

Eritropoetin Uygulanan Hemodiyaliz Hastalarında Gelişen Fonksiyonel Demir Eksikliğinin Stfr Ve Rethbc Ölçümleriyle Erken Dönemde Saptanması Ve Eritropoetin Rezistansı

Early Detection Of Functonal Iron Deficiency In Hemodialysis Patients Treated With Erythropoietin Using Stfr And Rethbc Measurements And Erythropoietin Resistance

Ergün ÖZTAŞ¹, Selahattin ERİKÇİ²

¹Bandırma Onyedi Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD

²Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İç Hastalıkları AD

Yazışma Adresi/Correspondence:

Ergün ÖZTAŞ

E-posta/E-mail: eoztas@bandirma.edu.tr

Geliş Tarihi/Received: 05.03.2025 Kabul Tarihi/Accepted: 26.03.2025

Ergün ÖZTAŞ <https://orcid.org/0009-0007-5713-4404> eoztas@bandirma.edu.tr
Selahattin ERİKÇİ <https://orcid.org/0009-0008-7931-4665> serikci51@yahoo.com

Hippocrates Medical Journal / Hippocrates Med J 2025, 5(1): 8-16 DOI: 10.58961/hmj.1628574

Özet

Giriş	Hemodiyaliz hastalarında recombinant human erythropoietin (rHuEPO) uygulaması fonksiyonel demir eksikliğine neden olmaktadır. Klasik demir eksikliğini gösteren parametreler, fonksiyonel demir eksikliğini tanımlamada yetersiz kalmaktadır. Biz bu sebeple rHuEPO uygulanan hemodiyaliz hastalarında soluble transferrin receptor (sTfR) ve reticulocid hemoglobine concentration (RetHbC) ölçümleri ile demir eksikliğinin erken dönemde saptanmasında, yararlı olup olmayacağını göstermeye çalıştık.
Gereç ve Yöntemler	Çalışma grubumuzdaki olguların 54'ünde hemodiyaliz uygulanıyordu. Bunlardan 21'i intravenous (IV) demir kullanmakta idi, 33'ü ise demir kullanmıyordu. Kontrol grupları olarak, demir eksikliği anemisi grubu (n=16) ve sağlıklı kontrol grubu (n=10) oluşturuldu. Olgularda tam kan sayımı ile birlikte RetHbC, serum demiri, serum demir bağlama kapasitesi, Ferritin, Transferrin, sTfR düzeyleri ve sTfR/log ferritin değerlerini saptadık.
Bulgular	Diyaliz hastalarının ortalama sTfR, ferritin, serum demir bağlama kapasitesi (SDBK) ve Retikülosit değerlerinin sağlıklı kontrol grubundan belirgin şekilde yüksek olduğu (p<0,001), SD değerinin farklı olmadığı (p>0,005), RetHbC ve %transferrin saturasyon indeksi (TSI) değerlerinin ise belirgin şekilde daha düşük olduğu bulunmuştur (p<0,001). Diyaliz hastaları içinde demir tedavisi alan hastalarla almayanların değerleri karşılaştırıldığında; demir tedavisi alan diyaliz hastaları grubunun ortalama SD, SDBK ve %TSI değerlerinin demir tedavisi almayan diyaliz hastaları grubundan belirgin şekilde yüksek olduğu (p<0,001), ferritin, Ret ve RetHbC değerinin farklı olmadığı (p>0,05), sTfR değerlerinin ise belirgin şekilde daha düşük olduğu bulunmuştur (p<0,001). Diyaliz hastaları ile demir eksikliği anemisi bulunan kontrol olgularının değerleri karşılaştırıldığında; diyaliz hastaları grubunun ortalama ferritin, SD, Ret, RetHbC ve %TSI değerlerinin demir eksikliği anemili kontrol grubundan belirgin şekilde yüksek olduğu (p<0,001), sTfR değerinin farklı olmadığı (p>0,005), SDBK değerlerinin ise belirgin şekilde daha düşük olduğu bulunmuştur (p<0,001).
Sonuç	sTfR seviyeleri yalnızca rHuEPO tedavisi uygulanan hemodiyaliz hastalarında normalin 3 katı kadar artmaktadır. IV demir ile birlikte rHuEPO tedavisi uygulandığında zaman sTfR düzeyleri azalmaktadır. sTfR'nin hemodiyaliz uygulanan hastalarda, demir eksikliği anemisini en erken ve en doğru olarak tanımlamasında diğer klasik hematolojik parametrelerden daha değerli bilgiler verdiği görülmüştür. EPO uygulamasını takiben 3. günde toplanan kan örneklerinde, rHuEPO'nun kemik iliği stimülasyonu sonucu sTfR seviyelerinde bir artışa yol açtığı düşünülmektedir. RetHbC ölçümlerinin ise eritropoetin (EPO) uygulamasını takiben dolaşıma çıkan erken retikülositlerin hemoglobinizasyonunu göstermekte olup, fonksiyonel demir eksikliği anemisi düşünülen olgularda IV demir uygulamasını takiben kemik iliğinin oluşturduğu cevabın erken dönemde değerlendirilmesinde yardımcı bir parametre olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir.
Anahtar Kelimeler	sTfR, RetHbC, Eritropoetin, diyaliz, hemodiyaliz

Abstract

Introduction	The administration of rHuEPO in hemodialysis patients leads to functional iron deficiency. Classic parameters for diagnosing iron deficiency are insufficient for identifying functional iron deficiency. Therefore, we aimed to evaluate whether measuring sTfR and RetHbC could be useful in detecting iron deficiency at an early stage in hemodialysis patients receiving rHuEPO treatment.
Materials and Methods	Among the cases in our study group, 54 patients were undergoing hemodialysis. Of these, 21 were receiving IV iron, and 33 were not. Control groups were formed from individuals with iron deficiency anemia (n=16) and healthy controls (n=10). In the study, complete blood counts were performed, and levels of reticulocyte hemoglobin content (RetHbC), serum iron, serum total iron-binding capacity (TIBC), ferritin, transferrin, serum transferrin receptor (sTfR), and sTfR/log ferritin were measured.
Results	The mean levels of sTfR, ferritin, TIBC, and reticulocyte values in dialysis patients were significantly higher than those of the healthy control group (p<0.001), while the standard deviation (SD) values did not differ significantly (p>0.005). RetHbC and %TSI values were found to be significantly lower (p<0.001). When comparing dialysis patients receiving iron therapy with those not receiving iron therapy, the mean SD, TIBC, and %TSI values of the group receiving iron therapy were significantly higher than those not receiving iron therapy (p<0.001), while ferritin, Ret, and RetHbC values did not differ significantly (p>0.05). However, the sTfR levels in the group receiving iron therapy were significantly lower (p<0.001). When comparing dialysis patients with the control group of individuals with iron deficiency anemia, the mean values of ferritin, SD, Ret, RetHbC, and %TSI in the dialysis patient group were significantly higher (p<0.001), while the sTfR values did not differ significantly (p>0.005). The SDBK values were significantly lower in dialysis patients (p<0.001).
Conclusion	sTfR levels increase up to three times higher than normal in hemodialysis patients who are treated with rHuEPO. When rHuEPO therapy is combined with IV iron, sTfR levels decrease. It has been observed that sTfR provides more valuable information than other classic hematological parameters for the earliest and most accurate diagnosis of iron deficiency anemia in hemodialysis patients. It is suggested that sTfR levels rise due to bone marrow stimulation after EPO administration, especially on the third day following blood sampling. RetHbC measurements reflect the hemoglobinization of early reticulocytes that enter circulation following EPO administration. Therefore, RetHbC can be used as an auxiliary parameter to assess the early response of bone marrow after IV iron treatment in cases with suspected functional iron deficiency anemia.
Key words	sTfR, RetHbC, Erythropoietin, dialysis, Hemodialysis

GİRİŞ

Demir hücresel fonksiyonların idamesi, hücre büyümesi ve gelişmesi için hayati önem taşıyan bir elementtir. Yine de doğal demir suda erimez ve artmış demir yükü tehlikeli sonuçlar doğurabilmektedir. Demir ayrıca reaktif oksijen radikallerinin hücre zedelenmesi oluşturmada katalizör olarak görev yapar. Bu sebeple insanlarda artan demir yükü sınırlandırılmaya çalışılır (1).

Demir fizyolojik gereksinimlere sunulmak üzere her gün belirli bir miktarda (1mg/gün) alınması zorunlu bir mineraldir. Günlük demir gereksinimi normal bir erkekte 1mg/gün, menstrüasyon çağındaki bir kadında ise 1.5mg/gün kadardır. İnsan vücudunda toplam demir miktarı ortalama 40-50 mg/kg kadardır. Günlük demir atılımı ise yaklaşık olarak, %1-2 mg/gün kadardır. Demir kaybının en fazla olduğu bölgeler, Gastrointestinal sistem ve genitoüriner sistemdir. Bu sistemlerdeki demir kaybının çoğu epitelyal dökülme ile gerçekleşmektedir. Vücuttaki total demir miktarı 4,05gr kadardır (2).

Vücuttaki demirinin en büyük havuzu, dolaşımdaki Hemoglobin (Hb) ve kas miyoglobindir (85%; 40-50 mg/kg). Demirin absorpsiyonu vücut demir rezervleriyle ilişkin olarak öncelikle intestinal sistemden (duodenumdan) emilir. Geriye kalan demirin yaklaşık %15-20'si, ferritin, şeklindeki depo demiri oluşturur. Ferritinin en önemli depo yeri karaciğerdir. Eritrositlerdeki demir içeriğinin göstergesi hemoglobin yapısıdır. Kırmızı kürelerdeki proteinin %95'i hemoglobin şeklindedir (3).

Serum Demir Düzeyi (Fe): Demirin en çok kullanıldığı yer hemoglobin sentezidir. Kan dolaşımında ortalama 60-190 ug/dl demir bulunmaktadır. Dolaşımdaki demiri bağlamak üzere 250- 450 ug/dl transferin bulunmaktadır. Demir eksikliği anemisinde serum demir seviyeleri azalmaktadır. Dolaşımdaki demir seviyesi sabahları daha yüksek akşamları ise daha düşük değerlerde olması nedeniyle kan örneklerinin sabah ya da öğleden önce alınması önerilmektedir (1, 2, 3).

Total demir bağlama kapasitesi (TDBK): Serum demirinden daha az değişiklikler göstermekte olup demir eksikliğinde artmaktadır. Total demir bağlama kapasitesi laboratuvar olarak ölçüldüğü zaman sirkülasyondaki transferinin, 1/3 demir satürasyonuna eşit olduğu kabul edilmektedir. Yani transferin satürasyonun = ölçülen Fe/TDBKx100=%33'tür (1, 2, 3).

Transferin satürasyon indeksi (%TSI): Serum demirinin tamamına yakın bölümü transferrine bağlı olarak taşınmaktadır. Serum demir ve demir bağlama kapasitesi

ölçülerek doygunluk derecesi yüzde olarak hesaplanmaktadır. Doygunluk derecesi (serum demiri/serum transferin oranı x 100) formülüyle hesaplanmaktadır. Taşınan demirin bir göstergesi olarak Transferin (toplam demirin<%0,5'i) kadardır. Normal seviyeleri %20-45 arasında değişmektedir Serum transferin seviyesi demir eksikliğinde artarken, enfeksiyonlarda azalmaktadır. Doygunluk derecesi %15-20 arasında ise göreceli demir eksikliği, %15 ten az ise mutlak demir eksikliği olarak kabul edilmektedir. Hemodiyaliz hastalarında iv demir dextran uygulamasından sonra demir durumunun göstergesi olarak transferin satürasyonun ölçümleri kullanıldığında spesifite ve spesifitesi düşük olarak saptanmaktadır (1, 2, 3, 4).

Serum Ferritin Düzeyi (F): Ferritin demir depolanmasında ve detoksifikasyonunda en önemli proteindir. Ferritin, ferrik iyon şeklinde 4500 atomluk demiri depolama kapasitesine sahiptir. Ferritin, demir deposunun azlığını veya fazlalığını yansıtan bir parametredir. Sağlıklı kişilerde ölçülen serum ferritin seviyesi 30-300 mg/L arasındadır. Referans ferritin seviyeleri erkekte 24-300 ug/L, kadında 15-307 mg/L 'dir (1, 2, 3, 4).

Demir metabolizması

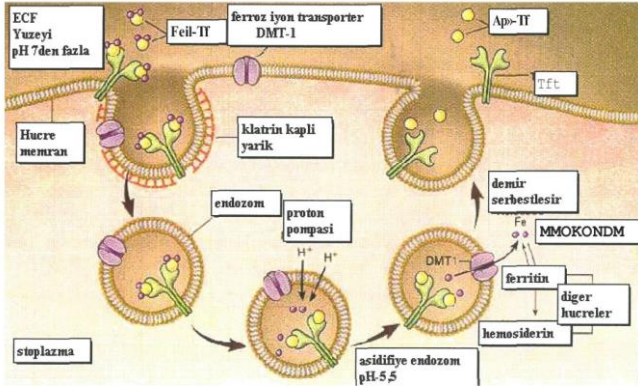
Dolaşımdaki serbest demir apotransferrin taşıyıcı proteini üzerinde bulunmaktadır. İki adet Fe+3 iyonu ile sıkı bir bağlantı kurarak, ferrotransferrin ,sekinde taşınmaktadır. Demir eksikliğinde göreceli olarak transferin sentezi artmaktadır. Diferrik transferinin, hücre yüzeyinde bulunan transferin bağlayıcı reseptörüne (sTfR) ilgisi daha fazladır (1,2,3).

Transferrin organlar arasında HEM dışı demirin transportunda rol alan primer proteindir. Transferini kodlayan gen bölgesi 3, Kromozomun kısa kolunda apotransferrin gen lokusunda bulunur (3). Transferin 85 kDa'da bir moleküldür ve iki adet demir bağlayıcı bölgeye sahiptir. Demiri bu vasıta ile plazmada taşıyabilmektedir. Yarılanma ömrü 8 gün kadardır. Normalde transferinin yaklaşık %30'unun sature halde bulunması vücudu dolaşımdaki demirin toksik birikiminden korumaktadır. Absorbe edilen demirin yaklaşık %80'i kemik iliğinde kullanılmaktadır. Bu bir feed back mekanizmayla düzenlenmektedir.

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) hastalarında anemi, eritropoetin (EPO) üretiminin azalması ve demir metabolizması bozuklukları nedeniyle sık görülür (3,4,5). Eritropoetin tedavisine rağmen hastaların bir kısmı yetersiz yanıt verir (eritropoetin direnci), bu durumun önemli bir nedeni fonksiyonel demir eksikliği (FDE) olarak tanımlanan, depo demirin yeterli olmasına rağmen eritropoez için

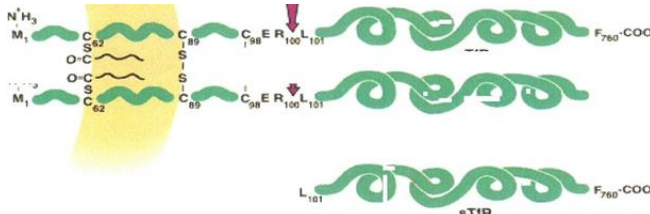
kullanılamamasıdır (2,3,4,5,6). FDE'nin erken tanısı, serum transferrin reseptörü (sTfR) ve Retikülosit hemoglobin içeriği (RetHbC) gibi biyobelirteçlerle mümkündür (3,4,5,6,7).

Demirin plazmadan hücelere geçişi



Resim 1: Hücre içine sTfR ilişkili serum demirinin alınımı

Enterosit de dahil olmak üzere hücrelerin çoğu demiri plazmadan hücre içine bir glikoprotein olan transferin vasıtasıyla alır. Transferin hem plazmada hemde hücre dışı alanda bulunmaktadır. Transferinin çoğu karaciğer olmak üzere çok az miktarda süt bezlerinde, testiste, santral sinir sisteminde, lenfosit ve makrofajlarda üretilmektedir (2).



Resim 2: STfR molekülünün görünümü

Serum Transferrin Reseptör (sTfR): Total TfR salınımının %80' i eritrosit progenitor hücrelerden kaynak alır. Eritrositlerin öncül hücreleri gibi, demiri kullanan birçok hücrede dolaşımdaki sTfR, eritropoez hızının ve hücrelerin demir gereksiniminin bir göstergesidir. sTfR konsantrasyonu demir eksikliği varlığında plazma veya serumda artmaktadır(3).

Kronik böbrek yetmezliğinde serum ferritin seviyeleri ölçümleri ile demir eksikliği anemisinin derecesinin belirlenmesi:

Ferritinin alt gruplarının (Ferritin-H,L) sentezinin kontrolü genelde sitozolik bir protein olan demir düzenleyici proteinlerle (IRPs) ayrıca demire cevap oluşturan elementi (IRE) sentezleyen 5'UTR-H ve L-Ferritin m-RNA'lar tarafından kontrol edilmektedir. Ferritin- H-zinciri Fe oksidasyonunda ve ferritin-L zincirinin çekirdek

oluşturmasında yardımcı molekül olarak görev almaktadır. Ferritinin aynı zamanda bir akut faz reaktanı olması, herhangi bir ateş, enfeksiyon veya enflamasyon esnasında nonspesifik olarak artması pratikte birtakım yanılgılara neden olabilmektedir (8). Ateş ve enflamasyon durumlarında serum ferritin ve sTfR seviyeleri ayırıcı tanıda bize yol göstermektedir.

- >1000 ng/ml: Demir fazlalığı.
- 400-1000 ng/ml: Depo demiri yeterli.
- 150-400 ng/ml: Hb 8 gr./dl'den küçük ise demir yetersizliği olabilir.
- 100-150 ng/ml: EPO tedavisi alan hastalarda depo demiri sınırda.
- <100 ng/ml: EPO tedavisi alan hastalarda depo demiri yetersiz.

Fonksiyonel Demir Eksikliği (FDE):

Demirin kemik iliğinde kullanımında bozulma (hepsidin artışı, kronik inflamasyon) veya eritroblastlarda demir kullanımının engellenmesi FDE'ye yol açar [4]. KBY'de eritrosit yaşam süresinde kısalma söz konusudur (9,10). Kronik böbrek yetmezliğinde eritrositlerin normal insanlara transfüzyonundan sonra yaşam sürelerinin normal olması, BUN düzeyi ile eritrosit ömrünün ters lineer ilişki göstermesi ve intensif diyaliz uygulaması ile eritrosit sürvisinin bazen normale dönebildiğinin bildirilmiş olması bu eritrosit yaşam süresinin kısalmasında metabolik bir faktörün kanda birikici etkilerinin olduğunu düşündürmektedir (5). KBY hastalarında hemoliz ile eritrosit yaşam süresi normal sürvi olan 120 günden 65-70 güne kadar düşme gösterir (8). Yetersiz diyaliz bu olayı şiddetlendirmektedir (12). Hemodiyaliz hastalarında diyalizatin kloramin, bakir, çinko, nitrat, formaldehit gibi maddelerle kontaminasyonu veya diyalizatin sıcaklığının yüksek olması durumunda da akut hemoliz görülebilmektedir (2,3,8,9). Bunun dışında eritropoetin direnci tanımlaması hedef hemoglobin düzeyine ulaşmak için yüksek doz EPO gereksiniminin artması olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir. Eritropoetin direncinin en sık nedeninin fonksiyonel demir eksikliği olduğu düşünülmektedir ve bu oran %30-50'lere kadar çıkabilmektedir [15].

Tanı amaçlı kullanılan Biyobelirteçler;

- A. Serum Transferrin Reseptörü (sTfR); Eritroblastların demir ihtiyacını yansıtan sTfR, fonksiyonel demir eksikliğinde artış gösterir [6]. Kronik hastalık anemisi ile demir eksikliğini ayırt etmede etkilidir [7]. Enflamasyondan etkilenmez ve spesifik bir belirteçtir [8].
- B. Retikülosit Hemoglobin İçeriği (RetHbC); Retikülositlerdeki hemoglobin miktarını ölçen RetHbC, demir eksikliğinde belirgin şekilde düşer [9]. Eritropoetik

aktiviteyi gerçek zamanlı gösterir [10]. Demir replasman tedavisinin etkinliğini izlemede kullanılır [11].

sTfR ve RetHbC'nin Klinik Önemi;

Geleneksel belirteçler (ferritin, transferin saturasyonu) enflamasyondan etkilenirken, sTfR ve RetHbC fonksiyonel demir eksikliğini daha spesifik saptamada erken tanıda önem arz etmektedir [12]. RetHbC <28 pg ve sTfR >1.5 mg/L, olması fonksiyonel demir eksikliği için sınır değerler olarak kabul edilir [13]. Eritropoetin Direnci ile ilişkili RetHbC düşüklüğü ve sTfR yüksekliği, Eritropoetin (EPO) gereksinimini artırdığı gözlemlenmiştir [14]. Bu durumlarda uygulanan intravenöz demir tedavisi ile RetHbC artışının yansıra EPO yanıtında iyileşme olduğu gözlemlenmiştir [15].

Klinik Uygulamalar ve Tedavi Stratejileri

Fonksiyonel demir eksikliği replasman tedavilerinde oral demir etkisiz kalmaktadır bunu yerine intravenöz demir (Ferrlecit veya Venofer) gibi preparatlar tercih edilmektedir [16]. Hastaların tedavisi sırasında hedef göstergelerde RetHbC >32 pg/mm³ ve sTfR <1.2 mg/L düzeylerine ulaşmak önem arz etmektedir [17]. Eritropoetinin uygun doz optimizasyonu sayesinde RetHbC ve sTfR takibi ile gereksiz EPO doz artışı önlenerek tedavi sürecinde gereksiz harcamalar düşürülmeye çalışılmıştır [18].

YÖNTEM

Çalışmamızda 2001-2003 yılları arasında toplam (n=54) rHu-EPO uygulanan hemodiyaliz hastanın, IV demir tedavisi alanlar (n=21) ve IV demir tedavisi almayanlar (n=33) olarak iki alt gruba ayrıldı. Kontrol grupları, demir eksikliği kontrol grubu (n=16) ve sağlıklı kontrol grubu olarak (n=10) oluşturuldu.

Hastaların seçiminde dikkat edilen unsurlar:

- Hastaların yirmi yaş üstü olması.
- 6 aydan uzun süredir diyaliz tedavisi uygulanmış olması.
- En az 3 ay öncesinde rHuEPO tedavisi başlanmış olması.
- Hemodiyaliz uygulanan hastalarda son 3 ay içerisindeki Hemotokrit değerlerinin ve hastaya uygulanan rHuEPO tedavi dozlarının sabit olmasına dikkat edildi.

Hastaların 8 hafta öncesinde aşağıdaki durumlardan biri varsa çalışma dışı bırakıldı.

- Gastrointestinal kanama hikayesi olması
- Hemolize bağlı kan kaybı olması.
- Akut bir karaciğer hastalığı olması.
- Hastada akut bir enfeksiyon olması.
- Hastaya kan transfüzyonu hikayesi olması.

- Oral veya IV Askorbik asit infüzyonunu uygulanmış olması.
- ACE inhibitörü tedavisi alıyor olması.

Diyalize giren hastalar Ankara bölgesinde belirlenen iki özel merkezde 2002-Eylül ve 2003-Mart ayları arasında tespit edilen hastalardan seçilmiştir. Hastaların dosyalarından son üç aylık tam kan değerleri incelenerek uygulanan rHuEPO'ya rağmen anemik seyreden olgular tespit edildi. Hemodiyaliz hastalarına eritropoetin uygulamasını takiben üçüncü günde toplanan kan örneklerinden; retikülosit değerleri otomatik retikülosit sayacında çalışıldı. Düz tüplere alınan kan örnekleri diyaliz programına başlamadan hemen önce toplanarak, soğuk zincirle taşınmasına özen gösterildi. Bu örneklerden elde edilen serumlar da GATA Biyokimya A.D. hormon laboratuvarında; intact parathormon (i-PTH), vitamin B12, folat, ferritin (f), serum demir (Fe), serum demir bağlama kapasitesi (SDBK) ve rutin biyokimyasal ölçümler yapıldı. Transferrin saturasyon indeksi (%TSI)= Fe/SDBK X 100 formülü ile hesaplandı. Mevcut kan örneklerinden elde edilen serumların bir örneği de TfR kit ile GATA immünoloji laboratuvarında sandwich-ELISA yöntemi ile çalışıldı.

Hastaların son üç aylık tam kan ölçümleri, biyokimyasal parametreleri ve eritropoetin uygulamasını takiben üçüncü gün ölçülen tam kan parametreleri otomatik tam kan ve Retikülosit sayacında çalışılmıştır. Hastalardan elde edilen kan örnekleri diyaliz programına başlamadan hemen önce toplanarak, soğuk zincirle taşınmıştır. Kan örnekleri -20 derecede derin dondurucuda daha önceden belirlenen laboratuvar çalışma tarihine kadar saklanmıştır. Kan örnekleri, GATA Biyokimya AD. Hormon laboratuvarında; (Intact Parathormon (IPTH), Vitamin B12, ferritin (F), Serum Demir Bağlama Kapasitesi (SDBK), Serum Demiri (SD) ölçümleri yapıldı. %TSI ölçümleri; SD/SDBK X100 formülü ile hesaplandı. Mevcut kan örneklerinden ayrılan serumların bir örneği sTfR kiti ile GATA Immünoloji laboratuvarında çalışıldı.

Tam kan parametreleri (Hgb, Htc, Bk, Plt, MCV, MCHC, Retikülosit ve Retikülosit hemoglobin içeriği) otomatik kan sayımı cihazında (ADVIA 120. Hematology System. Bayer Diagnostic.) çalışıldı. Serum ferritin ölçümleri (Two Size Immünocheminomedico Assay yöntemi), Advia Centour Immünoassay Synten Bayer Cooperation Diagnostic Tary Town / USA cihazında çalışıldı. Serum demiri ve serum demir bağlama kapasitesi çalışması (Olympos AV 600 kit ile Olimpos Diagnostica, GMBH Colorimetric cihazında) Hamburger yöntemiyle çalışıldı. iPTH, Immünochemilünometric Assay yöntemiyle (LDPC

Diagnostica Product Company LA/CA USA) cihazında çalışıldı.

Hastalardan düz tüp içinde toplanan serum örnekleri sTfR ölçümleri, 5000/dk devir hızında toplam 5 dakika da santifüj edildikten sonra -20 derecede saklanarak, 3 ay sonra diğer kan örnekleri ile çalışıldı. Daha önceki çalışmalarda da belirtilen bir ELISA kitiyle serum sTfR konsantrasyonları ölçülmüştür. STfR düzeyleri sandwich-ELISA yöntemi ile (Quantikine IVD invitro diagnostic. R&D systems INC. Mineapolis, USA) çal- isilmistir. Pazarlayıcı firmanın sağlıklı olgularda saptadığı referans değerler esas alınmıştır.

Veriler ortalama +/- Standard sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel analizler SPSS 10.0 (Statistical Package of Social Science) programı kullanılarak bilgisayar vasıtası ile gerçekleştirildi. Grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney-U testi kullanıldı. p değeri 0.05 den küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmada gruplar arası karşılaştırma sonucunda incelenen değişkenlerin ortalama ve standart sapma değerleri ile gruplar arasında yapılan karşılaştırmaların sonuçları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1: Gruplar arası karşılaştırmalar sonucunda incelenen değişkenlere ait değerler. A, A1, A2, B ve C incelenen grupları belirtmektedir.

Diyaliz hastaları ile kontrol grubuna alınan sağlıklı kişilerin değerleri karşılaştırıldığında; Diyaliz uygulanan hasta grubunun ortalama sTfR, ferritin, SDBK ve Retikülosit değerlerinin sağlıklı kontrol grubundan belirgin şekilde yüksek olduğu, serum demir değerinin farklı olmadığı, RetHbC değerlerinin azaldığı saptanmıştır.

Diyaliz hastalar içinde demir tedavisi alan ve almayanların değerleri karşılaştırıldığında; Demir tedavisi alan diyaliz hastaları grubunun ortalama serum demir, SDBK ve %TSI değerlerinin demir tedavisi almayan diyaliz hastaları grubundan belirgin şekilde yüksek olduğu, Ferritin, Ret ve RetHbC değerlerinin farklı olmadığı, sTfR değerlerinin ise belirgin şekilde daha düşük olduğu bulunmuştur.

Diyaliz hastaları ile ikinci kontrol grubuna alınan demir eksikliği anemisi bulunan kişilerin değerleri karşılaştırıldığında; Diyaliz hastaları grubunun ortalama ferritin, serum demiri, Ret, RetHbC ve %TSI değerlerinin demir eksikliği anemili kontrol grubundan belirgin şekilde yüksek olduğu, sTfR değerinin farklı olmadığı, SDBK değerlerinin ise belirgin şekilde daha düşük olduğu bulundu.

Parenteral demir almayan hemodiyaliz hastalarında (Grup-A2); sTfR ölçümlerinde artışın, Parenteral demir alan hemodiyaliz hastalarındaki (Grup-A1) sTfR artışına göre ortalama 3 kat kadar fazla olduğunu saptandı. Ayrıca demir eksikliğine cevap olarak sTfR artışı grup-C (demir eksikliği anemi grubu) hastalarında sağlıklı kontrol grubuna (grup-B) göre daha fazla olduğu belirlendi. sTfR değerindeki artışın IV demir alan grupta (Grup-A1), demir eksikliği anemisi saptanan diyaliz hasta grubundan (Grup-A2) daha az olduğu gözlemlendi(p<0,001).

Her 3 grubun ortalama sTfR değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptandı (p<0,001). Gruplar arası ortalama sTfR değerlerinin karşılaştırılması sonucunda; Grup-A1 ve grup-A2 arasında RetHbC değerleri karşılaştırıldığında (p: 0,292) değerinde anlamlı bir fark saptanmadı, grup-A1 ve grup-C karşılaştırıldığında, Grup-A2 ve Grup-C karşılaştırmaları arasında saptanan değeri (p <0,05) olup istatistiki olarak anlamlı bulundu. Grup-(A-1, A-2 ve C) ile Grup-B aralarındaki karşılaştırmaların sonucunda istatistiksel olarak belirgin bir fark olduğu saptandı (p<0,001).

Gruplar arası sTfR/log ferritin karşılaştırmaları;

Gruplar arası ortalama sTfR/log ferritin değerleri karşılaştırması sonucunda, demir eksikliği anemisi bulunan (Grup-C) olgularında diğer gruplara göre daha yüksek bir artışın olduğu saptandı. EPO tedavisi alan ve IV demir almayan (Grup-A2) gruptaki artış miktarı IVdemir alan gruptan (Grup-A1) daha fazla olduğunu tespit edildi. Ayrıca hemodiyaliz hastaları ve demir eksikliği anemisi saptanan olgulardaki ortalama sTfR/logferritin değerlerindeki yüksekliğin kontrollere göre daha yüksek olduğunu gözlemledik (p<0,001).

Diyaliz hastalarında demir eksikliği tanısında, serum sTfR ölçümü altın standart olarak kabul edildiğinde, parenteral demir tedavisi alan (Grup-A1) ve almayan (Grup-A2) gruplarındaki diğer demir eksikliği tanı testlerinin sensitivite ve pozitif prediktif değerlerini gösteren oranlar Tablo 2’de gösterilmiştir. Hemodiyaliz hasta subgruplarında demir eksikliği tanı kriteri olarak, sTfR/Log ferritin oranı esas alındığında diğer demir eksikliği tanı testlerinin sensitivite ve pozitif prediktif değerleri Tablo 3’teki gibi olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 1: Gruplar arası karşılaştırmalar sonucunda incelenen değişkenlere ait değerler. A, A1, A2, B ve C incelenen grupları belirtmektedir.

	STfR (Ort.+std sapma)	Ferritin (Ort.+std sapma)	SD (Ort.+std sapma)	SDBK (Ort.+std sapma)	RET (Ort.+std sapma)	RetHbC (Ort.+std sapma)	TSI (Ort.+std sapma)
Diyaliz hastaları (A)	88,7 +/- 64,2	619,7 +/- 516,5	54,3 +/- 34,5	232,7 +/- 73,5	2,9 +/- 2,4	27,9 +/- 2,4	25,4 +/- 20,8
Parenteral demir tedavisi alan diyaliz hastaları(A1)	42,3 +/- 40,1	675,5 +/- 532,8	75,5 +/- 36,2	250,1 +/- 58,1	2,9 +/- 1,3	28,3 +/- 1,2	31,6 +/- 21,9
Parenteral demir almayan diyaliz hastaları (A2)	125,4 +/- 55,8	575,0 +/- 507,7	37,4 +/- 21,5	218,9 +/- 82,2	3,0 +/- 1,2	27,6 +/- 3,06	20,45 +/- 18,8
Kontrol Grubu (B)	19,3 +/- 7,8	98,5 +/- 58,2	67,7 +/- 10,2	143,9 +/- 26,3	1,33 +/- 0,3	30,4 +/- 1,1	47,8 +/- 9,6
Demir eksikliği kontrol Grubu (C)	85,1 +/- 22,8	5,6 +/- 3,9	18,3 +/- 8,5	277,3 +/- 76,7	1,35 +/- 0,4	25,9 +/- 2,2	11,3 +/- 14,8
Karşılaştırmalar, ki kare testi, p değeri							
A X B	-3,68; <0,001	-3,68; 0,001	-1,63; 0,10	-3,79; <0,001	-4,11; <0,001	-3,81; <0,001	-3,92; <0,001
A1 x A2	-5,08; <0,001	-1,04; 0,296	-4,01; < 0,001	-2,21; 0,03	-0,46; 0,64	-1,05; 0,29	-3,07; 0,002
A X C	-0,60; 0,54	-6,02; <0,001	-4,77; <0,001	-1,98; 0,04	-4,72; <0,001	-2,82; 0,005	-3,88; <0,001

Tablo 2: Hemodiyaliz hastalarında STfR ölçümleri

Parametreler		IV Demir Alan Grup	IV Demir Almayan Grup	
	Sensitivite	PPV	Sensitivite	PPV
SD	%50,00	%92	%75,00	%100
Ferritin	%25	%85,00	%31,00	%100
%TSI	%44,00	%100	%68	%100
RetHbC	%100	%80	%92,00	%96,0

Tablo 3: Hemodiyaliz hastalarında logaritmik STfR/ RetHbC ölçümleri (sensitivitesi/pozitif prediktif değerleri)

Parametreler		IV Demir Alan Grup	IV Demir Almayan Grup	
	Sensitivite	PPV	Sensitivite	PPV
SD	%54,5	%80	%82,70	%100
Ferritin	%80	%92,30	%34,40	%100
%TSI	%60,8	%87	%75	%95,4
RetHbC	%100	%56	%92,50	%92,5

TARTIŞMA

KBY hastalarında GFR 30ml/dk altına inmeye başladıktan sonra böbreğin endokrin fonksiyonlarında azalma ve sonucunda da eritropoetin seviyelerinde bir azalma saptanmaktadır. Bu sebeple KBY'li olgularda rekombinant insan eritropoetin (rHuEPO) kullanılmaktadır. Uygulanan rHuEPO eritrosit kök hücrelerde CF-U hücrelerinin farklılaşmasını ve bölünme hızında artışı uyarmaktadır (11). Yine de böbrek yetmezliğinde anemi tedavisi için sadece EPO uygulaması yeterli değildir. Bu sebeple kronik böbrek yetmezliği saptanan olgularda serum EPO seviyelerinde azalma olmasına rağmen hemoglobin seviyeleri 8-10g/dl altına pek düşmemektedir (1, 13, 16, 20, 21, 22, 23). Demir eksikliği, diyaliz hastalarının Diyaliz hastalarında saptanabilen demir kaybı yıllık ortalama olarak 1,5-3 gram arasında değişmektedir (6, 8). Birçok çalışmada hemodiyaliz hastalarında demir eksikliği nedeni olarak, tekrarlayan flebotomiler, gastrointestinal gizli kanamalar, adet kanamaları, iştahsızlıkla birlikte diyetle yetersiz demir alımının etkili olduğu öne sürülmektedir (6,10,12).

Demir eksikliği mutlak (vücut demir depolarında azalma) ve fonksiyonel demir eksikliği (demir depoları yeterli fakat demirin kemik iliğinde kullanımında yetersizlik) nedeniyle oluşabilmektedir (5). Fonksiyonel demir eksikliği, KBY'li olgularda rHuEPO tedavisi uygulanması sonucu oluşan

kemik iliği cevabındaki yetersiz eritrosit hemoglobinasyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır (7). Özellikle de hemoglobin oluşumunun başlangıç safhasında yeni kırmızı küre sentezinin artışın takiben hücre içine demir girişinde yetersizlik olduğu gözlemlenmiştir (2,6, 7, 8, 11, 13, 14, 15, 20, 24). Bunların ışığında demir eksikliğini saptamada gerçekçi ve ideal bir markerin önemine değinilmistir.

Hemodiyaliz hasta grubunda saptanan ortalama serum demir (Fe) seviyeleri (54.3 +/- 34.5 ug/dl), transferrin saturasyon indeksi (25.4 +/- 20.8), ferritin (619.7 +/- 516.5 ug/L) olarak saptadık. Hemodiyaliz hastalarında saptanan serum demir seviyeleri sağlıklı kontrol grubunda belirlenen seviyelere (Fe: 50 ug/dl ve %TSI>20) yakın bir ölçümdür. Bu olay rHuEPO tedavisi uygulanan hemodiyaliz hastalarında serum demir seviyeleri ölçümünün yanılğılara yol açabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda hemodiyaliz hastaları ile sağlıklı kontrol grubu arasında serum demir seviyeleri karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p:0,104). Bu veriler hemodiyaliz hastalarında serum demir seviyeleri ölçümünün demir eksikliği tanısını ortaya koymada güvenilir bir yaklaşım olmadığını göstermektedir.

Hemodiyaliz uygulanan olgularda artan enfeksiyon riski ve kronik enflamasyon nedeniyle serum ferritin seviyelerinin bir akut faz reaktanı gibi davranarak yükselebilmektedir (60, 119). Bu nedenle demir eksikliği anemisinin tanısında demir depolarının varlığı ve yeterliliğinin göstergesinde altın standart olarak kemik iliği aspirasyon materyalinde demir depolarının gösterilmesi ana yöntem olarak belirlenmiştir (6).

Çalışmamızda hemodiyaliz hastaları ile sağlıklı kontrol grubu arasında ortalama serum ferritin seviyeleri karşılaştırıldığında, hemodiyaliz hastalarında serum ferritin seviyelerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu saptadık (p<0,001). Bununla beraber böbrek fonksiyonları normal olan demir eksikliği anemili olgularda serum ferritin seviyelerinin ileri derecede azalmış olarak belirledik. Sonuç olarak serum ferritin seviyelerini hemodiyaliz hasta grubunda kronik enflamasyon nedeniyle artmış olarak saptamaktayız.

Biz çalışmamızda hemodiyaliz hastaları ve subgruplarında (IV-demir alan ve almayan) RetHbC düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin bir azalma gösterdiğini saptadık (P<0,001). Ayrıca demir eksikliği anemisi bulunan olgularda RetHbC seviyelerindeki azalmanın daha belirgin olduğunu gözlemledik (p<0,001). Bu olay bize RetHbC seviyelerindeki azalmanın demir eksikliği anemisine spesifik bir azalma gösterdiğini düşündürmektedir. Ancak rHuEPO uygulanan hemodiyaliz hastaları subgruplarında yapılan karşılaştırmalarda IV demir tedavisi alan olgular ile IV demir almayan gruplar arasında yapılan istatistiksel incelemede

belirgin fark gözlemlenmedi (p: 0,292). Bu olay bize rHuEPO uygulamasını takiben RetHbC seviyelerinde bir azalma oluşabileceğini düşündürmektedir.

Çalışma grubumuzdaki hemodiyaliz hastalarında saptanan TFR-ferritin indeksi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğu bulunmuştur (p<0,001). Demir eksikliği anemisi bulunan sağlıklı olgularda ise ortalama sTfR/log ferritin değerlerinin en üst seviyelerde seyrettiği gözlenmektedir (p<0,001). Bulgular demir eksikliği anemili ve demir eksikliği düşünülen hemodiyaliz hastalarında yapılan diğer çalışmalarla uyum göstermiştir. Ancak hemodiyaliz hastalarının tamamının EPO uyarımı sebebiyle olduğunu ve kronik enflamasyona bağlı olarak serum ferritin seviyelerinin yüksek seyrettiğini göz önüne alırsak ortalama sTfR/log ferritin değerlerinin demir eksikliği anemili olgulardan daha düşük saptanması kaçınılmazdır. Bu olay bize uygunsuz demir tedavisinin enflamasyonu artırabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak:

- Serum ve plazmada ölçülen STfR seviyesinde, Epo kullanan hemodiyaliz hastalarında artış olduğu gözlemlenmiştir.
- Ölçülen STfR seviyesinde artış miktarı, IV demir tedavisi almayan grupta daha da belirgin olduğunu gözlemledik.
- Diyaliz hastalarında ferritin düzeyleri belirgin derecede yüksek seyrettiği gözlemlendi.
- Hastalarda ölçülen Ferritin düzeyleri, IV demir tedavisi alan ve almayanlarda aynı şekilde yüksek bulunmuş olup arada anlamlı bir fark bulunmamaktadır.
- Serum demiri, hemodiyaliz hastalarında normal düzeylerde iken, IV demir tedavisi almayan grupta normal seviyelerden daha düşük olduğu, iV demir tedavisi alan grupta ise bu ölçülen değerlerin normal sınırlarda olduğunu gözlemledik.
- Transferin saturasyon indeksi hesaplamalarının gerek hastaların tamamında gerekse subgruplarda normal sınırlara yakın olduğunu gözlemledik
- Retikülosit hemoglobin içeriği ölçümlerinin gerek hemodiyaliz hastalarında gerekse subgruplarda düşük olduğunu gözlemledik.

KAYNAKLAR

1. Watson A. Iron management during treatment with recombinant human erythropoietin in chronic renal failure. *J. Clin. Pharmacol*, 33(12):1134–1138, Dec 1993.
2. I. C. Macdougall. Poor response to erythropoietin: practical guidelines on investigation and management. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 10:607–614, 1995.
3. S. Fishbane et al. Iron management in end-stage renal disease. *American Journal of Kidney Diseases*, 29:319–333, 1997.
4. Weiss G. Iron and anemia of chronic disease. *Kidney Int*, 55:S12–S17, 1999.
5. J. W. Eschbach et al. Iron overload in renal failure patients: changes since the introduction of erythropoietin therapy. *Kidney International*, 55:S35–S43, 1999.
6. B. J. Ferguson and B. S. Skikne. Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia. *Journal of Clinical Laboratory Medicine*, 119:385–389, 1992.
7. Punnonen K, et al.. Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood*, 89:1052–1057, 1997.
8. Zanen AL, et al. Over saturation of transferrin after intravenous ferric gluconate (ferri-lecit) in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 11:820–824, 1996.
9. C. Brugnara, et al. Reticulocyte hemoglobin: an integrated parameter for evaluation of erythropoietic activity. *American Journal of Clinical Pathology*, 108:133–142, 1997.
10. S. Fishbane, et al. Reticulocyte hemoglobin content in the evaluation of iron status of hemodialysis patients. *Kidney International*, 52:217–222, 1997.
11. I. C. Macdougall. Monitoring of iron status and iron supplementation in patients treated with erythropoietin. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 3:620–625, 1994.
12. K. Kalantar-Zadeh, M. Kleiner, E. Dunne, K. Ahern, M. Nelson, and R. Koslowe. Total iron-binding capacity estimated transferrin correlates with the nutritional subjective global assessment in hemodialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases*, 31:263–272, 1998.
13. Tarng DC, et al. Erythropoietin hyporesponsiveness: from iron deficiency to iron overload. *Kidney Int*, 55:S107–S118, 1999.
14. I. C. Macdougall. Meeting the challenges of a new millennium: optimizing the use of recombinant human erythropoietin. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 13:23–27, 1998.
15. Taylor JE, Peat N, Porter C, and Morgan AG. Regular, low-dose intravenous iron therapy improves response to erythropoietin in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 11:1079–1083, 1996.
16. Silverberg DS, et al. Intravenous iron supplementation for the treatment of the anemia of moderate to severe chronic renal failure patients not receiving dialysis. *Am J Kidney Dis*, 27:234–238, 1996.
17. J. Kletzmayer, M. Födinger, J. Kovarik, G. Sunder-Plassmann, and W. H. Hörl. Serum transferrin receptor and transferrin receptor/log ferritin index predicting response to erythropoietin and intravenous iron therapy in hemodialysis patients. page 26, May 1999.
18. S. Bhandari, J. H. Turney, A. M. Brownjohn, and D. Norfolk. Reticulocyte indices in patients with end-stage renal disease on hemodialysis. *Journal of Nephrol NFK-DOQI clinical practice guidelines for the treatment of anemia of chronic renal failure III. Iron support. Am. J. Kidney Diseases*, 30(Suppl3):S202–S212, 1997, 11:78–82, 1998.
19. B. J. Ferguson and B. S. Skikne. Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia. *Journal of Clinical Laboratory Medicine*, 119:385–389, 1992. Weiss G, Houston T, Kastner S, Johrer K, Grunewald K, and Brock JH. Regulation of cellular iron metabolism by erythropoietin: activation of iron-regulatory protein and up-regulation of transferrin receptor expression in erythroid cells. *Blood*, 89:680–687, 1997.
20. M. Buttarello, P. Bulian, A. Venudo, and P. Rizzotti. Laboratory evaluation of the miles h-3 automated reticulocyte counter: a comparative study with manual reference method and sysmex r-1000. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 119:1141–1148, 1995.
21. NFK-DOQI clinical practice guidelines for the treatment of anemia of chronic renal failure III. Iron support. *Am. J. Kidney Diseases*, 30(Suppl3):S202–S212, 1997.
22. N. Ahluwalia, et al. Markers of masked iron deficiency and effectiveness of epo therapy in chronic renal failure. *American Journal of Kidney Diseases*, 30(4):532–541, October 1997.

23. Skikne B, Ahluwalia N, Fergusson B, Chonko A, and Cook J. Effects of recombinant human erythropoietin on iron absorption in chronic renal failure. *Blood*, 92:24B, 1998.
24. E. Alan Mast, M. A. Blinder, Qing Lu, Sherri Flax, and Dennis J. Dietzen. Clinical utility of the diagnosis of iron deficiency. *Blood*, 99(4):1489–1491, 2002.
25. E. L. Mast and M. A. Blinder. Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations. *Clinical Chemistry*, 44:45– 51, 1998