TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

RENAL TRANSPLANTASYON VE KRONİK HEMODİYALİZ HASTALARINDA DOLAŞIMDA THROMBOMODÜLİN, ENDOTELYAL PROTEİN C RESEPTÖR VE TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFA DÜZEYLERİ

Dr. Semiha URVAY

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİMDALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Kenan KEVEN

ANKARA

2008

TEŞEKKÜR

Ankara Üniversitesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı'ndaki eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen başta İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Necati ÖRMECİ olmak üzere tüm İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı hocalarına, tez çalışmamın yürüyebilmesi için her türlü kolaylığı gösteren Nefroloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Oktay KARATAN'a ve tüm Nefroloji Bilim Dalı öğretim üyelerine, tez çalışmasının oluşmasında ve yürütülmesinde her türlü desteği gösteren ve deneyimlerini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Kenan KEVEN'e, tezimle ilgili tüm yardımları için Doç. Dr. Şule ŞENGÜL'e, Çocuk Hastalıkları Moleküler Patoloji ve Genetik Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Nejat AKAR'a, Çocuk Hastalıkları Moleküler Patoloji ve Genetik Bilim Dalı Laboratuarı çalışanlarından Yonca EĞİN'e, hastaların tetkiklerinin düzenli yürümesine olan katkılarından dolayı Nefroloji Bilim Dalı Laboratuvarı çalışanlarından Çiğdem SÜMER, Sinem KOÇAK'a, Hemodiyaliz Ünitesi hemşirelerine, çalışmaya katılmayı kabul eden değerli hastalarımıza teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca eğitim hayatım boyunca hiçbir fedakarlıktan kaçınmamış aileme, ihtisas sürecimin çok daha kolay ve zevkli geçmesini sağlayan ve çalışma direncimi canlı tutan tüm asistan arkadaşlarıma; iyi günümde kötü günümde hep yanımda olan sevgili eşime teşekkür ederim.

Dr.Semiha URVAY

İÇİNDEKİLER

	sayfa
Önsöz ve Teşekkür	ii
İçindekiler	iii
Kısaltmalar Dizini	iv
Şekiller Dizini	v
Tablolar Dizini	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Son Dönem Böbrek Yetmezliği ve Kardiovasküler Sistem	3
2.2. İnflamasyon ve Oksidatif Stres	4
2.3. Thrombomodulin-Protein C-EPCR Sistemi	5
3. Hastalar ve Yöntem	11
3.1. Çalışma Grubunun Belirlenmesi	11
3.2. sEPCR Ölçümü	13
3.3. sTM Ölçümü	13
3.4. TNF-Alfa Ölçümü	13
3.5. CRP Ölçümü	13
3.6. İstatiksel Yöntemler	14
3.7. Etik Kurul Onayı	14
4- BULGULAR	15
5- TARTIŞMA	19
6- ÖZET	24
7- SUMMARY	26
8- KAYNAKLAR	28

KISALTMALAR DİZİNİ

APC	: Aktif Protein C
CRP	: C Reaktif Protein
EPCR	: Endotelyal Protein C Reseptörü
FMD	: Flow Mediated Dilatasyon
HD	: Hemodializ
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
IL-1	: İnterlökin 1
IL-6	: İnterlökin 6
KC	: Karaciğer
KVH	: Kardiovasküler Hastalık
KBY	: Kronik Böbrek Yetmezliği
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
RTx	: Renal Transplantasyon
SLE	: Sistemik Lupus Eritamatosus
sEPCR	: Soluble Endotelyal Protein C Reseptör
sTM	: Soluble Thrombomodulin
SDBY	: Son Dönem Böbrek Yetmezliği
TM	: Thrombomodulin
TNF-alfa	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
TG	: Trigliserid

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil-2.1. Kan koagülasyon ve protein C antikoagülan sisteminin şematik sunumu 7

Şekil 2.2. Koagülasyonu düzenlemede protein C yolağının rolü 8

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 4.1. Çalışma hastalarına ait demografik ve klinik özellikler. 15

Tablo 4.2. Hemodiyaliz hastalarında bazal ve 3. ayda klinik ve laboratuar parametrelerinde görülen değişiklikler. 16

Tablo 4.3. Transplantayon hastalarında bazal ve 3. ayda klinik ve labaratuvar bulgularda görülen değişiklikler. 17

Tablo 4.4. Hemodiyaliz ve renal transplantasyon hastalarında bazal ve 3. ayda sTM, sEPCR ve TNF-A düzeyleri. 18

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) hasta grubunda en sık sağlık problemleri ve ölüm nedeni kardiyovasküler hastalıklardır. Aynı yaş grubunda renal hastalığı olmayan genel toplumla karşılaştırıldığında, diyaliz hastalarında kardiyovasküler nedenli ölümler 10-20 kat daha fazladır (1). SDBY hastaları geleneksel risk faktörlerine ek olarak kronik volüm yüklenmesi, üremik toksinlerin varlığı, anemi, inflamasyon, hiperparatiroidi, kalsiyum-fosfor denge bozukluğu ve malnütrisyon gibi geleneksel olmayan risk faktörleri olarak tanımlanan birçok risk faktörüne sahiptirler.

SDBY'li hastalarda renal transplantasyon en seçkin tedavi seçeneği olarak karşımıza çıkmaktadır. Başarılı bir böbrek transplantasyonu sonrası hastaların yaşam kalitesi ve yaşam sürelerinin diyaliz hastaları ile karşılaştırıldığında uzadığı gösterilmiştir. Buna rağmen yaş-eşleşmiş sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, transplantasyondan sonraki ilk yıl içinde 14, takip eden yıllarda ise 4 kat daha yüksek ölüm oranları görülmektedir. Böbrek transplantasyonu sonrası sağlık sorunlarının ve ölümün en önemli nedeni kardiyovasküler hastalıklardır (2). Üremi ile ilişkili kardiyovasküler risk faktörleri transplantasyondan sonra ortadan kalkmaktadır. Ancak transplantasyon sonrası uygulanan immunsüpresif tedaviler, diabetes mellitus, hipertansiyon ve hiperlipidemi gibi post-transplant metabolik komplikasyonlar bu risk faktörlerinin yerini alarak kardiyovasküler hastalık riskini arttırıyor görünmektedir.

Son çalışmalarda; SDBY'li hastalarda ve renal transplant alıcılarında aterosklerozun en erken aşamalarından biri olan endotel fonksiyon bozukluğu değerlendirilmesi üzerine olan ilgi artmaktadır (3-8). Endotel fonksiyon bozukluğu; flow-mediated dilatasyon (FMD), C reaktif protein (CRP), fetuin-A, homosistein, çeşitli sitokinler, dolaşan endotel hücreleri ve progenitör hücreler, plasma soluble Von Willebrand faktör antijen ve adezyon molekülleri gibi göstergeler ile değerlendirilmekte ve klinik araştırmalarda yaygın olarak ele alınmaktadır (3-10).

Son olarak tanımlanan iki yeni endotel disfonksiyon belirteci Thrombomodulin (TM) ve endotelyal protein C reseptör (EPCR)'dür. Thrombomodulin; endotel hücre yüzeyinde bulunan ve trombin aracılıklı protein C aktivasyonu için transmembran ko-faktörü olarak dikkat çeken bir moleküldür. EPCR ise pıhtılaşma sürecinde protein C'nin aktivasyonu için önemli bir rol oynamaktadır. Her iki belirtecin de soluble formları (sTM ve sEPCR) vaskülit, sistemik lupus eritematosus (SLE) ve sepsis gibi endotelyal hasarla seyreden durumlarda yükselmektedir (11-13).

Yapılan çalışmalarda renal transplantasyon (RTx) sonrası endotel disfonksiyonunun düzeldiği belirtilmiş olmakla birlikte, endotel hasarının önemli göstergeleri olan ve özellikle pıhtılaşma süreci ile ilişkili olarak görülen sTM ve sEPRC'nin nakil sonrasında nasıl bir değişiklik gösterdiğine dair bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma ile RTx alıcılarında, endotel fonksiyonlarının nakil öncesi ve sonrası sTM ve sEPCR düzeylerinin ölçümü ile değerlendirilmesi ve bunun hemodializ hasta grubu ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Son Dönem Böbrek Yetmezliği ve Kardiyovasküler Sistem

Son yıllarda diyaliz teknolojisinde görülen belirgin gelişmelere rağmen diyaliz tedavisi uygulanmakta olan SDBY'li hastalarda ölüm oranları kanser hastaları ile kıyaslanabilecek düzeyde yüksektir. SDBY'li hastalarda ölümün en sık sebebi kardiyovasküler hastalıklardır. HT, DM, dislipidemi, sol ventrikül hipertrofisi ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalık risk faktörleri diyaliz hastalarında sık görülmekle birlikte bu gruptaki yüksek ölüm oranını açıklamakta yetersiz kalmaktadır (14). Son epidemiyolojik çalışmalar, böbrek fonksiyonlarındaki orta dereceli azalmalarda dahi kardiyovasküler riskin arttığını göstermektedir. Böbrek fonksiyonunun kendisinin, bu hastalarda kardiyovasküler sonuçlar ve ölümden sorumlu bağımsız bir faktör olduğu düşünülmektedir (15). Böbrek yetmezliği son döneme doğru ilerledikçe, kardiyovasküler hastalık riski daha da artmaktadır.

Transplantasyon alıcılarında ise SDBY'li hastalara göre ölüm oranları anlamlı düşüş göstermekle birlikte; benzer yaştaki sağlıklı toplumla karşılaştırıldığında ölüm riski yüksektir ve ölümlerin %40-45'inin nedeni kardiyovasküler hastalıklardır.

Renal transplantasyon hastalarında; yaş, diyabetes mellitus, erkek cinsiyet, hiperlipidemi, sigara kullanımı ve akut rejeksiyon atakları hızlanmış ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık (KVH) için bağımsız risk faktörleri olarak tanımlanmıştır. Transplantasyon sonrası hızlanmış ateroskleroz ve artmış kardiyovasküler risk faktörleri olarak anlamlı bulunan diğer değişkenler hipertansiyon, posttransplant diyabetes melitus, greft fonksiyon bozukluğu, hiperhomosisteinemi ve sitomegalovirus (CMV) enfeksiyonudur.

Aterosklerozun temel patofizyolojik mekanizmasında rol oynayan en önemli faktör endotel hasarıdır. Günümüzde endotel disfonksiyonunu gösteren çok çeşitli testler mevcuttur. Bunlar FMD, fetuin-A, adezyon molekülleri, asetil kolin ile stimülasyon sonrası laser Doppler ön kol vasküler akım ölçümü olarak

sıralanabilir. Son dönemde ise endotel disfonksiyonu göstergesi olarak bu hücrelerden hasara cevap olarak salınan sTM ve sEPCR düzeyleri üzerinde durulmaktadır.

2.2.İnflamasyon ve Oksidatif Stres

Kronik böbrek yetmezliğinde artmış inflamasyon ile sitokinlerin ve akut faz proteinlerinin artışı, ileri glikasyon son ürünlerinin birikimi, diyaliz işleminde diyaliz membranlarına bağlı olarak gelişen inflamasyon SDBY'li hastalarda artmış oksidatif strese neden olmaktadır (16). Hemodiyaliz (HD) hastalarında inflamatuvar süreç daha belirgin olup bu hastaların yaklaşık %35-65'i inflamasyonla karşı karşıya iken pre-diyaliz hastalarında bu oran daha düşüktür. Son dönemde yapılan çalışmalar HD hastalarında proinflamatuvar sitokin seviyelerinin sağlıklı kontrolden 8-10 kat fazla olduğunu göstermektedir. Artmış sitokin salınımı diyaliz amiloidozu, malnutrisyon ve daha önce de bahsedildiği gibi aterogenezden sorumludur. Özellikle interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa); hemodiyaliz bağımlı bozukluklardan sorumlu tutulan sitokinler olup (17). TNF-alfa en çok çalışılan sitokinlerden biridir. CRP ve TNF-alfanın SDBY'li hastalarda sağlıklı toplumdan belirgin yüksek olduğu; HD hastalarında da prediyaliz kronik böbrek yetmezliği (KBY) hastalarından daha yüksek olduğu da çalışmalarla elde edilen sonuçlardandır. CRP'nin kompleman aktivasyonu, parçalanmış düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) partiküllerinin agregasyonu ve monositlerde doku faktörü ekspresyonunun uyarılması ile doğrudan vasküler hasara yol açabileceği düşünülmektedir (18). Genel olarak inflamasyonun bir göstergesi olan CRP düzeyinin, diyaliz hastalarında kardiyovasküler ölüm ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (19,20).

2.3. Thrombomodulin-Protein C-EPCR Sistemi

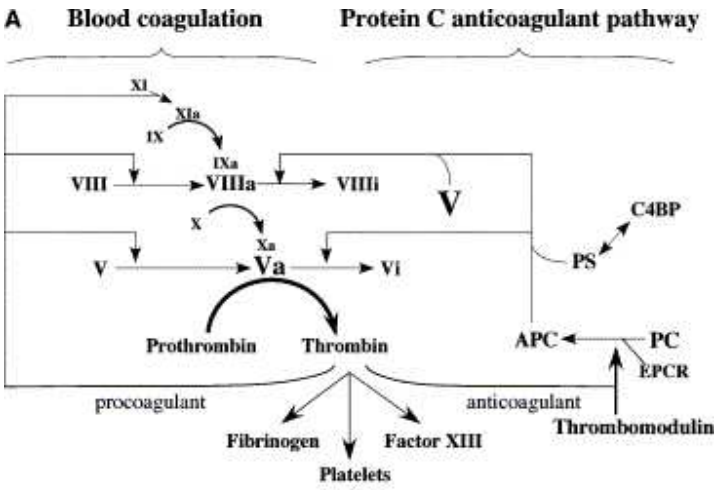
Vücudun kanamaya karşı oluşturduğu savunma mekanizmaları, hasarlı damar duvarında vazokonstriksiyon, trombosit adezyon ve agregasyonu ve fibrin oluşumudur. Fibrin oluşumu, pıhtılaşma faktörleri adı verilen ve birbirlerinin aktivasyonu ya da inhibisyonunu kontrol eden çok sayıda proteinin görev aldığı "pıhtılaşma süreci" sonunda gerçekleşir. Bu süreçte trombin oluşumu en önemli basamaktır. Pıhtılaşma sürecinde bol miktarda thrombin üretilir. Trombin, fibrinojeni fibrine çevirir; FV ve FVIII'i aktive ederek pozitif geribildirim yoluyla trombin üretimini arttırır. Trombin ayrıca FXIII'ü aktive ederek oluşan fibrin molekülünün dayanıklılığını artırır. Pıhtılaşma sürecindeki bu önemli rollerine tezat olarak, Trombomodulin ile bağlanan trombin Protein C'yi aktive ederek antitrombotik etkiler de gösterir. Pıhtılaşmanın başlaması ile birlikte doğal antikoagülanlar adı verilen çeşitli inhibitör moleküller aktive edilir ve pıhtılaşmanın kontrolsüz bir şekilde devam etmesi önlenir. Bu inhibitörler Protein C, Protein S, Antithrombin III ve Doku Faktörü Yolu İnhibitörü (TFPI)'dür.

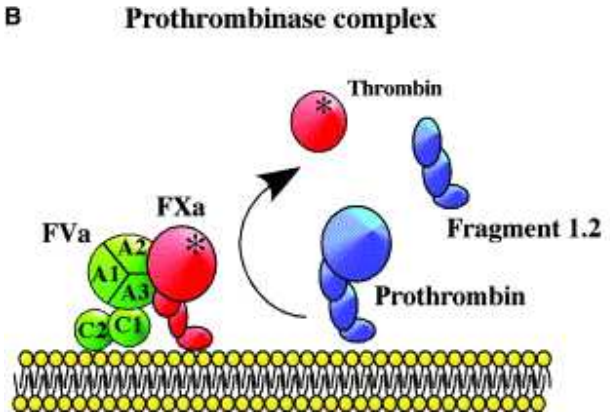
Antithrombin III; Thrombin ve FXa, FIXa, FXIa, FXIIa'yı inhibe ederek pıhtılaşma sürecinin çeşitli aşamalarında pıhtılaşmayı önleyici etki gösterir. Doku Faktörü Yolu İnhibitörü (TFPI), FXa varlığında doku faktörü(TF)/FVIIa inhibisyonu yapar. Protein S; Protein C'nin FVa ve FVIIIa'yı inaktive ettiği reaksiyonların kofaktörüdür. Protein C , karaciğer (KC) tarafından sentez edilen ve dolaşımda inaktif halde bulunan vitamin K bağımlı bir glikoproteindir (22). Protein C, pıhtılaşmayı önleyici etkisini asıl olarak FVa ve FVIIIa'yı inaktive ederek gösterir, fibrinolizisi hızlandırıcı etkisi de vardır. Protein C'nin bu etkileri gösterebilmesi için de önce tRrombin tarafından aktive edilerek Aktive Protein C'ye dönüşmesi gerekmektedir. Protein C'nin efektif aktivasyonu için trombin molekülü kofaktör olarak, bir transmembran glikoproteini olan Thrombomoduline ihtiyaç duyar ve TM ile bağlanma protein C aktivasyonunu 1000 kat arttırır (23). TM ile bağlandığı zaman trombin molekülünün fibrinojeni fibrine çevirme, faktör V'i aktifleştirme ve trombosit aktivasyonunu arttırma gücü azalır. Protein C'nin

trombin-TM kompleksi tarafından aktivasyonu , Protein C'nin in vivo EPCR'üne bağlanması ile yaklaşık 20 kat daha da artar (21,24,25). (Şekil 1A-B; Şekil 2)

Son zamanlarda Protein C'nin sadece hemostaz üzerine etkilerinin olmadığı, aynı zamanda anti-inflamatuar ve anti-apoptotik etkilerinin de olduğu gösterilmiştir (26,27).

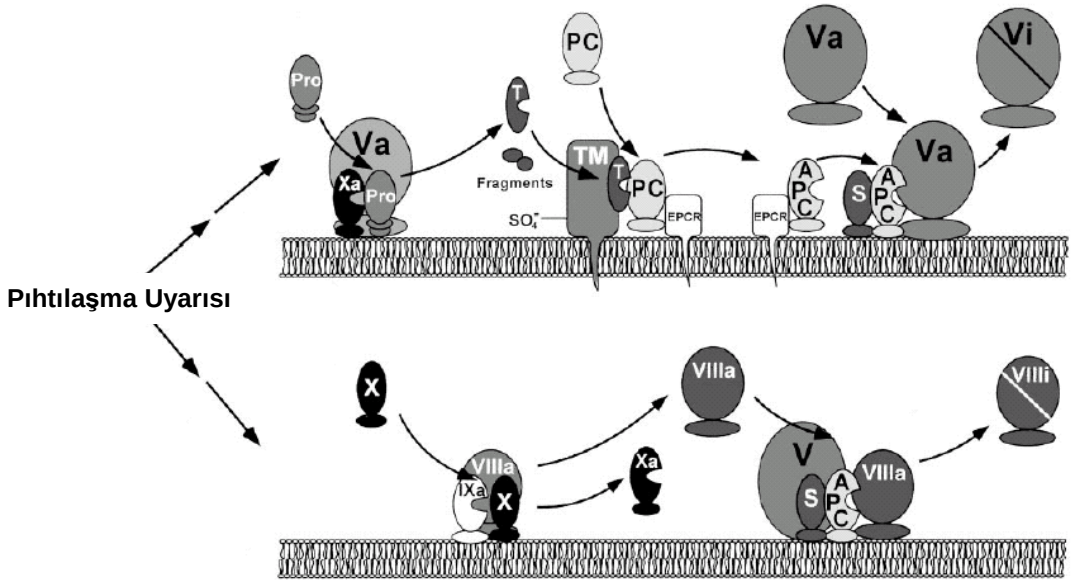
Thrombomodulin; endotel hücre yüzeyinde bulunan, trombin aracılığıyla protein C aktivasyonu için transmembran ko-faktörü olarak görev yapan bir moleküldür. Aynı zamanda; trombin inhibitörleri olan antithrombin ve protein C TM ile bağlanan trombini daha etkili inhibe ederler (21,29). TM'inin; trombini protein C aktivatörü haline dönüştürmesi, trombini güçlü bir şekilde engellemesi bu molekülü koagülasyon sisteminin önemli bir düzenleyicisi yapar. Aktive protein C (APC), EPCR'ünden ayrıldığı zaman antikoagülan özelliklerini gösterirken, APC'nin geçici olarak EPCR'ü ile birleşmesi, APC'nin anti-apoptotik etkilerini sağlayan intraselüler sinyal yolağını başlatır (28,30).





Şekil-2.1.Kan koagülasyon ve protein C antikoagülan sisteminin şematik prezentasyonu. A Bölümünde koagülasyon reaksiyonları ve Protein C yolağının antikoagülan etkileri gösterilmektedir. FVIIa-TF arasındaki ilişki ve FIX ve FX un , FVII a-TF aracılıklı aktivasyonları şemada gösterilmemiştir. B Bölümünde protombinaz kompleksinin şematik gösterimi ve negatif yüklü fosfolipid membran yüzeylerinde multimoleküler enzim komplekslerinin oluşum prensipleri gösterilmektedir. Enzim FXa ve kofaktör FVa negatif yüklü fosfolipid membran yüzeylerinde protrombinaz kompleksini oluşturmak için birleşirler , oluşan kompleks protrombini trombine dönüştürür.

Dahlbäck B, Villoutreix BO. FEBS Lett. The anticoagulant protein C pathway. 2005 Temmuz 13; 579(15): 3310-6.(54)



Şekil 2.2. Koagülasyonu düzenlemede protein C yolağının rolü. Pıhtılaşma uyarısı sonrası faktör VIIIa-XIa ve faktör Va-Xa komplexi ve takiben trombin oluşur. Trombin oluşumu, fibrin oluşumunu sağlayabilir, trombosit ve endotel hücre aktivasyonu yapabilir veya thrombomoduline bağlanarak protein C'yi aktive eder. Protein C aktivasyonu EPCR tarafından aktive edilir. APC, EPCR'den ayrıldıktan sonra protein S'ye bağlanır ve bu kompleks faktör Va ve VIIIa'yı inaktive eder.

C.T. Esmon, The protein C pathway, Chest 124 (2003), pp. 26S–32S.(21)

Soluble Thrombomodulin

Thrombomodulin (TM) ekspresyonu, hücre membranına sınırlı olmayıp, TM molekülünün enzimatik yıkımı sonucu oluşan soluble formları plazmada tespit edilir (31,32). Endotel hücreleri hasarlandığı zaman dolaşıma sTM salınır, böylece sTM endotel hücrelerinin hasar göstergesi olarak kullanılabilir (33,34). Normal koşullarda plazma sTM düzeyleri 3-50 ng/ml arasında değişir (35). İnfeksiyon, sepsis, inflamasyon gibi endotel hasarıyla seyreden hastalıklarda sTM seviyeleri artar. Nötrofil kaynaklı enzimler tarafından intakt molekülün parçalanması bu artıştan sorumlu tutulmaktadır. sTM molekülünün thrombin aktivitable inhibitör faktörü (TAFI) aktive ederek fibrinolitik etki gösterdiği bilinmekle birlikte (36) antikoagülan etkisi olup olmadığı net değildir. (TAFI: KC'de sentezlenen yeni tanımlanmış bir glikoproteindir. Kanda inaktif halde bulunur, pıhtılaşma sürecinde trombin tarafından aktive edilir. Aktif formu fibrinolizi inhibe eder) Yapılan çalışmalarda plazmada tespit edilen sTM fragmanlarının da, TM gibi trombine bağlanarak antikoagülan etkisi olduğu ve bu etkinin intakt TM molekülünün yaklaşık %30-50'si kadar olduğu bulunmuştur. (37,38).

Soluble EPCR

Bazı çalışmalarda plazmada EPCR'ünün olasılıkla transmembran domaini ve sitoplazmik kuyruğunun ayrışması ile oluşan soluble formu (sEPCR) tespit edilmiştir (39). Bu formun, metalloproteaz aktivitesiyle membrana bağlı EPCR'nin parçalanması sonrası oluştuğu ve trombin ve bazı inflamatuar mediatörlerle uyarıldığı düşünülmektedir (40). Bazı genetik mutasyonlarda da membrana bağlı formun ayrışarak, sEPCR oluşumunun arttığı tespit edilmiştir. (41) sEPCR'ü; protein C ve aktif protein C'ye benzer afinite ile bağlanmaktadır.

Ancak bu bağlanma sonucu, APC'nin antikoagülan aktivitesi inhibe olmaktadır. Bu inhibisyon, APC'nin fosfolipid membranlara bağlanmasının blokajı ve FVa'yı inaktive etme yeteneğinin kaybolması sonucudur (42). Membran bağlı EPCR'ünün tersine, soluble EPCR'ü, PC'nin trombin-TM kompleksi tarafından aktivasyonunu arttırmaz. Artmış sEPCR düzeyleri APC antikoagülan aktivitesini aktivitesini engelleyerek protrombotik olabilir. Çalışmalar sEPCR düzeylerinin sağlıklı kişilerde geniş bir aralığa yayıldığını gösterir. Fransa ve İtalyadan yapılan çalışmalarda sağlıklı kişilerin %80'ininde sEPCR düzeylerinin 75-178 ng/ml arasında iken %20'sinde 200 ile 700 ng/ml arasında olduğu tespit edilmiştir (43). Türkiyeden Ulu ve arkadaşları ise 59 sağlıklı kişide sEPCR düzeylerini ortalama 82.39±47.3 ng/ml olarak tespit etmişlerdir (44).

3. HASTALAR VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubunun Belirlenmesi

Çalışmaya, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Blilim Dalı Transplantasyon Ünitesinde Kasım 2006 ile Ağustos 2007 arasında canlı/kadavradan böbrek transplantasyonu yapılan 27 hasta katıldı.. Diyaliz programında olan ve bekleme listesinde yer alan 15 hasta kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Böbrek transplantasyonu yapılan hasta grubunda transplantasyon öncesi ve transplantasyondan 3 ay sonra (renal fonksiyonları değişmeyen ve çalışır grefte sahip olan (kreatinin<2 mg/dl)hastalar) sTM, sEPCR, TNF-alfa ve CRP düzeyleri ölçüldü. Çalışmaya dahil olan transplantasyon hastalarına immun baskılayıcı tedavi protokolü olarak; kalsinörin inhibitörü (siklosporin A ya da tacrolimus), azatiopirin veya mikofenolat mofetil ve steroid içeren klasik üçlü protokol uygulandı. 17 hastaya canlı donör ve 10 hastaya kadavradan nakil yapıldı. HD grubundaki hastalar haftada üç kez semisentetik membranlarla (diyaliz membran yüzey alanı: 1.4-1.7 m^2) standart bikarbonat hemodiyalizine (sodyum: 138 mmol/L, bikarbonat: 35 mmo/L, potasyum: 1.5 mmol/L, kalsiyum: 1.25 mmol/L, ve magnezyum: 0.75 mmol/L) girmekteydi. HD hastaları 3 ay boyunca takip edildi ve kan örnekleri bazalde ve 3. ay sonunda alındı. Ortalama yaşı 35±7 olan 27 sağlıklı kişi (16 kadın / 11 erkek) sEPCR düzeyleri ölçülmek üzere ayrıca çalışmaya dahil edildi.

Transplantasyon ve HD kontrol gruplarında son dönem böbrek yetmezliği nedenleri sırasıyla 10 ve 6 hastada kronik glomerulonefrit, 6 ve 4 hastada kronik tubulointerstisyel nefrit, 4 ve 1 hastada hipertansiyon, 4 ve 3 hastada bilinmeyen nedenler, 2 ve 1 hastada Ailevi Akdeniz Ateşi ve son olarak 2 ve 0 hastada diabetes mellitus idi.

Tüm transplant hastaları ve hemodiyaliz hastalarının biyokimyasal parametreleri dosyalarından alınarak işlendi. Araştırmaya katılan tüm hastalar bilgilendirilerek onay formları alındı. Araştırma için Ankara Üniversitesi Etik Kurul onayı alındı (No:93-2437).

Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

Böbrek nakli hastaları
- Çalışmaya katılmak istemeyen hastalar
- Stabil renal fonksiyona sahip olmayan hastalar
- Plazma örneği alınma anında akut rejeksiyon, aktif infeksiyon varlığı

HD kontrol grubu için
- Çalışmaya katılmak istemeyen hastalar
- Bekleme listesinde olmayan hastalar
- Çalışmaya dahil edilme esnasında akut infeksiyon varlığı

Değerlendirme ve izlem sırasında kullanılan parametreler:
-Yaş ve cinsiyet
-Vücut kitle indexi
-Sitolik ve diyastolik kan basıncı
-Diyaliz süresi ve tipi
-Nakil sonrası kullanılan kalsinörin inhibitörünün tipi
-Lipid profili
-Nakil öncesi ve 3. ayda biyokimyasal parametreler (kan üre nitrojeni, kreatinin, MDRD formülü ile hesaplanmış kreatinin klirensi)
-Nakil öncesi ve 3. ayda Hb düzeyi.

3.2. sEPCR Ölçümü

SEPCR seviyeleri plazmada sEPCR Asserachrom enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kitleri kullanılarak (from Diagnostica Stago, Asnieres-Fransa) üretici talimatlarına göre ölçüldü. Açlık kan örnekleri sabah 8.00 ile 09.00 arası alınarak gecikme olmadan laboratuvara gönderildi. Örnekler 44 Cº'de ayrıldı ve analize kadar -85 Cº'de saklandı. Örnekler iki kez çalışıldı. RTx grubunda plazma sEPCR seviyeleri transplantasyon öncesi ve transplantasyondan 3 ay sonra değerlendirildi. Hemodiyaliz grubunda hastalar 0. ve 3. ayda değerlendirildi.

3.3. sTM Ölçümü

sTM düzeyleri sEPCR'de olduğu gibi ELISA tekniği kullanılarak talimatlara uygun şekilde ölçüldü. (Diagnostica Stago, Fransa)

3.4. TNF-Alfa Ölçümü

TNF-Alfa seviyeleri Automated Multiplex Serum Cytokine Assays (Luminex Corporation, USA) kullanılarak ölçüldü.

3.5. CRP Ölçümü

CRP ölçümü serumda kantitatif olarak immunonefrolometrik yöntemle ölçüldü. (CardioPhase high sensitive CRP, Dade Behring)

3.6. İstatiksel Yöntemler

İstatiksel değerlendirmeler; Statiscal Package for Social Sciences for Windows Version 11.5 (SPSS Inc; Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama standart sapma olarak gösterildi. Değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon analizi ile; 0. ve 3. ay kontrolleri arasında değişkenlerdeki farklılıkların anlamlılığı paired sample t test kullanılarak değerlendirildi. Grup ortalamalarının karşılaştırılmasında one way Anova testi uygulandı ve Post hoc test olarak Scheffe testi seçildi. Her iki grubun (Transplantasyon ve hemodiyaliz) 0. ve 3. ayda saptanan değişimleri ise (delta,Δ) student t testi ile karşılaştırıldı. $P< 0,05$ değeri istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.7. Etik Kurul Onayı

Çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'na sunulmuş olup; 93-2437 numarası ile onay almıştır.

4.BULGULAR

Çalışmaya alınan 42 hastaya ait demografik ve laboratuar özelikleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışma hastalarına ait demografik ve klinik özellikler.

	Tx	HD	p
Hasta sayısı	27	15	
Yaş	33±8	37±6	NS
Diyaliz süre (ay)	40±35	36±34	NS
Cins (E/K)	18/9	9/6	NS
SKB (mmHg)	124±11	125±28	NS
DKB(mmHg)	77±7	75±13	NS
LDL (mg/dl)	98±21	86±16	NS
HDL (mg/dl)	37±6	34±10	NS
Trig (mg/dl)	143±47	150±60	NS
BMI (kg/m2)	22±3	22±2	NS
Kreatinin (mg/dl)	9.7±3.6	10.0±3.0	NS
CRP (mg/dl)	3.1±2.0	2.1±1.3	NS
Hb (g/dl)	11.4±1.4	11.8±1.0	NS

SKB: sistolik kan basıncı, DKB: diastolik kan basıncı, TX: transplantasyon, HD: hemodiyaliz, BMI: vücut kitle indeksi, Hb: hemoglobin

Çalışmanın başlangıcında 2 grup (böbrek transplantasyonu ve hemodiyaliz grubu) arasında yaş, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı, lipid parametreleri, vücut kitle indeksleri, kreatinin ve hemoglobin düzeyleri ve CRP düzeyleri arasında fark saptanmadı. Tüm hastaların demografik ve laboratuar değerlendirmeleri başlangıçta benzerdi.

Hemodiyaliz grubunda 3. ayda yapılan değerlendirmelerde kan basınçları, lipid profili, hb ve CRP düzeyleri arasında farklılık yoktu. (Tablo 4. 2)

Tablo 4.2. Hemodiyaliz hastalarında bazal ve 3. ayda klinik ve laboratuar parametrelerinde görülen değişiklikler.

	Başlangıç	3. Ay	P
SKB (mmHg)	125±28	131±25	NS
DKB(mmHg)	75±13	78±13	NS
LDL (mg/dl)	86±16	93±28	NS
HDL (mg/dl)	34±10	33±10	NS
Trig (mg/dl)	150±60	172±99	NS
CRP (mg/dl)	2.1±1.3	4.3±5.4	NS
Hb (g/dl)	11.8±1.0	11.5±1.5	NS

Böbrek transplantasyon grubunda, 3.ay sonunda yapılan değerlendirmede beklendiği gibi kreatinin değerlerinde düşme ve hemoglobin değerlerinde yükselme saptandı. Hastaların sistolik kan basınçlarında anlamlı yükselme olmazken diastolik kan basınçları belirgin yükseldi. LDL-kolesterol düzeyleri 99+/-21'den 125+/- 36'ya yükseldi (p=0,001); beraberinde yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve trigliserid (TG) düzeylerinde de anlamlı yükselme oldu. Nakil hastalarında başlangıçta CRP düzeyi 3,2 iken tranplantasyondan 3 ay sonra 2.4'e geriledi, ancak bu düşüş istatiksel olarak anlamlı değildi. (Tablo 4.3)

Tablo 4.3. Transplantayon hastalarında bazal ve 3. ayda klinik ve Labaratuvar bulgularda görülen değişiklikler.

	Başlangıç	3. ay	P
SKB (mmHg)	124±11	133±15	0.022
DKB(mmHg)	77±7	86±9	<0.0001
LDL (mg/dl)	99±21	125±36	0.001
HDL (mg/dl)	37±6	53±8	<0.0001
Trig (mg/dl)	143±47	196±89	0.006
Kreatinin (mg/dl)	9.7±3.6	1.2±0.2	<0.0001
CRP (mg/dl)	3.2±2.0	2.4±2.2	NS
Hb (g/dl)	11.4±1.4	13.2±1.9	<0.0001

Renal Transplantasyon hastaları ve hemodiyaliz hastaları 0 ve 3. ayda sTM, sEPCR ve TNF-alfa açısından karşılaştırıldığı zaman başlangıçta her 2 grupta da üç parametrenin yüksek olduğu ve gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı görüldü. (Tablo 4) 3 ay sonra; transplantasyon kolunda sTM, sEPCR ve TNF-alfa düzeylerinde anlamlı düşüşler gözlenirken, hemodiyaliz hastalarında düzeylerin değişmediği izlendi. (Tablo 4.4)

Tablo 4.4. Hemodiyaliz ve renal transplantasyon hastalarında bazal ve 3. ayda sTM, sEPCR ve TNF-A düzeyleri.

	Transplantasyon(n=27)			Hemodiyaliz (n=15)		
	Tx öncesi	3.ay	p	Başlangıç	3.ay	p
STM (ng/ml)	635±165	100±41	<0.0001	651±246	514±284	NS
sEPCR (ng/ml)	266±132	117±72	<0.0001	282±173	288±177	NS
TNF-A (pg/ml)	11.2±4.3	6.0±3.5	<0.0001	13.6±5.8	11.2±5.3	NS

Pearson korelasyon analizinde, hemodiyaliz ve transplantasyon grubunda CRP, sTM, sEPCR ve TNF-alfa düzeyleri arasında, bazal ve 3.ay değerlendirmelerinde anlamlı ilişki saptanmadı.

17 hasta tacrolimus, 8 hasta siklosorin A ve 2 hasta sirolimus içeren tedavi almaktaydı. Her 3 grup arasında sTM, sEPCR ve TNF-A düzeyleri arasında anlamlı farklılık yoktu.

Sağlıklı bireylerde (n=27) sEPCR düzeyi bir kez ölçüldü ve 79±26 olarak saptandı. Bu düzey başlangıçta her iki gruptanda anlamlı düşük idi. Ancak HD grubunun 3. aydaki ölçümlerinden anlamlı düşük iken transplant grubundan 3. ay ölçümleri ile anlamlı farklılık göstermiyordu.

5. TARTIŞMA

Diyaliz teknolojisindeki gelişmelere rağmen son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda ölüm oranları genel toplumdan 10-20 kat yüksek seyretmektedir. Son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda böbrek transplantasyonu ile diyaliz tedavileri karşılaştırıldığında, transplantasyon ile yaşam kalitesinin arttığı ve sağ kalım süresini uzadığı gösterilmiştir (2). Böbrek transplantasyonu yapılan hastaların yaşam süreleri diyaliz tedavisi uygulanan hastalara göre artmış olmakla birlikte, sağlıklı toplumla karşılaştırıldığında yüksek ölüm oranlarının devam ettiği görülmektedir. Ölüm ve sağlık sorunlarının en önemli nedeni kardiyovasküler hastalıklardır (45). Üremik durum ve kalsiyum-fosfor dengesi, anemi, oksidatif stres, hiperpatatiroidizm, inflamasyon ve hiperhomosisteinemi gibi üremiyle ilişkili faktörlerin transplantasyon sonrası ortadan kalktığı teorik olarak kabul edilebilir. Ancak üremiye bağlı kardiyovasküler sistemde uzun dönemde oluşan değişikliklerin (sol ventrikül yapısal anormallikleri, koroner kalsifikasyon, arterioskleroz tarafından indüklenen arteriyal değişiklikler) ne oranda düzeleceği tam olarak bilinememektedir. Endotel hasarının bu komplikasyonları tetiklemede önemli rolü olduğu ve endotel fonksiyonundaki değişikliklerin aterosklerotik lezyon gelişmesindeki en erken olay olduğu bilinmektedir. Son dönemde yapılan bazı çalışmalarda kronik böbrek yetmezliğinde endotel aktivasyonu olduğu ve endotel fonksiyon bozukluğunu yansıtan belirteçlerin serum kreatinin düzeyleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (46,47). Endotel fonksiyonunu değerlendirmek için çeşitli metodlar ve belirteçler geliştirilmiştir. Brakial FMD, asimetrik dimetil arginin (ADMA), ön kol lazer Doppler akımı, adezyon molekülleri (intrasellüler adezyon molekülü; Vasküler adezyon molekülü) von Willebrand faktör, homosistein, interlökinler, dolaşan endotel hücreleri ve dolaşan endotel progenitör hücreleri bunlardan bazılarıdır.

Son dönemde endotel hasarı sonucu endotel hücre yüzeylerinde eksprese edilen sEPCR ve sTM'inin endotel disfonksiyonunun güçlü belirteçleri olduğu ve SLE, sepsis ve Wegener Granülomatozis gibi endotel hasarının baskın olduğu hastalıklarda yükseldiği gösterilmiştir (12-13). Biz çalışmamızda sTM ve sEPCR düzeylerinin HD hastalarında yüksek iken, böbrek transplantasyonu sonrası belirgin biçimde düştüğünü gösterdik.

Boehme ve ark. yaptıkları çalışmada SLE'li hastalarda sTM düzeyleri ve hastalık aktivitesini yansıtan diğer laboratuar-klinik verileri değerlendirmişledir. Sonuçta sTM'nin koroner arter hastalığının derecesiyle, inme ve periferik arter tıkayıcı hastalığı ile ilişkisi olduğu ve sağlıklı veya asemptomatik kişilerde yükselmediğini göstermişlerdir (47). Boomsma ve ark. Wegener Granulomatozisli hastalarda, sEPCR ve sTM seviyelerinin hastalık aktivitesi ile korelasyon gösterdiğini ve nüksden hemen önce yükseldiğini saptamışlardır (12). Yine SLE'li hastalarda, ortalama sEPCR seviyelerinin sağlıklı kontrol ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu Sesin ve ark 'nın yaptığı çalışmada gösterilmiştir (13). Ancak bu çalışmada renal tutulumu olan hastalarda sEPCR seviyelerinin daha yüksek olduğu da gözlenmiştir. Bu bulgular sEPCR'ünün SLE'de renal hasar ve vaskülopatiyi gösteren bir belirteç olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda sEPCR seviyeleri HD hastalarında ölçüldü ve sağlıklı kişilerden yüksek olduğu saptandı. sEPCR düzeyleri değerlendirildiğinde, biraz önceki çalışmada bahsedildiği üzere, ortalama seviyeler sağlıklı kişilerde 98.4±27.8 ng/ml, SLE'de 263±13 ng/ml ve Wegener Granulomatozus'da 235 (113-373) ng/ml olarak saptanmıştır(13). Bizim HD hastalarımızda ortalama sEPCR düzeyi 266±132 ng/ml iken renal transplantasyon sonrası bu değer 117±72 ng/ml'ye gerilemiştir. HD grubunda sEPCR yüksekliği, bu hastalardaki artmış oksidatif stres ve inflamatuar sitokinlere bağlı olarak intakt molekülün parçalanmasından kaynaklanıyor olabilir. Yine HD grubunda endotel fonksiyon bozukluğu sonucu dolaşıma salınan sEPCR düzeyleri artmış olabilir. Yapılan çalışmalarda renal fonksiyon bozukluğu olan hastalarda sEPCR düzeyleri yüksek bulunmuştur. Bu bulgular

sEPCR ‘ünün idrarla atılıyor olabileceği ve böbrek yetmezlikli hastalarda idrarla atılım azaldığı için yüksek saptandığı tezini oluşturmuştur. Ancak bugüne kadar idrarda sEPCR veya sTM atılımının gösterildiği çalışma bulunmamaktadır. Başarılı bir böbrek nakli sonrası endotel fonksiyonunda görülen düzelmeler ve inflamatuar sitokin seviyelerinin azalması; nakil kolunda 3. ayda gözlenen s EPCR düzey düşüşünü açıklayabilir. Çalışmamıza yalnızca ortalama sEPCR düzeylerini ölçümlemek üzere dahil ettiğimiz 27 sağlıklı kişide ise sEPCR düzeyleri ortalama 79±26 ng/ml olarak bulunmuştur. Bu sonuç beklendiği üzere HD hastalarından belirgin düşüktür. Transplantasyon sonrası fonksiyonel grefti olanlarla karşılaştırıldığında ise istatiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir. Bilgimize göre çalışmamız, HD hastalarında ve böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda sEPCR düzeylerinin ölçüldüğü ilk çalışmadır.

Önceki çalışmalarda sTM seviyelerinin HD hastalarında yükseldiği ve HD tedavisi boyunca değişmediği gösterilmiştir (48). Renal transplantasyon sonrası sTM düzeylerinin değişimi konusunda literatürde kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur. Hyrszko ve ark. yaptıkları çalışmada renal transplantasyon yapılmış ve böbrek fonksiyonları stabil olan hastalarda sTM seviyelerini ölçerek sağlıklı grup ile karşılaştırmış ve nakil kolunda daha yüksek sTM seviyeleri olduğunu göstermişlerdir. Bunun siklosporin A toksisitesi ve/veya greft fonksiyonunda bozulmaya bağlı olabileceğini öne sürmüşlerdir (49). Ancak sTM düzeylerinin renal transplantayon hastalarında, nakil öncesi ve sonrası değerlendirildiği ve sonuçların kronik hemodiyaliz hastaları ile karşılaştırıldığı çalışma mevcut değildir. Sağlıklı toplumda ortalama sTM değerlerinin daha önce de belirtildiği gibi 3-50 ng/ml düzeylerinde olduğu düşünülürse, bizim çalışmamızda başlangıç sTM düzeyleri her iki kolda da yüksek (transplant hastalarında 635 ng/ml, HD hastalarında 651 ng/ml) idi. Tx grubunda, transplantasyon sonrası anlamlı olarak düşerken (transplant kolunda 3. ay:100 ng/ml) HD grubunda yine yüksek olduğu gözlendi (HD grubu 3. ay:514 ng/ml). Ancak transplant hastalarındaki bu belirgin

düşmeye rağmen sTM düzeyleri sağlıklı kişiler için beklenen değerlerin üzerindeydi.

Wen CG ve ark. KC transplantasyonu yapılan hastalarda sTM düzeylerinin akut ve kronik rejeksiyonda (akut rejeksiyonda daha belirgin olarak) yükseldiğini, tedavi sonrası tedaviye olumlu cevap alınanlarda düşerken tedaviye cevap vermeyen grupta yüksekliğinin sürdüğünü göstermişlerdir (50). Böylece sTM'in karaciğer transplant rejeksiyonu monitarizasyonunda bir labaratuvar parametresi olarak kullanılabileceğini, bunun ötesinde akut-kronik rejeksiyon ayrımında, tedaviye cevabı izlemde ve prognoz tayininde önemli bir belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir. Biz bu çalışma ile renal transplantasyon sonrası sTM seviyelerindeki düşmeyi gösterdik. Ancak sTM seviyelerindeki değişimlerin akut-kronik rejeksiyon ile ilişkisi, transplant izlemindeki yeri, transplant hastalarında kardiovasküler komplikasyonlara yönelik klinik önemi halen bilinmemekte olup yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kronik HD hastalarının kronik inflamasyonla karşı karşıya oldukları saptanmış olup, HD işleminin kendisi, artmış oksidatis stres, oksidatif hasardan koruyucu mekanizmaların kaybı gibi çeşitli üremiyle ilişkili risk faktörleri suçlanmıştır (51). Renal transplantasyon ile renal fonksiyonların normale döndüğü düşünülürse, inflamasyonun da düzelmesi veya gerilemesi beklenir. Çalışmamızda TNF-alfa düzeyleri yüksek saptanıp transplantasyondan sonra düşmüştür. Literatürde SDBY'li hastalarda CRP düzeylerinin çok geniş bir dağılım hacmi olduğu gösterilmiş olmakla birlikte, genel sonuç böbrek fonksiyon bozukluğu olanlarda CRP düzeylerinin sağlıklı kontrollerden yüksek olduğudur. Transplant hastalarında yapılan çalışmalar transplantasyon sonrası dönemde CRP değerlerinde düşüş olduğunu göstermektedir (52). Biz bu çalışmada CRP düzeylerinde istatiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşme olduğunu gösterdik. Simmons ve ark. yaptıkları çalışmada sonuçlarımıza paralel olarak transplantasyon öncesi yüksek CRP ve TNF-alfa düzeyleri ölçmüşken, transplantasyondan sonra CRP hem de TNF-alfa düzeylerinin anlamlı olarak

düştüğünü ve 2 ay sonraki ölçümlerinde değerlerin halen düşük olarak devam ettiğini göstermişlerdir. (53)

Çağlar ve ark çalışmalarında RTx sonrası brakiyal FMD'de belirgin düzelme göstermişler ve bu düzelmenin fetuin–A seviyeleri ile korele olduğunu bulmuşlardır (7). Koçak ve ark 'da renal transplantasyon sonrası FMD'de benzer düzelmeyi göstermekle birlikte halen sağlıklı kontrolden düşük olduğunu saptanmışlardır (4). Oflaz ve ark. post-transplant 6. ve 12. ayda reaktif hiperemi ölçümü ile endotel bağımlı vazodilatasyonu değerlendirmiş ve 12. ayda 6. aya göre daha belirgin bir düzelme göstermişlerdir (5). Tüm bu çalışmalar böbrek transplantasyonu sonrası endotel fonksiyonunda düzelmeyi göstermekle birlikte bu düzelmenin uzun dönem kardiovasküler komplikasyonlar üzerinde iyileştirici etkisi olup olmadığı net bilinmemektedir. Böyle bir etkinin gösterilmesi ileri tedavi planlanmasında bu belirteçlerin kullanılabileceğini gösterir.

Kısaca bu çalışma ile endotel hücre hasarını gösterdiği kabul edilen iki yeni belirteç olan sTM ve sEPCR düzeylerinin HD hastalarında yüksek olduğu bulunmuş ve böbrek transplantasyonu sonrası düzeylerinde belirgin gerileme gösterilmiştir.

6. ÖZET

Renal Transplantasyon ve Kronik Hemodiyaliz Hastalarında Dolaşımda Thrombomodulin, Endotelyal Protein C Reseptör ve Tümör Nekrozis Faktör Düzeyleri

Son dönem böbrek yetmezliği hastalarında en sık mortalite nedeni kardiovasküler hastalıklardır. Bu hasta grubunda sağ kalımı uzatan ve yaşam kalitesini artıran en etkili tedavi seçeneği renal transplantasyondur. Ancak başarılı bir nakil sonrası dahi yüksek kardiyovasküler mortalite oranları devam etmektedir. Endotel hasarının kardiyovasküler komplikasyonları tetiklemede önemli rolü olduğu ve endotel fonksiyonundaki değişikliklerin aterosklerotik lezyon gelişmesindeki en erken olay olduğu bilinmektedir. Soluble endotelyal protein C reseptör (sEPRC) ile soluble Thrombomodulin (sTM) endotel hasar belirleyicileri olarak gösterilen ve endotelin antikoagülasyon aktivitesini yansıtan iki yeni belirteçtir.

Bu çalışmanın ama, sEPRC, sTM ve TNF-alfa düzeylerinin RTx alıcılarında ve kronik hemodiyaliz hastalarında değerlendirilmesidir. 27 RTx alıcısı ve 15 HD hastası çalışmaya dahil edilmiştir. Renal transplant alıcıları nakil öncesi ve 3 ay sonra, HD hastaları bazal ve 3 ay sonra değerlendirmeye alındı. HD hastaları RTx bekleme listesinde bulunan hastalardı. Demografik özelliklere ek olarak sEPCR, sTM, TNF-alfa ve CRP düzeyleri bazal ve 3. ayda analiz edildi. Ayrıca ortalama yaşı 35±7 olan 27 sağlıklı kontrol (16 kadın /11erkek) grubunda sEPCR düzeyleri ölçüldü ve iki grupla karşılaştırıldı. Ortalama yaşlar RTx kolunda 34±8 ve HD kolunda 38±6 idi, cinsiyet dağılımı RTx ve HD grubunda sırası ile 18 erkek/9kadın ve 8erkek/7kadın olarak benzerdi. RTx hastalarının 17 tanesi canlı donör ve 10 tanesi kadavradan nakil yapılmış hastalardı ve konvansiyonel üçlü immunsüpresif tedavi almakta idiler. (siklosporin A ya da tacrolimus, azatiopirin veya mikofenolat mofetil ve steroid içeren klasik üçlü protokol)

Bazalde HD ve RTx grubunda sEPRC, sTM ve TNF-alfa düzeyleri arasında anlamlı farklılık yoktu. Ancak 3. ayda RTx hastalarında, sEPCR ((266±132 - 117±72 ng/ml), sTM (635±165 -100±41 ng/ml), TNF-alfa (11.2±4.3 - 6.0±3.5 pg/ml) ve kreatinin seviyeleri (9.7±3.6 - 1.2±0.2 mg/dl) belirgin gerilemişken ($p<0.0001$) HD grubunda değişiklik gözlenmedi. Yirmiyedi sağlıklı kişide sEPCR seviyeleri 79±26 ng/ml olarak bulundu ve her iki gruptanda düşüktü. 3. ayda sEPCR seviyeleri HD hastalarından düşük saptanmaya devam ederken, RTx grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmadı.

Sonuçta bu çalışma ile endotel hasar belirleyicileri olan ve endotelyal antikoagülasyon savunma mekanizması ile ilişkili olan sEPCR ve sTM düzeylerinin hemodiyaliz hastalarında yüksek olduğu ve renal transplantasyon sonrası belirgin biçimde düştükleri gösterilmiştir.

Anahtar sözcükler: Böbrek transplantasyonu, inflamatuar sitokinler, sEPCR, son dönem böbrek yetmezliği, sTM.

7. SUMMARY

Plasma Levels of Soluble Endothelial Cell Protein C Receptor, Soluble Thrombomodulin and Tumor Necrosis Factor in Renal Transplant Recipients and Hemodialysis Patients: Prospective Comparative Study

Cardiovascular disease is a major cause of death in end stage renal disease. Renal transplantation is the best treatment modality for improving patient survival and quality of life. Both thrombomodulin (TM) and endothelial protein C receptor (EPCR) are candidate biomarkers of endothelial damage and have a role of anti-thrombotic defense mechanism in vascular structure. In this study, we aimed to investigate soluble EPCR (sEPCR), soluble TM (sTM) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) levels in hemodialysis (HD) and renal transplant (RTx) recipients. 27 RTx recipients and 15 HD patients were recruited to the study. RTx recipients were evaluated before and 3 months after Tx. HD patients were also followed up at the same time interval (3 months). In addition to evaluation of demographic features, plasma sEPCR, sTM and TNF-alpha levels were measured and analyzed at baseline and 3 months later. Moreover, 27 healthy subjects (16female/11male), with a mean age of 35±7, were evaluated regarding sEPCR, and the results were compared with those of the two groups. The mean age was 34±8 and 38±6, and sex distribution was 18male/9female and 8male/7female in the RTx and HD groups, respectively. In RTx recipients, 17 had living-related and 10 had deceased-donor transplantation using conventional triple (steroid + azatioprin/mycofenalate mofetil + tacrolimus/cyclosporin-A) immunosuppression. At baseline, there was no difference in sTM, sEPCR, TNF-alpha and C-reactive protein (CRP) between the groups. In paired analysis, sEPCR (266±132 to 117±72 ng/ml), sTM (635±165 to100±41 ng/ml), TNF-alpha (11.2±4.3 to 6.0±3.5 pg/ml) and creatinine levels (9.7±3.6 to 1.2±0.2 mg/dl) were significantly decreased in RTx patients ($p<0.0001$) at 3 months, while there was no change in the HD group. In

the 27 healthy subjects, sEPCR was found to be 79±26 ng/ml at baseline, which was lower than in both groups. At 3 months, sEPCR in healthy subjects was lower than in the HD group; however, there was no significant difference compared with the RTx group. We showed that the recently proposed endothelial damage biomarkers, sTM and sEPCR, are elevated in HD patients and significantly decrease after kidney transplantation.

Key Words: End stage renal disease, inflammatory cytokines, kidney transplantation, sEPCR, sTM.

VI. KAYNAKLAR

1- Foley RN, Parfey RS. Cardiovascular disease in chronic renal disease. Am J Kidney Dis. 1998; 32(suppl 3): 112-119.

2- Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric translant. N Engl J Med 1999; 341: 1725-1730

3- Cottone S, Palermo A, Vaccaro F, Mulè G, Guarneri M, Arsena R, Vadalà A, Cerasola G. Inflammation and endothelial activation are linked to renal function in long-term kidney transplantation. Transpl Int 2007; 1: 82-87.

4- Kocak H, Ceken K, Yavuz A, Yucel S, Gurkan A, Erdogan O, Ersoy F, Yakupoglu G, Demirbas A, Tuncer M. Effect of renal transplantation on endothelial function in haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant 2006; 1: 203-207.

5- Oflaz H, Turkmen A, Turgut F, Pamukcu B, Umman S, Ucar A, Akyol Y, Uzun S, Kazancioglu R, Kurt R, Sever MS. Changes in endothelial function before and after renal transplantation. Transpl Int 2006; 4: 333-337.

6- Yilmaz MI, Saglam M, Carrero JJ, Qureshi AR, Caglar K, Eyileten T, Sonmez A, Cakir E, Yenicesu M, Lindholm B, Stenvinkel P, Axelsson J. Serum visfatin concentration and endothelial dysfunction in chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant 2008; 3: 959-965.

7- Caglar K, Yilmaz MI, Saglam M, Cakir E, Kilic S, Eyileten T, Sonmez A, Oguz Y, Oner K, Ors F, Vural A, Yenicesu M. Endothelial dysfunction and fetuin A levels before and after kidney transplantation. Transplantation 2007; 4: 392-397.

8- Yilmaz MI, Saglam M, Caglar K, Cakir E, Sonmez A, Ozgurtas T, Aydin A, Eyileten T, Ozcan O, Acikel C, Tasar M, Genctoy G, Erbil K, Vural A, Zoccali C. The determinants of endothelial dysfunction in CKD: oxidative stress and asymmetric dimethylarginine. Am J Kidney Dis 2006; 1: 42-50.

9- Soler MJ, Martínez-Estrada OM, Puig-Marí JM, Marco-Feliu D, Oliveras A, Vila J, Mir M, Orfila A, Vilaró S, Lloveras J. Circulating endothelial progenitor cells after kidney transplantation. Am J Transplant 2005; 9: 2154-2159.

10- Mohamed AS, Thomson J, McDonald KJ, Hillyard DZ, Mark PB, Elliott HL, Jardine AG. Circulating endothelial cells in renal transplant recipients. Transplant Proc 2005; 5: 2387-2390.

11- Kurosawa S, Stearns-Kurosawa DJ, Hidari N, Esmon CT. Identification of functional endothelial protein C receptor in human plasma. J Clin Invest 1997; 2: 411-418.

12- Boomsma MM, Stearns-Kurosawa DJ, Stegeman CA, Raschi E, Meroni PL, Kurosawa S, Cohen Tervaert JW. Plasma levels of soluble endothelial cell protein C receptor in patients with Wegener's granulomatosis. Clin Exp Immunol 2002; 128: 187-194.

13- Sesin C, Yin X, Esmon CT, Buyon JP, Clancy RM. Shedding of endothelial protein C receptor contributes to vasculopathy and renal injury in lupus: in vivo and in vitro evidence. Kidney Int 2005; 68: 110-120.

14- Cheung AK. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients . Kıdney İnt 2000; 58: 353-362

15- Manjunath G.Level of kidney function as a risc factor for cardiovascular outcomes in the communty. J Am Coll cardiol 2003; 41: 47-55

16- Pereira BJG. Plasma levels of IL-1, TNF-alfa and their specific inhibitors in undialysed chronic renal failure, CAPD and hemodialysis patients. Kıdney İnt. 1994; 45; 890-896

17- Memoli B.Cytokine production in HD. Blood Purif.1999; 17(2-3)149-158

18- Langrad WK, Niessen HW, Wolbink GJ, Jaspars LH, Visser CA, Verhaught FW, Meijer CK, Hack CE. C-reactive protein colocalizes with complement in human hearts during acute myocardial infarction. Cırculation 1997; 95: 97-103

19- Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wnner C.İnflammation enhances cardiovascular risk and mortality in haemodialysis patients. Kıdney Int. 1999; 55: 648-658

20- Arıcı M, Walls J.End-stage renal disease, atherosclerosis and cardiovascular mortality: Is C-reactive protein the missing link. Kıdney Int 2001; 59: 407-414

21- C.T. Esmon, The protein C pathway, Chest 124 (2003), pp. 26S–32S.

22- Stenflo J, Fernlund P. Amino acid sequence of the heavy chain of bovine protein C.

J Biol Chem. 1982; 257: 12180–12190.

23- Esmon CT, Esmon NL, Harris KW. Isolation of a membrane-bound cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. J Biol Chem. 1982; 257: 7944–7947.

24- B. Dahlback, Progress in the understanding of the protein C anticoagulant pathway, Int. J. Hematol. 79 (2004), pp. 109–116.

25- C.T. Esmon, The endothelial cell protein C receptor, Thromb. Haemostasis 83 (2000), pp. 639–643.

26- C.T. Esmon, Interactions between the innate immune and blood coagulation systems, Trends Immunol. 25 (2004), pp. 536–542.

27- M. Riewald, R.J. Petrovan, A. Donner, B.M. Mueller and W. Ruf, Activation of endothelial cell protease activated receptor 1 by the protein C pathway, Science 296 (2002), pp. 1880–1882.

28- Cheng T, Liu D, Griffin JH, Fernandez JA, Castellino F, Rosen ED, Fukudome K, Zlokovic BV. Activated protein C blocks p53-mediated apoptosis in ischemic human brain endothelium and is neuroprotective. Nat Med. 2003; 9: 338–342.

29- A.R. Rezaie, Exosite-dependent regulation of the protein C anticoagulant pathway, Trends Cardiovasc. Med. 13 (2003), pp. 8–15.

30- Riewald M, Petrovan RJ, Donner A, Ruf W. Activated protein C signals through the thrombin receptor PAR1 in endothelial cells. J Endotoxin Res. 2003; 9: 317–321

31- Boehme MW, Deng Y, Raeth U, Bierhaus A, Ziegler R, Stremmel W, Nawroth PP. Release of thrombomodulin from endothelial cells by concerted action of TNF- and neutrophils: in vivo and in vitro studies. Immunology. 1996; 87: 134–140

32- Lohi O, Urban S, Freeman M. Diverse substrate recognition mechanisms for rhomboids: thrombomodulin is cleaved by mammalian rhomboids. Current Biology. 2004; 14: 236–241

33- Asakura H, Jokaji H, Saito M et al. Plasma lebels of soluble thrombomodulin increase in cases of disseminated intravasular coagulation with organ failure. Am J Hematol 1991; 38: 281-287

34- Iba T, Yagi Y, Kidokoro A, Fukunaga M, Fukunaga T. İncreased plasma levels of soluble thrombomodulin in patients with sepsis and organ failure. Surg Today 1995; 25: 585-590

35- Boffa MC, Karmochkine M. Thrombomodulin: an overview and potential implications in vascular disorders. Lupus. 1998; 7: S120–S125

36- Hosaka Y, TakahashiY, Ishii H.Thrombomodulin in human plasma contributes to inhibit fibrinolysis through acceleration of thrombin-dependent activation of plasma procarboxypeptidase B.Thromb Haemost 1998; 79: 317

37- Ishii H, Majerus PW. Thrombomodulin is present in human plasma and urine. J Clin İnvest 1985; 76: 2178-2181

38- Ohlin A-K, Larsson K, Hansson M. Soluble thrombomodulin activity and soluble thrombomodulin antigen in plasma. Journal of Thromb Haemostasis, 3: 976-982

39- Kurosawa S, Stearns-Kurosawa DJ, Hidari N, Esmon CT. Identification and functional endotheliala protein C receptor in human plasma. J Clin İnvest.1997; 100: 411-418

40- Xu J, Qu D, Esmon NL, Esmon CT. Metalloproteolytic release of endothelial cell protein C receptor. J Biol Chem. 2000; 275: 6038-6044

41- Saposnik B, Reny JL, Gaussem P, Emmerich J, Aiach M, Gandrille S. A haplotype of the EPCR gene is associated with increased plasma levels of s

EPCR and is a candidate risk factor for thrombosis. Blood 2004 Feb 15; 103(4): 1311-1318

42- Liaw PC, Neuenschwander PF, Smimov MD, Esmon CT. Mechanisms by which soluble endothelial cell protein C receptor modulates protein C and activated protein C function. J Biol Chem. 2000; 275: 5447-5452

43- Stearns-Kurosawa DJ,Burgin C, Parker D, Comp P, Kurosawa S. Bimodal dsitrubation of souble endothelial protein C receptor levels in healthy populations(letter). Blood 2003; 4: 855-856

44- Ulu A, Gunal D, Tiraş S, Eğin Y, Deda G, Akar N. EPCR gene A3 haplotype and elevated soluble endothelial protein C receptor (s EPCR) levels in Turkish pediatric stroke patients. Thromb Res. 2007; 120(1): 47-52

45- Briggs JD. Causes of death after renal transplantation. Nephrol Dial Tranplant 2001; 16: 1545-1549

46- Frijins R, Fijnheer R, Schiel A, Donders R, Sixma J, Derksen R. Persistent increase in plasma thrombomodulin in patients with a history of lupus nephritis: endothelail cell activation markers. J Rheumatol 2001 Mar, 28(3): 14-9

47- M.W.J.Boehme, U.Raeth, P.R.Galle. Serum thrombomudulin –a reliable marker of disease activity in systemic lupus erythematosus (SLE): advantage over established serological parameters to indicate disease activity. Clin Exp İmmunol 2000; 119: 189-195

48- Naumnik B, Borawski J, Pawlak K, Myśliwiec M. Effect of hemodialysis on plasma levels of vascular endothelial markers. Clin Appl Thromb Hemost. 2002; 3: 245-250.

49- Hryszko T, Malyszko J, Jacek S, Malyszko, Brzosko S, Pawlak K, Mysliwiec M. A possible role of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor in disturbances of fibrinolytic system in renal transplant recipients. Nephrol Dial Transplant (2001)16: 1692-1696

50- Wen CG, Luo SK, He XS, Li J, Liu M, Zou WY, Peng AH. Values of soluble thrombomodulin and von Willebrand factor judging reject reaction in liver transplantation. Zhonghua Gan Zang Bing Zan Zhi 2003 May, 11(5): 295-297

51- Soejima A, Kaneda F, Manno S, Matsuzawa N, Kouji H, Nagasawa T, Era S, Takakuwa Y. Useful markers for detecting decreased serum antioxidant activity in hemodialysis patients. Am J Kidney Dis 2002; 5: 1040-1046.

52- Cueto-Manzano AM, Morales-Buenrostro LE, Gonzalez-Espinoza L, et al. Markers of inflammation before and after renal transplantation. Transplantation 2005; 80: 47-51

53- Simmons M, Langone A, Sezer MT, Vella JP, Recupero P, Morrow JD, Ikızler AT, Himmelfarb J. Effect of Renal Transplantation on Biomarkers of İnflammation and Oxidative Stress in End-Stage Renal Disease Patients. Transplantation 2005; 79: 914-919

54- Dahlbäck B, Villoutreix BO. FEBS Lett. The anticoagulant protein C pathway. 2005 Temmuz 13; 579(15): 3310-3316.