

KRONİK HEMODİYALİZ HASTALARINDA NEOPTERİN SEVİYELERİ

NEOPTERIN LEVELS IN PATIENTS UNDERGOING CHRONIC HEMODIALYSIS

Ayhan Dođukan, Hatice Handan Akbulut*, Vedat Bulut*

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı,

* İmmünoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

ÖZET

Üremik ortam ve hemodiyalizdeki biyouyumsuzluk kronik bir inflamasyona neden olmaktadır. Üremik hastalarda monosit aktivasyonu ve ardından çok sayıda proinflatuar sitokin salgılandığı gösteren deliller vardır. Neopterin interferon gama'nın stimülasyonu ile makrofajlardan salınan düşük molekül ağırlıklı bir üründür, in vivo olarak hücrel aktivasyon derecesi hakkında fikir verir. Bu çalışmada enfeksiyon bulguları olmayan hemodiyaliz (HD) hastalarında serum neopterin seviyeleri araştırıldı. Kırk altı HD hastası ve 40 sağlıklı kontrol çalışmaya alındı. HD hastalarında neopterin seviyeleri kontrol grubuna göre daha yüksekti ($53.9 \pm 17.8 - 12.3 \pm 3.8$ nmol/l; $p < 0.0001$). HD öncesi seviyelerde HD'den sonra kontrol grubuna göre yine yüksek olmakla birlikte ($p < 0.0001$) anlamlı düşme oldu ($53.9 \pm 17.8 - 40.0 \pm 15.6$ nmol/l, $p < 0.001$). Sonuçlarımıza göre, HD hastalarında neopterin seviyeleri diyaliz öncesi ve sonrası normalin üstündedir ve bu bulgular HD hastalarında kronik bir inflamasyon olduğunu destekler.

Anahtar kelimeler: Kronik hemodiyaliz, neopterin

GİRİŞ

Kronik böbrek hastalarında çeşitli nedenlerle immün bozukluklar gözlenmektedir. Uzun süre hemodiyaliz uygulanan hastalarda TNF- α (Tümör nekroz faktör-alfa) ve İL-1 (İnterlökin-1) gibi immünitenin aktive olduğunu gösteren sitokinler artmaktadır. Hem üreminin kendisi hem de hemodiyaliz

SUMMARY

Both uremia and bioincompatibility of hemodialysis result in a chronic systemic inflammatory syndrome. There is evidence for the activation of monocytes and subsequent release of several proinflammatory cytokines in uremic patients. Neopterin is a low molecular weight product released by human macrophages upon stimulation with interferon gamma. It permits the quantification of the level of cellular immune activation in vivo. The aim of our investigation was to characterize neopterin levels in patients without systemic infection undergoing chronic dialysis therapy. Forty-six patients on chronic hemodialysis and 40 healthy controls were selected for the study on the basis of absence of any clinical evidence for infections during the last 3 weeks prior to the study. Our data show the presence of higher serum levels of neopterin in hemodialysed subjects with respect to the controls (53.9 ± 17.8 vs 12.3 ± 3.8 nmol/l; $p < 0.0001$). On average the neopterin levels decreased from 53.9 ± 17.8 nmol/l at baseline to 40.0 ± 15.6 nmol/l at the end of hemodialysis ($p < 0.001$). According to our results, raised neopterin levels before and after hemodialysis therapy confirm the presence of a chronic systemic inflammatory state in hemodialysis patients.

Key words: Chronic hemodialysis, neopterin

esasında kullanılan membranlara ve membrandan geçebilen endotoksinlere bağlı olduğu düşünülen kronik bir inflamasyon söz konusudur (1).

Guanozin trifosfat'tan derive edilen, 250 dalton moleküler ağırlığında, bir pyrimidine-pyrimidine bileşiği olan neopterin, gamma interferon tarafından stimüle olan makrofajlar tarafından üretilir. Gama

interferon ise aktive olmuş T lenfositlerinden salınmaktadır. Kısaca neopterin, T lenfosit - makrofaj etkileşiminin hassas bir göstergesi olarak görülür (2,3). Dolayısıyla neopterin'in serum değerlerinin ölçülmesi, özellikle in vivo hücrel immünite aktivasyonunun derecesi hakkında fikir vermektedir

Bu çalışma, hemodiyaliz uygulanan kronik böbrek hastalarında immün sistem aktivasyonunu ve hemodiyalizin neopterin seviyesi üzerine olan etkisini değerlendirmek amacıyla planlandı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezinde hemodiyaliz uygulanan 46 kronik hemodiyaliz hastası ile yaklaşık olarak aynı yaşlarda olan ve herhangi bir hastalık yakınması olmayan 40 kişi çalışma kapsamına alındı.

Çalışma kapsamına alınan hastalara, haftada 3 gün, 4 saat süreyle, bikarbonat ile diyaliz uygulanmaktaydı. Hemodiyaliz sırasında polisulfon diyalizer tipi (Hemoflow F6, Fresenius, Germany), antikoagülasyon için düşük molekül ağırlıklı heparin (Fragmin 2000-5000 Ü) kullanıldı. Kan akım hızı 200-300 ml/dakika, ultrafiltrasyon hızı 300-1000 ml/saat arasında değişmekteydi.

Neopterin seviyeleri; likid kromatografi, radioimmunoassay ve enzim immunoassay ile ölçülebilmekte olup, -20 °C de 6 ay bozulmadan kalabilmektedir (2). Hemodiyaliz uygulanan 46 kronik böbrek hastasına diyaliz uygulanmasından hemen önce ve 4 saat diyaliz uygulamasından hemen sonra, ayrıca kontrol grubundaki kişilerden uygun şartlarda venöz kan örnekleri alındı ve serumları ayrılıp çalışma gününe kadar -20 °C de bekletildi. Neopterin değerleri ELISA yöntemiyle BRAHMS marka kitler kullanılarak saptandı.

Ciddi sistemik infeksiyonu, malignitesi ve büyük cerrahi bir girişimi olan hastalar çalışma kapsamına alınmadı. Ayrıca hiçbir hasta immünstimulan ya da immünsüpresif bir ilaç almıyordu.

İstatistiksel değerlendirme, SPSS versiyon 10.01'de One-Way ANOVA ve post hoc olarak Tukey B testleri kullanılarak yapılmıştır, p<0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan hastaların yaşları ortalama 45 iken, %56' sı kadın idi. Hastaların hemoglobin değerleri ortalama 9 g/dl iken, kronik böbrek hastalığına neden olan primer hastalıkların

başında Diabetes mellitus geliyordu. Hastaların genel özellikleri ile primer hastalıkları **Tablo 1'** de gösterilmiştir.

Hemodiyaliz hastalarında diyaliz öncesi ortalama neopterin seviyeleri 53.97 + 17.86 nmol/l düzeylerinde bulunurken, kontrol grubunda 12.26+ 3.87 nmol/l düzeylerinde gözlemlendi (p<0.0001). Hemodiyaliz öncesi 53.97 + 17.86 nmol/l düzeylerinde bulunan neopterin düzeylerinin, hemodiyaliz sonrası 40.00 +15.6 nmol/l düzeylerine indiği tespit edildi (p<0.001). Hemodiyaliz sonrası neopterin düzeyleri ile kontrol grubu değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık (p<0.0001) olduğu saptandı (**Tablo 2, Şekil 1**).

Tablo 1: Hastaların genel özellikleri

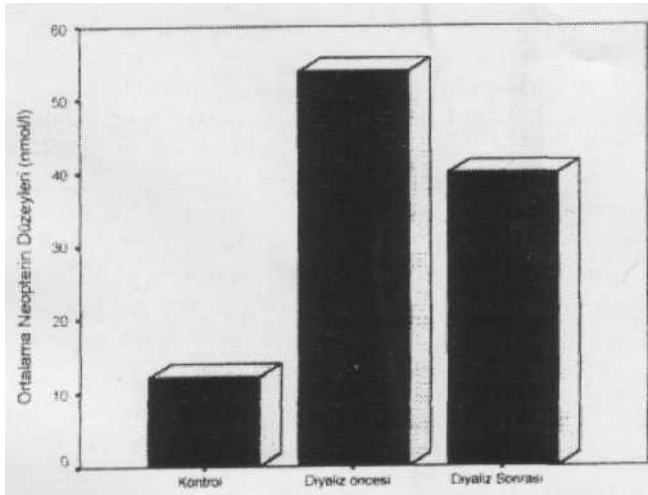
Hastanın konumu	n (%)	Ortalama±SH
Yaş (yıl)		45.1±17.4
Cins		
Kadın	26 (56.5)	
Erkek	20(43.5)	
Hemodiyaliz süresi (yıl)		3.76±2.41
Hemoglobin değeri (gr/dl)		8.92±1.7
Primer hastalık		
Diabetes Mellitus	12(26.1)	
Glomerüller hastalık	11 (23.9)	
Hipertansiyon	4 (8.7)	
Ürolitiazis	4 (8.7)	
Polikistik Böbrek	3 (6.5)	
Amiloidozis	3 (6.5)	
Bilinmeyen	9 (9.6)	

SH: Standart hata

Tablo 2: Hemodiyaliz öncesi ve sonrası ile kontrol grubu neopterin değerleri (ortalama±standart hata)

	Neopterin (n m ol/l)
Hemodiyaliz Öncesi	53.97±17.87*
Hemodiyaliz Sonrası	40.00+ 15.6* [§]
Kontrol	12.26 + 3.87

* kontrole göre p< 0.0001, [§] HD öncesine göre p<0.001



Şekil 1. Hemodiyaliz hastalarında ve kontrol grubunda neopterin düzeyleri.

TARTIŞMA

Kronik böbrek hastalarında çeşitli nedenlerle immün bozukluklar gözlenmektedir. Hem üreminin kendisi hem de hemodiyaliz esnasında kullanılan membranlara ve membrandan geçebilen endotoksinlere bağlı olduğu düşünülen kronik bir inflamasyon söz konusudur. Ultrapure diyalizat kullanıldığında bile endotoksinlerin veya endotoksin fragmanlarının düşük veya yüksek akımlı membranlardan geçerek monosit aktivasyonuna ve ardından TNF- α ve İL-1 gibi immünitenin aktive olduğunu gösteren proinflamatuvar sitokinlerin salınımına neden oldukları gösterilmiştir (1,4).

Neopterin; interferon gama'nın stimülasyonu sonucu, aktive olmuş monosit ya da makrofajlarda üretilir ve salınır. Neopterin'in serum değerlerinin ölçülmesi, özellikle in vivo hücrel immünite aktivasyonunun derecesi hakkında fikir vermektedir (1,5).

Kronik hemodiyaliz hastalarında neopterin seviyeleri yüksek bulunmuş, bu durum bazı çalışmalarda böbrekten atılımının azalmasından çok bu hastalardaki tipik immün sistem bozukluğuna bağlanmıştır (6). Buna karşılık başka bir çalışmada neopterin seviyeleri; kronik glomerulonefritli hastalarda 10.2 ± 8.1 nmol/l, kronik böbrek yetmezlikli hastalarda 109 ± 90 nmol/l, kronik hemodiyaliz hastalarında 212 ± 106 nmol/l, kontrol grubunda ise 4.2 ± 2.4 nmol/l olarak saptanmış, serumdaki neopterin seviyelerinin renal patolojik değişikliklerden daha çok böbrek fonksiyonları ya da glomeruler filtrasyon oranı

ile ilgili olduğu vurgulanmıştır (3). Benzer şekilde, hemodiyaliz uygulanan 47 kronik böbrek hastasında plazma neopterin düzeyleri 149 ± 4 nmol/l olarak saptanırken, hemodiyaliz uygulanmayan kronik böbrek hastalarında neopterin düzeyleri 32 ± 4 nmol/l olarak saptanmıştır (7). Çalışmamıza hemodiyaliz uygulanmayan prediyaliz hastaları almamıza rağmen (üremik hastalarda neopterin seviyelerindeki yüksekliğe klirensin etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte) hemodiyaliz uygulanan hastalarda prediyaliz hastalarına göre seviyelerin yüksek olması bu hastalarda hemodiyaliz işleminden kaynaklanan bir inflamasyon olduğunu göstermektedir. Kronik hemodiyaliz hastaları ile yapılan bir çalışmada neopterin seviyeleri ise hemodiyaliz hastalarında 159 ± 6.05 nmol/l iken, sağlıklı kişilerde 7.5 ± 3.5 nmol/l olarak bulunmuştur. Sonuçların yorumunda, hemodiyaliz sırasında endotoksinin, diyaliz sıvısının geri filtrasyonu sırasında membranın karşı tarafına geçebileceği ve monositi aktive edebileceği belirtilmiştir. Ayrıca diyaliz membranının monositleri direkt olarak aktive edebileceği de vurgulanmıştır (5). Ancak yapılan bazı çalışmalarda ise hemodiyaliz sırasında kullanılan polisulfon tipi dializerlerin sitokin ve neopterin salınımlarını uyarmadığı, esas uyarının sitokinler ve onların inhibitörleri arasındaki dengesizlikten kaynaklandığı belirtilmiştir (8).

Kronik böbrek yetmezliği bulunan ve en az bir yıl düzenli olarak haftada 3 kez 4 saat hemodiyaliz uygulanan 26 hastada neopterin değerleri 95 ± 12 nmol/l, sağlıklı gönüllülerden oluşan 10 kişide ise 5.7 ± 2 nmol/l olarak tespit edilmiştir (9). Bu çalışmada immün aktivasyon nedeniyle yükselen neopterin seviyelerinin granülosit ve monosit oluşumunda inhibitör etkili olduğu bilinen (10) eritropoietin tedavisi ile anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir.

Neopterin'in normal üst sınırının 10 nmol/l olarak belirtilmesine rağmen, her çalışmacının kendi laboratuvarının üst sınırını kendisinin belirlemesi gerektiği de vurgulanmıştır (2). Bizim çalışmamızda sağlıklı gönüllülerde ortalama seviye, üst sınırın biraz üstünde bulunmuştur. Bu değer bizim yöremizdeki insanların normal neopterin düzeyi olarak kabul edildi. Hemodiyaliz öncesi tespit edilen neopterin değerleri yapılan çalışmalar içerisinde en düşük olan seviyelerdedir. Bu düşük değerlerin nedenini tam olarak bilememekle birlikte diyaliz süresi, kullanılan dializer tipi ya da hastaların sitokin salınım farklılıkları veya onların inhibitörleri arasındaki ilişki gibi faktörler etkili olabilir. Bu sonuçlara rağmen, neopterin hemodiyaliz hastalarında bir inflamasyon markını olarak kullanılması yanlış sonuçlara neden olabilir. Çünkü

hastalar arasında neopterin seviyelerinin normal olduğu hastalar da bulunmaktadır. Daha güvenilir olanı, neopterin diğer inflamasyon göstergeleri (CRP, prokalsitonin, fibrinojen gibi) ile birlikte değerlendirmektir (11).

Sonuç olarak, hemodiyaliz uygulanan kronik böbrek hastalarında neopterin seviyelerinin hemodiyalizden sonra azalmakla birlikte normal düzeylerin üstünde seyrettiği gözlenmiştir. Bu durum hemodiyaliz hastalarında devamlı bir kronik inflamasyon olduğunu göstermektedir. Bu hastalarda gözlenen immün aktivasyonun mekanizmasının tam olarak anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Hakim RM. Clinical implications of hemodialysis membrane biocompatibility. *Kidney Int* 1993; 44: 484-494
2. Hamerlinck FFV. Neopterin: a review. *Exp Dermatol* 1999;8:167-176.
3. Godal K, Uemasu J, Kawasaki H. Clinical significance of serum and urinary neopterin in patients with chronic renal disease. *Clin Nephrol* 1991 ;3: 141-146
4. Honkanen E, Grönhagen-Riska C, Teppo A, Maury CP. Acute phase proteins during hemodialysis: Correlations with serum interleukin-1p levels and different dialysis membranes. *Nephron* 1991; 57: 283-287
5. Airaghi L, Garofalo L, Cutuli GM, et al. Plasma concentrations of oc-melanocyte-stimulating hormone are elevated in patients on chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(8): 1212-1216
6. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G. Neopterin levels in long-term hemodialysis. *Clin Nephrol* 1988; 30: 220-224
7. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996;161(5):1304-1313.
8. Descamps- Lastcha B, Herbelin A, Nguyen AT, et al. Balance between IL-1 beta, TNF-alpha, and their specific inhibitors in chronic renal failure and maintenance dialysis. Relationships with activation markers of T cells, B cells, and monocytes. *J Immunol* 1995; 154(2):882-92
9. Buemi M, Allegra A, Aloisi C, Frisina N. Influence of therapy with recombinant erythropoietin on serum levels of neopterin in hemodialyzed patients. *Am J Nephrol* 1991;11:281-283
10. Christensen RD, Koenig JM, Viskochil DH. Downregulation of neutrophil production by erythropoietin in human erythropoiesis clones. *Blood* 1989;74:817-822
11. Level C, Chauveau P, Delmas Y, et al. Procalcitonin: a new marker of inflammation in hemodialysis patients? *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(5):980-987