

Tek böbrek fonksiyonlu hastalarda iskemi modifiye albumin, protein sülfidril / karbonil düzeyleri ve kardiyovasküler risk faktörleri

Nadide Melike SAV¹, Nuran ÇETİN¹, Aylin GENÇLER¹, Betül CAN², Bilal YILDIZ¹

**Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Nefrolojisi Bilim Dalı¹, Biyokimya Anabilim Dalı²**

Giriş

- **Tek böbrek fonksiyonlu çocuklar yaşamın ilerleyen dönemlerinde hipertansiyon, albuminüri ve kronik böbrek hastalıkları açısından risk altındadır.**
- **Hastaların %32'sinde ise 10 yaşlarında böbrek hasarına ait bulgular gelişmektedir.**
- **Hastaların %20-50'si 30'lu yaşlarda diyalize ihtiyaç duymaktadır.**

- **Sağlam nefronlarda gelişen hiperfiltrasyon, glomeruloskleroza ve artan sıvı stresi nedeni ile tubuler değişikliklere yol açarak inflamasyonu tetikler.**
- **RAS aktivasyonu ve kronik inflamasyon oksidatif stres belirteçlerinde artışa neden olmaktadır.**
- **Böbrek dokusu, içerdiği lipidlerdeki uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin fazla olması nedeni ile serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşturduğu hasara oldukça yatkındır.**

Andican G., et al. Scand J Clin Invest. 2008

Ozbek E. Int J Nephrol. 2012

- **Serbest oksijen radikallerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda aminoasit kalıntısında protein karbonil (PCO) ürünleri meydana gelir.**
- **Albumin, yapısındaki serbest sülfidril grupları nedeniyle oksidasyona çok duyarlıdır. Proteinlere bağlı sülfidril grubundaki azalma oksidatif stresi belirlemede önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir.**

İskemik modifiye albumin

- Albumin molekülünün N terminal ucundaki aminoasid dizisi cobalt (Co+2), nikel (Ni+2), bakır (Cu+2) gibi geçişli metal iyonlarının primer bağlanma yeridir.
- Serbest radikal hasarı, iskemi, asidoz ve hipoksi gibi durumlarda albüminin N terminal ucu modifiye olarak Co+2, Ni+2, Cu+2 gibi geçişli metalleri bağlama kapasitesi azalır.
- Albüminin bu modifiye şekli iskemi modifiye albümin (IMA) olarak adlandırılır.
- Albüminin çok düşük ve yüksek konsantrasyonları ve laktik asidoz varlığı IMA ölçümünü etkiler. Bu nedenle düzeltilmiş IMA (DIMA) düzeyi kullanılmaktadır.

Çalışmanın amacı

Tek böbrek fonksiyonlu çocuklarda;

- 1- Oksidan stresi arařtırmak**
- 2- Serum IMA düzeylerini ölçerek, tek böbrek fonksiyonlu çocuklarda gelişmekte olan olası serbest radikal hasarı ve iskemiye saptamak**
- 3- Oksidan stres, IMA, inflamasyon (hsCRP) ve kardiovasküler risk faktörleri (hipertansiyon, sol ventrikül kitlesi ve cIMT) arasındaki iliřkiyi belirlemek.**

Gereç ve Yöntem

- Çalışmaya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nefrolojisi Bilim Dalında takip edilen ve birincil tek böbrek fonksiyonlu 5-18 yaş arasındaki hastalar dahil edildi.

Dışlama kriterleri;

- Kronik hastalığı olan**
- Aktif enfeksiyonu bulunan**
- Multivitamin preparatı kullanan**
- Antihipertansif tedavi alan**
- Malnütrisyonu olan**
- Obezite tanısı bulunan**
- 5 yaşın altında ve 18 yaşın üzerinde olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.**

Kontrol grubuna;

- 5-18 yaşları arasında olan,**
- Aktif enfeksiyonu ve kronik hastalığı bulunmayan,**
- Malnütrisyon ve obezite tanısı olmayan,**
- Antibiyotik ve multivitamin preparatı kullanmayan çocuklar dahil edildi.**

Kan basıncı ölçümleri:

- **24 saatlik kan basıncı (KB) izlemi yaşa uygun manşon ile ölçüldü.**
- **Gece 60 dakikada, gündüz 30 dakikada bir sistolik (SKB) ve diyastolik kan basıncı (DKB) değerleri belirlendi.**
- **Ortalama sistolik, diyastolik kan basınçları, gece kan basıncı azalma (Dipping) oranları saptandı.**
- **Hipertansiyon; yaş, cinsiyet ve boya göre kan basıncı değerinin 95 persentilden yüksek olması olarak tanımlandı.**

Kan örnekleri

- Hasta ve kontrol grubunun kan örnekleri ön kol veninden açlık durumu esas alınarak alındı.
- Açlık kanından protein karbonil/sülfidril ölçümü için ayrılan serum örnekleri ise -80°C 'de çalışma gününe kadar dondurularak saklandı.
- Çalışma günü örneklerin tamamı oda sıcaklığına getirildi ve çalışma aynı gün tamamlanarak sonuçlar değerlendirildi.
- İMA ölçümleri kan alındıktan sonraki yarım saat içinde yapıldı.

Biyokimyasal tetkikler;

Total protein, albumin

Kan üre azotu, kreatinin

Elektrolit, kan gazı

Plazma renin aktivitesi, aldosteron

hsCRP

**24 saatlik idrar örneklerinde: GFR
(mL/dk/1.73m²), idrar mikroalbumin
(mg/L) ve protein (mg/m²/sa)**

İMA düzeyi;

- Albüminin kobalt bağlama özelliğine dayanan kolorimetrik tayin yöntemi kullanıldı.
- Albümine bağlanmayan kobalt II'nin dithiothreitol ile oluşturduğu renkli bileşik kolorimetrik olarak ölçüldü.
- Sonuçlar Absorbans Ünitesi (AU) olarak alındı.
- İMA düzeyleri albümin düzeyleri (g/dl) ile oranlanarak düzeltilmiş İMA değerleri olarak hesaplandı.
(Albümin kons.(g/dL) X 23 + İMA (U/mL) – 100)

Protein Karbonil Grupları; 2,4-dinitrofenil hidrazin ile proteinlerin karbonil gruplarının reaksiyonu sonucu oluşan hidrazonun absorbansının 360 nm'de ölçülmesi prensibine dayanılarak ölçüldü.

Protein Sülfidril Grupları; protein-SH gruplarının indirgenmesi ve disülfid bağı oluşturması ile açığa çıkan kromoforun (5-merkapto-2-nitrobenzoik asit) absorbansının 412 nm dalga boyunda ölçülmesi ile hesaplandı.

Sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak verildi.

Ekokardiyografi;

- **Renkli doppler ultrasonografi cihazı (General Electric Medical Systems ViVid I) ile gerçekleştirildi.**
- **Lineer transducer aracılığı ile karotis intima media maksimum, minimum ve medium kalınlıkları ölçüldü.**

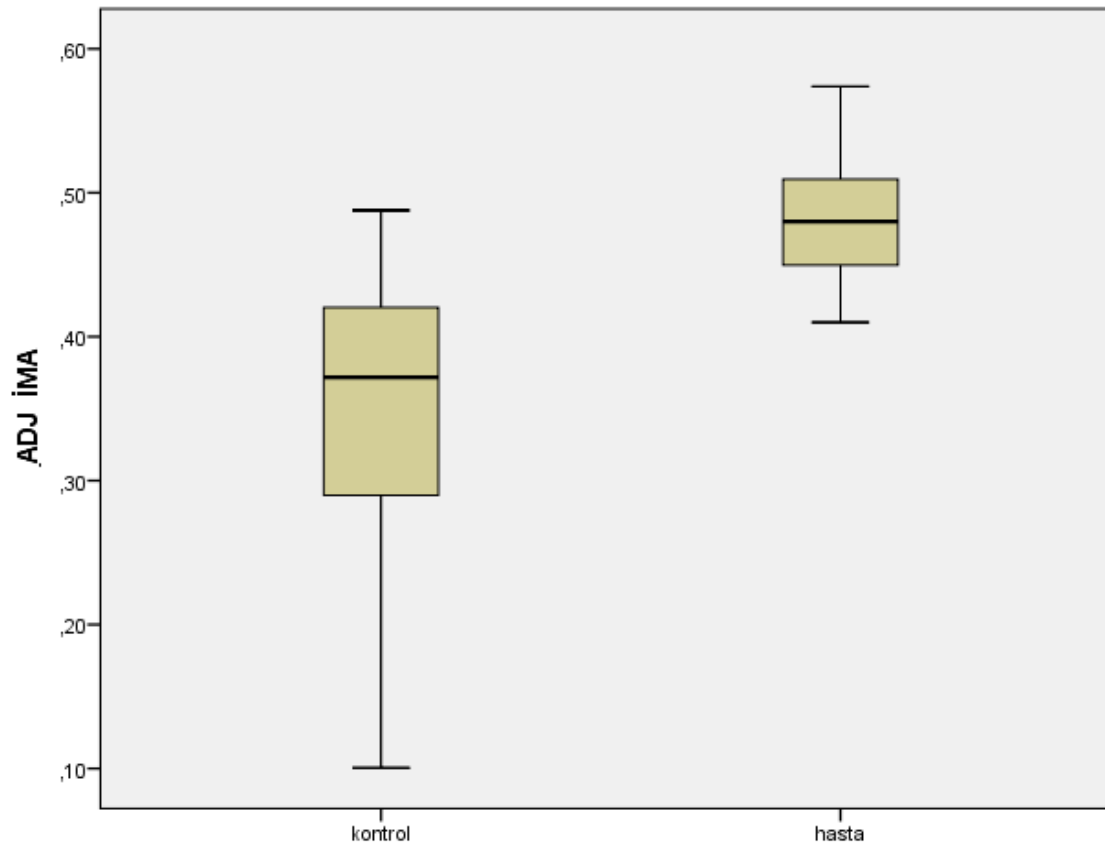
- **Hasta ve kontrol grubu arasında hsCRP, aldosteron, IMA, protein karbonil/sülfidril düzeyleri, plazma renin aktivitesi, IMA/albumin oranı (DIMA), CIMT, gece ve gündüz kan basıncı yükleri kıyaslandı.**

Bulgular

	Hasta n (%)	Kontrol n (%)	p
Kız	15 (48.3)	16 (51.7)	NS
Erkek	16 (51.7)	15 (48.3)	NS
Yaş	11±3.4	13.1±0.3	NS
Etiyoloji			
Unilateral MKDB	14 (45.2)	-	-
Unilateral renal agenezi/aplazi	17 (54.8)	-	-

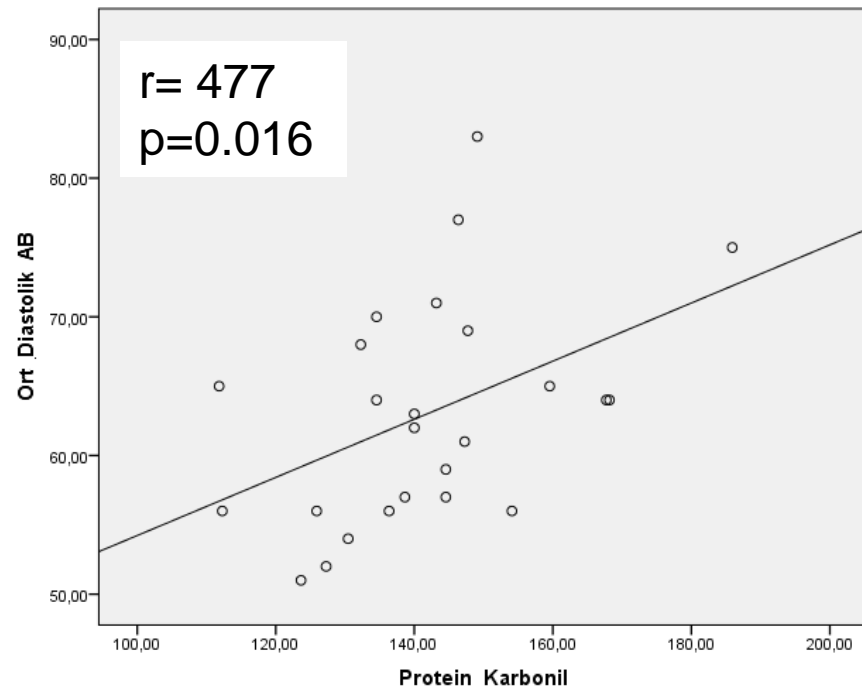
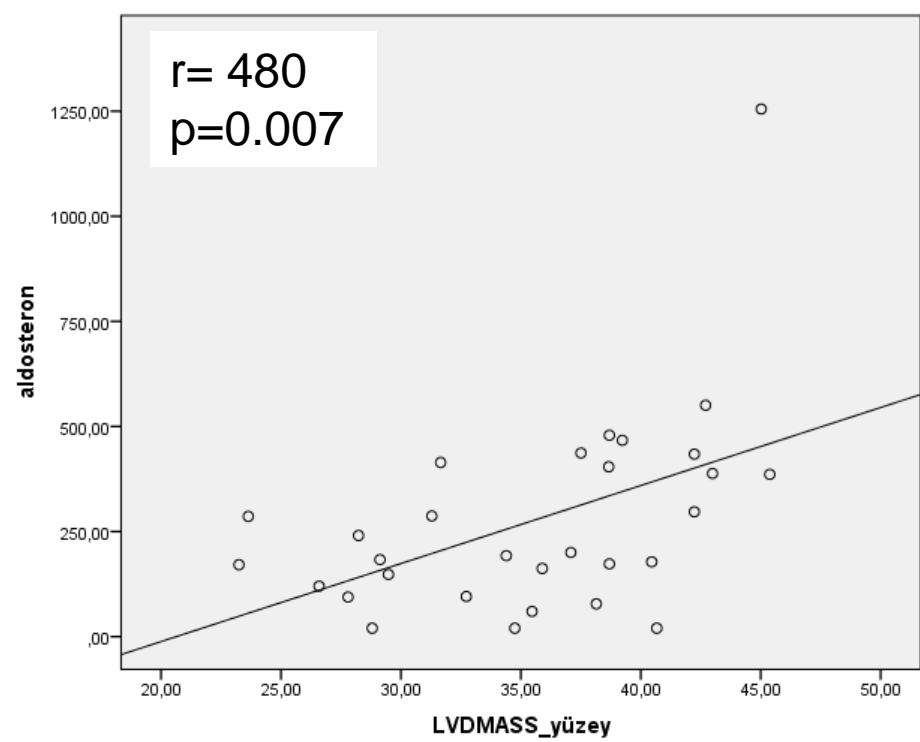
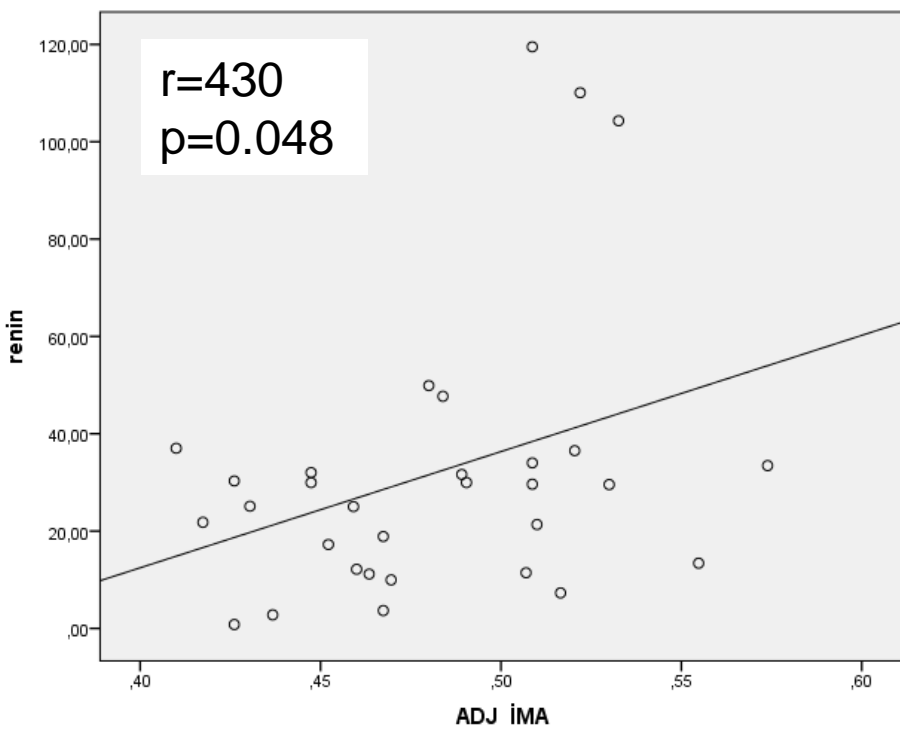
	Hasta (SD±SEM)	Kontrol (SD±SEM)	p
BUN	11.2±4	10.1±2.2	NS
Kreatinin	0.6±0.2	0.5±0.1	NS
GFR (24 saat)	98.9±45.5	136.1±54.6	0.005
hsCRP	4±2.2	0.3±0.02	0.0001
Renin	31.9±5.2	4.4±0.9	0.0001
Aldosteron	272.6±42.5	43.4±11.5	0.0001
İdrar protein	9.4±6.9	9.7±5.29	NS
İdrar mikroalbumin	380.6±284.9	53.1±8.5	0.037

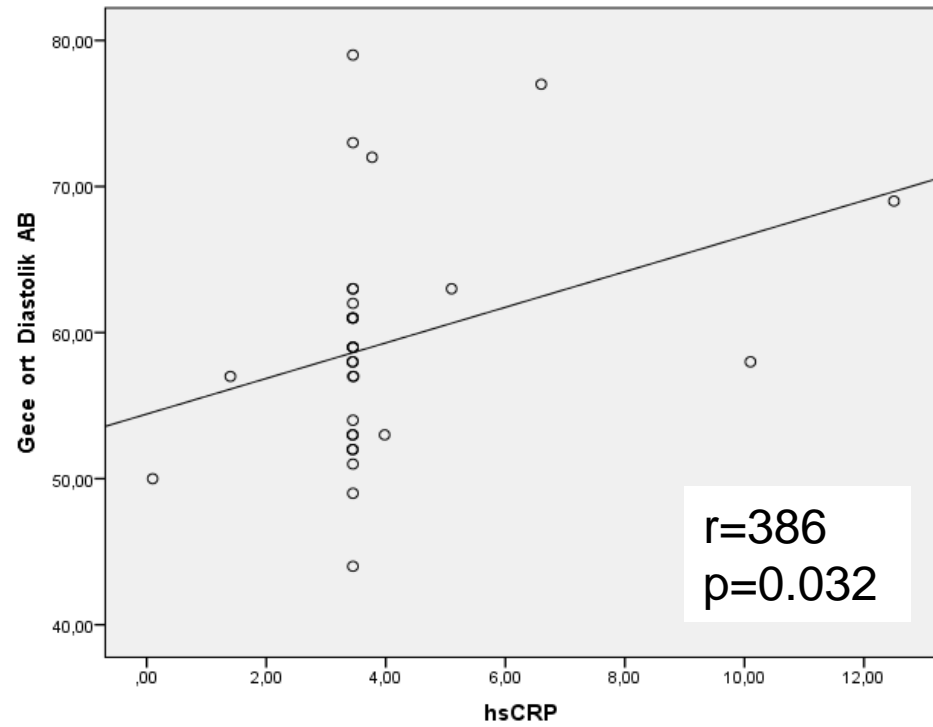
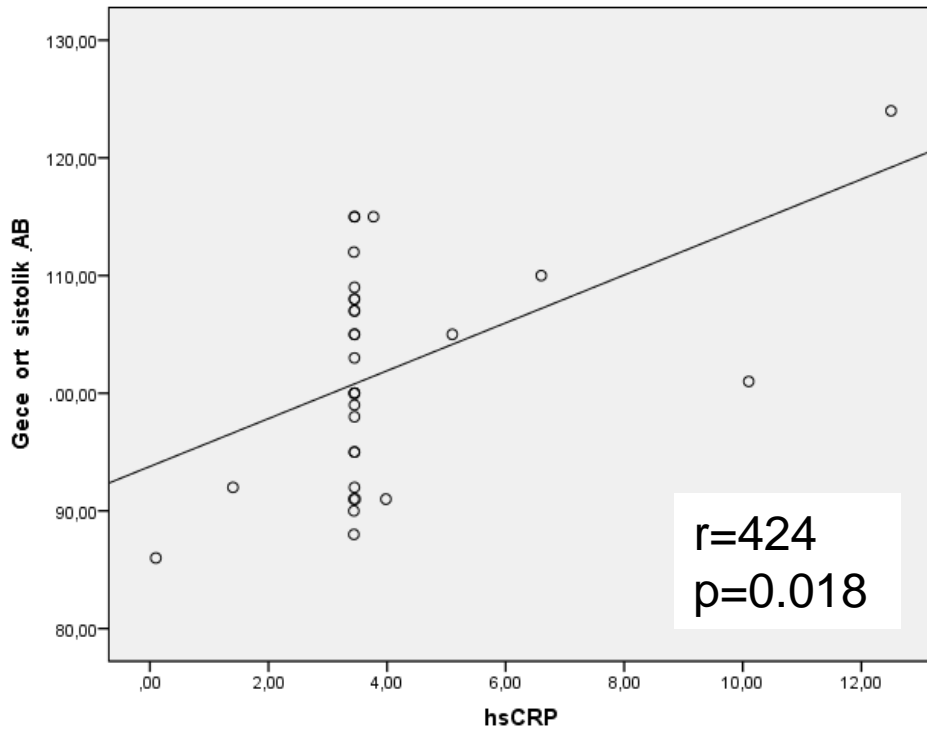
	Hasta	Kontrol	P
DIMA	0.48±0.04	0.3±0.1	0.0001
Protein Karbonil	141.8±16.9	148.6±21.3	NS
Protein Sülfidril	294.4±63.9	318.5±64	NS



	Hasta	Kontrol	P
LVDmass / VYA	35.4±6.3	33.5±7.2	NS
Ortalama sağ cIMT	0.44±0.03	0.42±0.03	NS
Ortalama sol cIMT	0.43±0.04	0.4±0.01	NS

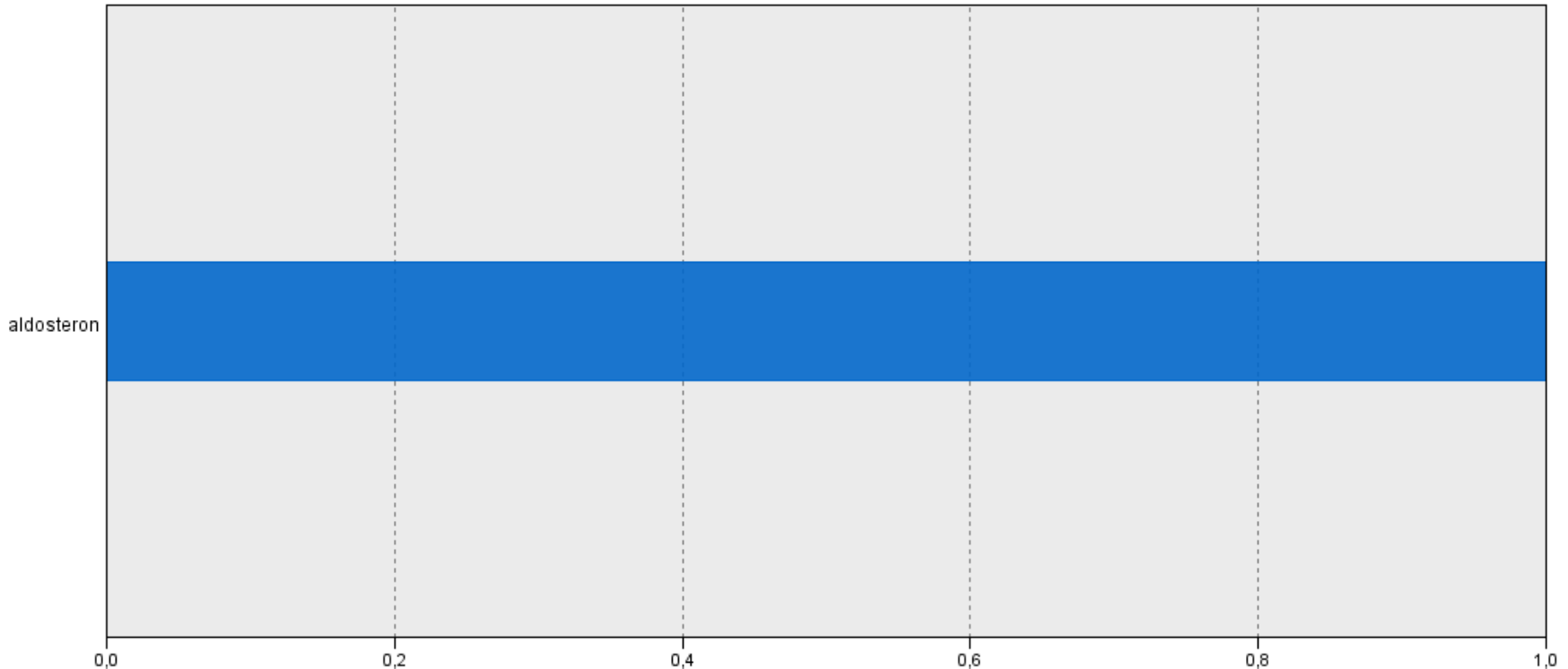
	Hasta	Kontrol	P
Ortalama Sistolik AB	106.2±10.3	103.7±4	NS
Ortalama Diyastolik AB	62.2±7.6	59.7±4.3	NS
MAB	81.5±7.3	80±3.6	NS
Gündüz ort. sistolik AB	110.9±12.2	108.5±5.7	NS
Gündüz ort. diyastolik AB	66.2±7.8	66±4.9	NS
Gece ort. sistolik AB	101.8±9.4	100.2±9.4	NS
Gece ort. diyastolik AB	59.3±8.1	55.3±4.5	0.037
Non Dipper (n/%)	10 (32.3)	-	-





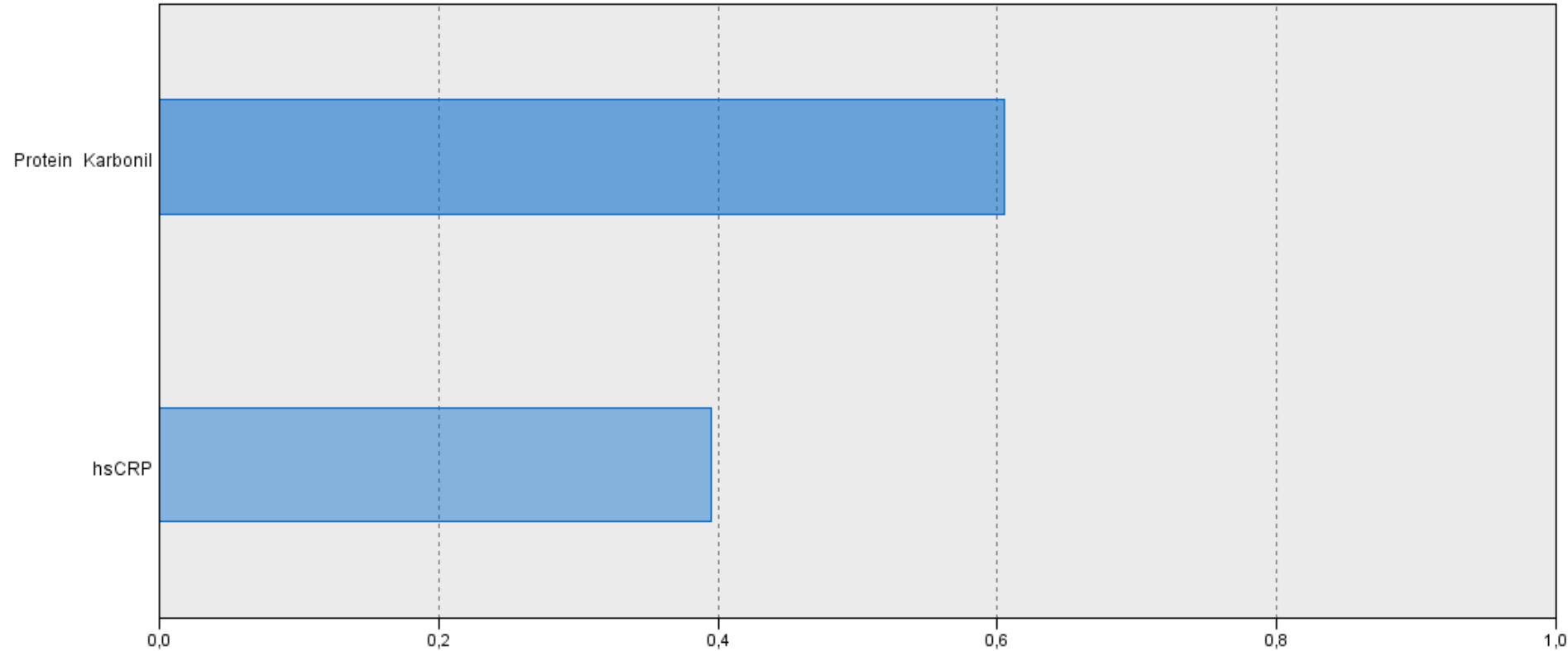
Çalışmamıza göre, fonksiyonel tek böbrekli hastalarda LVDmass değiştiren en etkili faktör serum aldosteron düzeyidir (Coefficient :0.018; p=0.005).

Predictor Importance
Target: LVDMASS_yüze

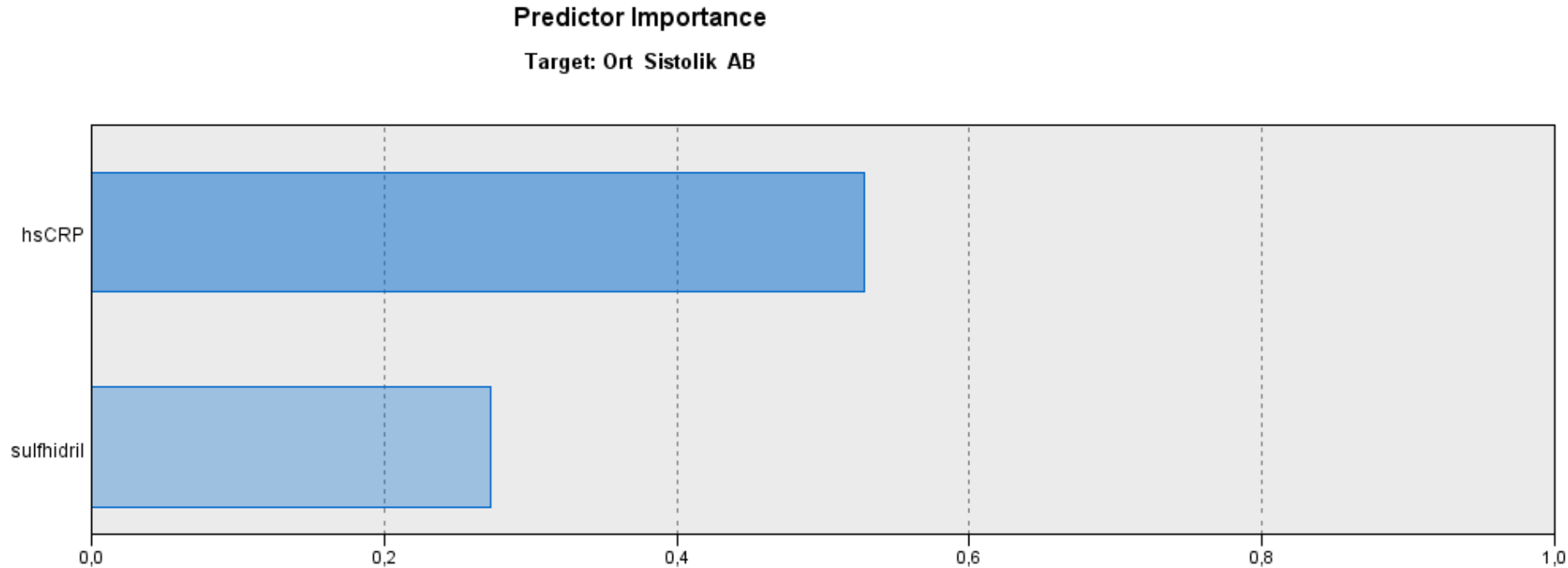


Çalışmamıza göre, fonksiyonel tek böbrekli hastalarda tüm gün ortalama diyastolik AB'ni değiştiren en etkili faktör serum aldosteron düzeyidir (Coefficient :0.185; p=0.036).

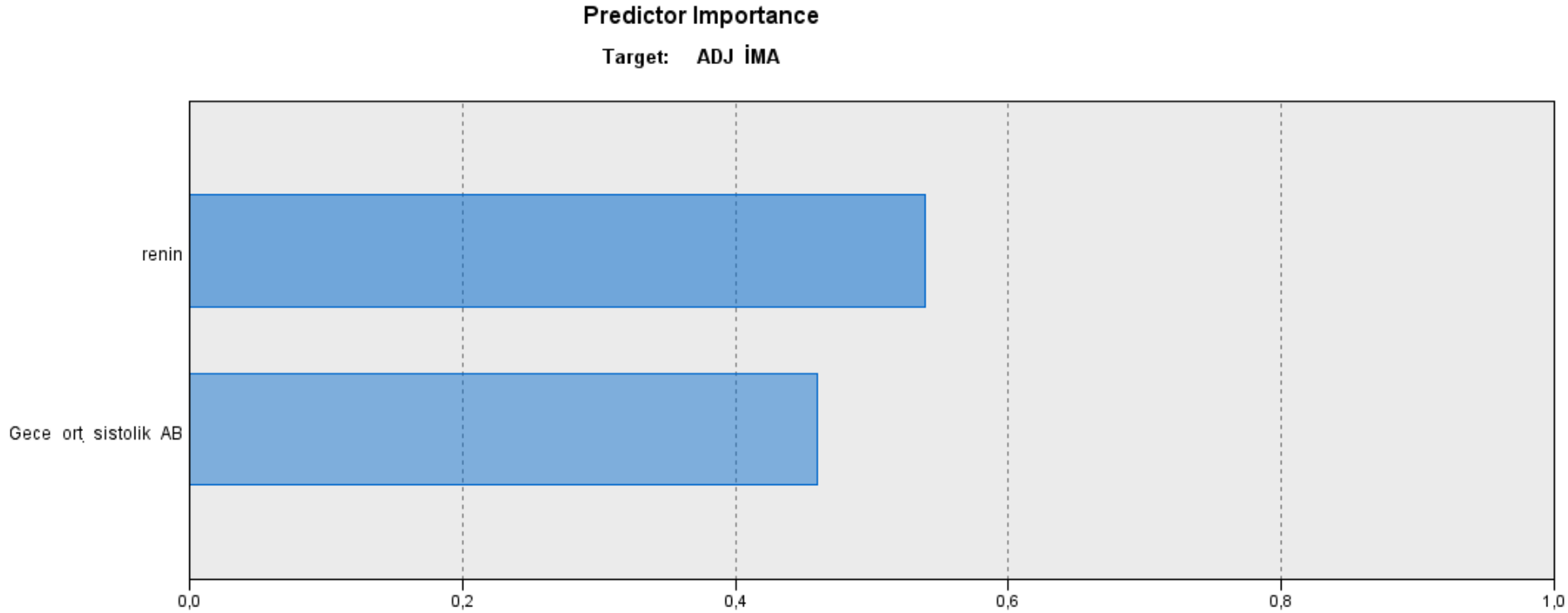
Predictor Importance
Target: Ort Diastolik AB



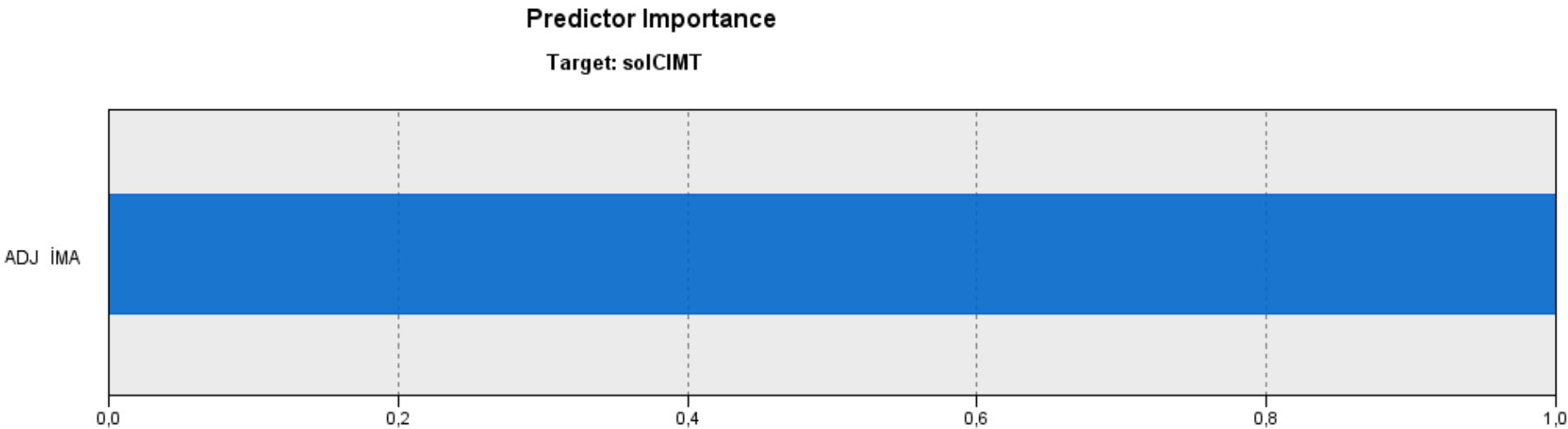
Çalışmamıza göre, fonksiyonel tek böbrekli hastalarda tüm gün ortalama sistolik AB'ni değiştiren en etkili faktör serum hsCRP düzeyidir (Coefficient :3.45; p=0.003).



Çalışmamıza göre, fonksiyonel tek böbrekli hastalarda serum İMA düzeylerini değiştiren en etkili faktör serum renin düzeyidir (Coefficient :0.001; p=0.041).



Çalışmamıza göre, fonksiyonel tek böbrekli hastalarda cIMT'ını değiştirmeye etkili faktörler saptanamadı (en yakın etki yine de serum İMA düzeyleri olabilir (Coefficient :0,296; p=0.088 !)).



Tartışma 'Hipertansiyon'

Doğumsal tek böbrekli çocukların %29'unda, MKDB'li çocukların %55.5'inde, renal agenezili çocukların %40'ında hipertansiyon

**Glomeruler hiperfiltrasyon
Glomeruloskleroz**

**Tubuler Na reabsorbsiyonunda deęişiklik
Sodyum yükünü atabilme yeteneğinde azalma
RAS'ta aktivasyon**

Lankadeva Y.R., et al. Am J Physiol Renal Physiol. 2014

Schreuder et al. J Paediatr Health. 2008

Tabel ve ark. Blood Pressure 2015

- **Hastalarımızın %32.3'ü nondipper olduğu saptandı.**
- **Plazma renin ve aldosteron düzeyleri ile gece ortalama diastolik tansiyon arteriyel ölçümleri kontrol grubuna göre yüksekti (Sırası ile $p=0.0001$, $p=0.0001$, $p=0.037$).**

Fonksiyonel tek böbrekli çocuklar

hipertansiyon açısından yakından izlenmeli

Tartışma 'İnflamasyon'

Artmış tubuler sıvı akımının oluşturduğu mekanik sinyal

Artmış monosit aktivasyonu ve TNF alfa düzeyi

Endotel hücre aktivasyonu

İnflamatuvar hücre proliferasyonu

Nötrofil adezyonunda ↑

Hasarlı tubul epitel hücrelerince kemokin sentezlemesi

Perivasküler dokunun monosit/makrofaj infiltrasyonu

Anjiotensin 2'nin vazokonstriktör etkisine katkı

Miravète M et al. Am J Physiol Renal Physiol. 2012

Sharaf El Din. World J Nephrol. 2016

O'Leary R et al. Am J Renal Physiol. 2016

- **Tek böbrek fonksiyonlu çocuklarda kontrol grubuna göre hsCRP düzeyleri yüksekti.**
- **Serum hsCRP düzeyleri ile gece sistolik ve diyastolik tansiyon arteriyel ölçüm ortalamaları arasında da pozitif bir korelasyon vardı ($p<0.05$).**

Tek böbrek fonksiyonlu çocuklarda inflamasyon hipertansiyon gelişmesinde rol oynayabilir.

Tartışma 'Oksidan stres'

- Serbest oksijen radikallerinin artması nedeni ile oluşan oksidan stres kronik böbrek hastalıklarında önemli bir morbidite nedenidir.
- Oksidatif stres aynı zamanda endotel disfonksiyonunu tetikleyerek ateroskleroza zemin hazırlamaktadır.
- Tek böbrek fonksiyonlu çocuklarda oksidan stresin etkisi ile ilgili veriler yetersiz
- Böbrek hastalığı olan çocuklarda IMA düzeyleri hakkında çalışma Ø

- **Çalışmamızda protein karbonil/ sülfidril düzeylerinde anlamlı farklılık saptanmazken, DIMA düzeyleri kontrol grubuna göre yüksekti ($p=0.0001$).**

IMA tek böbrek fonksiyonlu çocuklarda böbrek hasarının erken bir belirteci olabilir.

Oksidan stres

Vazodilatatör moleküllerin üretiminde azalma
Vazokonstriktör moleküllerin üretiminde artma
Vazomotor tonusta artış
Damar düz kas hücrelerinin kasılmasında ↑
Damar duvarında inflamasyon
Hipertansiyon

Hipertansiyonu olan çocuk ve adölesanlarda
oksidan stres belirteçleri yüksek

Touyz RM. Antioxid Redox Signal . 2005

Turi S. et al. J Hypertens. 2003

Çalışmamızda protein karbonil düzeyi ile ortalama diastolik tansiyon arteriyel ölçüm ortalamaları arasında pozitif bir korelasyon saptandı ($p<0.05$).

Oksidan stres, tek böbrek fonksiyonlu çocuklarda hipertansiyon gelişmesinde risk faktörü olabilir.

Tartışma 'Aldosteron'

**Artmış aldosteron düzeyi bağımsız risk faktörü
Myokard infarktüsü, inme
Kardiyak remodeling?**

**Aldosteron düzeyi uzun süre yüksek olan
olgularda sol ventrikül diyastolik kitlesi
anlamli oranda fazla**

Çalışmamızda serum aldosteron düzeyi tek böbrek fonksiyonlu çocuklarda kontrol grubuna göre yüksekti. Ayrıca aldosteron düzeyi ile sol ventrikül kitlesi arasında pozitif korelasyon olduğu saptandı (Coefficient :0.185; p=0.036).

Aldosteron düzeyi kardiyovasküler hastalık için bir gösterge olabilir.

Aldosteron düzeyi yüksek olan çocuklarda düzenli aralıklar ile ekokardiyografik inceleme yapılması gereklidir.

Tartışma 'RAS'

Lokal RAS aktivasyonu

Endotel disfonksiyonu, arter duvarında sertleşme

Kortikal hipoksi

AT1R aktivasyonu

Vasküler hücrelerde proliferasyon

İnflamatuvar medyatörlerde artış

NADPH oksidaz indüksiyonu ile SOR üretimi

Emans TW. J Physiol. 2016

De Mello WC. Front Endocrinol. 2014

Husain K et al. World J Bio Chem. 2015

Çalışmamızda fonksiyonel tek böbreği olan çocuklarda renin ve DIMA düzeyleri yüksekti.

Renin ve DIMA arasında pozitif korelasyon olduğu belirlendi (Coefficient :0.001; $p=0.041$).

DIMA düzeyi tek böbrek fonksiyonlu çocuklarda RAAS aktivasyonunun ve böbrek dokusunda gelişen iskeminin göstergesi olabilir.

Çalışmanın kısıtlılığı;

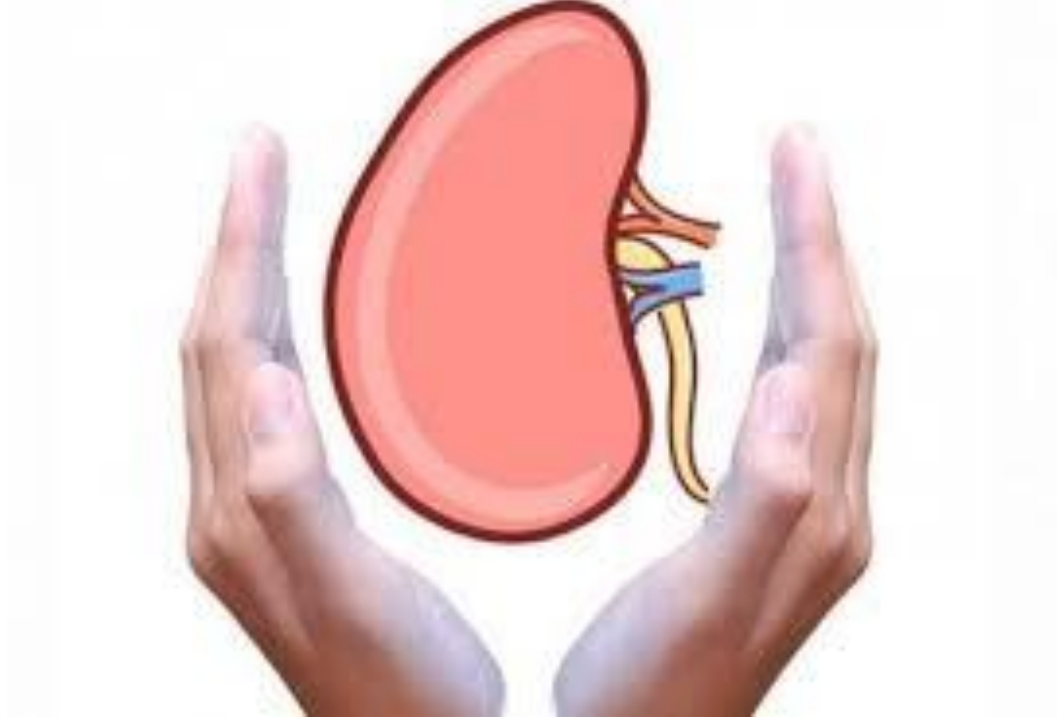
- Çalışma grubu az sayıda
- Tek ölçüm yapılabilmesi
- Tek böbrek fonksiyonlu çocukların izleminde seri ölçümler yapılmalı

Sonuç olarak;

Renin anjiotensin aldosteron sisteminin aktivasyonu yanı sıra gelişen inflamasyon hipertansiyon gelişmesine katkıda bulunabilir.

Aldosteron düzeyi yüksek saptanan çocuklar kardiyovasküler hastalık açısından izlenmelidir.

Serum DIMA düzeyleri erken böbrek hasarının bir göstergesi olabilir.



TEŞEKKÜRLER