

Diyabetik Nefropatili Hastalarda Eritropoetin B6brek Fonksiyonları ile İlişkisi

The Relationship of Erythropoietin with Kidney Functions in Patients with Diabetic Nephropathy

Abdullah Durmaz* Nejla Barış* Zeliha Hekimsoy**
Ayşenur Atay* Mehmet K6seođlu*

*Atat6rk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, II. Biyokimya ve Klinik Biyokimya, İzmir

**Celal Bayar 6niversitesi, Tıp Fak6ltesi, Endokrinoloji B6l6m6, Manisa

6ZET

Amaç: Diyabetik nefropati, diyabetin başlıca mikrovask6ler komplikasyonlarından biridir ve t6m son d6nem b6brek yetmezliği vakalarının %30-40'ından sorumludur. Anemi, diyabetin çeşitli komplikasyonları ile birlikte ve etiyolojisi multifakt6riyeldir. Bu 7alışmada, diyabetik nefropatili hastalarda eritropoetin anemi ile ilişkisi incelendi. Ayrıca b6brek fonksiyonlarının takibinde eritropoetin etkinliği test edildi.

Gereç ve Y6ntem: Diyabetik nefropatili 25 tip 2 diyabetik hasta diyabetik nefropatili grup olarak ve komplikasyonsuz 20 tip 2 diyabetik hasta kontrol grubu olarak 7alıřmaya dahil edildi. Glukoz, 6re, kreatinin demir, total demir bağlama kapasitesi, beta 2-mikroglobulin, hemoglobinin (Hb), hematokrit (Htc), eritropoetin (EPO), 24 saatlik idrar mikroalbumin, protein ve kreatinin d6zeyleri 6l76ld6.

Bulgular: EPO d6zeyleri diyabetik nefropatili hastalarda kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı d6ř6k bulundu (11.27 ± 5.78 ve 17 ± 8.9 , $p < 0.05$). Diyabetik nefropatili grupta Hb ve Htc değerleri kontrol grubuna g6re anlamlı d6ř6k saptandı (Hb 12.6 ± 1.6 ve 13.6 ± 0.96 , $p < 0.05$ Htc 37.2 ± 5.2 ve 40.4 ± 2.9 , $p < 0.05$). Diyabetik nefropatili grupta EPO ile mikroalbumin ve 2-mikroglobulin d6zeyleri arasında anlamlı negatif korelasyon bulundu ($r = -0.259$, $p = 0.024$ ve $r = -0.217$, $p = 0.012$). Ayrıca EPO ile Hb ve Htc arasında pozitif korelasyon g6zlendi ($r = 0.424$, $p = 0.001$ ve $r = 0.279$, $p = 0.015$).

Tartışma: Diyabetik nefropatide, diğer olası nedenler dışlandıktan sonra, bu sonu7lar aneminin, EPO eksikliğine bağlı olduğunu d6ř6nd6rm6řt6r. EPO ile idrar 2-mikroglobulin ve mikroalbumin d6zeyleri arasındaki negatif korelasyon, diyabetli hastalarda EPO'in b6brek hastalığı g6stergesi olarak kullanılabileceğini g6stermiştir.

Anahtar S6zc6kler: Eritropoetin, diyabetik nefropati, mikroalbumin, beta 2-mikroglobulin

ABSTRACT

Objective: Diabetic nephropathy is a major microvascular complication of diabetes, and it is responsible for 30-40% of all end-stage renal disease cases. Anemia is associated with various complications of diabetes, and its etiology is multifactorial. In this study, we investigated the relationship between erythropoietin and anemia in patients with diabetic nephropathy. Also, we tested the efficacy of erythropoietin in monitoring renal functions.

Material and Methods: Twenty-five type 2 diabetic patients with diabetic nephropathy were enrolled as group with diabetic nephropathy and twenty type 2 diabetic patients without complications were enrolled as control group. Glucose, ürea, creatinine, iron, total iron binding capacity, hemoglobin(Hb), haematocrit(Htc), erythropoietin(EPO), beta 2-microglobulin, 24 hour urine microalbumin, protein and creatinine levels were measured.

Results: EPO levels in diabetic patients with nephropathy were found significantly low compared with the control group (Group with DN 11.27 ± 5.78 and control group 17 ± 8.9 , $p < 0.05$). In group with diabetic nephropathy, Hb and Htc levels were significantly lower than control group (Hb 12.6 ± 1.6 and 13.6 ± 0.96 , $p < 0.05$ Htc 37.2 ± 5.2 ve 40.4 ± 2.9 , $p < 0.05$). There was significant negative correlation between the EPO and microalbumin ($r = -0.259$, $p = 0.024$), $\beta 2$ -microglobulin ($r = -0.217$, $p = 0.012$) in group with diabetic nephropathy. Also, there was significant positive correlation between the EPO and Hb ($r = 0.424$, $p = 0.001$), Htc($r = 0.279$, $p = 0.015$).

Conclusion: These results suggest that anaemia observed in patients with diabetic nephropathy is due to EPO deficiency after excluding other possible causes. The negative correlation between EPO and urine microalbumin, $\beta 2$ -microglobulin levels shows that EPO can be used as an indicator of kidney disease in patients with diabetes.

Key Words: Erythropoietin, diabetic nephropathy, microalbumin, beta 2-microglobulin

GİRİŞ

Diyabetik nefropati (DN), tip 2 diyabetes mellitus (DM)lu hastaların yaklaşık %20'sinde görülen, major mikrovasküler komplikasyondur (1-3). Renal replasman tedavisi gören hastaların %40'ını diyabetik nefropatili hastalar oluşturmaktadır (4). Anemi diyabetin çeşitli komplikasyonları ile birlikte olup, etiyojisi multifaktöriyeldir (5). Bununla birlikte anemi nedeninin belirlenemediği vakalar da mevcuttur (6).

EPO, eritrositozu stimüle eden endojen glikoprotein bir hormondur. EPO, böbreğin interstisyel kortikal hücrelerinde üretilir (7,8). Anemik hastaların çoğunda Hb konsantrasyonu ile serum EPO düzeyleri arasında ters ilişki vardır (9). Bununla birlikte böbrek yetmezliği olan hastalarda veya kronik hastalık anemisinde derin anemiye rağmen, serum EPO düzeyleri düşüktür (10). DN'li hastalarda EPO eksikliğine sekonder gelişen anemi, diyabeti olmayan nefropatili hastalardan daha erken görülür (11,12). EPO düzeylerinin düşüklüğü normal böbrek fonksiyonlu diyabetik hastalarda da rapor edilmiştir (7).

Çalışmamızın amacı; diyabetik nefropatili hastalarda aneminin EPO ile ilişkisini incelemek, EPO'nin tubulointerstisyel hasarın dere-

cesini ve böbrek fonksiyonlarının takibinde kullanılabilirliğini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya daha önce Tip 2 DM tanısı almış ve Diyabet ve Endokrinoloji polikliniğince takip edilen, 25 diyabetik nefropatili hasta ile yaş, cins, kilo ve vücut kitle indeksi (VKİ) bakımından benzer özellikteki nefropatili olmayan tip 2 DM lu 20 hasta kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. İdrar yolu enfeksiyonu, konjestif kalp yetmezliği, karaciğer hastalığı, akut enfeksiyon, nefrotoksik olduğu ve/veya renal fonksiyonları etkilediği bilinen ilaçları kullanan hastalar ve demir tedavisi alanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Kan örnekleri sabah 8:00 ve 10:00 arasında, bir gece açlık sonrasında, vakumlu tüplere alındı ve 15 dk 3000 rpm'de santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Glukoz, üre, kreatinin, demir, total demir bağlama kapasitesi, $\beta 2$ -mikroglobulin, Hb ve Htc düzeylerinin ölçümleri örneklerin toplandığı gün yapıldı. EPO ölçümü için serum, 1 ml kapaklı godeler içinde çalışıldığı güne kadar -20°C 'de saklandı. Yirmidört saatlik idrar örneklerinden mikroalbumin ve kreatinin çalışıldı. Glukoz (hekzokinaz yöntemi), üre (nitroz-PSAP metodu),

kreatinin (Jaffe metodu), demir ve total demir bağlama kapasitesi (nitröz-PSAP kolorimetrik yöntem) düzeyleri Olympus System Reagent ticari kitleri kullanılarak Olympus AU 5200 otoanalizöründe ölçüldü (Olympus, Japonya).

Serum 2-mikroglobulin ve idrar mikroalbumin düzeyleri Beckman Assay 360 System cihazında nefelometrik yöntemle ticari kitler kullanılarak çalışıldı (Beckman Coulter, ABD).

Serum EPO konsantrasyonları, Immulite One Bio DPC ana lizöründe immunassay yöntemle Immulite DPC ticari kitleri kullanılarak saptandı (Bio DPC, ABD).

İstatistik

Tüm istatistiksel analizler SPSS (version 11.0; SPSS Inc, Chicago, IL, USA) kullanılarak yapıldı. Veriler %95 güven aralığında ortalama \pm standart sapma (SD) olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılıklar independent student t testi kullanılarak saptandı. Değişkenler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde Pearson korelasyon katsayısı (r) kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlı farklılık olarak kabul edildi.

BULGULAR

Hastaların demografik özellikleri Tablo 1'de özetlendi. Gruplar arasında yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ) ve diyabet süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. DN'li grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; eritropoetin düzeyleri DN'li grupta kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu ($p=0.028$). Hb ve Htc düzeyleri ise DN'li grupta belirgin olarak düşük bulundu (sırasıyla $p= 0.002$ ve $p= 0.021$). İdrar mikroalbumin ve 2-mikroglobulin düzeyleri DN'li grupta, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p= 0.001$ ve $p= 0.009$) (Tablo 2). DN'li

Tablo 1. Hastaların demografik özellikleri.

	DN'li grup (n=25)	Kontrol grubu (n=20)
Yaş (yıl)	61.48 \pm 9.65	61.20 \pm 7.77
Cinsiyet Kadın	14 (%56)	12 (% 60)
Erkek	11 (%44)	8 (%40)
VKİ (kg/m ²)	28.22 \pm 4.27	27.38 \pm 3.00
Diyabet süresi (yıl)	12.00 \pm 6.20	11.70 \pm 6.77

Değerler: ortalama \pm standart sapma
VKİ: Vücut kitle indeksi

Tablo 2. Hastaların gruplar arası farklarının değerlendirilmesi.

	DN'li grup (n=25)	Kontrol grubu (n=20)	P değeri
EPO (mIU/mL)	11.27 \pm 5.78	17.00 \pm 8.90	$p=0.028$
Hb (gr/dL)	12.60 \pm 1.60	13.60 \pm 0.96	$p=0.002$
Htc (%)	37.20 \pm 5.20	40.40 \pm 2.90	$p=0.021$
MA (idrar) (mg/dL)	9.18 \pm 7.00	0.51 \pm 0.39	$p=0.001$
2-MG (idrar) (mg/L)	0.27 \pm 0.15	0.18 \pm 0.67	$p=0.009$

Değerler: ortalama \pm standart sapma, EPO: Eritropoetin, Hb: Hemoglobin, Htc: Hematokrit, MA: Mikroalbumin, 2-MG: 2-mikroglobulin

Tablo 3. Hastaların biyokimyasal parametrelerinin değerlendirilmesi.

	DN'li grup (n=25)	Kontrol grubu (n=20)	P değeri
AKŞ (mg/dL)	165.25 \pm 51.24	146.05 \pm 44.31	$p>0.05$
TKŞ (mg/dL)	201.87 \pm 67.04	190.82 \pm 57.96	$p>0.05$
HbA1C (%)	7.07 \pm 1.11	7.13 \pm 1.30	$p>0.05$
Üre (mg/dL)	42.36 \pm 23.8	34.80 \pm 11.09	$p>0.05$
Kreatinin (mg/dL)	1.26 \pm 0.67	0.89 \pm 0.23	$p>0.05$
Demir (μ g/dL)	66.84 \pm 14.60	77.10 \pm 18.84	$p>0.05$
TDBK (μ g/dL)	232.36 \pm 56.88	220 \pm 63.67	$p>0.05$

Değerler: ortalama \pm standart sapma, AKŞ: Açlık kan şekeri, TKŞ: Tokluk kan şekeri, HbA1C: Glikozile hemoglobin, TDBK: Total demir bağlama kapasitesi

ve kontrol grubunun biyokimyasal parametrelerinin sonuçları ve değerlendirilmesi Tablo 3'te gösterildi.

EPO düzeyleri ile mikroalbumin ve 2-mikroglobulin arasında negatif bir korelasyon saptanırken ($r=-0.259$, $p=0.024$ ve $r=-0.217$, $p=0.012$), EPO ile Hb ve Htc arasında pozitif korelasyon gözlemlendi ($r=0.424$, $p=0.001$ ve $r=0.279$, $p=0.015$).

TARTIŞMA

Anemi, tip 2 DN'li hastalarda yaygın olarak görülmekte, başka nedenlere bağlı kronik böbrek yetmezliği olanlardan daha erken dönemde ve daha şiddetli seyretmektedir. Çeşitli çalışmalarda, anemi insidansının böbrek hastalığı olan DM'lu kişilerde, böbrek hastalığı olmayan DM'lu kişilerden 4 kat fazla olduğu gösterilmiştir (11,13-15). Çalışmamızda Hb ve Htc düzeyleri ise DN'li grupta, nefropatisi olmayan diyabetik gruba nazaran düşük bulundu. Fakat Hb ve Htc değerleri her iki grupta da normal değer aralığındaydı.

EPO, böbreğin peri-tubuler hücrelerinde üretilen, eritrositozu stimüle eden glikoprotein hormondur (7,16). Bizim çalışmamızda eritropoetin düzeyleri, DN'li grupta nefropatisi olmayan diyabetik hasta grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur. Düşük EPO düzeyleri, EPO sentezleyen hücreleri etkileyen renal interstisyel hasarın erken göstergesi olabilir. Ayrıca EPO düzeyleri ile Hb ve Htc düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon, diyabetik hastalarda aneminin erken tespitinde EPO'nin rutin olarak ölçülmesinin faydalı olabileceğini göstermektedir.

Mikroalbuminürinin (üriner albumin atılımı 30-300 mg/24 saat) varlığı, diyabetik renal hasarın erken göstergesidir. Mikroalbuminürik hastalarda, makroalbuminüri (üriner albumin atılımı >300 mg/24 saat) ve böbrek yetmezliği gelişme riski yüksektir (7). EPO düzeyleri ile mikroalbumin düzeyleri arasında negatif korelasyon, EPO düzeylerinin düşüklüğünün nefropati gelişme riskinin habercisi olabileceğini düşündürmektedir.

-2-mikroglobulin düşük moleküler ağırlıklı protein olup, proksimal renal tubuler fonksiyon indeksi olarak kullanılır. Bu protein glomeruller tarafından filtre edilip, %95'ten fazlası proksimal tubullerde reabsorbe ve katabolize olur. Filtre edilen protein dolaşıma dönmez (17,-20). Diyabetik nefropatili hastalarda -2-mikroglobulin atılımının anlamlı düzeyde artması, bozulmuş tubuler reabsorpsiyon göstergesidir. EPO düzeyleri ile 2-mikroglobulin düzeyleri arasında negatif bir korelasyon da EPO ölçümünün bozulmuş tubuler fonksiyonun göstergesi olabileceği yönündedir.

Sonuç olarak, çalışmamızın verilerine göre, diyabetik hastalarda EPO düşüklüğü, klinik olarak saptanmamış anemi ile ilişkili olabilir. Bununla birlikte EPO düzeylerinin rutin olarak bakılması fayda sağlayabilir. EPO düzeylerinin ölçümü, tubulointerstisyel hasar ve böbrek fonksiyon takibinde kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. Joss N, Patel R, Paterson K, Simpson K, Perry C, Stirling C. Anaemia is common and predicts mortality in diabetic nephropathy. QJM 2007; 100: 641-7.
2. Singh DK, Winocour P, Summerhayes B, Viljoen A, Sivakumar G, Farrington K. Are low erythropoietin and 1,25-dihydroxyvitamin D levels indicative of tubulo-interstitial dysfunction in diabetes without persistent microalbuminuria? Diabetes Res Clin Pract 2009; 85: 258-64.
3. Tong Z, Yang Z, Patel S. Promoter polymorphism of the erythropoietin gene in severe diabetic eye and kidney complications. PNAS 2008; 105: 6998-7003.
4. Molitch ME, DeFronzo RA, Franz MJ, Keane WF, Mogensen CE, Parving HH; American Diabetes Association. Diabetic nephropathy. Diabetes Care 2003; 26: 94-8.
5. Symeonidis A, Psiroyannis A, Kyriazopoulou V, Kapatais-Zoumbos K, Missirlis Y, Zoumbos N. Impairment of erythrocyte viscoelasticity is correlated with levels of glycosylated haemoglobin in diabetic patients. Clin Lab Haematol 2001; 23: 103-9.
6. Stevens PE, O'Donogue DJ, Lameire NR. Anemia in patients with diabetes: unrecognized, undetected and untreated? Curr Med Res Opin 2003; 19: 395-401.

7. Cosimo M, Brunoa T, Sciacca C, Bertino G, Cilioa D, Pellicanob R, Marchesec AE, Politic G, Chinnici L. Circulating erythropoietin in microalbuminuric type 2 diabetic patients with normal renal function: a pilot study. *J Diabetes Complications* 2006; 20: 376-9.
8. Sekiguchi N, Inoguchi T, Kobayashi K, Nawata H. Effect of erythropoietin on endothelial cell apoptosis induced by high glucose. *Diabetes Res Clin Pract* 2004; 66: 103-7.
9. Klerk G, Rosengarten PC, Vet RJ, Goudsmit R. Serum erythropoietin (EST) titers in anemia. *Blood* 1981; 58: 1164-70.
10. Symeonidis A, Kouraklis-Symeonidis A, Psiroyiannis A, Leotsinidis M, Kyriazopoulou V, Vassilakos P, Vagenakis A, Zoumbos N. Inappropriately low erythropoietin response for the degree of anemia in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Hematol* 2006; 85: 79-85.
11. Bosman DR, Winkler AS, Marsden JT, Macdougall IC, Watkins PJ. Anemia with erythropoietin deficiency occurs early in diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2001; 24: 495-9.
12. Mojiminiyi OA, Abdella NA, Zaki MY, El Gebely SA, Mohamedi HM, Aldhahi WA. Prevalence and associations of low plasma erythropoietin in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 2006; 23: 839-44.
13. Thomas MC, Tsalamandris C, MacIsaac R, Jerums G. Functional erythropoietin deficiency in patients with Type 2 diabetes and anaemia. *Diabet Med* 2006; 23: 502-9.
14. Thomas MC, MacIsaac RJ, Tsalamandris C. The burden of anaemia in type 2 diabetes and the role of nephropathy: a cross-sectional audit. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 1792-7.
15. Sasso FC, De Nicola L, Carbonara O. Cardiovascular risk factors and disease management in type 2 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2006; 29: 498-503.
16. Adetunji OR, Mani H, Olujuhungebe A, Abraham KA, Gill GV. 'Microalbuminuric anaemia'—The relationship between haemoglobin levels and albuminuria in diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2009; 85: 179-82.
17. Walton C, Bodansky HJ, Wales JK, Forbes MA, Cooper EH. Tubular Dysfunction and Microalbuminuria in Insulin Dependent Diabetes. *Arch Dis Child* 1988; 63: 244-9.
18. Viberti GC, Keen H, Mackintosh D. Beta2-microglobulinaemia: a sensitive index of diminishing renal function in diabetics. *BMJ* 1981; 282: 95-8.
19. Stadius Van Eps LW, Schardijn GH. Value of determination of beta 2-microglobulin in toxic nephropathy and interstitial nephritis. *Wien Klin Wochenschr* 1984; 96: 673-8.
20. Miyata T, Jadoul M, Kurokawa K, Van Ypersele de Strihou C. Beta-2 microglobulin in renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1723-35.

Yazışma adresi:

Dr. Nejla Barış
Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
II. Biyokimya ve Klinik Biyokimya, İzmir
Tel : 0 232 244 44 44
Faks: 0 232 243 15 30
E-posta: nejlabaris@yahoo.com
