

ÜREMİLİ HASTALARDA KROMOZOM BOZUKLUKLARI VE BUNA HEMODİYALİZİN ETKİSİ

Kuddusi Cengiz*, Deter K. Hossfeld**, Roland Anthone.,
Sidney Anthone ve Avery A. Sandberg.

Anahtar kelimeler : Üremi, hemodiyaliz, kromozom bozuklukları
Key words : Uremia, hemodialysis, chromosomal abnormalities

Üreminin immün sistemi inhibe ettiği insan ve deney hayvanlarında gösterilmiştir¹⁻⁴. Üremili hastalarda yüksek oranda enfeksiyona meyil^{5,6} çeşitli antijen ve mitojenlere karşı cevapsız cilt testleri⁷⁻⁹ immün yetersizliğin klinik yönünü göstermektedir.

Epidemiyolojik çalışmalarda, insanlardaki tüm kanserlerin % 80 - 90 kadarının çevresel karsinojenlerle meydana geldiği çevredeki zararlı kimyasal ve fiziksel etkenlerin ortadan kaldırılması ile insanlardaki tüm kanserlerin üçte ikisinin önlenebileceği ileri sürülmüştür¹⁰⁻¹². Çevresel karsinojenlerin organizmada kanser meydana getirebilmesi, organizmanın genetik ve immün yapısı ile yakından ilgilidir. Yine uzun zamandan beri kromozom anomalilerinin kanser patogeneğinde önemli rol oynadıkları, karsinojenik ajanların kromozomlarda bazı özel değişiklikler yaparak kanser meydana getirdikleri^{13,14} ve prekanseröz durumlarda kansere ait histopatolojik değişikliklerin ortaya çıkması seneler alabildiği halde kromozomlardaki anomalilerle prekanseröz durumların çok daha önceden tanınabileceği bildirilmiştir¹⁵⁻¹⁷. Literatür incelendiğinde hemodiyalizli böbrek hastalarında kromozom analizini gösteren çok az çalışmaya rastlanılmıştır^{18,19}. Üremide

Çalışmanın yapıldığı yer : Roswell Park Memmorial Institute (K.C., D.K.H., A.A.S) and the Dialysis and Kidney Transplant Program of the Buffalo General Hospital (S.A., R.A), Buffalo, N. Y.

* From Ondokuzmayıs University Scholl of Medicine, Department of Internal Medicine, Samsun - TURKEY

** Visiting Professor, Department of Oncology and Hematology Martinistrasse 52, 2 Hamburg 20 West GERMANY

yetersizlik oluşturabilen toksik maddelerin vücuttan atılımına hemodiyaliz etkisi tartışmalı olup, bazı araştırmacılara göre toksik maddelerin hemodiyalizle yok edilebileceği²⁰, bazılarına göre de tamamen ortadan kaldırılamıyacağı²¹⁻²⁷ bildirilmiştir. Hemodiyaliz uygulanan ve uygulanmayan üremili hastalarda karşılaştırılmalı kromozom çalışmasına ise rastlanılmamıştır. Bu yüzden üremili hastalarda böbreklerden atılamayan bazı maddelerin fazlalığının veya eksikliğinin üremili hastalarda kromozomal seviyedeki etkileri ve hemodiyalizin kromozom anomalilerine etkisini araştırmaya yönelik çalışmanın yararlı olabileceğini düşündürmüştür.

Materyal ve Metod

Çalışmaya çeşitli nedenlerle bağlı son dönem böbrek hastalığı olan "Roswell Park Memorial Institute Cancer Cell Center, Buffalo N.Y. ve Buffalo General Hospital" Temmuz 1979 ve Kasım 1980 tarihleri arasında başvuru alan, 47 üremili hasta alındı. Hastalardan 3 tanesinde uygun metafaz bulunamadığından çalışma dışı bırakıldı.

Kontrol grubumuz hiçbir hastalığı olmayan, en az son 3 ay içerisinde hiçbir ilaç kullanmayan (doğum kontrol ilaçları dahil), kimyasal toksinlerle ilişkisinin olmadığına inanılan, kan verebilecek kadar sağlıklı olan 24 kan vericisi oluşturmuştur. Kontrol grubunun yaşları 17-51 yaş arasında değişmekte idi. Bunların 12'si kadın, 12'si erkekti. Yaş ortalaması kadınlar için 29 erkekler için 34 idi.

Hasta grubumuz üremi tanısı almış, hemodiyaliz gereksinmesi olan 44 hastayı içermektedir. Hastaların 25'i erkek, 19'u kadın olup, yaşları 19-72 yaş arasında değişiyordu. Ortalama yaş kadınlar için 49, erkekler için de 48 yıl idi. Hasta seçiminde hastaların steroid dahil immün sistemi baskılayan hiçbir ilaç almamalarına özen gösterilerek, sitostatik ve immün depresan ilaç kullananlar çalışma dışı bırakıldı.

Araştırma grubunu oluşturan hastaların histopatolojik tanılarına göre gruplara dağılışı; kronik glomerulonefritis, 16; Diabetik Glomerulosklerosis 11; son dönem Böbrek Hastalığı, 7; polikistik böbrek hastalığı, 3; kronik pyelonefritis, 2; Intertisyel Nefritis, 2; Nefrosklerosis, 1; İnaktif lupus Nefritisi, 1; Obstrüktif uropati, 1.

Tüm hastalarımızda hastalık süresi 10-360 ay arasında değişmektedir. 12 hasta diyaliz başlamadan önce, geri kalan 32 hastaya da muntazam biçimde haftada 2 kez hemodiyaliz uygulanmakta idi. Diyaliz uygulanan hastalar diyalizlerinin 1-16'ncı aylarında ortalama 5,43 üçüncü ayında çalışmaya alınmıştır. Her hastada diyaliz süresi hastanın ihtiyacına göre 6-8 saat

devam ettirilmiştir. Diyalizde, 1.3, 1.8 m² yüzölçümlü yapay böbrek filtreleri (Hollow Fiber artificial Kidneys diyalayzer) kullanılmıştır. Tüm hastalar antiasit ve vitamin bazıları da antihipertansif ilaçlar almaktaydılar. Hastaların büyük bir kısmı anemik ve lokopenikti. Çalışma sırasında hastalarda enfeksiyon belirtileri yoktu.

Hastalarda BUN değerleri 68.2 - 146.7 % mg, kan kreatinin, 8 - 16 % mg, kreatinin klerens 24 saatlik 4.8 - 10 ml./dk (1.73 m² vücut yüzeyinde) Alkalen fosfataz 17 - 554 mU/ml. arasında değişmekte idi. Tüm hastalar doktor kontrolünde olup, belirgin elektrolit bozukluğu rastlanmamıştır.

Diyalizde, 1.3 - 8 m² yüzölçümlü suni böbrek filtreleri (Hollow Fiber artificial Kidneys diyalayzer) kullanılmıştır. Diyaliz aletleri % 2 formaldehit ile steril edilip, tuzlu su ile yıkanmıştır. Tüm hastalar antiasit ve vitamin bazıları da antihipertansif ilaçlar almaktaydılar.

Çalışma için 15 ml. heparinli kan (prezervatifsiz) içerisinde 50 Ün/ml penisilin, 50 Mg/ml. streptomisin ve RPMI - 1640 doku kültürü + % 16.7 fetal dana serumu içeren 3 ml. lik besi ortamına konuldu. Doku kültür zamanı, doku kültür mikroskobunda üreme olup olmadığı kontrol edilerek elde edilen zamana göre ayarlandı. Kromozom çalışması için kültür zamanı 72 ve 96 saat olarak tesbit edildi.

Kromozom hazırlanmasında Sandberg'in metodu²⁸ uygulandı. Kültür zamanının bitiminden 2 saat önce her bir doku kültür kutusuna kromozomları metafaz evresinde durdurmak için, ortalama 0.2 mg/ml olacak şekilde kolşisin (N - acetyl - N - methyl) Calchicine CIBA ilave edildi. Kurutulmuş preparatlar % 5 Giemsa boya solüsyonunda (Merck Giemsa Lösung 5 ml - 95 ml. Söcensen fosfat tamponu pP - 7 M/5) 10 dakika boyandı. Kromozomları en iyi dağılan metafazlar içinden örnekler seçilerek her metafaz kromozomları hem yapısal hem de sayısal olarak incelendi. Kromozomlar incelenirken önce gruplarına sonra da her gruptaki kromozomları ayrı ayrı incelendi. Kromozomların bazı gruplarının kendi içlerinde sınıflandırılması, sitogenetik terminolojisinin temel prensiplerinin saptandığı Paris konferansına göre yapıldı²⁹. Resimleri çekildi.

Araştırma verilerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi amacıyla ortalamalar ve yüzdelere arasında t - testi uygulandı ve karşılaştırılmasında korelasyon katsayısı hesaplandı³⁰.

Bulgular

Kromozom çalışması için üremili hastalardan toplam 1227, kontrol grubu içinde 729 metafaz değerlendirildi. Hasta grubundaki her vaka için 25 - 50

ortalama 27.88 metafaz, kontrol grubundakiler içinde 30 - 40 arasında ortalama 30 - 32 metafaz incelenebildi. İncelenebilir metafaz yönünden hastalar arasında küçük farklılıklar mevcuttu. Hastaların 32 (% 72.72) sinde 25; 7 (% 15.90) sinde 30; 2 (% 4.54) sinde 50 ve 1 (% 2.27) inde de 37 metafaz sayılabildi. Hasta grubundaki her kromozom preparatında incelenebilen metafaz sayısı, kontrol grubundaki metafaz sayısından düşüktü. Yukarıdaki metafazların elde edilebilmesi için kontrol grubundakilere 4 kromozom preparatı yeterli geldiği halde hasta grubundakiler için 6 - 8 kromozom preparatının hazırlanması gerekti.

En çok rastlanan kromozom anomalisi asentrik parçalanma idi. Kromozomlardaki asentrik parçalanma hemodiyaliz uygulanan 32 hastanın 28 (% 88.6) inde gözlemlendi. Kromozomlardaki asentrik parçalanma ile hastalığın süresi ve hastaların kan kreatinin düzeyleri arasında pozitif bir ilişki, kreatinin klerens değerleri ile de negatif bir ilişki bulundu ($P < 0.001$; t - test). Kromozomlardaki bu anomali ile hastaların kan üre ve alkalen fosfataz düzeyleri arasında hiçbir ilişki bulunamadı ($P > 0.05$; t - test).

Hastalarda kromozomal asentrik parçalanmadan başka; kromozomlarda sentrometrik balonlaşma (centromeric ballooning), kromozom ve kromatid kırıkları, kromozomlarda aralanma (gap) halka kromozom anomalisi ve marker kromozom tesbit edildi ise de, hasta grubu, diyaliz ve diyaliz öncesi diye ayrıldığı zaman gruplara düşen kromozom anomalilerinin azlığı istatistiksel değerlendirmeye olumsuz yönde etkileyebileceğinden bu iki grubun karşılaştırılması en sık rastlanan kromozomal asentrik parçalanma anomalisine göre yapıldı. Bu kromozomal anomali yönünden hemodiyaliz uygulanmayan ve uygulanan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($P > 0.05$ Tablo I).

TABLO I.

Hemodiyalizin Kromozom Anomalilerine Etkisi

Hemodiyaliz Durumu	Vaka Sayısı	Ortalama Anomali	Kromozom Sayısı	
Hemodiyaliz uygulanmakta olan hastalar	28	9.39	±	4.10
Diyaliz öncesi Hastalar	12	9.16	±	4.70
t - değeri		0.144		
p - değeri		P 0.05		

Kontrol grubunu oluşturan kişilerin hiç birinde, kromozomlarda asentrik parçalanma, tesbit edilmedi. Sadece 3 kişide kromozomal kırık, 2 kişide de kromozomal aralanma gözlemlendi. Kromozomal kırıkları toplam metafazın % 0.4 ünü kromozomal aralanmalarda % 0.2 sini oluşturmaktadır. Hasta ve kontrol grubu istatistiksel olarak karşılaştırılmasında çok anlamlı fark gözlemlendi ($P < 0.01$; t - test).

Tartışma

Çalışmamızda hasta grubunda sayılabilen metafaz sayısı kontrol grubuna kıyasla önemli derecede az olup, hastaların 32 (% 72.72) sinde 25; 7 (% 15.9) sinde 30; 2 (% 4.54) sinde 40; 2 (% 4.54) sinde 50 ve 1 (% 2.27) inde de 37 metafaz sayılabildi. Hasta grubunda her vaka için 25 - 50 ortalama 27.88 metafaz, kontrol grubundakiler içinde 30.40 arasında ortalama 30.32 metafaz incelenebildi. Bu metafaz değerleri için kontrol grubundakilere 4 kromozom preparatı yeterli geldiği halde hasta grubundakiler için 6 - 8 kromozom preparatının hazırlanması gerekti. Üremili hastalarda elde edilen metafaz sayısının azlığından hastalardaki lökosit sayısının azlığı sorumlu olabilirdi. Gerçekten de, hastalarımızın tümü lökopenik olup, lökosit sayısı 2000 mm^3 altında 3 hastamızdan uygun metafaz elde edilemediğinden çalışma dışı bırakıldı.

Üremili hastalarda en çok rastlanan kromozom anomalisi asentrik parçalanma idi. Kromozomlardaki asentrik parçalanma ile hastalığın süresi ve hastaların kan kreatinin düzeyleri arasında pozitif bir ilişki, kreatinin klerens değerleri ile de negatif bir ilişki bulundu ($p < 0.001$; t - test).

Kromozomlardaki asentrik parçalanma ile hastaların kan üre ve alkalen fosfataz düzeyleri arasında hiçbir ilişki bulunamadı ($P > 0.05$; t - test). Bu da bize en sık rastlanan kromozom anomalisi olan asentrik parçalanmanın hastalık süresi ve şiddeti ile yakın ilişkisi olabileceğini göstermiştir. Gerçekten de üremili hastaların kan üre düzeyi hastalığın şiddetini tamamiyle yansıtmadığı bildirilmiştir^{3,31,33}. Kan alkalen fosfataz değerleri ise, böbrek fonksiyonlarından daha çok üremik komplikasyonları (renal osteodistrofi, malignant durumlar gibi) göstermesi açısından değerlidir. O nedenle kromozom çalışmaları hastalığın değerlendirilmesinde yardımcı olabilir.

Kontrol grubunu oluşturan 24 sağlıklı kişinin hiçbirinde kromozomlarda asentrik parçalanma tesbit edilmedi. Sadece 3 kişide kromozomal kırık, 2 kişide de kromozomal aralanma gözlemlendi. Kromozomal kırıklar, toplam metafazın % 0.4 ünü, kromozomal aralanmalarda % 0.2 sini oluşturmaktadır. Hasta ve kontrol grubu istatistiksel olarak karşılaştırıldığında çok anlamlı fark gözlemlendi ($P < 0.001$; t - test).

Kromozomlarda asentrik parçalanma, hemodiyaliz uygulanan 32 hastanın 28 inde tesbit edildi. Kromozomlardaki asentrik parçalanma yönünden, hemodiyaliz uygulanan hastalarda uygulanmayanlar arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark görülmedi ($P > 0.05$; t-test). Çalışmamızın bu bölümüne literatürde rastlanılmamış olup, bulgular üremik toksinlerin bazı larını diyalizle vücuttan temizlenemeyeceği görüşünü destekler niteliktedir²¹⁻²⁷.

Kontrol grubumuzdaki kromozom çalışma sonuçları, diğer çalışmaların kontrol grupları ve sağlam kişilerde rastlanabilen pek düşük orandaki kromozom anomalileri ile uyumludur^{8,13}.

Kromozom anomalilerine neden olabilecek üremik toksinler tam ayırt edilememiş olmasına karşın, üremide biriken bazı maddelerin fazlalığı yanında hemotopoez için gerekli maddelerin eksikliklerinin bu kromozom anomalilerine neden olabileceği düşünülmüştür.

Özet

Üremili hastalarda hücrese seviyede meydana gelebilecek düzensizlikleri ve bunlara diyalizin etkisini araştırmak amacı ile, 44 üremili hasta ve 24 sağlıklı kişinin fitohemaglutinin (PHA) ile uyarılmış periferik kan lenfositlerinde kromozom analizi yapıldı. Hemodiyalizin etkisi araştırıldı. Hemodiyalizin kromozom bozukluklarına etkisi gözlenmedi.

Summary

Chromosome Abnormalities and Hemodialysis in Uremic Patients.

Abstract: Phytohemagglutinin (PHA) stimulated peripheral blood lymphocytes from 44 uremic patients and 24 control subjects were studied cytogenetically and the effect of hemodialysis was discussed. The effect of hemodialysis on chromosomal abnormalities was not detected.

Kaynaklar

1. Newberry, WM. and Sanford, JP ; Defective cellular immunity in renal failure: depression of reactivity of lymphocytes to phytohemagglutinin by renal failure serum. J Clin. Invest., 50:1262, 1971.
2. Quadracci LJ, Ringden O, Krzymanski M: The effect of uremia and transplantation on lymphocyte subpopulations. Kidney Int., 10:179, 1976.
3. Silk MR. : The effect of uremic plasma on lymphocyte transformation. Invest. Urol., 5:195, 1967.

4. Wilson WEC, Kirkpatrick CH, and Talmage DW : Suppression of immunologic responsiveness in uremia. *Ann. Intern. Med.*, 62:1, 1965.
5. Montgomerie JZ, Kalmanson GM, Guze LB : Renal failure and infection. *Medicine*, 47:1, 1968.
6. Siddiqui JY, Fitz AE, Lewion RL, Kirkendall WM : Causes of death in patients receiving long-term hemodialysis. *JAMA*, 212:1350, 1970.
7. Coulson AS, and Chalmers DG : Response of human blood lymphocytes to tuberculin PPD in tissue culture. *Immunology*, 12:417, 1967.
8. Dammin GJ, Couch NP, and Murray JE : Prolonged survival of skin homografts in uremic patients, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 64:967, 1957.
9. Wilson, WEC, Kirkpatrick CH, and Talmage DW : Suppression of immunologic responsiveness in uremia. *Ann. Intern. Med.*, 62:1, 1965.
10. Doll R, Payne P, Waterhouse J, (eds). : Cancer incidence in five continents. A technical report (UICC). Springer-Verlog, New York, 1966.
11. Higginson J, Muir CS : Epidemiology of cancer in Holland, J.F., Frei, S., III. eds. *Cancer Medicine*. Philadelphia: Lea and Febiger., 241, 1973.
12. Nelson N : Cancer prevention: Environmental, Industrial, and occupational factors. *Cancer*, 47:1065.
13. Rowley D : Chromosome abnormalities in cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics.*, 2:175, 1980.
14. Sandberg AA : The chromosome in human cancer and leukemia New York: Elsevier, 427, 1980.
15. Nowell PC : Marrow chromosome studies in "preleukemia". Further correlation with clinical course. *Cancer*, 28:513, 1971.
16. Nowell PC : Diagnostic and prognostic value of chromosome studies in cancer. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 4:234, 1974.
17. Sandberg AA : The chromosome in human cancer and leukemia. New York: Elsevier, P. 172, 1980.
18. Balicek P, Klein R, Hager J : Chromosomal patterns in patients treated in chronic intermittent haemodialysis programme. *Sb. Ved. Pr. Lek. Fak. Karlovy Univ. (Suppl.)*, 22:1, 1979.
19. Goh K, and Cestero, FVM : Chromosomal abnormalities in maintenance hemodialysis patients. *J. Med.*, 10:167, 1979.
20. Newberry, WM, and Sanford JP : Defective cellular immunity in renal failure: depression of reactivity of lymphocytes to phytohemagglutinin by renal failure serum. *J. Clin. Invest.*, 50:1262, 1971.
21. Birkeland SA : Uremia as a state of immune deficiency. *Scand. J. Immunol.*, 5:107, 1976.
22. Daniels JC, Sakai H, Remmers AR, Sarles HW, Fish JC, Cobb EI, Levin WC, and Ritzmann SE : In vitro reactivity of human lymphocytes in chronic uremia: analysis and interpretation. *Clin. Exp. Immunol.*, 8:213, 1971.
23. Holdsworth RS, Fitzgerald CS, and Atkins RC : The effect of maintenance dialysis on lymphocyte function. *Clin. Exp. Immunol.*, 33:95, 1978.
24. Kasakura S, and Lowenstein L : The effect of uremic blood on mixed leukocyte reactions and on cultures of leukocytes with phytohemagglutinin. *Transplantation.*, 5:283, 1967.

25. Nakhla LS, Goggin MJ : Lymphocyte transformation in chronic renal failure. *Immunology.*, 24:229, 1973.
26. Navarro J, Touraine JL, Corre C, Traeger J : Prolongation of skin allograft survival and inhibition of graft versus host reaction in rodents treated with "middle molecules" *Cell Immunol*, 31:349, 1977.
27. Nelson DS, and Penrose JM : Macromolecular inhibitor of lymphocyte transformation in serum from patients with chronic renal failure. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. (Pt. 2).*, 51:259, 1973.
28. Sandberg AA : The chromosome in human cancer and leukemia. New York: Elsevier, 99, 1980.
29. Paris Conference : Standardization in Human cytogenetics. *Birth Defects: Original Article Series VIII, N 7*, 1972.
30. Snedecor WG, Cochran GW : Statistical methods. The Iowa State University Press. 32, 1978.
31. Kasakura S, and Lowenstein L : The effect of uremic blood on mixed leukocytes with phytohemagglutinin. *Transplantation*. 5:383, 1967.
32. Merrill, JP, Hampers CL : Uremia. *New England Journal of Medicine.*, 282:953, 1970.
33. Nakhla LS, Goggin MJ : Lymphocyte transformation in chronic renal failure. *Immunology.*, 24:229, 1973.