 (1) 253.

Falus F. A., Manczur F. 2017. Az albuminuria szerepe
kutyák vesebetegségeiben. MTA Áorv. Tud. Bizottsága,
Akadémiai Beszámoló, Klinikumok Szekció, 2016,
Budapest.

Falus F.A., Manczur F. 2016. A *Dirofilaria repens*
potenciális vesekárosító hatásának vizsgálata. MTA
Áorv. Tud. Bizottsága, Akadémiai Beszámoló,
Klinikumok Szekció, 2016, Budapest.