

Kronik Hemodiyaliz Hastalarında Nötrofil Adheransı

NEUTROPHILADHERENCE IN CHRONIC HEMODIALYSIS

Dr.Saniye TOPÇU, Dr.Levent ÜNDAR, Dr.Cansel TÜRKAY,Dr.Mehmet ŞENCAN

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD. SİVAS

ÖZET

Kronik hemodiyaliz tedavisinde olan hastaların (n=27) nötrofil adheransları (NA), tedavide olmayan kronik böbrek yetmezliği hastaların (n=20) ve sağlıklı kontrol bireylerin (n=27) nötrofil adheransları ile karşılaştırıldı. Hemodiyaliz hastalarının ortalama NA yüzdesi (30.10±2.81), gerek kontrol grubundan (57.35±2.69) gerekse diyalize girmeyen hastaları/ikinden (47.56 ±0.98) belirgin olarak daha düşüktü. Diyalize gitmeyen hastaların ortalama NA yüzdesi ise kontrol grubundan farksız bulundu. NA yüzdelerindeki azalma diyaliz tedavisinde geçen süre ile ilişkisizdi. NA 'daki bozulmanın üremik sürecin değil hemodiyalizin bir sonucu olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Hemodiyaliz, Nötrofil adheransı

T Klin Araştırma 1991, 9:265-268

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) olan hastalarda, hemodiyaliz tedavisinde olsalar bile, bakteriyel enfeksiyon riski artmıştır (10). Enfeksiyonlara karşı artan duyarlılıktan; hücrel immünitede depresyon (4,8,19,22), antikor yapımında bozulma (9,18) ve defektif nötrofil fonksiyonu (10,16)'nın sorumlu olabileceği belirtilmektedir.

Geliş Tarihi: 26.6.1989

Kabul Tarihi: 23.1.1990

Yazışma Adresi: Saniye TOPÇU
Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları ABD, SİVAS

SUMMARY

We compared the neutrophil adherence of chronic hemodialysis patients (n=27), with that of untreated patients with chronic renal failure (n = 10) and of healthy controls (n=27). The patients not on hemodialysis had normal neutrophil adherence (47.56±0.98% vs 57.35±2.69% controls) while patients undergoing hemodialysis (30.10±2.81%) had significant impairment. Impairment in percent adherence did not correlate with length of time on dialysis. We concluded that the abnormality in NA is not result of the uremic process but a consequence of hemodialysis.

Keywords: Hemodialysis, Neutrophil adherence

Turk J Resc Med Sci 1991, 9:265-268

Nötrofiller vücuda giren mikroorganizmalara karşı konağın savunmasında yaşamsal önemi olan hücrelerdir. Uyarıya verilen ilk yanıt, dolaşımda bulunan nötrofillerin "marginasyonu" ve bunu izleyerek damar endoteline yapışmaları (adherans)'dır. Endotel hücrelerin arasından "diapedez"i izleyerek inflamatuvar alanda mikroorganizmaya karşı "kemotaksi" gösteren nötrofiller, daha sonra onları fagosite ederler (11). Bu nedenle NA, ekmotaktik yanıtta önemli bir basamaktır (7,13).

Sunulan çalışmanın amacı, KBY'li hastalar-daki nötrofil adheransını ve hemodiyalizin bunun üzerine yapabileceği değişiklikleri saptamaktır.

MATERYAL VE METOD

1) Hasta Populasyonu

Çalışma, kronik hemodiyaliz tedavisinde olan non-diabetik 27 hasta (14 erkek, 13 kadın, ortalama yaş 37, yaş sınırları 25-60), yaş ve cins uyumu olan 27 sağlıklı gönüllü (16 erkek, 11 kadın, ortalama yaş 38, yaş sınırı 23-63) ve hemodiyaliz tedavisinde olmayan son dönem böbrek yetmezlikli (kreatinin klirensi 20 ml/dk'dan düşük) 10 hasta (6 erkek, 4 kadın, ortalama yaş 35, yaş sınırları 28-60) üzerinde gerçekleştirildi.

Hastaların hemodiyaliz tedavisinde buldukları ortalama süre 22 ay (3-60 ay) idi. Haftada üç kez dörder saat süre ile hemodiyaliz uygulanıyordu (Gambro AK-10, Cuprophane membran).

Gerek hastalar, gerekse kontrol grubunu oluşturan bireylerde çalışma sırasında aktif enfeksiyon yoktu ve NA'ni değiştirebilecek anli-inflamatuvar ilaçları kullanılmıyordu.

2) Nötrofil Adheransının Tayini

Nötrofil adheransı, Slccher ve Chinea'nın tanımladığı yöntemin modifikasyonu (Fordham v ark.) ile ölçüldü (6). Yöntem, nötrofillerin naylon fibril kolonlarına yapışmasına dayanmaktadır.

Bir mililitrelik plastik enjektörlerin içerisine 10 mgr naylon fibril (Merck 4086-4) 0.1 ml çizgisine gelecek şekilde sıkıştırıldı. Ucuna 25 G'lik bir iğne takılan enjektör 37°C'de 15 dakika bekletildi. Heparinize olarak alınan tam kan örneğinden (diyaliz grubundaki hastalardan diyalize girmeden önce) 300 u.'lik miktar, enjektörün açık bulunan arka ucundan boşaltıldı. Piston yeniden takılarak kan sütununu alt ucu, naylon fibril kolonunun alt cunu gelinceye dek hafifçe itildi. Verlikal pozisyonda 10 dakika süreyle 37°C'de bekletildikten sonra enjektörün ucuna yerleştirilmiş olan plastik tüpe süzülen kan alındı. Gerek orijinal kan örneğinden, gerekse süzülen kan örneğinden nötrofil sayımları yapıldı. Nötrofil adheransı, naylon fibril kolonunda kalan nötrofillerin yüzdesi olarak belirlendi;

$$NA\% = \frac{\text{Süzümlü kan örneğindeki nötrofil sayısı}}{\text{Orijinal örnekteki nötrofil sayısı}} \times 100$$

3) İstatistik

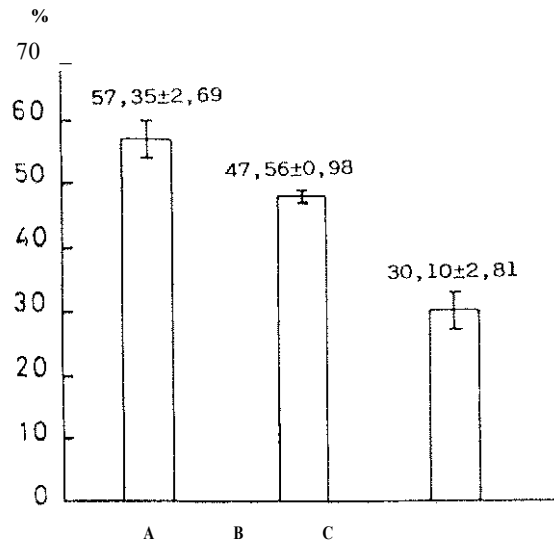
Normal dağılımı sağlamak için nötrofil adherans yüzdelere "aresine transformasyon" uygulandıktan sonra üç grup arasındaki farkı belirlemek üzere "tek yönlü varyans analizi" uygulandı (20). Grupların birbirleri ile karşılaştırılmaları, "Bonferroni yöntemi" ile yapıldı (24). Hemodiyaliz tedavisinde geçen süre ile nötrofil adheransı arasındaki ilişki regresyon analizi ile test edildi (20). 0.05'den küçük olan p değerleri istatistik olarak anlamlı kabul edildi. Metin içerisindeki ve şekildeki değerler ortalama \pm SD olarak verilmiştir (Transforme değerlerinin ortalama \pm SD'leri yeniden ham değerlere dönüştürülmüştür).

SONUÇLAR

Üç grubun ortalama NA yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ortaya çıktı ($F_{2,61} = 21.12, p < 0.01$) (Şekil 1).

Kronik hemodiyaliz tedavisinde olan KBY'li hastaların ortalama NA yüzdesi ($30.10 \pm 2.81\%$), gerek kontrol grubununkinden ($57.35 \pm 2.69\%$) gerekse diyalize girmeyen KBY'li hasta grubununkinden ($47.56 \pm 0.98\%$) belirgin olarak daha düşüktü (sırasıyla $p < 0.01$ ve $p < 0.05$).

Diyalize girmeyen KBY'li hastalar ile sağlıklı kontrol bireyler arasında ise ortalama NA yüzdesi yönünden istatistiksel bir fark yoktu ($p > 0.05$).



Şekil 1. Sağlıklı kontrol kişilerin (A), diyalize girmeyen üremiklerin (B) ve kronik hemodiyaliz hastalarının (C) nötrofil adherans yüzdesi (ortalama \pm SD).

Kronik hemodiyaliz hastalarının diyaliz tedavisinde oldukları süre ile NA yüzdeleri arasında gerek lineer ($F_{1,21} = 2.32$), gerekse non-lineer ($F_{2,21} = 1.38$) bir regresyon saptanmadır ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

KBY'li hastalarda inflamatuvar yanıtın belirlenmesi olarak azaldığı (7), nötrofillerin kemotaksi ve fagositoz fonksiyonlarında bozulmalar olduğu (2,13,17), iyi bilinen özelliklerdir. Buna karşın literatürde, araştırdığımız kadarıyla, NA ile ilgili yalnızca üç çalışma bulunmaktadır (1,12,21).

Çalışmamız, diyalize girmeyen üremiklerde NA'nın bozulmasını göstermektedir. Yukarıda sözü edilen üç çalışmanın sonuçları da aynı doğrultudadır. Buna karşın hemodiyaliz programındaki üremiklerin NA yüzdeleri, gerek sağlıklı bireylerininkinden, gerekse diyalize girmeyen üremiklerininkinden daha düşük bulunmuştur. Bu da hemodiyalizin NA'nı olumsuz yönde etkilediğini düşündürmektedir.

Hemodiyalizin nötrofiller üzerine zararlı etkisinin olabileceğine dair yayınlar varsa da (10,12,21), nötrofil aktivitesindeki bu depresyon, hakkında fazla şey bilinmeyen ve tümüyle aydınlatılmamış olan bir sorundur (5). NA'daki bozulma, intrensek ya da ekstrensek hücrel anomalilerin bir sonucu olabilir. Bir inhibitörün varlığı ya da stimulan bir faktörün yokluğu NA'nı modifiye edebilir (4).

Hemodiyaliz hastalarında serum CAMP ve CGMP düzeyleri yükselmektedir (5). Bu her iki molekül de "middle" molekül sınırları içerisinde büyüklüğe sahiptirler. Üremik "middle" moleküllerin, heksoz monofosfat aktivitesini azaltarak nötrofil fonksiyonlarını bozduğu gösterilmiştir (5,10). Huttenen ve arkadaşları (10), hemodiyaliz ve kronik ambulaluar peritonca! dializ (CAPD) hastalarında karşılaştırılmalı olarak yaptıkları çalışmada, CAPD hastalarının nötrofil fonksiyonlarını bozulmamış olarak bulmuşlar ve CAPD'mn "middle" molekül küresinin hemodiyalize kıyasla daha iyi olmasının hurda katkısı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Hemodiyaliz hastalarının düşük serum folat, askorbat ve nikotinat düzeylerinin de nötrofil disfonksiyonunda sorumlu olabileceği iddia edilmek-

tedir (5). Bir diğer faktör de nötrofillerin sellüloz membranla kontaktıdır. Senclik polimerik yüzeylerin lökosit alheransını, kemotaksisini ve fagositozunu bozduğu gösterilmiştir (10,23). Ayrıca bizzat hemodiyaliz esnasında ortaya çıkan NA değişiklikleri de membran kontaktıyla açıklanan ve çok iyi bilinen bir konudur (12,13,21).

İlginç bir görüş de; olası bir "adherans artırıcı faktör"ün (3,15) diyaliz sırasında plazmadan uzaklaştığı iddiasıdır (12). Gerçekten de diyalize girmeyen üremiklere kıyasla hemodiyaliz hastalarında NA yüzdelerinin daha düşük olması ve diyaliz sırasında alheransın daha da bozulması (12,13,21) bu iddiayı kuvvetle desteklemektedir. Ancak, adı geçen faktör izole edilip lanımlanmaya dek bu görüş ilginç bir spekülasyon olarak kalacaktır.

Çalışmamızda NA yüzdesi ile diyaliz tedavisinde geçen süre arasında bir ilişki ortaya çıkmamıştır. Lcspier-Dexler ve arkadaşları (12) da aynı sonucu elde etmişlerdir. Bu, nötrofillerin turnover'larının hızlı olması (3) ile açıklanabilir.

Sonuç olarak, nötrofil adheransındaki bozulmanın üremik sürecin değil, hemodiyalizin bir sonucu olduğunu; diyalize girmeyen üremiklerdeki artmış bakteriyel enfeksiyon riskinin nötrofillerin adherans özelliklerine bağlanamayacağını; buna karşın hemodiyaliz, hastalarında bozulmuş NA'nın bu riskte payı olabileceğini söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Ahrulya I, Solomons NW, Clair I-St, MacCregor RR, Root RK: Granulocyte function in patients with chronic renal failure: Surface adherence, phagocytosis and bactericidal activity in vitro.. *J Infect Dis.* 1977; 135:1-8
2. Baum J, Cestero RVM, Freeman RB: Chemotaxis of the polymorphonuclear leukocyte and delayed hypersensitivity in uremia. *Kidney Int (Suppl).* 1975; 2:147-153
3. Heck WS: leukocytes I. *Physiology.* In: Beck WS, ed *Hematology.* Cambridge. The MIT Press. 1985:269-273
4. Doulton-Jones J, Vick R, Cameron J, Black P: Immune response in uremia. *Clin Nephrol.* 1973; 1:6-11
5. De Bari VA, Needle MA: Polymorphonuclear leukocyte defects in chronic hemodialysis patients (letter). *Clin Nephrol.* 1984;22:51-52
6. Fordham JN, Kirwan J, Cason J, Curry III F: Prolonged reduction in polymorphonuclear adhesion following oral colchicine. *Ann Rheum Dis.* 1981; 40:605-8

7. Goldblum SE, Reed WP: Host defenses and immunologic alterations associated with chronic hemodialysis. *Ann Intern Med.* 1980, 93:597-613
8. Hanicki Z, Cichocki T, Komorowska Z, Sutowicz N, Smolcinski O: some aspects of cellular immunity in untreated and maintenance hemodialysis patients. *Nephron,* 1979,23:273-5
9. Hloy WE, Cestero RVM, Freeman RB: Dificiency of T and B lymphocytes in uremic subjects an partial improvement with maintenance hemodialysis. *Nephron,* 1978,20:182-8
10. Hutlunen K, Lampainc E, Silvennoinen-Kassinen S, Tiilikaienn A: the neutrophil function of uremic patients treated by hemodialysis or CAPD. *Scand J Urol Nephrol.* 1984. 18:167-172
11. Katz P: clinical and laboratory evaluation of the immune system. *Med Clin North Am.* 1985,69:453-464
12. Lespier-Dexter EE, Guerra C, Ojeda W, Martinez-Maldorado M: Granulocyte adherence in uremia and hemodialysis. *Nephrom,* 1979,24:64-68
13. Lewis SD, Van Epps DE: Neutrophil and monocyte alterations in chronic dialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 1987,381-395
14. MacGregor RR: The effect of anti-inflamoatory agents and inflammation on granulocyte adherence evidence for regulaiton by plasma factors. *Am J Med.* 1976,61:597-607
15. MacGregor RR: Granulocyte adherence changes induced by hemodialysis, endotoxin, epinephrine and glucocorticoids. *Ann Intern Med.* 1977, 86:35-39
16. Martin RR, Eknoyan G, Saenz C, Hyde SE: Effects of renal failure on leukotaxis. *J Med.* 1979,10:267-278
17. Montgomeire JZ, Kalmanson GM, Guze LB: Leukocyt phagocytosis and serum bactericidal activity in chronic renal failure. *Am J Med Sci,* 1972,264:385-393
18. Pabico RC, Douglas RG, Betts RE, McKenna BA, Freeman RB: Influenza vaccination of patients with glomerular diseases: Effects on creatinine clearance, urinary protein excretion and antibody response. *Ann Intern Med.* 1974,81:171-7
19. Selroos o, Pasternack A, Virolainc Mi Skin test sensitivity and antigen-induced lymphocyte transformation in uremia. *Clin exp Immunol,* 1973.14:365-370
20. Sokal RR, Rohlf EJ: *Biometry.* San Francisco, USA, WH Freeman and Company, 1969
21. Spagnuolo PJ, Bass SM, Smith MC et al: Neutrophil adhesiveness during prostacyclin and heparin hemodialysis. *Blood,* 1982,60:924-9
22. Touraine JE, Tourainc F, Revillard JP, Brochier J, Traeger J: T-lymphocytes and serum inhibitors of cell-mediated immunity in renal insufficiency. *Nephron,* 1975,14:195-208
23. Unarska M, Robinson GB: Adherence of human leukocytes to synthetic polymeric surfaces. *Life Supp Systems,* 1987,5:283-292
24. Nallenstein S, Zuckern CL, Flelss JE: Some statistical methods useful in circulation research. *Circ Res,* 1980,47:1-9