



# PREDİYALİZ DÖNEMDEKİ VE HEMODİYALİZE ALINAN KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ OLGULARINDA PLAZMA TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR-ALFA (TNF- $\alpha$ ) DÜZEYLERİ

Erdoğan PARLAK<sup>1</sup>, Mehmet ÇOBANOĞLU<sup>1</sup>, Mustafa TEKÇE<sup>1</sup>, Haluk SARGIN<sup>1</sup>, Yener KOÇ<sup>1</sup>, Ali YAYLA<sup>1</sup>

Sitokinlerin biyolojik etkilerinin daha iyi anlaşılması, bu maddelerin diyaliz tedavisinin akut ve kronik komplikasyonlarının patogenezinde de rol oynadıklarını göstermiştir. Bu çalışmada, değişik evrelerde kronik böbrek yetmezliği (KBY) bulunan fakat henüz diyaliz tedavisi görmeyen ve diyaliz tedavisi altındaki hastalar ile sağlıklı kontrol grubunda plazma tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) düzeyleri araştırılmıştır. Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji Polikliniği'nde takip ve tedavi edilen henüz diyalize girmeyen kronik böbrek yetmezlikli 15 hasta (ortalama yaş: 38±14,4 yıl, E/K:10/5), hemodiyaliz tedavisi gören 15 KBY hastası (ortalama yaş: 41,2±8 yıl, E/K:10/5) ve sağlıklı kontrol grubu olarak 15 olgu (ortalama yaş: 29,6±2,6 yıl, E/K: 6/9) olmak üzere üç gruptan oluşan toplam 45 olgu çalışmaya alındı. Olguların çalışmaya alınma kriterleri: Bilateral böbrek boyutlarında küçülme olması, diabetes mellitus (DM), polikistik böbrek hastalığı, konjestif kalp yetmezliği bulguları, multipl myeloma, amiloidoz, obstrüktif nefropati gibi KBY yapabilen hastalıkların olmaması ve hemodiyaliz tedavisi gören hastalarda sentetik yapıda polisülfon diyalizörlerinin kullanılıyor olması idi. Tüm olgulardan 5'er ml kan düz tüplere alındı. Örnekler -85°C'de saklandı. Çalışma TNF- $\alpha$  enzim-linked immunosorbent assay kitleri kullanılarak (00927, Diaklon, France, 2001) ELISA yöntemi ile yapıldı. Sağlıklı grup ve prediyaliz hasta grubunun üre, kreatinin, 24 saatlik idrarda protein miktarı ve kreatinin klirensi gibi parametreleri karşılaştırıldığında; prediyaliz grubunda sonuçlar anlamlı derecede yüksekti (p<0,001). Hemodiyaliz tedavisi gören hastalar, haftada 1-3 kez diyalize girdikleri için, bu parametreleri değerlendirmeye alınmadı. TNF- $\alpha$  sonuçlarına bakıldığında; kontrol grubu ile hasta grupları arasında anlamlı fark olmasına karşın (sırasıyla p<0,01 ve p<0,001), prediyaliz ve diyaliz hasta grupları arasında anlamlı fark yoktu (p>0,05). Sonuç olarak; proinflatuar bir sitokin olan TNF- $\alpha$ 'nın kronik glomerulonefrite bağlı kronik böbrek yetmezliğinde de rolünün olduğu düşüncesindeyiz. Ancak uzun dönemde yapılacak prospektif çalışmalar TNF- $\alpha$  ve böbrek hastalıkları arasındaki ilişkiyi daha net olarak ortaya koyacaktır.

Anahtar kelimeler: Tümör nekrozis faktör, böbrek yetmezliği, kronik, hemodiyaliz

## PLASMA TUMOR NECROSIS FACTOR-ALFA (TNF- $\alpha$ ) LEVELS IN PREDIALYSIS AND HAEMODIALYSED CHRONIC RENAL FAILURE PATIENTS

The recently better recognized biological effects of cytokines have shown the roles they play in the pathogenesis of acute and chronic complications of dialysis therapy. In this study; we searched the plasma TNF- $\alpha$  levels in the various staged chronic renal failure patients who have not yet been started dialysis therapy and who are under ongoing dialysis and in a healthy control group. The study consisted of a total of 45 cases who are being followed in the nephrology department of Dr. Lütfi Kırdar Training and Research Hospital. The three groups were: Chronic renal failure patients who are not yet under dialysis (15 patients, mean age: 38±14,4 yrs, M/W: 10/5), chronic renal failure patients who are currently having dialysis (15 patients, mean age: 41,2±8 yrs, M/W: 10/5) and healthy control group (15 patients, mean age: 29,6±2,6 yrs, M/W: 6/9). Patient exclusion criteria were: Diabetes mellitus, congestive heart failure, polycystic renal disease, diseases like multiple myeloma, amyloidosis and obstructive nephropathy that can cause chronic renal failure. All the patients' kidneys were bilaterally diminished in size. For the dialysis patients, synthetic polysulphone dialysors were used. Five milliliters of blood were collected from all the cases and preserved at -85°C. TNF- $\alpha$  enzyme-linked immunosorbent assay kits (00927, Diaklon, France, 2001) were used with the ELISA testing. As we compared the parameters like urea, creatinine, clearance of creatinine, protein output in 24 hours urine; in the healthy and predialytic group, the predialytic group's results were statistically significantly risen (p<0,001). These parameters of the currently dialysed cases couldn't be evaluated because of their having dialysis 1-3 times per week. As we compared the TNF- $\alpha$  results; there was statistically significant difference between the control (p<0,01) and the patient (p<0,001) groups. But the difference between the predialytic and dialytic groups were not statistically significant (p>0,05). In conclusion; we decided that TNF- $\alpha$ , a proinflatuar cytokine, had a role in chronic renal failure depending on chronic glomerulonephritis, but the forthcoming prospective studies will explain the relationship better between TNF- $\alpha$  and renal diseases.

Keywords: Tumor necrosis factor, kidney failure, chronic, hemodialysis

Son 10 yıl içinde, özellikle moleküler biyolojideki büyük gelişmeler sitokinlerin, kronik böbrek yetmezliğinin patogenezindeki rollerinin daha iyi anlaşılmasına olanak vermiştir. Son dönemde çok sayıda çalışma, başta interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) olmak üzere sitokinlerin özellikle immün-aracılı glomerulonefrit ve interstisyel hasarda çok önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Glomerüller ve mezangial hücre kültürlerinin elde edilmesi, sitokinler üzerindeki ilgiyi daha da arttırmıştır. Ayrıca sitokinlerin biyolojik etkilerinin daha iyi anlaşılması, bu maddelerin, diyaliz tedavisinin akut ve kronik komplikasyonlarının patogenezinde de rol oynadıklarını göstermiştir. Üzerinde

birçok çalışmanın yapıldığı TNF- $\alpha$ 'nın, birçok hastalığın patogenezinde rol aldığı saptanmış olup, en fazla dikkati çeken sitokin olmuştur.

Bu çalışmada; sağlıklı kontrol grubu, değişik evrelerde kronik böbrek yetmezliği (KBY) bulunan fakat henüz diyaliz tedavisi görmeyen hastalar ve diyaliz tedavisi altındaki hastalarda TNF- $\alpha$  düzeylerini araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji Polikliniği'nde takip ve tedavi edilen henüz diyalize girmeyen kronik böbrek yetmezlikli 15 hasta, diyaliz tedavisi gören 15 KBY hastası ve sağlıklı kontrol grubu olarak 15 olgu olmak üzere üç gruptan oluşan

<sup>1</sup>Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Dahiliye Kliniği



toplam 45 olgu çalışmaya alındı.

Birinci grup; 9 kadın, 6 erkek ve yaş ortalaması  $29,6 \pm 2,6$  yıl olan, herhangi bir hastalığı ve ilaç kullanımı olmayan toplam 15 sağlıklı gönüllüden oluştu. İkinci grup; kronik böbrek yetmezliği tanısı almış ve henüz diyaliz tedavisi görmeyen 5 kadın, 10 erkek, yaş ortalaması  $38 \pm 14,4$  yıl olan toplam 15 olgudan oluştu. Üçüncü grup ise; KBY tanısı almış ve halen hemodiyalize giren 5 kadın, 10 erkek, yaş ortalaması  $41,2 \pm 8$  yıl olan toplam 15 olgudan oluşuyordu.

Olguların çalışmaya alınma kriterleri: Bilateral böbrek boyutlarında küçülme olması, diabetes mellitus, polikistik böbrek hastalığı, konjestif kalp yetmezliği bulguları, multiple myeloma, amiloidoz, obstrüktif nefropati gibi KBY yapabilen hastalıkların olmaması ve diyaliz tedavisi gören hastalarda, sentetik yapıda polisülfon diyalizörlerinin kullanılıyorsa idi.

Tüm olgulardan 5'er ml kan düz tüplere alındı. Örnekler  $-85^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Çalışma TNF- $\alpha$  enzim-linked immunosorbent assay kitleri kullanılarak (00927, Diaklon, France, 2001) ELISA yöntemi ile yapıldı.

Verilerin istatistiksel analizleri "SPSS for Windows (9,0)" paket programı ile PC bilgisayarda yapıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$ SD (standart sapma) olarak, istatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  alınarak değerlendirildi.

## BULGULAR

Sağlıklı grup ve prediyaliz hasta grubunun üre, kreatinin, 24 saatlik idrarda protein miktarı ve kreatinin klirensi gibi parametreleri karşılaştırıldığında; prediyaliz grubunda sonuçlar anlamlı derecede yüksekti (Tablo I).

**Tablo I.** Sağlıklı grup (Grup 1) ve prediyaliz hasta grubunun (Grup 2) üre, kreatinin, 24 saatlik idrarda protein miktarı ve kreatinin klirensi değerleri

	Grup 1	Grup 2	P
Üre (mg/dl)	$31,9 \pm 6,0$	$133,8 \pm 57,5$	$<0,001$
Kreatinin (mg/dl)	$0,99 \pm 0,17$	$4,83 \pm 3,23$	$<0,001$
Kreatinin klirensi (mL/h)	$102,6 \pm 6,6$	$18,4 \pm 10,4$	$<0,001$
İdrar protein (g/24h)	$0,09 \pm 0,02$	$2,33 \pm 0,96$	$<0,001$

Hemodiyaliz tedavisi gören hastalar, haftada 1-3 kez diyalize girdikleri için, bu parametreleri çalışmaya alınmadı.

TNF- $\alpha$  sonuçlarına bakıldığında; kontrol grubu ile hasta grupları arasında anlamlı fark vardı (Tablo II). Sırasıyla p değerleri  $p < 0,01$  ve  $p < 0,001$  olarak bulundu. Fakat prediyaliz ve diyaliz hasta grupları (Grup 3) arasında anlamlı fark yoktu ( $p > 0,05$ ).

**Tablo II.** Olguların TNF- $\alpha$  düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
TNF- $\alpha$	$44,4 \pm 14,2$	$123,3 \pm 98,9$	$107 \pm 30,8$

## TARTIŞMA

Son yıllarda birçok araştırmacı TNF- $\alpha$ 'nın böbrek yetmezliği ve diyaliz tedavileri ile olan ilişkisini araştırmıştır. Bunlardan ilk ve en kapsamlı olanlarından biri; 1994 yılında Nakanshi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadır. Renal fonksiyonları bozulmamış, kronik glomerülofriti bulunan, diyaliz tedavisi altında olmayan KBY'li, sürekli ambulatuar periton diyalizi tedavisi ve hemodiyaliz tedavisi gören toplam 105 hastada plazma TNF- $\alpha$  düzeylerini araştırmışlardır. Özellikle prediyaliz üremik hastalarda TNF- $\alpha$  düzeylerinin, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığını saptamışlardır ( $p < 0,0001$ ). Hemodiyaliz tedavisi gören hastalarda da, sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ( $p < 0,01$ )<sup>1</sup>. Bizim çalışmamızda da hasta grupları ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında, TNF- $\alpha$  plazma düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır (sırasıyla  $p < 0,01$   $p < 0,001$ ).

Karşıt olarak 2000 yılında Van Riemsdijk ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, sağlıklı kontrol grubu ile hemodiyaliz-periton diyalizi yapılan hastalar ve prediyaliz KBY'li hastaların plazma TNF- $\alpha$  düzeylerinde anlamlı bir artış saptayamamışlardır. Fakat solüblü TNF- $\alpha$  reseptörlerinin her üç grupta da, sağlıklı kontrol grubuna göre arttığını göstermişlerdir<sup>2</sup>.

Çalışmamızda kontrol grubu ile prediyaliz hasta grubu TNF- $\alpha$  düzeyleri arasındaki anlamlı fark, çoğunlukla literatür ile uyumluydu<sup>3,4,5,6,7</sup>.

Sağlıklı kontrol grubu ile diyaliz tedavisi gören hasta grupları arasında, plazma TNF- $\alpha$  düzeylerinde istatistiksel olarak tespit etmiş olduğumuz anlamlı artış literatürdeki birçok çalışmayla uyumlu<sup>3,5,7,8,9,10,11,12</sup> olmasına karşın birkaçı ile çelişiyordu. 1991 yılında Vaziri ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, hemodiyaliz tedavisi gören hastalar ile sağlıklı grubun TNF- $\alpha$  seviyeleri arasında anlamlı bir fark görememişlerdir<sup>13</sup>. Aynı şekilde Grootemen ve arkadaşları, yüksek akımlı diyaliz tedavisi gören hastalarda herhangi bir sitokin artışına dair kanıt bulamamışlardır<sup>14</sup>. Fakat sayıları gittikçe artan araştırmaların çoğu, hemodiyaliz sırasında kanın yabancı bir yüzeye (diyaliz membranı) teması sonucu spontan olarak aktive olan mono nükleer hücrelerden, başta TNF- $\alpha$  olmak üzere sitokin salınımındaki artışı ispatlamaktadır. Kullanılan diyalizata bulaşmış endotoksinler varlığında, bu artış çok daha belirgin



bir hale gelmekte ve kronik sitokin stimülasyonu, hemodiyaliz hastalarında gözlenen birçok akut ve kronik komplikasyonun oluşmasına ve daha da ilerlemesine neden olmaktadır<sup>6,9,12,15,16,17,18,19</sup>.

Hemodiyaliz tedavisi sırasında kullanılan değişik cinsteki diyaliz membranlarının, farklı sitokin seviyelerine yol açtığını bildiren araştırmalar da mevcuttur. En yaygın olarak kullanılan membranlar kuprafon yapısındaki membranlardır. Yapısındaki selülozik birikimlerin, bakteri duvarındaki polisakaritlere benzemesinden dolayı immün uyarıya daha fazla neden olduğu iddia edilmektedir<sup>10,20,21</sup>.

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar biyoyoumluluğu yüksek ve sentetik yapıdaki diyalizör kullanımının, dolaşımdaki proinflatuar sitokinlerin seviyelerinde azalma meydana getirdiği yönündedir<sup>22</sup>. Bu hipotez bizim çalışmamızın da ana dayanağını oluşturuyordu. Bu nedenle çalışmaya biyoyoumluluğu yüksek ve sentetik yapıda bir diyalizör olan polisülfon kullanılan hemodiyaliz hastaları alındı.

Literatürde farklı diyalizör cinsleri ile diyaliz yapılan hastaların TNF- $\alpha$  seviyeleri karşılaştırıldığında çelişkili sonuçlar saptanmıştır. Rostaing ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; TNF- $\alpha$  ekspresyonunun, polisülfon kullanılan hastalarla sağlıklı gönüllülerde, karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu, öte yandan kuprafon ve poliakronitrile kullanılan hastalarda ise %30 oranında arttığını göstermişlerdir<sup>23</sup>. Giovanni ve arkadaşları da sentetik yüksek akımlı membranlarla (polimetilmetakrilat ve poliamid) tedavi edilen diyaliz hastalarında, TNF- $\alpha$ 'nın da yer aldığı sitokin üretiminde azalma olduğunu yaptıkları çalışmada tespit etmişlerdir<sup>21</sup>. Bizim çalışmamızda ise; diyaliz hasta grubunda başka bir yüksek akımlı sentetik membran olan polisülfon kullanılmasına rağmen, diyaliz ve prediyaliz hasta grubu TNF- $\alpha$  seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0,551$ ). Farklı araştırmacılar yaptıkları benzer çalışmalarda, hemodiyaliz tedavisi sırasında TNF- $\alpha$  ve farklı sitokin salınımının, kullanılan diyalizörlerin özelliklerinden bağımsız olduğunu saptamışlar ve değişik diyalizör kullanımının TNF- $\alpha$  ve diğer sitokin seviyelerini düşürdüğüne dair bir kanıt bulamamışlardır<sup>3,7,24</sup>.

Araştırmalardaki bu büyük farklılıklar kullanılan değişik tekniklere ve farklı deneysel tasarımlara bağlı olabilir. Ayrıca son birkaç yılda sitokin-spesifik inhibitörlerinin (IL-1RA ve solüble TNF reseptörleri) keşfi, bu alandaki karışıklığı biraz daha arttıracak gibi gözükmektedir. Kullanılan antikorların, ELISA ve RIA kitlerinin kalitesi her zaman yüksek güvenilir düzeyde olmayabilir. Yeni moleküler biyolojik tekniklerin geliştirilmesiyle sitokin alanındaki çalışmalar daha netlik kazanacaktır.

Sonuç olarak; proinflatuar bir sitokin olan TNF- $\alpha$ 'nın kronik glomerulonefrite bağlı kronik böbrek yetmezliğinde de rolünün olduğu düşüncesindeyiz. Ancak uzun dönemde yapılacak prospektif çalışmalar TNF- $\alpha$  ve böbrek hastalıkları arasındaki ilişkiyi daha net olarak ortaya koyacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Nakanshi I, Moutobarrik A, Okada Net al. IL-8 in chronic renal failure and dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 1435-1442.
2. Van Riemsdijk, Overbeeke JC, Baan CC. m-RNA, plasma protein levels and soluble receptors in patients on chronic hemodialysis, on CAPD and with end-stage renal failure. *Clin Nephrol* 2000; 53(2): 115-23.
3. Descamps-Latscha B, Herbelin A, Nguyen AT. Balance between IL-1, TNF- and their specific inhibitors in chronic renal failure and maintenance dialysis. *J Immunol* 1995; 154: 882-892.
4. Cottone S, Vadala A, Vella MC. Comparison of TNF- between essential and renal hypertensives. *J HUM Hypertens* 1998; 12(6): 351-4.
5. Bai LO, Chen XM: Effects of methylprednisolone pulse therapy on TNF- levels. *Zhongun Nai Ke Zai* 1995; 33(12): 827-9.
6. Vanholder R, Ringoir S. Infectious morbidity and defects of phagocytic function in end stage renal disease: A review. *J Am Soc Nephrol* 1993; 3: 1541-1554.
7. Duan S, Luo J. The levels of TNF- and PLA2 activities in dialysis and non-dialysis uremic patients. *Hunan I Ko Hsueh Pao* 1997; 22(1): 78-80.
8. Henderson LW, Koch KM, Dinarello CA, Shaldon S. Hemodialysis hypotension: the IL-1 hypothesis. *Blood Purif* 1983; 1: 3-8.
9. Allen DA, Breen C, Yaqoop MM, M C Dougall IC. Inhibition of CFU-E formation in uremic patients with inflammatory diseases: Role of IFN- and TNF-. *J Invest Med* 1999; 47: 204-211.
10. Pertosa G, Tarantino EA. C5b-9 generation and cytokine production in hemodialysed patients. *Kidney Int* 1993; 43(41): 221-225.
11. Dinarello J. Cytokines: Agents provocateurs in hemodialysis. *Kidney Int* 1992; 41: 683-684.
12. Takahashi S, Kapas L, Fang J, Kreuger JM. Somnogenic relationship TNF and IL-1. *Am J Physiol* 1999; 276: 1132-1140.
13. Vaziri ND, Kaupke CJ. Cytokine levels during hemodialysis. *ASAIO Trans* 1991; 37(3): 389-91.
14. Grooteman MPC, Nube MJ, Daha MR. Cytokine profiles during hemodialysis. *Am Soc Nephrol J* 1997; 8: 1745-1754.
15. Orofino L, Marcen R, Querada C. Epidemiology of symptomatic hypotension in hemodialysis: Is cool dialysate beneficial for all patients? *Am J Nephrol* 1990; 10: 177-180.
16. Kreuger JM, Fang J, Taishi P, Chen Z. Sleep: A physiologic role for IL-1 and TNF-. *Ann NY Acad Sci* 1998; 856: 148-159.
17. Goichoechea M, Martin J, De Sequera P. Role of cytokines in the response to erythropoietin in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998; 54: 1337-1343.



18. Grey A, Mitnick MA, Masiukiewicz U. A role for IL-6 in PTH induced bone resorption in vivo. *Endocrinology* 1999; 140: 4683-4690.
19. Angeletti RH, D'Amico T, Ashok S, Risseuu J. The chemokini IL-8 regulates parathyroid secretion. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1232-1237.
20. Niwa T, Miyazaki T, Sato M. IL-8 and biocompatibility of dialysis membranes. *Am J Nephrol* 1998; 15(3): 181-185.
21. Giovanni P, Guiseppa G, Loreto G. Clinical relevance of cytokine production in hemodialysis. *Kidney Int* 2000; 58(76): 104-111.
22. Kimmel PL, Philips TM, Simens J. Immunological function and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998; 54: 236-244.
23. Rostaing L, Peres C, Tkaczuk J. Intracytoplasmic expression of IL-2, IL-6, IFN- and TNF- in monocytes and T lymphocytes in CHPD. *Am J Nephrol* 1998; 20(1): 18-26.
24. Pertosa G, Gesualdo L. Endotoxins modulate TNF- and IL-6 release by ureamic monocytes. *Kidney Int* 1995; 50: 328-333.