



T.C.  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BÖBREK YETERSİZLİĞİ OLAN HASTALARDA  
İNTESTİNAL PERMEABİLİTENİN  
İNFLAMATUAR PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

**Dr. Suphi BAŞLAR**  
**İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ**

**Danışman: Doç. Dr. Mehmet KOÇ**

**İSTANBUL, 2009**

## İÇİNDEKİLER

---

	<u>Sayfa</u>
Önsöz	ii
Simgeler Ve Kısaltmalar Dizini	iii
Özet	1-2
Summary (İngilizce Özet)	3-4
1. Giriş Ve Amaç	5-6
2. Genel Bilgiler	
2.1. Kronik Böbrek Hastalığı Tanımı	7
2.2. Kronik Böbrek Hastalığı ve Kardiyovasküler Hastalık Arasındaki İlişki	7-8
2.3. Kronik Böbrek Hastalığında İnflamasyon ve İnflamasyonun Atheroskleroz Gelişiminde Rolü	9-10
2.4. Kronik Böbrek Hastalarında İnflamasyon ve Yaygınlığı	10
2.5. Kronik Böbrek Hastalığında İnflamasyonun Nedenleri	10
2.5.1. Böbrek Fonksiyonları ve İnflamasyon	10-11
2.5.2. Altta Yatan KBH Etiyolojisi	11
2.5.3. Oksidatif Stres ve İnflamasyon	11-12
2.5.4. Kronik İnfeksiyonlar	13
2.5.5. Hiperhomosistinemi	13
2.6. Kronik İnflamasyonda TLRler: “Toll Like Reseptörler”, Fonksiyonları ve İnflamatuar Cevap ile İlişkileri	13-15
2.7. CD14, sCD14 ve İnflamatuar Cevap	15-16
2.8. Lipopolisakkarit ve Klinik Olarak İnflamasyon ile İlişkisi	16
3. Gereçler Ve Yöntem	17-20
4. Sonuçlar	21-29
5. Tartışma	30-34
6. Kaynaklar	35-43
7. Araştırma Etik Kurulu Onayı	44
8. Bilimsel Araştırma ve Proje Komisyon Başkanlığı Proje Kabul Belgesi	45

---

## ÖNSÖZ

Bu çalışmasının gerçekleştirilmesindeki değerli katkılarından dolayı, tez danışmanım Sayın, Doç. Dr. Mehmet KOÇ'a,

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca bilgilerinden ve deneyimlerinden yararlandığım İç Hastalıkları A.B.D'nin saygıdeğer öğretim üyelerinin her birine,

Tez çalışmamda büyük yardımlarını gördüğüm, Sayın Prof. Dr. Neşe İMERYÜZ'e,

Nefroloji Polikliniği'nde hasta seçiminde yardımcı olan Uzm. Dr. Hakkı ARIKAN ve Uzm. Dr. Elif ARI BAKIR'a ve poliklinik sekreteri Filiz YELEGEN'e,

Tüm Hemodiyaliz Ünitesi hemşirelerine,

İmmünoloji laboratuvarında flow sitometrik incelemelerin değerlendirilmesini yapan Sayın. Aysin TULUNAY'a ve Prof. Dr. Emel EKŞİOĞLU DEMİRALP'e,

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

Dr. Suphi BAŞLAR

## SİMGELER VE KISALTMALAR

AGE:	Advanced glycation end product (ileri gliserillenmiş son ürünler)
CKD:	Chronic kidney disease (kronik böbrek hastalığı)
CRP:	C-reaktif protein
DKB:	Diyastolik kan basıncı
DM:	Diyabetes mellitus
ESR:	Eritrosit sedimentasyon hızı
GFR:	Glomerular filtration rate (Glomerül filtrasyon hızı)
Hb:	Hemoglobin
Het:	Hematokrit
HD:	Hemodiyaliz
IL-6:	İnterlökin-6
IL-8:	İnterlökin-8
ICAM-1:	İnterselüler adhezyon molekül-1
IFN:	İnterferon
İMK:	İntima medya kalınlığı
KBH:	Kronik böbrek hastalığı
kD:	kilodalton
KKY:	Konjestif kalp yetmezliği
KV:	Kardiyovasküler
LAL:	Limulus amebosit lizat (LAL)
LDL:	Low density lipoprotein (düşük densiteli lipoprotein)
LPS:	Lipopolisakkarid
LBP:	Lipoprotein bağlayıcı protein
mCD14:	membran CD14
MDRD:	Modification of diet in renal disease
MFI:	Mean fluorescence intensity
NF-kB:	Nükleer faktör kappa B
RAGE:	Receptor of advanced glycation end products (İleri glikoz ürün resptörü)
ROS:	Reaktif oksijen türevleri
sCD14:	solubl CD14
SDBY:	Son dönem böbrek yetmezliği
SKB:	Sistolik kan basıncı
SLE:	Sistemik lupus eritematozis
SOD:	Süperoksid dismutaz
TLR:	Toll like reseptör
TNF- $\alpha$ :	Tümör nekrozis faktör- $\alpha$
VCAM-1	Vasküler yüzey adezyon molekül-1

## ÖZET

Kronik Böbrek Hastalığında (KBH) kardiyovasküler (KV) problemlere bağlı mortalite çok yüksek oranlardadır. Yapılan klinik çalışmalarda inflamasyon ve kardiyovasküler mortalite arasında sıkı bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Kronik böbrek hastalarında sıklıkla izlenen inflamasyonun sebebi tam olarak bilinmemektedir. Özellikle konjestif kalp yetmezliği hastalarında yapılan çalışmalarda kan lipopolisakkarit (LPS) seviyeleri ile bağlantılı olarak inflamatuvar belirteçlerin arttığı gösterilmiştir. Üremik hastalarda da bozulan renal fonksiyonlara paralel olarak intestinal permeabilite bozulmaktadır. Bu veriler ışığında üremik hastalarda artmış intestinal permeabilite ile LPS seviyelerinin yükselerek inflamasyonun gelişiminde katkıda bulunduğunu düşündük.

Bu çalışmada kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda böbrek fonksiyonlarının bozulmasına paralel olarak intestinal permeabilitenin artıp artmadığının ve olasılıkla artmış intestinal permeabilitenin bu hastalarda sıklıkla izlenen inflamasyon ile ilişkisinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Bu çalışmaya 28 evre 3-4 KBH olanlar, 21 evre 1-2 KBH olanlar ve 22 KBH olmayan sağlıklı kişi dahil edilmiştir. Diyabetik hastalar, konjestif kalp yetmezliği olanlar ve sıvı fazlalığı bulgusu olan KBH hastaları ve romatoid artrit, gut, malignite gibi sistemik inflamasyonu ve/veya infeksiyonu olanlarla son üç ay içerisinde inflamatuvar problem geçirenler çalışmaya dahil edilmediler. Hastaların ilaç kullanımları (aspirin, ACE inhibitörleri, ARB, statin) sorgulandı, kan basınçları ölçüldü. Hastaların GFR değerleri MDRD formülü ile hesaplandı, hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), serum kalsiyum, fosfor, albümin düzeyleri ölçüldü. serum CRP, IL-6, TNF- $\alpha$ , sCD14 ve LPS düzeyleri tespit edildi. Monositlerde TLR2 ve TLR4 ekspresyonu ve bunların yoğunlukları akım sitometrisi yöntemi kullanılarak ölçüldü. Hastaların sistolik (SKB) ve diyastolik (DKB) kan basınçları ölçüldü.

Statin kullanan hasta oranı evre 3-4 KBH grubunda anlamlı olarak fazlaydı (%35.7) vs %9.5,  $p<0.05$ ). Evre 1-2 KBH ( $3.78 \pm 3.16$  vs  $1.93 \pm 1.63$ ,  $p<0.05$ ) ve evre 3-4 ( $3.79 \pm 3.09$  vs  $1.93 \pm 1.63$ ,  $p<0.05$ ) gruplarındaki hastaların CRP değerleri kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti. Evre 1-2 ve evre 3-4 KBH grubundaki hastaların CRP düzeyleri benzerdi. Hastaların LPS düzeyleri ise kontrol, evre 1-2 KBH ve evre 3-4 KBH gruplarında sırasıyla  $0.72 \pm 0.45$  EU/ml,  $1.10 \pm 0.92$  EU/ml ve  $1.04 \pm 0.77$  EU/ml olmak üzere benzer bulundu. Evre 3-4 KBH grubunun sCD14 düzeyleri, hem kontrol grubundan ( $2.01 \pm 0.44$   $\mu\text{g/ml}$  vs  $1.43 \pm 0.27$   $\mu\text{g/ml}$ ,  $p<0.0001$ ) hem de evre 1-2 KBH grubundan ( $2.01 \pm 0.44$   $\mu\text{g/ml}$  vs  $1.53 \pm 0.30$   $\mu\text{g/ml}$ ,  $p<0.0001$ ) anlamlı olarak daha yüksekti. Hasta grupları arasında CD14<sup>+</sup>

monositler arasında TLR-2 eksprese hücre yüzdesi ve bu hücrelerdeki TLR-2 yoğunluğu (mean floresan intensitesi) benzerdi. Bu hücrelerdeki TLR-4 yoğunluğu ise evre 1-2 KBH ( $267 \pm 25$  vs  $248 \pm 23$ ,  $p < 0.05$ ) ve evre 3-4 KBH gruplarında ( $264 \pm 23$  vs  $248 \pm 23$ ,  $p < 0.05$ ) kontrol grubundan anlamlı olarak fazlaydı. TLR-4 eksprese eden CD14<sup>+</sup> monosit oranı evre 1-2 KBH ( $\%33.3 \pm 12.2$  vs  $\%27.1 \pm 11.6$ ,  $p = 0.17$ ) ve evre 3-4 KBH gruplarında ( $\%33.3 \pm 8.9$  vs  $\%27.1 \pm 11.6$ ,  $p = 0.08$ ) kontrol grubundan yüksek olmakla birlikte bu yükseklik istatistiksel anlama ulaşmadı. Tüm hasta ve kontrollerin dahil edildiği analizde sCD14 ile CRP ( $r = 0.39$ ,  $p = 0.001$ ), arasında ilişki saptandı. Bu ilişki evre 3-4 KBH hastalarında da devam etti ( $r = 0.48$ ,  $p = 0.001$ ).

Çalışmamızda, inflamasyonun azalan GFR düzeyleri ile arttığını, LPS düzeylerinin ise artmadığını ve LPS ile CRP ve sCD14 arasında bir ilişki olmadığını gösterdik. Bu bulgular sıvı fazlalığı olmayan non-diyabetik KBH hastalarında izlenen inflamasyonda endotoksinlerden çok diğer mekanizmaların etkin olduğunu ancak artmış sCD14 ve TLR ekspresyonlarının bu hastalardaki artmış monosit aktivasyonu ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

## **SUMMARY:**

Cardiovascular events are frequent causes of mortality in patients with chronic renal disease patients. Recent clinical trials demonstrated a strict relation between inflammation and cardiovascular mortality in these patients. The causes of inflammation are not well defined. It has been demonstrated that inflammatory markers are elevated and related to serum endotoxin levels in patients with congestive heart failure. In uremic patients, intestinal permeability increases as the renal failure progresses. In accordance with these data, we proposed that increase in intestinal permeability causes inflammatory response as a result of elevated serum endotoxin levels in CKD patients.

In this study, we investigated whether the intestinal permeability is increased in CKD patients and whether there is a relation between inflammation and intestinal permeability in these patients.

Twenty-eight stage 3-4 CKD patients, 21 stage 1-2 CKD patients and 22 healthy controls were included in the study. Patients with diabetes mellitus, congestive heart failure, systemic inflammatory conditions (e.g rheumatoid arthritis, gout, malignant diseases) and/or infections, or patients with inflammatory problems within the last 3 months and volume overloaded CKD patients were not included. Medications of the patients (acetyl salicylic acid, ACE inhibitors, ARBs and statins) and blood pressures were recorded. Glomerular filtration rate were calculated by MDRD formula and hemoglobin, hematocrit, serum albumin, calcium, phosphorus, CRP, IL-6, TNF- $\alpha$ , sCD14 were analysed by ELISA. Expression of TLR-2 and TLR-4 on CD14<sup>+</sup> monocytes were analysed by flow cytometry..

Statin use was significantly higher in stage 3-4 CKD patients than stage 1-2 CKD patients (%35.7 vs %9.5,  $p < 0.05$ ). CRP levels of stage 1-2 CKD patients ( $3.78 \pm 3.16$  mg/L vs  $1.93 \pm 1.63$  mg/L,  $p < 0.05$ ) and stage 3-4 CKD patients ( $3.79 \pm 3.09$  mg/L vs  $1.93 \pm 1.63$  mg/L,  $p < 0.05$ ) were significantly higher than healthy persons. CRP levels in stage 1-2 CKD patients and stage 3-4 CKD patients were similar. Serum LPS levels in healthy controls, stage 1-2 CKD and stage 3-4 CKD patients were  $0.72 \pm 0.45$  EU/ml,  $1.10 \pm 0.92$  EU/ml and  $1.04 \pm 0.77$  EU/ml, respectively ( $p = \text{NS}$ ). sCD14 levels of stage 3-4 CKD patients were significantly higher than both healthy controls ( $2.01 \pm 0.44$   $\mu\text{g/ml}$  vs  $1.43 \pm 0.27$   $\mu\text{g/ml}$ ,  $p < 0.0001$ ) and stage 1-2 CKD patients ( $2.01 \pm 0.44$   $\mu\text{g/ml}$  vs  $1.53 \pm 0.30$   $\mu\text{g/ml}$ ,  $p < 0.0001$ ). Among the patient groups, percentage of CD14<sup>+</sup> monocytes expressing TLR-2 and density of TLR-2 on these cells were similar. Mean fluorescence density of TLR-4 on monocytes of stage 1-2 CKD patients ( $267 \pm 25$  vs  $248 \pm 23$ ,  $p < 0.05$ ) and stage 3-4 CKD patients ( $264 \pm 23$  vs  $248 \pm 23$ ,  $p < 0.05$ ) were significantly higher than healthy persons. Despite the percentage of CD14<sup>+</sup>

monocytes expressing TLR-4 was higher in stage 1-2 CKD patients ( $33.3 \pm 12.2$  vs  $27.1 \pm 11.6$ ,  $p=0.17$ ) and stage 3-4 CKD patients ( $33.3 \pm 8.9$  vs  $27.1 \pm 11.6$ ,  $p=0.08$ ) than healthy controls, it was not statistically significant. A correlation was determined between sCD14 and CRP levels in all of the study population ( $n=71$ ,  $r=0.39$ ,  $p=0.001$ ). This relation was only significant in stage 3-4 CKD patients among the CKD groups ( $r=0.48$ ,  $p=0.001$ ).

In this study, we demonstrated that inflammatory response increase as the renal functions decline. We could not demonstrate an increase in serum LPS levels and a relation between LPS and sCD14 and CRP levels. Our results suggest that in non-edematous CKD patients mechanisms other than LPS are responsible for the chronic inflammatory state and that elevated sCD14 and TLR expressions are related monocytes activation.

## **GİRİŞ ve AMAÇ**

Kronik böbrek hastalığı (KBH); böbreklerin fonksiyonlarının geri dönüşümsüz olarak bozulması ile karakterize bir tablodur. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda diyaliz öncesi dönemler de dahil olmak üzere en önemli ölüm sebebi kardiyovasküler (KV) hastalıklardır(1, 2). Bu hastalardaki artmış KV hastalık riskinden geleneksel risk faktörlerinin yanısıra üremiye bağlı olarak gelişen artmış inflamasyon, oksidatif stress, hiperhomosisteinemi gibi üremiye bağlı faktörler de sorumludur(3-5).

Son yıllarda yapılan çalışmalar gerek normal toplumda gerekse de KBH olanlarda inflamasyonun birçok komorbid durumla birliktelik gösterdiği ve bu komorbid durumlarla birlikte hem genel toplumda hem de KBH'larında mortaliteyi arttırdığı ve inflamatuvar belirteçlerin de bu hasta grubunda mortalitenin en önemli tahmin edicisi olduğu gösterilmiştir(6-9). C-reaktif protein (CRP) seviyelerinin sağlıklı kontrollere kıyasla KBH'larının yaklaşık %60'ında yüksek olduğu rapor edilmiştir(6, 7, 10). Bu yükseklikten altta yatan böbrek hastalığı etiyojisi, renal fonksiyonlara bağlı olarak inflamatuvar belirteçlerin katabolize olamaması sonucu birikimi ve değişen üremik ortamın (artmış oksidatif stress gibi) inflamasyonu tetiklemesi, kronik infeksiyonlar, periodontal hastalıklar ve diyalize girmekte olan hastalarda santral kateterler, diyalizat sıvıları (periton diyaliz ve hemodiyaliz diyalizat sıvıları) gibi faktörler rol oynamaktadır (11-14).

Son yıllarda tanımlanan ve doğuştan gelen bağışıklık (innate immünite) sistemin en önemli birimlerinden olan Toll Like Reseptörler'in (TLR) inflamatuvar cevapta rol oynadığı ve bir çok kronik inflamatuvar durumlarda özellikle bağışıklık sistemi hücrelerinde ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir(12-14). Bu reseptörlerden TLR-2 ve TLR-4 ateroskleroz gelişiminde önemli rol oynayan monosit, makrofaj ve endotel hücrelerinde eksprese edilirler ve en önemli ligandı ise lipopolisakkarittir (LPS)(15-17). Lipopolisakkaridin bu reseptörlere bağlanması ile NF- $\kappa$ B yoluyla aktive olur ve bu hücrelerden tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar sitokinler salgılanır, interselüler adhezyon molekül-1 (ICAM-1) ve vasküler adhezyon molekül-1 (VCAM-1) eksprese edilir(14). Bu moleküller aynı zamanda ateroskleroz patogeneğinde rol oynayan temel faktörlerdir. LPS aynı etkileri monosit ve makrofaj üzerinde bulunan CD14 ve dolaşımda bulunan solubl-CD14 (sCD14) üzerinden de gösterir. Ayrıca, LPS monositlerde CD14 ekspresyonunu ve sCD14 sentezini tetikler.

Özellikle kalp yetmezliği (KKY) olan hastalarda ve KBH'larında yapılan literatürdeki tek çalışmada sıvı yüklü hastalarda serum LPS konsantrasyonları yüksek

bulunmuştur. İnflamasyon ve LPS ilişkisi sadece ödemli KKY hastalarında bakılmış ve serum C-reaktif protein (CRP) seviyeleri bu hastalarda yüksek bulunmuştur(18).

Bu çalışmada; farklı evrelerdeki KBH hastalarında olasılıkla artmış barsak geçirgenliğinin bu hastalarda serum LPS seviyelerini arttırıp arttırmadığını ve bunun dolaşımında sCD14 seviyeleri ile monositler üzerinde TLR ekspresyonu, ve inflamatuvar cevapla ilişkisini incelemeyi hedefledik.

## 2. GENEL BİLGİLER:

### 2.1. Kronik Böbrek Hastalığı Tanımı:

Kronik böbrek hastalığı (KBH); böbreklerin fonksiyonlarının geri dönüşümsüz olarak bozulması ile karakterize bir tablo olup böbrek fonksiyonları zamanla bozulmaya devam eder ve hastalarda kronik böbrek yetmezliğine özgü klinik ve laboratuvar bulguları gelişir. Pekçok kronik böbrek yetmezlikli hastada bilinen eski bir böbrek hastalığı veya altta yatan başka bir hastalık vardır.

Glomerüler filtrasyon hızı (GFR) normal insanda ortalama 120 mL/dk/1.73 m<sup>2</sup> civarındadır. GFR normalin %20'sinin altına düşerse üremi semptomları başlar. Böbrek hasarı olsun veya olmasın GFR, 3 ay boyunca <60 mL/dk/1.73 m<sup>2</sup> olan bireyler ile GFR ne olursa olsun altta yatan bir böbrek hasarı olan bireyler (örneğin biyopsi ile tanı konulmuş ancak GFR normal olan nefrit hastaları veya diyabetik nefropati hastaları) kronik böbrek yetmezlikli olarak sınıflandırılırlar.. Kronik böbrek yetmezliği beş evreye ayrılmıştır. Birinci evrede; böbrek hasarı ile beraber normal veya yüksek GFR düzeyleri (>90 mL/dk/1.73 m<sup>2</sup>) bulunmaktadır. İkinci evrede böbrek hasarı ile beraber GFR'de hafif düşüş (60-89 mL/dk/1.73 m<sup>2</sup>) mevcuttur. Üçüncü evrede GFR'de orta düzeyde azalma (30-59 mL/dk/1.73 m<sup>2</sup>) söz konusudur. Dördüncü evrede GFR'de ciddi düşüş (15-29 mL/dk/1.73 m<sup>2</sup>) vardır. Beşinci evre de ise GFR <15 mL/dk/1.73 m<sup>2</sup>, veya kalıcı renal replasman tedavisi gereklidir(19).

Kronik böbrek yetmezliğinin ilk evrelerinde spesifik bulgular olmayabilir; sadece serum kreatinindeki yükselme veya idrarda proteinüri olabilir. Böbrek fonksiyonları bozuldukça hastalarda sıvı yüklenmesi, hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, elektrolit bozuklukları (hiponatremi, hiperkalemi, hiperfosfatemi, hipokalsemi, hipermagnezemi gibi), metabolik asidoz, anemi ile lökosit ve trombosit fonksiyonlarında anormallikler gelişebilir. Kronik böbrek yetmezliği için tam olarak iyileşme yoktur. Tedavi edilmeden bırakılırsa son dönem böbrek yetmezliğine ilerler. Diyaliz veya transplantasyon gerektiren kronik böbrek yetmezliği son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olarak bilinmektedir. Tedavi ile kronik böbrek yetmezliğinin semptomları kontrol altına alınabilmekte, bozulma hızı yavaşlatılabilmektedir. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda diyaliz öncesi dönemler de dahil olmak üzere en önemli ölüm sebebi kardiyovasküler hastalıklardır(1, 2).

### 2.2. Kronik Böbrek Hastalığı ve Kardiyovasküler Hastalık Arasındaki İlişki:

Kardiyovasküler hastalık sadece genel populasyonda değil, kronik böbrek hastalığı

olan kişilerde de mortalitenin önde gelen nedenidir(3, 20). KV mortalite ve morbidite orta derecede böbrek hastalığı (GFR<60 ml/dk/ 1,73m<sup>2</sup>) olanlarda bile artmıştır. Kronik böbrek hastalığı (Evre 3-4) olan hastaların çoğu son dönem böbrek yetersizliği gelişmeden KV nedenlerden dolayı kaybedilmektedirler ve KV mortalite aynı yaştaki kontrol gruplarındakilere göre %15-30 oranında artmıştır(4). Bu artmış KV hastalık riski kronik böbrek hastalığı olan kişilerde genel popülasyona göre risk faktörlerinin daha sık olması sonucu olabilir(3-5). Risk faktörlerinin varlığı ile GFR arasında ters orantılı bir ilişki olduğu bildirilmiştir (4). Bundan dolayı kronik böbrek hastalığının varlığı koroner arter hastalığı gibi bir risk faktörü kabul edilmiştir(21).

Yaygın bir arter hastalığı olan ateroskleroz kronik böbrek hastalarında çok sık görülen dislipidemi gibi çeşitli uyarılara bir yanıt olarak gelişir ve dislipidemi KV hastalığın önemli bir nedenidir(5, 22). Bu durum azalmış HDL düzeyleri ve artmış plazma trigliseritleri ile karakterizedir. Çünkü VLDL ve IDL birikimi söz konusudur(22). Oksidatif stres, endotel disfonksiyonu ve inflamasyon da aterosklerozun gelişiminde ve ilerlemesinde anahtar rol oynarlar(23, 24). Oksidatif stresteki artış nitrik oksidin etkinliğini ve damar fonksiyonları üzerindeki yararlı etkilerini azaltarak endotel disfonksiyonuna neden olmaktadır(25). Bu durumda vasküler permeabilite değişmekte ve LDL kolesterolün intimaya girmesine izin vermektedir. LDL burada oksidize olarak yüksek oranda atherojenik bir moleküle dönüşerek damarda inflamatuvar olayları tetiklemektedir(24, 26). Bu durum lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonu ve dolaşımdaki inflamatuvar hücrelerin bunlara bağlanarak subendotelyal alana göç etmesi ile sonuçlanır. Monositler oksidize LDL'yi alarak köpük hücrelerine dönüşürler(24). Lezyon ilerledikçe düz kas hücreleri medya tabakasından intimaya göç ederler ve burada çoğalarak büyüme faktörlerinin etkisi ile kolajen, elastin gibi hücrelerarası (ekstraselüler) yapıyı oluştururlar. Bu da aterosklerotik lezyonun morfolojik sınırlarını belirleyen ve onu dolaşımdan ayıran fibröz örtünün oluşumuna yol açar(27). Plak yırtılması, hücrelerarası yapıda yer alan modülatörlerin makrofajlardan salınımına neden olan inflamatuvar olay ve ardından gelişen fibröz örtünün zayıflaması ile olur(28). Plak yırtılınca prokoagulan lipid yapı ile kan temas ederek trombus oluşumuna ve ardından miyokard infarktüsü, inme gibi klinik sonuçlara yol açar(28).

Son yıllarda yapılan çalışmalar gerek normal toplumda gerekse de KBH'larında inflamasyonun birçok komorbid durumla birliktelik gösterdiği ve bu komorbid durumlarla birlikte hem genel toplumda hem de KBH'larında mortalitenin arttığı gösterdiği, inflamatuvar belirteçlerin bu hasta gruplarında mortalitenin en önemli tahmin edicisi olduğu gösterilmiştir(6-9).

### **2.3. Kronik Böbrek Hastalığında İnflamasyon ve İnflamasyonun Atheroskleroz Gelişiminde Rolü:**

Kronik böbrek hastalarında yüksek oranda izlenen kardiyovasküler (KV) hastalıkların tamamı geleneksel risk faktörleri ile açıklanamamaktadır(29). Bu hastalardaki atherosklerozdan hipertansiyon, diabetes mellitus, dislipidemi ve sigara içme gibi çok iyi bilinen sebeplerin dışında infeksiyonlar, artmış oksidatif stress ve inflamasyon gibi geleneksel olmayan risk faktörleri ile artmış KV risk açıklanmaya çalışılmaktadır(30). Hemodiyaliz(31) hastalarında inflamasyonun mortalite ile olan bağlantısı ilk önceleri hipoalbuminemik(32) hastalarda izlenen yüksek mortalite daha sonraları da yüksek interleukin-6 (IL-6) seviyeleri(9, 33) ile olan ilişkisinin gösterilmesi ile anlaşılmıştır.

Ross ve arkadaşları tarafından ortaya atılan “hasara cevap” (response to injury) hipotezinde de belirtildiği gibi atheroskleroz inflamatuvar bir hastalık olup endotel ve immün sistem arasında seyreden bir dizi olayların sonucudur(34). Endotelyuma olan her türlü hasar bir dizi kompensatuvar cevaba neden olup endotelin normal homeostatik özelliklerinin bozulmasına sebep olur. Endotel “aktive” olur, ve lökositler ve trombositlere yönelik adhezyon molekülleri (vasküler yüzey adhezyon molekül-1 [VCAM-1] ve intraselüler adhezyon molekül-1 [ICAM-1]) eksprese edilir, permeabilitesinde artış izlenir, prokoagülan aktiviteleri artar, sitokinlerin, “kemoattractanların”, ve “growth faktörlerin” üretimi artar ve sonuç olarak aktive olmuş monositlerin ve T hücrelerinin endotel hücrelerine adhezyonu sonrası bir dizi inflamatuvar olay gerçekleşmeye başlar(34).

C-Reaktif Protein (CRP), IL-6, fibrinojen ve soluble ICAM-1 gibi inflamatuvar belirteçler klinik olarak kardiyovasküler hastalık bulguları olan son dönem böbrek yetmezliği hastalarında belirgin olarak yükselmiştir(35, 36). Yapılan klinik çalışmalar da bu hipotezleri desteklemektedir.

Karotis arterlerin incelendiği 5 yıl süren bir çalışmada renal problemi olmayan 826 hastada kronik infeksiyon varlığının karotis arterlerde atheroskleroz gelişimini 3 misli arttırdığı gösterilmiştir(37). Son yıllarda yapılan araştırmalarda özellikle klamidya infeksiyonlarının gerek renal hastalığı olmayan gerekse de renal hastalığı olan kişilerde atherosklerozun ilerlemesinde rol oynadığı gösterilmiştir(38). Kato ve arkadaşları 4 yıl süre ile takip ettikleri HD hastalarında chlamydia pneumonia IgA antikör düzeylerinin karotis intima media kalınlığı (İMK) >0.01 mm ilerleyen hastalarda karotis İMK <0.01 mm ilerleyen hastalardan daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Yine bu çalışmada İMK ile kan IL-6 ve CRP seviyelerinin korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Multiple regresyon analizinde CRP,

yaş, kan kreatinin, sigara içimi ve chlamydia pneumonia IgA seropozitifliğinin karotis İMK'da izlenen değişikliğin bağımsız belirleyicileri olduğu rapor edilmiştir(39).

“Cardiovascular Health Study” çalışmasına dahil edilen 5888 kişinin 647'sinde (%11) böbrek yetmezliği saptanmıştır. Böbrek yetmezliği olan hastaların C-reaktif protein ( $5.1 \pm 0.3$  mg/L vs  $3.5 \pm 0.1$  mg/L), fibrinojen, interleukin-6 ( $3.2 \pm 0.2$  pg/ml vs  $2.4 \pm 0.1$  pg/), faktör VIIc, faktör VIIIc, plazmin-antiplazmin kompleksi, ve D-dimer seviyeleri böbrek fonksiyonu normal olanlardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur(40). Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) çalışmasında evre 3 ve 4 Kronik Böbrek Hastaları (KBH) incelendiğinde CRP seviyeleri 3 mg/dl üzerinde olan hastaların kardiyovasküler mortaliteleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur(41). Evre 2, 3 ve 4 KBH da 5 yıllık takip sonunda izlenen mortalite oranı sırasıyla %19.5, %24.3 ve %45.7 olarak tespit edilmiştir(42). Bütün bu veriler KBH tam da açıklanamayan bir mekanizma (lar) ile inflamasyonun tetiklendiğini, artan inflamatuvar cevabın kardiyovasküler mortalitede artışla paralellik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

#### **2.4. Kronik Böbrek Hastalarında İnflamasyon ve Yaygınlığı:**

İnflamasyon Kronik Böbrek Hastalığı'nda (KBH) oldukça yaygın olup böbrek fonksiyonlarındaki bozulmaya paralel olarak inflamatuvar belirteçlerin de (IL-6, CRP, hyaluronan, fetuin-A, gibi) seviyeleri artmaktadır(43). Kimmel ve arkadaşları sağlıklı kontrollere kıyasla KBH'larında inflamatuvar belirteçlerin bir kaç misli yüksek seviyede olduğunu rapor etmiştir(44). Bir inflamatuvar belirteç olan CRP seviyelerinin ise KBH'larının yaklaşık %60'ında yüksek olduğu tespit edilmiştir(6, 7, 10). Bazalde var olan inflamasyon, altta yatan hastalık aktivasyonu, enfeksiyonlar, kateter takılması gibi sebeplerle zaman zaman daha da artışlar gösterebilmektedir(45).

#### **2.5. Kronik Böbrek Hastalığında İnflamasyonun Nedenleri:**

Kronik böbrek yetmezliğinde bir çok faktör artmış inflamasyondan sorumlu tutulmaktadır. Bunlar arasında altta yatan böbrek hastalığı etiyojisi, azalmış renal fonksiyonlara bağlı olarak inflamatuvar belirteçlerin birikimi ve değişen üremik ortamın tetiklediği bazı faktörlere bağlı olarak inflamasyonun tetiklenmesi, kronik enfeksiyonlar, periodontal hastalıklar, diyalize girmekte olan hastalarda santral kateterler, diyalizat sıvıları (periton diyaliz ve hemodiyaliz diyalizat sıvıları) gibi faktörler rol oynamaktadır(11, 46-48).

##### **2.5.1 Böbrek Fonksiyonları ve İnflamasyon:**

Böbrek fonksiyonlarının derecesine göre inflamatuvar belirteçlerin seviyelerinde artış olduğu belirtilmiştir(43). Razeghi ve arkadaşları da serum kreatinin seviyesi 1.5 mg/dl üzerinde olan 100 hastanın inflamatuvar belirteçlerini incelemiştir. Hastaların 17'sinde CRP seviyelerini yüksek (> 10 mg/L) bulmuşlardır. CRP seviyesi yüksek olan hastalarda GFR değerleri ( $24.3 \pm 14.4$  ml/dk vs  $33.6 \pm 16.3$  ml/dk) daha düşük bulunmuştur. CRP seviyeleri ile GFR, fibrinojen, transferrin, kolesterol ve ferritin seviyeleri arasında ilişki (pearson korelasyon analizi) saptanmıştır(49). Pecoits-Filho ve ark. 176 hastayı dahil ettikleri çalışmalarında GFR oranı 1.8 ila 16.5 ml/dk arasında olana hastaları incelemiştir. GFR seviyeleri 6.5 ml/dk altında olan ve üzerinde olan hastaları karşılaştırdıklarında hsCRP (1,14 vs 0,41 mg/dl), IL-6 (6,7 vs 4,7 pg/ml) ve hyaluronan (77 ng/ml vs 53 ng/ml) seviyelerini daha yüksek bulmuşlardır(50).

Böbrek fonksiyonlarındaki azalma ile inflamatuvar belirteçlerin renal klirenslerinin veya katabolizmalarının azalması, üremik ortamda biriken bazı maddelerin (reaktif oksijen türevleri, AGE'ler gibi) inflamasyonu tetiklemesi GFR seviyeleri ile inflamasyon arasındaki ilişkiyi açıklamada öne sürülen tezlerdir(51, 52).

### **2.5.2. Altta yatan KBH etiyolojisi:**

Otoimmün hastalıklar ya da amiloidoz gibi altta yatan hastalıklar ya da iskemik kalp hastalığı, periferik arter hastalığı, DM gibi komorbiditeler de kronik inflamasyonun nedeni olabilirler(53, 54)

### **2.5.3. Oksidatif stres ve inflamasyon:**

Oksidatif stres, reaktif oksijen türevlerinin (ROS) üretim ve yıkım oranındaki dengesizlik olarak değerlendirilebilir(51). Normal koşullarda ROS (süperoksit anyonları, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri) memeli hücrelerinde aerobik solunum sırasında enerji üretilirken oksijenin indirgenmesi ile oluşur(55).

Böbrek fonksiyon bozukluğu sıklıkla oksidatif stresle ilişkilendirilmiştir, öyle ki değişen böbrek fonksiyonlarına sahip hastalarda (son dönem böbrek yetersizliği de dahil) bakılan plazma f2-izoprostan, ileri oksidasyon protein ürünleri ve malonildialdehit gibi belirteçlerin artmış olduğu görülmüştür(56-58). Ayrıca artmış oksidize LDL düzeyleri de rapor edilmiştir(22, 59). Böbrek fonksiyonları azaldıkça ROS artmaktadır ve farklı çalışmalar oksidatif stres belirteçleri ve GFR arasında ters orantılı bir ilişki olduğunu rapor etmiştir (56, 60).

Üremide görülen oksidatif stresin artmış ROS üretimine bağlı olabileceği

düşünülmektedir. Bu düşüncenin dayanağı böbrek yetersizliği hastalarında NADPH oksidaz aktivite ve ekspresyonunun arttığı gösterilmiş olmasıdır(61, 62).

ROS böbrek işlevlerinin bozulmasına paralel olarak artan inflamasyondan sorumlu tutulmaktadır. Oksidatif stres, inflamasyon ilişkili genlerin ekspresyonunu kontrol eden transkriptör faktör olan NF- $\kappa$ B'yı uyarır(63). NF- $\kappa$ B sitoplazma içinde inhibitör proteinlere (I- $\kappa$ B ailesi üyesi) bağlı olarak inaktif durumda bulunan dimerik yapıda bir faktördür. Bu inhibitör proteinlerin fosforilasyonu, posteryor ubiquitinasyonu ve proteolizi NF- $\kappa$ B'nin salınımına, hücre çekirdeğine translokasyonuna ve sonrasında proinflamatuvar sitokin genlerinin aktivasyonuna yol açar. Bu basamaklardan bazıları (I- $\kappa$ B sisteminde yıkım, fosforilasyon) oksidatif stresten etkilenmektedir ve ortamda antioksidanların bulunması ROS aracılığı ile NF- $\kappa$ B aktivasyonunu engellemektedir(63, 64). Benzer şekilde indirgenmiş glutation yokluğu da NF- $\kappa$ B aktivasyonunu kolaylaştırmaktadır(64). Cachofeiro ve ark. yaptığı çalışmada Evre 2-4 KBH olan kişilerde (eGFR= 42,8  $\pm$  24,9ml/dk; yaş 67,2  $\pm$  13,8) inflamatuvar belirteçler ile birlikte oksidatif stres ile ilişkili belirteçler de incelenmiş ve beklendiği gibi, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında böbrek yetersizliğine yüksek lipid hidroperoksid ve oksidize LDL düzeylerinin eşlik ettiği görülmüştür. Buna ek olarak yine aynı çalışmada üremik hastalarda CRP, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  düzeylerinin yaşları eşlenmiş sağlıklı gruba göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ayrıca oksidize LDL ve CRP arasında korelasyon saptanmıştır(51).

Orta veya ileri derece böbrek yetmezliğinde oksidatif stres artmıştır(65). Oksidasyon sonrası "ileri gliserillenmiş son ürünler (advanced glycation end products, AGE) gibi proteinler ise hücreler (monositler) üzerinde bulunan AGE reseptörlerine bağlanarak proinflamatuvar sitokinleri ve bu sitokinlerde karaciğerden CRP sentezini uyarırlar(66-69).

Aktive makrofaj, endotel hücreleri ve fibroblast gibi hücrelerden salınan reaktif oksijen türevleri (ROS) süperoksit dismutaz (70) ve nitrik oksit sentaz enzimleri tarafından bertaraf edilir. KBH'ında artmış SOD aktivitesi nedeniyle Fe<sup>++</sup> ve Cu<sup>++</sup> elementlerinin varlığında reaktif hidroksil radikalleri oluşur. Bu durum ise hücre yıkımına ve inflamasyona neden olur(48). İntravenöz demir preparatları da serbest demir yayarak serbest radikal oluşumuna neden olmaları ve bunun sonucunda da protein ürünlerinin oksidasyona uğramasına katkıda bulunmaları nedeni ile önem taşımaktadır(71). Son dönem böbrek hastalarında artık bilinmektedir ki artmış akut faz inflamasyonu ve oksidatif stres durumu olmakta ve bunlar artan kardiyovasküler morbidite ve mortalite ile ilişkilendirilmektedir (6, 72-74).

#### **2.5.4. Kronik İnfeksiyonlar:**

Klamidya enfeksiyonları gibi. Klamidya, H.Pylori ve periodontal enfeksiyonlar en çok suçlanan enfeksiyonlardır. Hemodiyaliz hastalarında IgA ve IgG tipinde C.pneumoniae antikorları saptanması kardiyovasküler olaylar ve mortaliteyi arttırmaktadır(75, 76). Ayrıca hemodiyaliz hastalarında oldukça sık rastlanan periodontal hastalıklar da yaş, diyabet, sigara, hemodiyaliz süresi, malnütrisyon ve inflamasyon ile ilişkilidir(77). Bazı periodontal basillere karşı gelişen IgA antikorlar yüksek CRP düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur(78). Bunun yanısıra periodontal tedavi ile birlikte CRP ve ESR düzeylerinin düştüğü görülmüştür(79).

#### **2.5.5. Hiperhomosisteinemi:**

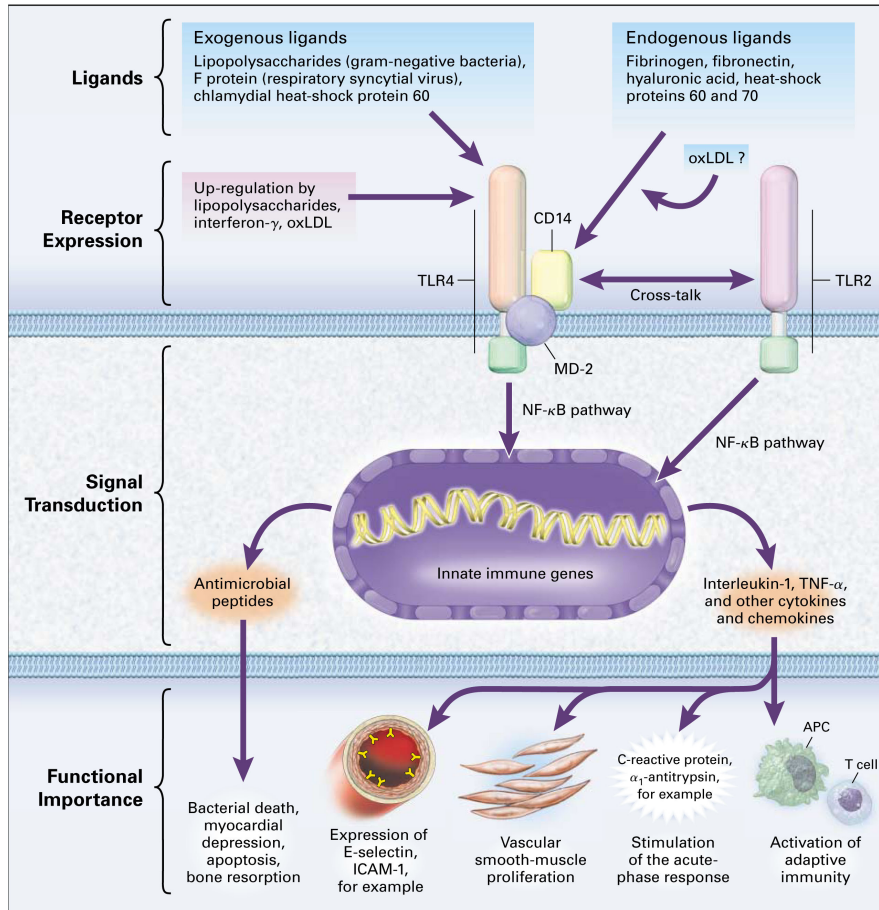
KBH'larında hiperhomosisteinemi de böbrek fonksiyonlarına paralel olarak gelişir. Deneysel ortamlarında düz kas hücrelerinin homosistein ile inkübe edilmeleri sonrası nükleer faktör  $\kappa$ B (NF-  $\kappa$ B) yolağını aktive etmekte ve bu yolağın aktive olması da proinflamatuvar sitokinlerin salınımına sebep olmaktadır(80) (Şekil 1). Yine Apo-E geni taşımayan hiperhomosisteinematik fare modelinde NF-  $\kappa$ B translokasyonunun ve RAGE ekspresyonunun arttığı ve bu farelerde TNF-alfa gibi inflamatuvar belirteçlerin de artış gösterdiği tespit edilmiştir(81).

#### **2.6. Kronik İnflamasyonda TLRler: “Toll Like Reseptörler”, Fonksiyonları ve İnflamatuvar Cevap ile İlişkileri:**

Doğuştan gelen bağışıklık (innate immünite) cevabı enfeksiyon hastalıklarına karşı ilk savunma mekanizmasıdır. Konakçı için temel amaç patojeni tespit etmek ve hızlı bir şekilde savunma cevabını oluşturmaktır. “Toll like reseptör” (TLR) adı verilen bir grup protein bu görevi omurgalı ve omurgasız canlılarda yerine getirmektedir. Bu reseptörler “oligo spesifik” olup mikrobik organizmalarda bulunan ancak daha gelişmiş ökaryotik canlılarda ifade edilmeyen molekülleri tanırlar. İlk olarak drosophila'da tespit edilmiş olan bu reseptörlerin aktif olması bir dizi transkripsiyon faktörünü aktive ederek “nükleer faktör-( $\kappa$ )B (NF-  $\kappa$ B)” sinyal yolağını (pathway) aktive eder(82, 83). Memelilerde de TLR'lerin homologlarının varlığı tespit edilmiştir(84). Halen günümüze kadar 10 farklı TLR belirlenmiş olup bu reseptörlerin 7 tanesinin farklı mikrobiyal antijenlerle etkileşime girebildiği gösterilmiştir. Bunlardan TLR-4'ün “innate bağışıklık sistemi” ile ilişkisi bu reseptörün farelerde lipopolisakkaritin (LPS) bir reseptörü olması ile gösterilmiştir. TLR-4 reseptör geninde mutasyonu olan yada istemli hasar geliştirilmiş olan farelerde lipopolisakkaride cevap

olmadığı ve endotoksik şok geliştirmedikleri tespit edilmiştir(15). Buna karşın TLR-2 geninde delesyon geliştirilmiş farelerde ise lipolisakkaride olan cevabın normal olduğu izlenmiştir(85). Bu nedenle lipolisakkaridin tanınması için TLR-4 gereklidir. TLR-2 reseptörü gram pozitif bakteri duvarının elemanlarını, TLR-5 bakterilerin flagellasını, TLR-9 ise bakteri DNA'sının methillenmemiş CpG motiflerini tanır(86).

Bu reseptörlerden TLR-4 gram negatif bakterilerde bulunan LPS'nin bir reseptörüdür(15). Gerek endotel hücrelerinde gerekse de makrofaj hücrelerinde TLR-4, LPS veya "Heat Shock Protein 60" tarafından uyarıldığında proinflamatuvar transkripsiyon faktörü olan NF- $\kappa$ B üretimini aktive etmektedir(12, 83, 87). Bu faktörler ise adaptif immün cevapta son derece önemli rolleri olan çeşitli sitokinlerin üretilmesini indüklerler(84). LPS'nin TLR-4 tarafından tanınması için CD14 ve MD-2 yüzey moleküllerine de gereksinim duyulmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1: Toll Like Reseptör-4 ve inflamasyonla ilişkisi. (Kiechl S, New Engl J Med 2002; 347:185 den alınmıştır).

Toll like reseptörler başlıca dentritik hücreler, makrofajlar gibi bağışıklık sistemine ait hücrelerin yüzeyinde bulunurlar. Son yıllarda bu reseptörlerin barsak epitel hücrelerinde de bulunduğu ve çeşitli alt gruplarının proinflamatuvar cevabı başlatmak, epitel bariyerini sağlamlaştırmak gibi farklı görevleri olduğu gösterilmiştir. Barsak hücrelerindeki TLR4 proinflamatuvar süreçlerde işlev kazanıp barsağa B lenfositlerinin yerleşmesini ve bu hücrelerin Ig A salgılayan plazmositlere dönüşmesini sağlar, bir anlamda innate ve adaptif bağışıklık sistemleri arasında köprü oluşturur. Kronik inflamatuvar barsak hastalıklarındaki rolü ve diğer organların sistemik kronik inflamasyonlarındaki değişiklikleri halen araştırılmaktadır(88).

## **2.7. CD14, sCD14 ve İnflamatuvar Cevap:**

CD14; LPS ve LBP (lipopolisakkarid bağlayıcı protein) kompleksi için reseptör görevi gören bir hücre zarı glikoproteinidir(89, 90). CD14 monositler ve makrofajlar üzerinde eksprese edilir(91). CD14 reseptörü monositerin LPS tarafından aktive edilmesindeki temel reseptörlerdendir. Dolaşıma geçen LPS, LPS bağlayıcı proteinle bir kompleks oluşturur(92). Bu kompleks daha sonra monosit ve makrofajlar üzerinde bulunan CD14 reseptörü ile birleşir ve sitokin üretimini tetikler(90, 93). CD14'ün hücre zarına bağlı (mCD14) türü dışında iki farklı moleküler ağırlıkta (48 kD ve 56 kD) solubl izoformu (sCD14) da vardır(94). Monosit ve makrofajların LPS veya TNF- $\alpha$  ile uyarılmaları sonucu sCD14 seviyeleri dolaşımda ve hücre kültür süpernatantlarında artmaktadır(95). sCD14; dolaşımda LPS bağlar ve üzerinde CD14 bulunmayan hücrelerde de (endotel, epitel hücreleri) NF- $\kappa$ B yolağını aktive ederek bu hücrelerin aktivasyonunu sağlar ve bu hücrelerden IL-6, IL-8, ICAM-1 ve VCAM-1 salgılanmasını yada eksprese edilmesini sağlar(96, 97).

LPS bağlama yetenekleri nedeni ile hem mCD14 hem de sCD14 sepsis ve endotoksemide önemli rol oynamaktadırlar(98). LPS'in insan monosit ve makrofajlarında CD14 mRNA, mCD14 ve sCD14 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir(98). Yine aynı çalışmada lipid A, heat-killed Escherichia coli, lipoteichoic acid ve Staphylococcus aureus hücre duvarı ekstraktlarının de benzer etki gösterdiği görülmüştür. Nockher ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada diyaliz hastalarının sCD14 seviyelerinin diyalize girmeyen KBH'ları ve sağlıklı kontrollerden daha yüksek olduğu ve diyalizle sCD14 seviyelerinin daha da yükseldiği görülmüştür. Bu hastalardan izole edilen monositler LPS ile inkübe edildiğinde süpernatantlarda sCD14 seviyelerinde artış saptanmıştır(99). Yine Scherberich ve ark. tarafından SLE hastalarında yapılan çalışmada sCD14 düzeylerinin inaktif SLE hastalarında

kontrollere göre daha yüksek olduğu ve ayrıca aktif SLE hastalarında da inaktif SLE hastalarından daha yüksek olduğu gözlenmiştir(100).

## **2.8. Lipopolisakkarit ve Klinik Olarak İnflamasyon ile İlişkisi:**

Endotoksinin inflamasyona olan katkısının en iyi çalışıldığı hasta gruplarından birisi konjestif kalp yetmezliği (KKY) hastalarıdır. Niebauer ve ark. çalışmalarında sağlıklı kontrollerde plazma endotoksin seviyelerini 0.46 EU/ml, ödemi olmayan KKY hastalarında 0.37 EU/ml ve ödemi olan KKY hastalarında 0.74 EU/ml bulmuşlardır (18). Çözünebilir (soluble) CD14 seviyeleri de endotoksin seviyelerine paralel olarak ödemli KKY hastalarında en yüksek bulunmuştur. Interlökin-6, CRP seviyeleri de aynı şekilde ödemli KKY hastalarında ödemi olmayan KKY hastalarından ve kontrollerden daha yüksek bulunmuştur. Bir kısım ödemli KKY hastası diüretik tedavi aldıkları zaman endotoksin seviyeleri 0.84 EU/ml'den 0.45 EU/ml'ye gerilemiş ancak 23 günlük tedavi sonunda IL-6 ve TNF-alfa seviyelerinde değişim izlenmemiştir. Bu hastalardan 5'inin izlemleri 60 güne uzatıldığında TNF-alfa seviyelerinde anlamlı azalma izlenmiştir (39.6 pg/ml vs 31.0 pg/ml, p=0.079) (8). Bir başka çalışmada ise sıvı yüklenmesi olan KKY hastalarında sistemik inflamasyon bulguları olduğu ve yüklenme bulgularının düzeltilmesi ile birlikte bu bulguların da azaldığı bildirilmiştir(101). Bu hastalarda görülen inflamatuvar durumun ödem nedeni ile barsakta gelişen geçirgenlik artışı sonucu endotoksinlerin dolaşıma geçişi ile olduğu düşünülmektedir.

KBH'nda var olan kronik inflamatuvar durumun da bu hastalarda erken dönemden başlayarak oluşan vücutta sıvı fazlalığı nedeni ile gelişen barsak duvarı ödemi ve böylelikle oluşan barsak geçirgenliği artışının endotoksinlerin dolaşıma geçmesine izin vermesi nedeni ile olduğu da ortaya atılan bir fikirdir. Gonçalves ve ark. böbrek işlevleri, sıvı yüklenmesi ve endotoksemi arasındaki ilişkiyi saptamak için 74 kronik böbrek hastası [GFR (6-107) 34 ml/dk] arasında yaptığı çalışmada sıvı yüklenmesi bulguları olan hastalarda endotoksin düzeylerinin de artmış olduğu gösterilmiştir. Her ne kadar hastaların çoğunluğunda (%83) ile sıvı yüklenmesi (inferior vena kava ölçümü çapı ve kollapsing indeks ölçümü) saptanmış olmasına rağmen bu çalışmada endotoksin düzeyleri ile GFR, CRP ve fibrinojen düzeyleri arasında bir korelasyon saptanmamıştır(102).

## **GEREÇLER ve YÖNTEM:**

### **Çalışmanın Tasarımı:**

Çalışmanın amacı kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda böbrek fonksiyonlarının bozulmasına paralel olarak intestinal permeabilitenin artıp artmadığının ve olasılıkla artmış intestinal permeabilitenin bu hastalarda sıklıkla izlenen inflamasyon ile ilişkisinin incelenmesidir.

Çalışmamız Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (MAR-YÇ-2007-0124) ve Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Projeler Komisyonu (SAG – A 030408- 0061 nolu proje) tarafından desteklenmiştir.

### **Hasta ve Kontrol Grupları:**

Çalışmamıza 17/11/2008 ile 19/12/2008 tarihleri arasında 28 evre 3-4 KBH'sı, 21 evre 1-2 KBH'sı ve 22 KBH olmayan sağlıklı kişi dahil edilmiştir.

Tahmini glomerüler filtrasyon oranı (GFR) ne olursa olsun altta yatan diyabetik nefropati, hipertansif nefropati, kronik glomerülonefrit, polikistik böbrek hastalığı gibi morfolojik bir renal hastalığı olanlar veya tahmini glomerüler filtrasyon oranı (GFR) en az 3 aydır 60ml/dk/1.73m<sup>2</sup> altında olanlar KBH olarak tanımlandı(103). Çalışmamıza sağlıklı kontroller, evre 1-2 KBH ile evre 3-4 KBH olmak üzere 3 grup dahil edilmiştir. Evre 1-2 KBH grubuna diyabetik olmayan ve tahmini GFR değeri > 60 ml/dk olan KBH hastaları, evre 3-4 grubuna ise diyabetik olmayan ve tahmini GFR hızı 15 ml/dk – 60 ml/dk arasında olan hastalar dahil edildi. Kontrol grubu olarak böbrek fonksiyonları normal olan ve herhengi bir böbrek yetersizliğine neden olacak hastalığı olmayan kişiler alınmıştır. GFR; MDRD formülü ( [170 × (kreatinin)<sup>-0.999</sup> × (104)<sup>-0.76</sup> × (BUN)<sup>-0.170</sup> × (albümin)<sup>+0.318</sup> × 0.762 kadınlarda] [mL/dk/1.73 m<sup>2</sup>] kullanılarak hesaplandı(105). Hastaların ayrıntılı anamnezleri alındı, muayeneleri yapıldı, klinik ve demografik verileri (yaş, cinsiyet, böbrek hastalığı etiyojisi, kan basıncı değerleri, kullanmakta oldukları antihipertansif ilaçlar) belirlendi.

### **Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri:**

Çalışmamıza diyabetik hastalarla, konjestif kalp yetmezliği olan ve çalışma anında fizik muayenede sıvı fazlalığı bulguları olan KBH'ları çalışmaya dahil edilmediler. Son üç ay içerisinde böbrek hastalığı dışında romatoid artrit, gut, malignite gibi sistemik inflamasyonu olanlar ve/veya infeksiyonu olanlar, immun sistemi baskılayıcı ilaç (steroid, siklofosfamid, siklosporin, azathiopirin, siklofosfamid veya kemoterapötik ilaçlar) kullananlar da çalışmaya dahil edilmediler.

Hastalar en az 10 saatlik açlık zaman diliminden sonra Marmara Üniversitesi Hastanesi, Nefroloji polikliniğine çağrıldılar. Serum ve plazma örnekleri için steril şartlarda ve pirojen ihtiva etmeyen steril tüplere kanlar alındı. Serum ve plazma örnekleri hemen soğuk santrifüj kullanılarak 1000g ile santrifüje edilerek ayrıldı. Yine steril şartlarda ve pirojen ihtiva etmeyen pipet uçları kullanılarak pirojen ihtiva etmeyen endorf tüplerine lipopolisakkarit ve sitokinlerin tespiti için serum ve plazma örnekleri ayrıldı ve analizler yapılmaya kadar -80 °C'de saklandı. Ayrıca EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinde flow sitometrik analizler yapıldı.

### **Kan Örneklerinin Alınması:**

Sabah 10 saatlik açlık periyodunun ardından endotoksin taşımayan tüplere alınan kanlar hemen 4 C de santrifüj edildi ve tüplere aktararak analizler yapılmaya kadar -80 °C'de saklandı. Bu işlemler sırasında, endotoksin taşımayan kan alma tüpleri, pipet uçları ve endorf tüpleri kullanıldı.

### **ELISA işlemleri:**

Serum örneklerinde IL-6 (human high sensitif IL-6 ELISA, katalog no: BMS213HS, Bender MedSystems, Viyana, Avusturya), TNF- $\alpha$  (human high sensitif TNF- $\alpha$  ELISA, katalog no: BMS223HS, Bender MedSystems, Viyana, Avusturya), sCD14 (Quantikine human sCD14 Immunoassay kiti, katalog no: DC140, R & D Systems, Minneapolis, MN, ABD) ticari kitleri kullanılarak çalışıldı.

Kısaca, mouse anti-human monoklonal antikorlarla (anti-TNF-alfa, anti-IL-6, soluble CD14, vs) kaplanmış olarak gelen 96 kuyucuklu plaklara uygun dilüsyonlarda serum örnekleri konularak inkübe edildi. Yıkama işleminin ardından streptavidin işaretli deteksiyon antikoruna ile inkübasyon işleminin ardından tekrar yıkama işlemi yapıldı ve biotin konjüğe horse radish peroksidaz ile inkübasyon yapıldı. Yıkamanın ardından substrat (3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine, TMB) eklendi ve oluşan reaksiyon asit eklenmesi ile durduruldu ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometre ile okundu. Standardlar kullanılarak bir standart eğrisi oluşturuldu ve elde edilen formül kullanılarak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.

### **Serum Örneklerinde hsCRP Tespiti:**

CRP, Serum örneklerinde hsCRP immünonefelometrik (ABCO Diagnostici s.r.l, Sant' Angelo, İtalya) yöntem kullanılarak tespit edilmiştir. Bu testte, anti-human CRP ile

kaplanamış parçacıklar üzerine dilüe edilmiş serum örnekleri eklenir. Test, nefelometredeki saçılan (scatter) ışığın örnekteki CRP miktarı ile korelasyonu prensibine dayanır. Standartlar kullanılarak yapılan eğri yardımıyla örneklerin CRP konsantrasyonu belirlendi.

### **Serum Endotoksin Düzeylerinin Belirlenmesi:**

Serum endotoksin düzeyleri; endotoksin içermeyen uygun koşullarda alınan ve -80 °C'de saklanan örneklerde end-point LAL kiti (Limulus Amebocyte Lysate QCL-1000 test kit, BioWhittaker Inc, Walkersville, USA) kullanılarak tespit edildi. Test endotoksinin enzimatik tepkime yolu ile LAL üzerinde opaklaşması ve jelleşmesi temeline dayanır. Bu işlem sırasında öncelikle endotoksin inhibitörlerini nötralize etmek için serum örnekleri 10 dakika süreyle 70 °C'de ısıtılmıştır. Steril ve endotoksinsiz 96 kuyucuklu plaklara 50 µl 1/5 sulandırılmış örnek konulmuş ardından da her kuyucuğa 50 µl LAL eklenmiştir. On dakikalık inkübasyon sonrası, kuyucuklara reaksiyon sonrası sarı renk veren substrat eklenmiş, altı dakikalık reaksiyon sonrası da işlem 50 µl asetik asitle sonlandırılmış ve spektrofotometre ile 405 nm'de absorbans ölçülmüştür. Konsantrasyonu bilinen endotoksin konsantrasyonları ile yapılan standart eğri kullanılarak serum örneklerinin endotoksin konsantrasyonları hesaplanmıştır. Metodun minimum ölçüm limiti 0.01 EU/ml'dir.

### **Toll-Like Reseptör Düzeylerinin Ölçülmesi:**

Serum endotoksinin (lipolisakkarit) monositler üzerindeki toll like reseptör-2 (TLR-2) ve toll like reseptör-4 (TLR-4) aktivasyonu üzerine olan etkileri flow sitometrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla 5 ml eritrosit lizis tamponadı (155 mM NH<sub>4</sub>Cl; 10 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>; 0.09 mM EDTA) üzerine 100 µl EDTAlı tüplere alınmış tam kan eklenip 10 dakika beklettikten sonra 10 dakika süre ile santrifüj (500 g) edilerek hücre peleti 10 ml fosfat tampon solüsyonu ile çözülüp 1200 devir hızında tekrar santrifüj edilmiş ve 100 µl PBS/0.5% Bovine Serum Albumin/1 mM EDTA solüsyonu içine konulmuşlardır. Elde edilen hücre solüsyonu iki ayrı tüpte mouse anti-human CD14-FITC ve mouse anti-human TLR2-PE veya mouse anti-human TLR-4 PE monoklonal antikoları ile 30 dakika süreyle inkübe edilmişlerdir. Hücreler daha sonra PBS tampon solüsyonu ile iki kez yıkanmış ve flow sitometri cihazı ile (Becton Dickinson) ölçümler yapılmıştır. Monositler CD14<sup>+</sup> boyanmalarına göre kapılanmış ve bu hücreler arasında TLR-2 ve TLR-4 eksprese eden hücre oranı ve bu hücrelerde bu reseptörlerin yoğunlukları (intensiteleri) belirlenmiştir. Sonuçlar

CD14+ hücrelerde TLR-2 ve TLR-4 pozitifliği (%) ve bu antikorların ortalama floresan yoğunluğu (MFI) olarak rapor edilmiştir.

### **İstatistiksel Analiz:**

İstatistiksel analizler için SPSS 14.0 for windows software programı kullanılmıştır. Sayısal değişkenler, ortalama  $\pm$  standart deviasyon şeklinde belirtilmiştir. Sayısal değişkenlerin gruplar arasında karşılaştırılması sırasında ANOVA testi (parametrik dağılım gösteren verilerde) ve Kruskal-Wallis testi (nonparametrik dağılım gösteren verilerde) kullanılmış olup sonuçlar posthoc analiz ile belirtilmiştir. Kategorik veriler ise yüzde olarak tanımlanmış ve Ki-kare testi ile karşılaştırılmıştır. Korelasyon analizlerinde Spearman korelasyon testi kullanılmış ve bu testte anlamlı olan parametrelere kullanılarak da CRP ile ilişkili parametreler logistic regresyon analizi kullanılarak belirlenmiştir.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## SONUÇLAR:

Çalışmamıza, sağlıklı kontrol grubunda 22 kişi, evre 1-2 KBH grubunda 21 kişi ve evre 3-4 KBH grubunda 28 kişi dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen kadın ve erkek oranı gruplar arasında benzerdi (Tablo 1).

Yaş ortalamaları incelendiğinde evre 3-4 KBH grubunun yaşı diğer gruplardan yüksek olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmadı (Tablo -1).

KBH gruplarında renal hastalık etiolojileri incelendiğinde glomerülo nefrit oranı evre 1-2 KBH (%52.4 vs %35.7, p=0.26) hipertansiyon/RAS oranı da evre 3-4 KBH grubunda (%39.3 vs %23.8, p=0.35) yüksek olmakla birlikte bu farklılık istatistiksel anlama ulaşmadı. Diğer renal hastalık etiolojileri gruplar arasında benzerdi (Tablo 1).

Aspirin kullanım oranı evre 3-4 KBH grubunda daha fazla olmakla birlikte istatistiksel anlama ulaşmadı. Statin kullanan hasta oranı ise evre 3-4 grubunda anlamlı olarak fazlaydı (%9.5 vs %35.7, p<0.05). ACE/ARB kullanım oranları ise her iki grupta oldukça yüksek oranlardaydı (Tablo1). Hastaların sistolik kan basıncı (SKB) değerleri karşılaştırıldığında; evre 1-2 KBH grubunun ölçülen KB değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel anlama yaklaşan oranda yüksek bulundu ( $125 \pm 22$  vs  $114 \pm 12$ , p=0.069). Hasta gruplarının DKB değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Tablo 1).

**Tablo 1. Kontrol, Evre 1-2 ve Evre 3-4 KBH gruplarında Demografik Veriler**

	Kontrol Grubu (n =22)	Evre 1-2 KBH Grubu (n=21)	Evre 3-4 KBH Grubu (n =28)
Yaş (79)	50.9 ± 11.3	49.5 ± 9.6	53.7± 12.5
Cinsiyet (kadın/erkek)	8/14	10/11	9/19
KBH sebebi (n, %)			
Hipertansiyon/RAS (n, %)		5 (23.8)	11 (39.3)
Glomerülonefrit (n, %)		11 (52.4)	10 (35.7)
ODPKBH (n, %)		4 (19)	4 (14.3)
Kronik pyelonefrit (n, %)		1 (4.8)	3 (10.7)
Aspirin kullanımı (n, %)		5 (23.8)	12 (42.8)
Statin Kullanımı (n, %)		2 (9.5)	10 (35.7) <sup>a</sup>
ACE/ARB kullanımı (n, %)		17 (80.9)	26 (92.8)
SKB (mm Hg)	114 ± 12	125 ± 22	121 ± 11
DKB (mm Hg)	68 ± 7	73 ± 11	72 ± 8

Veriler ortalama ± SD olarak verilmiştir.

RAS: Renal arter stenozu, ODPKBH: Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı, ACE: Angiotensin Dönüştürücü Enzim inhibitörü, ARB: Angiotensin Reseptör Bloker.

<sup>a</sup>p<0.05 vs evre 1-2 KBH grubu.

Çalışma gruplarının laboratuvar bulguları incelendiğinde, kontrol grubunun GFR değerleri hem evre 1-2 KBH ( $103 \pm 20$  ml/dk/1.73 m<sup>2</sup> vs  $87 \pm 27$  ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>, p<0.05) hem de evre 3-4 KBH grubundan ( $103 \pm 20$  ml/dk/1.73 m<sup>2</sup> vs  $33 \pm 14$  ml/dk/1.73 m<sup>2</sup> p<0.0001) yüksekti. Aynı şekilde evre 1-2 KBH grubunun GFR değeri de evre 3-4 KBH grubundan anlamlı olarak yüksekti ( $87 \pm 27$  ml/dk/1.73 m<sup>2</sup> vs  $32 \pm 14$  ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>, p<0.0001) (Şekil 2, Tablo 2,). Serum kreatinin düzeyleri incelendiğinde evre 3-4 KBH grubunun değerlerinin kontrol grubundan ( $2.48 \pm 0.97$  mg/dl vs  $0.80 \pm 0.14$  mg/dl, p<0.0001) ve evre 1-2 KBH grubundan ( $2.48 \pm 0.97$  mg/dl vs  $0.92 \pm 0.23$  mg/dl, p<0.0001) yüksek olduğu görüldü (Tablo 2).

Serum kalsiyum düzeyleri ve kalsiyum - fosfor ürünlerinin hasta grupları arasında istatistiksel açıdan farklı olmadığı ancak evre 3-4 KBH grubunda serum fosfor oranlarının evre 1-2 grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü (p=0.05, Tablo 2).

Aynı şekilde kontrol grubundan evre 1-2 ve evre 3-4 gruplarına geçildikçe Hb ve Htc düzeyleri azalmakla birlikte istatistiksel farklılık saptanmadı (p=0.11, Tablo 2).

**Tablo 2:** Kontrol, Evre 1-2 ve Evre 3-4 KBH gruplarında Laboratuvar Bulguları.

	Kontrol Grubu (n =22)	Evre 1-2 KBH Grubu (n=21)	Evre 3-4 KBH Grubu (n =28)
GFR (mL/dk/1.73 m <sup>2</sup> )	103 ± 20	87 ± 27 <sup>a</sup>	32 ± 14 <sup>b,c</sup>
Serum kreatinin (mg/dl)	0.80 ± 0.14	0.92 ± 0.23	2.48 ± 0.97 <sup>b,c</sup>
Serum albumin (g/dl)	4.67 ± 0.30	4.45 ± 0.29	4.55 ± 0.34
Hemoglobin (g/dl)	13.9 ± 1.3	13.7 ± 1.3	13.1 ± 1.7
Hematokrit (%)	40.4 ± 3.8	39.7 ± 3.6	37.5 ± 5.5
Serum kalsiyum (mg/dl)	9.4 ± 0.3	9.4 ± 0.2	9.3 ± 0.4
Serum fosfor (mg/dl)	3.4 ± 0.4	3.4 ± 0.3	3.7 ± 0.6 <sup>d</sup>
Kalsiyum X fosfor ürünü (mg <sup>2</sup> /dl <sup>2</sup> )	32.3 ± 3.6	32.3 ± 2.9	34.9 ± 5.2

Veriler ortalama ± SD olarak verilmiştir.

GFR: Glomerüler filtrasyon hızı, (MDRD-7 formülü ile hesaplanmıştır)

a p<0.05 vs kontrol grubu, b p<0.0001 vs kontrol grubu, c p<0.0001 vs evre 1-2 KBH grubu, <sup>d</sup>p=0.05 vs evre 1-2 KBH grubu.

Evre 1-2 KBH grubundaki hastaların CRP değerlerinin kontrol grubundan istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek ( $3.78 \pm 3.16$  vs  $1.93 \pm 1.63$ , p<0.05) olduğu görüldü. Ayrıca Evre 3-4 KBH grubundakilerin de CRP değerlerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha yüksek ( $3.79 \pm 3.09$  vs  $1.93 \pm 1.63$ , p<0.05) olduğu saptandı. Evre 1-2 ve evre 3-4 KBH gruplarında CRP düzeyleri benzerdi (Şekil 3, Tablo 3)

sCD14 düzeyleri ise evre 3-4 KBH grubunda kontrol grubundan ( $2.01 \pm 0.44$  µg/ml vs  $1.43 \pm 0.27$  µg/ml, p<0.0001) ve evre 1-2 KBH grubundan ( $2.01 \pm 0.44$  µg/ml vs  $1.53 \pm 0.30$  µg/ml, p<0.0001) anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi. Evre 1-2 KBH olanlar ile kontrol grubundakiler arasında bu açıdan anlamlı fark görülmedi (Şekil 4, Tablo 3).

Hastaların lipopolisakkarit düzeyleri ise kontrol, evre 1-2 KBH ve evre 3-4 KBH gruplarında sırasıyla  $0.72 \pm 0.45$  EU/ml,  $1.10 \pm 0.92$  EU/ml ve  $1.04 \pm 0.77$  EU/ml olmak üzere benzer bulundu (Şekil 5, Tablo 3).

Hasta grupları arasında CD14<sup>+</sup> monositler arasında TLR-2 eksprese eden hücre yüzdesi ve bu hücrelerdeki TLR-2 yoğunluğu (mean floresan intensitesi) benzerdi. Bu hücrelerdeki TLR-4 yoğunluğu evre 1-2 KBH ( $267 \pm 25$  vs  $248 \pm 23$ , p<0.05) ve evre 3-4

KBH gruplarında ( $264 \pm 23$  vs  $248 \pm 23$ ,  $p<0.05$ ) kontrol grubundan anlamlı olarak fazlaydı (Tablo 3, Şekil 6). TLR-4 eksprese eden CD14<sup>+</sup> monosit oranı evre 1-2 KBH ( $\%33.3 \pm 12.2$  vs  $\%27.1 \pm 11.6$ ,  $p=0.17$ ) ve evre 3-4 KBH gruplarında ( $\%33.3 \pm 8.9$  vs  $\%27.1 \pm 11.6$ ,  $p=0.08$ ) yüksek olmakla birlikte bu yükseklik istatistiksel anlama ulaşamadı (Şekil 6, Tablo 3).

**Tablo 3:** Kontrol, Evre 1-2 ve Evre 3-4 KBH gruplarında İnflamasyonla İlişkili Parametreler

	Kontrol Grubu (n =22)	Evre 1-2 KBH Grubu (n=21)	Evre 3-4 KBH Grubu (n =28)
CRP (mg/L)	$1.93 \pm 1.63$	$3.78 \pm 3.16^a$	$3.79 \pm 3.09^a$
IL-6 (pg/ml)	$2.91 \pm 3.44$	$2.50 \pm 0.30$	$3.44 \pm 2.60$
TNF-alfa (pg/ml)	$0.74 \pm 1.56$	$0.24 \pm 0.29$	$0.57 \pm 1.14$
sCD14 (µg/ml)	$1.43 \pm 0.27$	$1.53 \pm 0.30$	$2.01 \pm 0.44^{b,c}$
Lipopolisakkarit (EU/ml)	$0.72 \pm 0.45$	$1.10 \pm 0.92$	$1.04 \pm 0.77$
CD14 <sup>+</sup> TLR-2 <sup>+</sup> (%)	$76.9 \pm 7.3$	$76.8 \pm 9.3$	$79.2 \pm 7.5$
CD14 <sup>+</sup> TLR-2 <sup>+</sup> (MFI)	$448 \pm 182$	$550 \pm 224$	$522 \pm 160$
CD14 <sup>+</sup> TLR-4 <sup>+</sup> (%)	$27.1 \pm 11.6$	$33.3 \pm 12.2$	$33.3 \pm 9.0$
CD14 <sup>+</sup> TLR-4 <sup>+</sup> (MFI)	$248 \pm 23$	$267 \pm 25^a$	$264 \pm 23^a$

Veriler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir.

MFI: Ortalama floresan yoğunluğu,

<sup>a</sup> $p<0.05$  vs kontrol grubu, <sup>b</sup> $p<0.0001$  vs kontrol grubu, <sup>c</sup> $p<0.0001$  vs evre 1-2 KBH grubu,

Çalışmamızda tüm grupların (n=71) dahil edildiği korelasyon analizlerinde yaşın GFR ( $r=-0.25$ ,  $p=0.035$ ) ve SKB ( $r=0.23$ ,  $p=0.05$ ) ile korele olduğu gözlemlendi. GFR de düşme ile hemoglobin değerlerinin düştüğü ( $r=0.29$ ,  $p=0.013$ ), CRP ( $r=-0.29$ ,  $p=0.012$ ), fosfor ( $r=-.40$ ,  $p=0.003$ ) ve kalsiyum – fosfor ürününün ( $r=-0.32$ ,  $p=0.009$ ) de yükseldiği gözlemlendi. TLR-2 ve TLR-4 eksprese eden monositler oranı ve bu reseptörlerin yoğunlukları ile yaş, GFR, CRP, sCD14 gibi parametreler arasında korelasyon saptanmadı.

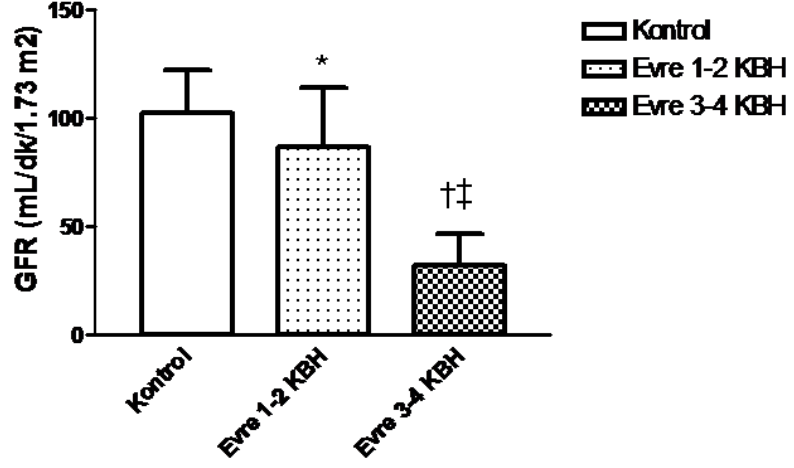
sCD14 yukarıda belirtilen parametrelerden farklı olarak GFR ( $r=-0.60$ ,  $p=0.001$ ), hemoglobin ( $r=-0.26$ ,  $p=0.03$ ), CRP ( $r=0.39$ ,  $p=0.001$ ), IL-6 ( $r=0.22$ ,  $p=0.05$ ), ile korelasyon gösterdi. Lipopolisakkarid düzeyleri ise sadece TLR-4 yoğunluğu ile ( $r=0.25$ ,  $p=0.03$ ) gösterdi.

Evre 1-2 ve evre 3-4 grupları bir arada incelendiğinde (n=49); GFR; hemoglobin ( $r=0.39$ ,  $p=0.006$ ), fosfor ( $r=-0.43$ ,  $p=0.002$ ), kalsiyum-fosfor ürünü ( $r=-0.37$ ,  $p=0.008$ ) ve sCD14 ( $r=-0.39$ ,  $p<0.001$ ) ile korelasyon gösterdi. CRP ise kalsiyum ( $r=0.30$ ,  $p=0.034$ ) ve sCD14 ( $r=0.48$ ,  $p=0.001$ ) ile korelasyon gösterdi (Şekil 7). Lipopolisakkarid ile diğer parametrelerin hiç birisi arasında korelasyon tespit edilmedi.

Evre 1-2 KBH grubunda (n=22) GFR; yaş (r=-0.53, p=0.013) ile, CRP; kalsiyum (r=0.51, p=0.018), fosfor (r=0.51, p=0.018), kalsiyum-fosfor ürünü (r=0.56, p=0.008) ile korelasyon gösterdi. sCD14 ile diğer parametrelerin hiç birisi arasında bu grupta korelasyon tespit edilmedi. sCD14 ile diğer parametrelerin hiç birisi arasında bu grupta korelasyon tespit edilmedi.

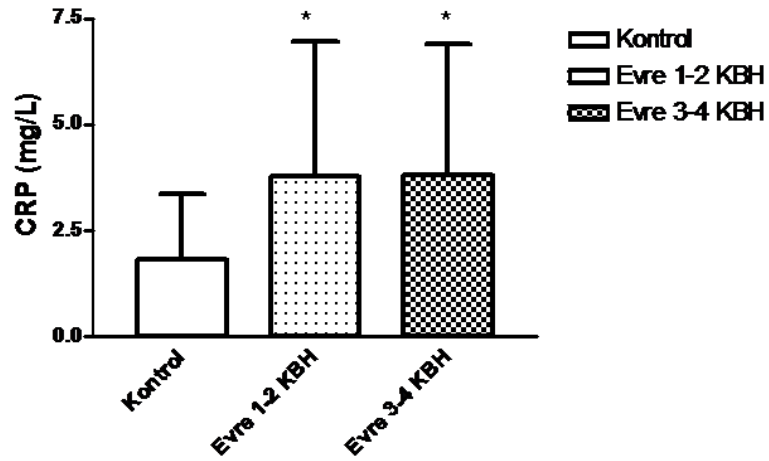
Evre 3-4 KBH grubunda (n=28) korelasyon yapıldığında GFR; hemoglobin (r=0.68, p=0.001), fosfor (r=-0.43, p=0.024) ile korelasyon gösterdi. CRP ise sadece sCD14 (r=0.48, p=0.001) ile korelasyon gösterdi (Şekil 8). sCD14 ile diğer parametrelerin hiç birisi arasında bu grupta da korelasyon gösterilemedi.

Şekil 2: Kontrol, Evre 1-2 KBH ve Evre 3-4 KBH Gruplarında GFR Değerleri



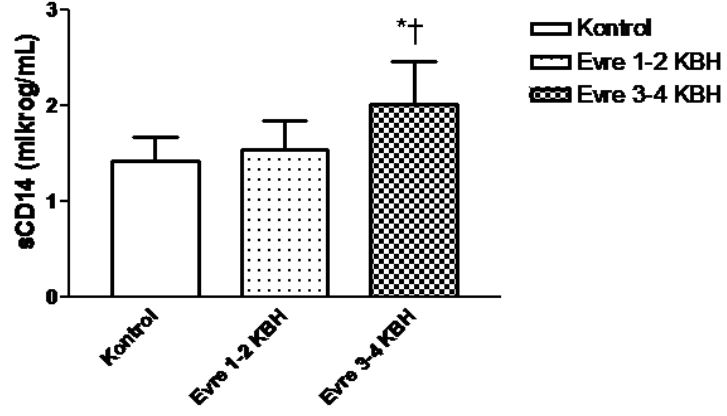
\*p<0.05 vs kontrol grubu, † p p<0.0001 vs kontrol grubu  
‡ p<0.0001 vs Evre 1-2 KBH grubu

Şekil 3: Kontrol, Evre 1-2 KBH ve Evre 3-4 KBH Gruplarında CRP Değerleri



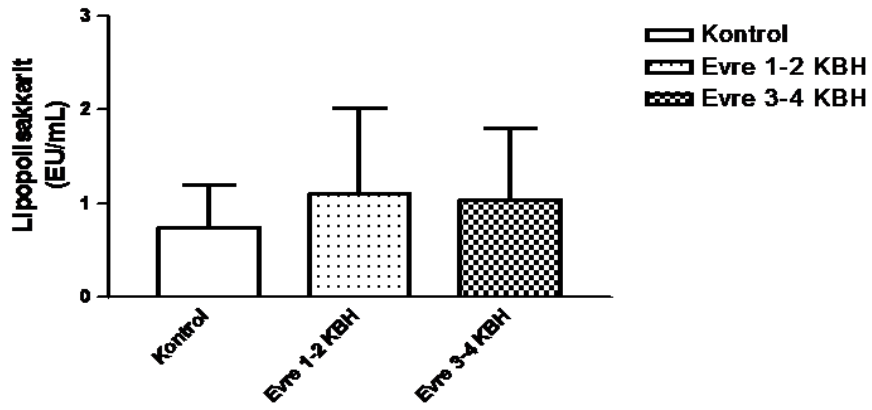
\*p<0.05 vs kontrol grubu,

Şekil 4: Kontrol, Evre 1-2 KBH ve Evre 3-4 KBH Gruplarında sCD14 Değerleri

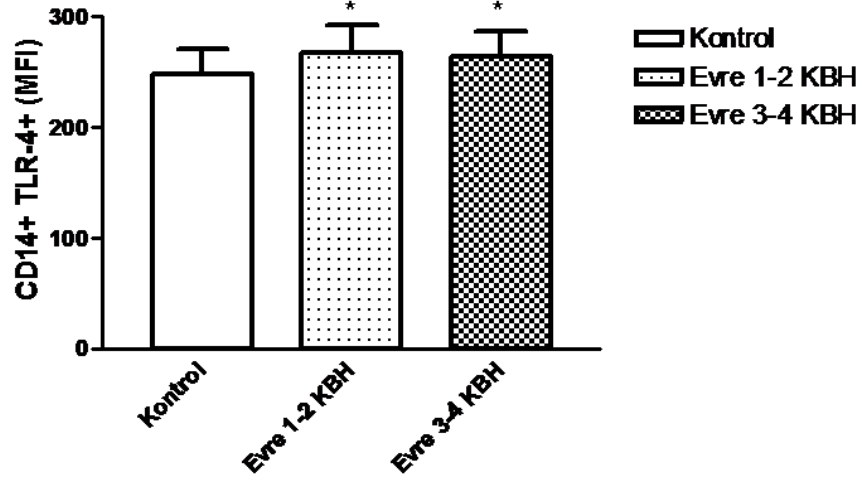


\*p<0.0001 vs kontrol grubu, † p p<0.0001 vs evre 1-2 KBH grubu

Şekil 5: Kontrol, Evre 1-2 KBH ve Evre 3-4 KBH Gruplarında Lipopolisakarit Değerleri

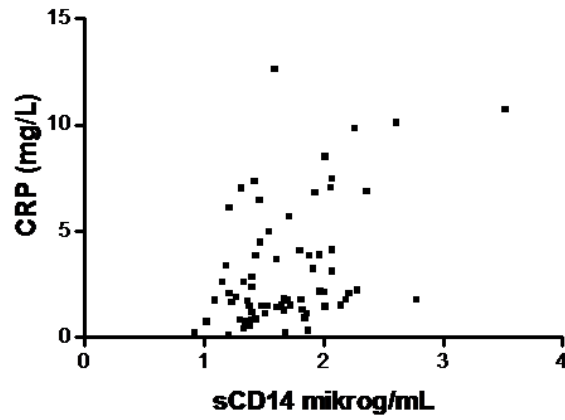


Şekil 6: Kontrol, Evre 1-2 KBH ve Evre 3-4 KBH Gruplarında CD14<sup>+</sup> Monositler Üzerinde TLR-4 Yoğunluğu



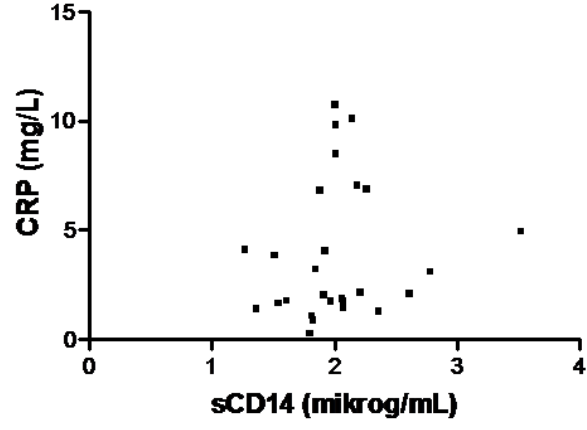
\*p<0.05 vs kontrol grubu,

Şekil 7: Kontrol, Evre 1-2 KBH ve Evre 3-4 KBH Gruplarında CRP ve sCD14 Arasında Korelasyon



r=0.39, p=0.001

Şekil 8: Evre 3-4 KBH Gruplarında CRP ve sCD14 Arasında Korelasyon



$r=0.48$ ,  $p=0.001$

## TARTIŞMA:

Kronik böbrek yetersizliği prevalansı Amerika Birleşik Devletleri'nde genel popülasyonda %3 iken erişkinlerde %11'e kadar çıkmaktadır(106). Bu hastalarda inflamasyon ve aterosklerozun arttığı kanıtlanmış olup KV mortalite ve morbiditeleri oldukça yüksektir. Özellikle kronik diyaliz tedavisi gören son dönem böbrek hastalığı olan hastalarda koroner arter hastalığı insidansının %40 civarında olduğu ve ölümlerin yaklaşık yarısının kardiyovasküler hastalık nedeni ile olduğu bildirilmiştir(107). Diyalize giren SDBY hastalarında kardiyovasküler mortalite oranı genel toplumdakinden yaklaşık olarak 10-20 kat daha yüksektir(108). Kardiyovasküler mortalitenin diyaliz öncesi evreler de dahil olmak üzere yüksek olması ve bir çok KBH hastasının son dönem diyaliz tedavisine atherosklerotik KV olaylar nedeniyle ulaşamaması bu hastalarda KV hastalıklara yönelik tedavileri ön plana çıkartmaktadır. Ancak şu ana kadar yapılan çalışmalarda bu hastaların KV mortalitelerine yönelik tedavilerle elde edilen kazanımlar oldukça sınırlıdır(109-111).

Son yıllarda atherosklerozun inflamatuvar bir süreç olduğu ve bu süreçte inflamatuvar parametrelerin KV mortalite ile yakından ilişki gösterdiği rapor edilmiştir(7, 9). Bu nedenle bu hastalarda inflamasyonu önlemenin genel nüfusta olduğu gibi bu hastalarda da KV mortaliteyi önleyebileceği düşünülmektedir. Henüz inflamasyonu azaltmada etkinliği gösterilen tedaviler genel toplumda olduğu gibi bu hasta grubunda da sınırlıdır (112, 113). Bununla birlikte bu hasta grubunda inflamasyon sebeplerinin ve inflamasyon ile atheroskleroz arasındaki ilişkinin de daha derinlemesine aydınlatılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda yaş ve cinsiyeti karşılaştırılmış sağlıklı kontrollerle, böbrek hastalığının erken (evre 1-2 KBH) ve orta-ileri (evre 3-4 KBH) aşamalarında serum LPS seviyelerini ve LPS'nin aktive edebileceği faktörlerin inflamasyonla ve böbrek fonksiyonlarının dereceleri ile ilişkisini inceledik.

Çalışmamızda CRP düzeylerinin hem erken hem de orta-ileri evre KBH'larında sağlıklı kontrollerden yüksek olduğunu, CRP seviyelerinin böbrek hastalığının erken evrelerinden itibaren yükselmiş olduğunu gösterdik. Her iki KBH grubu bir arada incelendiğinde bulgularımız literatürle uyumludur (43, 44, 49). Bizim çalışmamızda ise diğer literatürden farklı olarak hastalarımızı daha evre 1-2 KBH ve evre 3-4 KBH grupları olmak üzere iki farklı böbrek fonksiyonu olan gruplara ayırdık ve her iki grupta da CRP değerlerini benzer düzeylerde tespit ettik. Razeghi ve ark. ise hastalarını yüksek CRP (>10 mg/L) ve düşük CRP (<10 mg/L) gruplarına ayırdıklarında GFR düzeylerinin sırasıyla  $24.3 \pm 14.4$  ml/dk ve  $33.6 \pm 16.3$  ml/dk olmak üzere farklı olduğunu rapor etmişlerdir. Hasta gruplarımızı

incelediğimizde her iki grupta da altta yatan hastalığa bağlı immün aktivasyonun fazla olabileceği glomerülonefritli hastalarımızın (evre 1-2 KBH grubunda %52 ve evre 3-4 KBH grubunda %35.7 hasta) istatistiksel olarak benzer olsa da fazla oranda olması evre 1-2 KBH grubunda inflamasyonun diğer grupla benzer olmasına katkıda bulunuyor olabilir. Yine aynı şekilde otosomal dominant polikistik böbrek hastalarının (evre 1-2 KBH grubunda %19. hasta ve evre 3-4 KBH grubunda %14.3) az oranda olmaları ve bu kez hipertansiyon-RAS'a bağlı KBH hastalarının evre 3-4 grubunda daha fazla olması (1-2 KBH grubunda %23.8 ve evre 3-4 KBH grubunda %39.3) gruplar arasındaki CRP oranlarının benzerliğini açıklayabilir. Atherosklerotik hastalığın varlığı KBH hastalarındaki inflamasyonun en önemli sebebi olarak bildirilmiştir (114, 115). Her iki çalışmada da CRP seviyelerinin en önemli belirleyicisi, atherosklerotik kalp hastalığının varlığı olmuştur. Stenvinkel ve ark. da karotis arterlerinde atherosklerotik plakları olan hastaların CRP düzeylerini yüksek ( $10 \pm 1$  mg/L vs  $20 \pm 3$  mg/L) bulmuştur (6). İlginç bir şekilde bu çalışmada arter lümen çapıda yüksek bulunmuştur. Ekokardiografik incelemelerde de sıvı fazlalığı olan HD hastalarında inflamatuvar parametreler yüksek bulunmuştur (102). Benzer şekilde dilate kardiyomyopati zemininde KKY geliştiren hastaların inflamatuvar parametreleri iskemik zeminde KKY geliştiren hastalardan daha yüksek rapor edilmiştir (116). Çalışmamıza sıvı fazlalığı bulguları olan hastaları dahil etmedik. Ayrıca KBH grupları arasında atherosklerotik kalp hastalığı sıklığı oranlarımız da benzerdi.

Hastalarımızın tipik immünomodülatuar ilaçları almadıklarını (steroid, azatiopurine, siklofosamid vs) da görmekteyiz. Statin tedavilerinin CRP seviyelerini düşürdüğü hem genel toplumda hem de KBH grubunda gösterilmiştir (112, 113, 117). Çalışmamızda evre 3-4 grubunda statin alan hasta oranı anlamlı olarak fazlaydı. Benzer şekilde aspirin tedavisinin de inflamatuvar parametreler üzerine olumlu etkileri KBH'larında rapor edilmektedir(118). Çalışmamızda aspirin alan hasta oranı da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da evre 3-4 grubunda daha fazlaydı (kontrol grubu %23.8 ve evre 3-4 KBH grubunda %42.8). Bu nedenlerle evre 3-4 grubunda CRP düzeyleri evre 1-2 grubuna yakın tespit edilmiş olabiliriz. Çalışmamızda tüm gruplar (kontroller ve KBH hastaları, n=71) bir arada incelendiğinde GFR düzeyleri ile CRP seviyeleri arasında negatif korelasyon ( $r=-0.30$ ,  $p=0.012$ ) tespit ettik. Ancak KBH hastalarını bir arada ve KBH gruplarını kendi içlerinde ayrı ayrı değerlendirdiğimizde GFR değerleri ile CRP düzeyleri arasında korelasyon tespit edemedik. Direk bir korelasyonun olmaması bu hastalarda inflamasyona sebep olan faktörlerin böbrek hastalığının erken evrelerinden itibaren etkin olduğunu düşündürmektedir. Diğer taraftan bazı faktörler bir KBH'nın bir evresinde etkin iken (altta yatan böbrek etiyojisi gibi) diğer evresinde başka faktörler (oksidatif stress gibi) etkin oluyor olabilir.

Çalışmamızda her iki KBH grubunda da TLR-2 (evre 1-2 ve evre 3-4 KBH gruplarında sırasıyla  $76.8 \pm 9.3$  ve  $79.2 \pm 7.5$  vs  $76.9 \pm 7.3$ ) ve TLR-4 (evre 1-2 ve evre 3-4 KBH gruplarında sırasıyla  $33.3 \pm 12.2$  ve  $33.3 \pm 9.0$  vs  $27.1 \pm 11.6$ ) eksprese eden monosit oranını ve bu monositlerde TLR-2 yoğunluğunu (evre 1-2 ve evre 3-4 KBH gruplarında sırasıyla  $550 \pm 224$  ve  $522 \pm 160$  vs  $448 \pm 182$ ) sağlıklı kontrollerle benzer bulduk. Buna karşın TLR-4 yoğunluğu monositlerde her iki KBH gruplarında (evre 1-2 ve evre 3-4 KBH gruplarında sırasıyla  $267 \pm 25$  ve  $264 \pm 23$  vs  $248 \pm 23$ ) da sağlıklı kontrollerden yüksek bulduk. Bu bulgumuz KBH'larında bir lipopolisakkarid reseptörü olan TLR-4 yoğunluğunun monositlerde her iki KBH grubunda da arttığını ve lipopolisakkarid bağlayan TLR-2 reseptörlerini eksprese eden monosit oranının da artış eğiliminde olduğunu göstermektedir. Yakın dönemlerde yapılan çalışmalarda LPS'in TLR-2 ve TLR-4 için bir ligand olduğu gösterilmiştir(119). Wittebole ve ark. insanlara LPS infuse ettikleri zaman monosit ve granüositlerde TLR-2 ve TLR-4 ekspresyonunun başlangıçta azaldığını ardından da monositlerde TLR-2 ve TLR-4 ekspresyonunun belirgin olarak arttığını rapor etmişlerdir(120). Armstrong ve ark. gram pozitif bakterilerle sepsis geliştiren hastaların monositlerinde TLR-2 ve TLR-4, gram-negatif bakterilerle sepsis geliştirenlerde ise TLR-2 ekspresyonunun arttığını rapor etmiştir(121). Benzer şekilde Marsik ve ark. LPS'in monosit ve granüositlerde TLR ekspresyonunu modüle ettiğini rapor etmişlerdir(122). Biz de HD hastalarında yaptığımız bir çalışmada TLR-4 yoğunluğunun monositlerde diyaliz sonrası arttığını gösterdik(123). TLR'ler monositler dışında diğer hücrelerde de bulunduğundan NF- $\kappa$ B yolağını aktive ederek inflamasyonu tetiklemektedir(14). Çalışmamızda ise TLR-2 yoğunluğunun ve TLR-4 eksprese eden monositlerin artış eğiliminde olması ve TLR-4 yoğunluğunun anlamlı olarak yüksek olması TLR sisteminin KBH gruplarında aktive olduğunu göstermektedir. TLR'lerin ekspresyonlarını arttıran tek faktör olarak endotoksin g $\ddot{u}$ z $\ddot{u}$ kmemektedir. LPS dışında hücre kültürlerinde IFN-gamma uyarısının TLR-4 ekspresyonunu arttırmaktadır(124). Hasarlanmış dokulardan salınan "ısı-şok proteini", "non-histone chromatin binding protein high mobility group box", hyaluronan, fibronektin, heparan sülfat, gibi moleküllerin TLR2 ve TLR-4 ligandı oldukları ve özellikle iskemik hasar sırasında TLR sistemini aktive ettiği bildirilmektedir(125). Çalışmamıza benzer şekilde diğer kronik hastalıklarda da TLR ekspresyonu rapor edilmiştir. Romatoid artritli hastalarda kontrollere kıyasla CD64<sup>+</sup> monositlerde TLR-2 ve TLR-4 yoğunluklarının arttığı rapor edilmiştir(126). Bir diğer çalışmada ise CD14<sup>+</sup> monositlerde TLR-2 yoğunluğu artmış ve CRP ile de korelasyon saptanmıştır(127).

Filariasis enfeksiyonu olan kişilerde yapılan bir çalışmada TLR'lerin ko-stimülatuar moleküller olduğu ve bu reseptörleri eksprese etmeyen kişilerde inflamatuvar cevabın azaldığı ve infekte kişilerden izole edilen lenfositlerin direk olarak bu reseptörlerin ligandları ile (örn. LPS) uyarılmalarının da bu kişilerin lenfositlerinde TLR-2 reseptörlerinin ekspresyonunu arttırmadığı rapor edilmiştir(128). Diğer taraftan başka sebeplerle aktive olan T-lenfositlerinin TLR-2 ekspresyonunu arttırdığı ve bu lenfositlerin bakteriyal lipopeptid ile uyarıldıklarında daha fazla sitokin salgıladıkları rapor edilmiştir(129). Bu veriler ışığında hasta gruplarımızda artmış TLR ekspresyonlarının üremik hastalarda başka mekanizmalarla aktive olmuş monositlerden sitokin salgılamalarını arttırmış olduklarını düşünebiliriz. Nitekim çalışmamızda korelasyon analizlerinde bu reseptörlerin ekspresyonu ile CRP arasında korelasyon gösteremesek de hasta gruplarımızda CRP seviyelerini yüksek bulmamız bu savı desteklemektedir.

İlginç olarak çalışmamızda LPS düzeyleri ile TLR ekspresyonu arasında ilişki gösteremedik. Diğer taraftan çalışmamızda TLR-2 intensitesi istatistiksel anlama ulaşmasa da KBH gruplarında belirgin olarak yüksekti. Her ne kadar LPS bir TLR-2 ligandı da olsa TLR-2'nin en önemli ligandı bakteriyal lipoproteindir(129). Çalışmamızda ise lipoprotein düzeylerini incelemedik ancak TLR-2 ve TLR-4 yoğunluklarının çok kuvvetli korelasyon göstermesi (KBH hastalarında (n=49) MFI-TLR2 ve MFI-TLR4 arasında  $r=0.73$ ,  $p=0.0001$ ) her iki reseptörün birlikte aktive olduğunu düşündürmektedir. KBH'lığında başka sebeplerle salgılanan sitokinler de romatoid artrit(126) olduğu gibi monosit-TLR sistemini aktive edebilir ya da KBH'da doku hasarına bağlı salgılanan endojen ligandlar(127) TLR sistemini aktive etmiş olabilir.

Çalışmamızda da sağlıklı kontrollere kıyasla sCD14 seviyelerini yüksek bulduk. Ayrıca sCD14 seviyeleri GFR ile de negatif korelasyon gösterdi. sCD14 aktive monositlerden dolaşıma dökülmesi nedeniyle; KBH'larında monositlerin aktive olduğunu ve bu aktivasyonun KBH hastalığının erken evrelerinden başlayarak ve artarak devam ettiğini düşündürmektedir. Yapılan bir başka çalışmada sCD14 seviyelerinin infeksiyon gibi monosit ve makrofaj aktivitesinin arttığı durumlarda arttığı rapor edilmiştir(98, 130). Aynı paralellikle, çalışmamızda CRP seviyeleri ile sCD14 arasında da pozitif bir ilişki gösterdik. Bu korelasyon KBH hastalarında sCD14'ün inflamasyonu tetiklediği tezini destekler görünümündedir (98, 99). Diğer taraftan bizim hastalarımızda gördüğümüz sCD14 yüksekliği monosit aktivasyonu ile giden diğer inflamatuvar hastalıklarda da görülüyor olabilir(131). Hemodiyaliz hastalarında kronik ancak yetersiz bir immün aktivasyon söz konusudur(99). Monositler antijen prezente eden hücrelerden olup hemodiyaliz hastalarında kronik olarak lipopolisakkaridle maruz

kalmanın sitokin salınmasını arttırdığı rapor edilmiştir (96, 97). Endotoksinle kronik olarak karşılaşmak monositler üzerinde CD14 (mCD14) miktarlarını hemodiyaliz hastalarında diyaliz öncesi KBH'larına ve sağlıklı kontrollere kıyasla azaltırken sCD14 düzeylerini arttırmaktadır(99). Diğer taraftan çalışmamızda LPS seviyeleri ile sCD14 arasında bir ilişki bulunmamız ise bu tez ile uyumlu gözükmemektedir. Ancak, sCD14'ün tek başına düşük miktarlarda da olsa LPS'yi bağlayarak CD14 eksprese etmeyen hücrelerde dahil inflamasyonu tetiklediği düşünülürse(96) çalışmamızda tespit ettiğimiz KBH gruplarındaki yüksek sCD14 konsantrasyonları monosit aktivasyonunda yine de rol oynadığını düşünebiliriz. Diğer taraftan çalışmamızda kontrollere kıyasla KBH gruplarımızda yine de LPS konsantrasyonlarında yükselme eğilimi vardır. Evre 3-4 KBH grubunda CRP ile sCD14 arasında belirgin ilişki tespit etmemiz bu görüşü desteklememektedir. Diğer taraftan bulgularımız tamamıyla sCD14'ün diğer kronik hastalıklarda yükselmesinde olduğu gibi bir inflamatuvar belirteç de olabilir(131). Ancak, bu görüşü netleştirebilecek literatürde bildiğimiz kadarıyla herhangi bir hastalık grubunda sCD14 ile endotoksin konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi birebir araştıran bir çalışma da bulunmamaktadır.

Çalışmamızın kısıtlamalarından birisi çalışmaya dahil edilen hasta sayısının az olmasıdır. Hasta sayımızın fazla olması durumunda özellikle TLR ve inflamasyon ilişkilerini istatistiksel olarak daha iyi değerlendirebilirdik. Ayrıca bu hasta grubunda monosit aktivasyonunda rol oynayan ve inflamasyonu tetiklediğini bildiğimiz oksidatif stres gibi faktörleri de inceleyerek bu faktörlerin sCD14, TLR sistemi ve inflamasyon ile ilişkilerini daha iyi değerlendirebilirdik.

Sonuç olarak, GFR azaldıkça endotoksinemi miktarında artış olmadığı saptanmıştır. Kronik böbrek hastalığının ilerlemesi ile saptadığımız anlamlı ya da anlama yaklaşan TLR sistemi parametrelerindeki aktivasyon ve sCD14 artmış inflamasyonda rol oynamaktadır. Ancak, bu inflamasyondan endotoksinemi, TLR ve sCD14 dışında diğer faktörler de (oksidatif stress gibi) sorumlu gözükmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar kalp yetmezliği ve sıvı fazlalığı olmayan evre 1-4 KBH'larındaki inflamasyonda endotoksineminin önemli bir rolünün olmadığını akla getirmektedir. Çalışmamızda sıvı fazlalığı olan hastalar çalışmaya alınmadığı için prediyaliz KBH hastalarındaki üremik durumun sıvı fazlalığı olmadan barsak geçirgenliğini arttırmadığı sonucu da çıkarılabilir.

## Kaynaklar

1. Sarnak, M.J., Levey, A.S., Schoolwerth, A.C., Coresh, J., Culeton, B., Hamm, L.L., McCullough, P.A., Kasiske, B.L., Kelepouris, E., Klag, M.J., et al. 2003. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation* 108:2154-2169.
2. Tonelli, M., Wiebe, N., Culeton, B., House, A., Rabbat, C., Fok, M., McAlister, F., and Garg, A.X. 2006. Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review. *J Am Soc Nephrol* 17:2034-2047.
3. Berl, T., and Henrich, W. 2006. Kidney-heart interactions: epidemiology, pathogenesis, and treatment. *Clin J Am Soc Nephrol* 1:8-18.
4. Sarnak, M.J., Levey, A.S., Schoolwerth, A.C., Coresh, J., Culeton, B., Hamm, L.L., McCullough, P.A., Kasiske, B.L., Kelepouris, E., Klag, M.J., et al. 2003. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension* 42:1050-1065.
5. Schiffrin, E.L., Lipman, M.L., and Mann, J.F. 2007. Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation* 116:85-97.
6. Stenvinkel, P., Heimbürger, O., Paultre, F., Diczfalusy, U., Wang, T., Berglund, L., and Jogestrand, T. 1999. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 55:1899-1911.
7. Zimmermann, J., Herrlinger, S., Pruy, A., Metzger, T., and Wanner, C. 1999. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 55:648-658.
8. Qureshi, A.R., Alvestrand, A., Divino-Filho, J.C., Gutierrez, A., Heimbürger, O., Lindholm, B., and Bergstrom, J. 2002. Inflammation, malnutrition, and cardiac disease as predictors of mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 13 Suppl 1:S28-36.
9. Pecoits-Filho, R., Barany, P., Lindholm, B., Heimbürger, O., and Stenvinkel, P. 2002. Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 17:1684-1688.
10. Ikizler, T.A., Wingard, R.L., Harvell, J., Shyr, Y., and Hakim, R.M. 1999. Association of morbidity with markers of nutrition and inflammation in chronic hemodialysis patients: a prospective study. *Kidney Int* 55:1945-1951.
11. Yao, Q., Axelsson, J., Heimbürger, O., Stenvinkel, P., and Lindholm, B. 2004. Systemic inflammation in dialysis patients with end-stage renal disease: causes and consequences. *Minerva Urol Nefrol* 56:237-248.
12. Zhang, F.X., Kirschning, C.J., Mancinelli, R., Xu, X.P., Jin, Y., Faure, E., Mantovani, A., Rothe, M., Muzio, M., and Arditi, M. 1999. Bacterial lipopolysaccharide activates nuclear factor-kappaB through interleukin-1 signaling mediators in cultured human dermal endothelial cells and mononuclear phagocytes. *J Biol Chem* 274:7611-7614.
13. Vink, A., Schoneveld, A.H., van der Meer, J.J., van Middelaar, B.J., Sluijter, J.P., Smeets, M.B., Quax, P.H., Lim, S.K., Borst, C., Pasterkamp, G., et al. 2002. In vivo evidence for a role of toll-like receptor 4 in the development of intimal lesions. *Circulation* 106:1985-1990.
14. Kiechl, S., Lorenz, E., Reindl, M., Wiedermann, C.J., Oberhollenzer, F., Bonora, E., Willeit, J., and Schwartz, D.A. 2002. Toll-like receptor 4 polymorphisms and

- atherogenesis. *N Engl J Med* 347:185-192.
15. Poltorak, A., He, X., Smirnova, I., Liu, M.Y., Van Huffel, C., Du, X., Birdwell, D., Alejos, E., Silva, M., Galanos, C., et al. 1998. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science* 282:2085-2088.
  16. Akira, S., and Takeda, K. 2004. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 4:499-511.
  17. Zarembek, K.A., and Godowski, P.J. 2002. Tissue expression of human Toll-like receptors and differential regulation of Toll-like receptor mRNAs in leukocytes in response to microbes, their products, and cytokines. *J Immunol* 168:554-561.
  18. Niebauer, J., Volk, H.D., Kemp, M., Dominguez, M., Schumann, R.R., Rauchhaus, M., Poole-Wilson, P.A., Coats, A.J., and Anker, S.D. 1999. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet* 353:1838-1842.
  19. Korevaar, J.C., Jansen, M.A., Dekker, F.W., Boeschoten, E.W., Bossuyt, P.M., and Krediet, R.T. 2002. Evaluation of DOQI guidelines: early start of dialysis treatment is not associated with better health-related quality of life. National Kidney Foundation-Dialysis Outcomes Quality Initiative. *Am J Kidney Dis* 39:108-115.
  20. Fried, L.F., Shlipak, M.G., Crump, C., Bleyer, A.J., Gottdiener, J.S., Kronmal, R.A., Kuller, L.H., and Newman, A.B. 2003. Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and mortality in elderly individuals. *J Am Coll Cardiol* 41:1364-1372.
  21. Chobanian, A.V., Bakris, G.L., Black, H.R., Cushman, W.C., Green, L.A., Izzo, J.L., Jr., Jones, D.W., Materson, B.J., Oparil, S., Wright, J.T., Jr., et al. 2003. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 42:1206-1252.
  22. Diepeveen, S.H., Wetzels, J.F., Bilo, H.J., van Tits, L.J., and Stalenhoef, A.F. 2008. Cholesterol in end-stage renal disease: the good, the bad or the ugly? *Neth J Med* 66:53-61.
  23. Heitzer, T., Schlinzig, T., Krohn, K., Meinertz, T., and Munzel, T. 2001. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 104:2673-2678.
  24. Libby, P. 2002. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 420:868-874.
  25. Munzel, T., Heitzer, T., and Harrison, D.G. 1997. The physiology and pathophysiology of the nitric oxide/superoxide system. *Herz* 22:158-172.
  26. Hansson, G.K. 2005. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 352:1685-1695.
  27. Newby, A.C., and Zaltsman, A.B. 1999. Fibrous cap formation or destruction--the critical importance of vascular smooth muscle cell proliferation, migration and matrix formation. *Cardiovasc Res* 41:345-360.
  28. Rodriguez, J.A., Orbe, J., and Paramo, J.A. 2007. [Metalloproteases, vascular remodeling and atherothrombotic syndromes]. *Rev Esp Cardiol* 60:959-967.
  29. Cheung, A.K., Sarnak, M.J., Yan, G., Dwyer, J.T., Heyka, R.J., Rocco, M.V., Teehan, B.P., and Levey, A.S. 2000. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 58:353-362.
  30. Sarnak, M.J., and Levey, A.S. 2000. Cardiovascular disease and chronic renal disease: a new paradigm. *Am J Kidney Dis* 35:S117-131.
  31. Chiao, H., Kohda, Y., McLeroy, P., Craig, L., Housini, I., and Star, R.A. 1997. Alpha-melanocyte-stimulating hormone protects against renal injury after ischemia in mice and rats. *J Clin Invest* 99:1165-1172.
  32. Owen, W.F., Jr., Lew, N.L., Liu, Y., Lowrie, E.G., and Lazarus, J.M. 1993. The urea reduction ratio and serum albumin concentration as predictors of mortality in patients

- undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 329:1001-1006.
33. Bologa, R.M., Levine, D.M., Parker, T.S., Cheigh, J.S., Serur, D., Stenzel, K.H., and Rubin, A.L. 1998. Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 32:107-114.
  34. Ross, R. 1999. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340:115-126.
  35. Stenvinkel, P. 2001. Endothelial dysfunction and inflammation-is there a link? *Nephrol Dial Transplant* 16:1968-1971.
  36. Bolton, C.H., Downs, L.G., Victory, J.G., Dwight, J.F., Tomson, C.R., Mackness, M.I., and Pinkney, J.H. 2001. Endothelial dysfunction in chronic renal failure: roles of lipoprotein oxidation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrol Dial Transplant* 16:1189-1197.
  37. Kiechl, S., Egger, G., Mayr, M., Wiedermann, C.J., Bonora, E., Oberhollenzer, F., Muggeo, M., Xu, Q., Wick, G., Poewe, W., et al. 2001. Chronic infections and the risk of carotid atherosclerosis: prospective results from a large population study. *Circulation* 103:1064-1070.
  38. Stenvinkel, P., Heimbürger, O., Jogestrand, T., Karnell, A., and Samuelsson, A. 1999. Does persistent infection with *Chlamydia pneumoniae* increase the risk of atherosclerosis in chronic renal failure? *Kidney Int* 55:2531-2532.
  39. Kato, A., Takita, T., Maruyama, Y., and Hishida, A. 2004. Chlamydial infection and progression of carotid atherosclerosis in patients on regular haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 19:2539-2546.
  40. Shlipak, M.G., Fried, L.F., Crump, C., Bleyer, A.J., Manolio, T.A., Tracy, R.P., Furberg, C.D., and Psaty, B.M. 2003. Elevations of inflammatory and procoagulant biomarkers in elderly persons with renal insufficiency. *Circulation* 107:87-92.
  41. Menon, V., Greene, T., Wang, X., Pereira, A.A., Marcovina, S.M., Beck, G.J., Kusek, J.W., Collins, A.J., Levey, A.S., and Sarnak, M.J. 2005. C-reactive protein and albumin as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int* 68:766-772.
  42. Keith, D.S., Nichols, G.A., Gullion, C.M., Brown, J.B., and Smith, D.H. 2004. Longitudinal follow-up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization. *Arch Intern Med* 164:659-663.
  43. Kaysen, G.A., Stevenson, F.T., and Depner, T.A. 1997. Determinants of albumin concentration in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 29:658-668.
  44. Kimmel, P.L., Phillips, T.M., Simmens, S.J., Peterson, R.A., Weihs, K.L., Alleyne, S., Cruz, I., Yanovski, J.A., and Veis, J.H. 1998. Immunologic function and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* 54:236-244.
  45. Fine, A. 2002. Relevance of C-reactive protein levels in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 61:615-620.
  46. Stenvinkel, P., and Alvestrand, A. 2002. Inflammation in end-stage renal disease: sources, consequences, and therapy. *Semin Dial* 15:329-337.
  47. Ikizler, T.A. 2008. Nutrition, inflammation and chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 17:162-167.
  48. Kaysen, G.A., and Kumar, V. 2003. Inflammation in ESRD: causes and potential consequences. *J Ren Nutr* 13:158-160.
  49. Razeghi, E., Parkhideh, S., Ahmadi, F., and Khashayar, P. 2008. Serum CRP levels in pre-dialysis patients. *Ren Fail* 30:193-198.
  50. Pecoits-Filho, R., Heimbürger, O., Barany, P., Suliman, M., Fehrman-Ekholm, I., Lindholm, B., and Stenvinkel, P. 2003. Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients. *Am J Kidney Dis* 41:1212-1218.

51. Cachofeiro V Goicochea M, d.V.S., Oubiña P, Lahera V, Luno J. 2008. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney International*:S4–S9. .
52. Schwedler, S., Schinzel, R., Vaith, P., and Wanner, C. 2001. Inflammation and advanced glycation end products in uremia: simple coexistence, potentiation or causal relationship? *Kidney Int Suppl* 78:S32-36.
53. Vaziri, N.D. 2004. Oxidative stress in uremia: nature, mechanisms, and potential consequences. *Semin Nephrol* 24:469-473.
54. Jaar, B.G., Hermann, J.A., Furth, S.L., Briggs, W., and Powe, N.R. 2000. Septicemia in diabetic hemodialysis patients: comparison of incidence, risk factors, and mortality with nondiabetic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 35:282-292.
55. Pieczonik, S.R., and Neustadt, J. 2007. Mitochondrial dysfunction and molecular pathways of disease. *Exp Mol Pathol* 83:84-92.
56. Dounousi, E., Papavasiliou, E., Makedou, A., Ioannou, K., Katopodis, K.P., Tselepis, A., Siamopoulos, K.C., and Tsakiris, D. 2006. Oxidative stress is progressively enhanced with advancing stages of CKD. *Am J Kidney Dis* 48:752-760.
57. Karamouzis, I., Sarafidis, P.A., Karamouzis, M., Iliadis, S., Haidich, A.B., Sioulis, A., Triantos, A., Vavatsi-Christaki, N., and Grekas, D.M. 2008. Increase in oxidative stress but not in antioxidant capacity with advancing stages of chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 28:397-404.
58. Ferretti, G., Bacchetti, T., Masciangelo, S., and Pallotta, G. 2008. Lipid peroxidation in hemodialysis patients: effect of vitamin C supplementation. *Clin Biochem* 41:381-386.
59. Westhuyzen, J., Saltissi, D., and Healy, H. 1997. Oxidation of low density lipoprotein in hemodialysis patients: effect of dialysis and comparison with matched controls. *Atherosclerosis* 129:199-205.
60. Terawaki, H., Yoshimura, K., Hasegawa, T., Matsuyama, Y., Negawa, T., Yamada, K., Matsushima, M., Nakayama, M., Hosoya, T., and Era, S. 2004. Oxidative stress is enhanced in correlation with renal dysfunction: examination with the redox state of albumin. *Kidney Int* 66:1988-1993.
61. Fortuno, A., Beloqui, O., San Jose, G., Moreno, M.U., Zalba, G., and Diez, J. 2005. Increased phagocytic nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-dependent superoxide production in patients with early chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*:S71-75.
62. Castilla, P., Davalos, A., Teruel, J.L., Cerrato, F., Fernandez-Lucas, M., Merino, J.L., Sanchez-Martin, C.C., Ortuno, J., and Lasuncion, M.A. 2008. Comparative effects of dietary supplementation with red grape juice and vitamin E on production of superoxide by circulating neutrophil NADPH oxidase in hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr* 87:1053-1061.
63. Li, N., and Karin, M. 1999. Is NF-kappaB the sensor of oxidative stress? *Faseb J* 13:1137-1143.
64. Schreck, R., Rieber, P., and Baeuerle, P.A. 1991. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. *Embo J* 10:2247-2258.
65. Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillere-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A.T., Zingraff, J., Jungers, P., and Descamps-Latscha, B. 1996. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 49:1304-1313.
66. Caglar, K., Peng, Y., Pupim, L.B., Flakoll, P.J., Levenhagen, D., Hakim, R.M., and Ikizler, T.A. 2002. Inflammatory signals associated with hemodialysis. *Kidney Int*

- 62:1408-1416.
67. Spittle, M.A., Hoenich, N.A., Handelman, G.J., Adhikarla, R., Homel, P., and Levin, N.W. 2001. Oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 38:1408-1413.
  68. Kalousova, M., Sulkova, S., Fialova, L., Soukupova, J., Malbohan, I.M., Spacek, P., Braun, M., Mikulikova, L., Fortova, M., Horejsi, M., et al. 2003. Glycooxidation and inflammation in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 18:2577-2581.
  69. Danielski, M., Ikizler, T.A., McMonagle, E., Kane, J.C., Pupim, L., Morrow, J., and Himmelfarb, J. 2003. Linkage of hypoalbuminemia, inflammation, and oxidative stress in patients receiving maintenance hemodialysis therapy. *Am J Kidney Dis* 42:286-294.
  70. Nagaya, N., Miyatake, K., Uematsu, M., Oya, H., Shimizu, W., Hosoda, H., Kojima, M., Nakanishi, N., Mori, H., and Kangawa, K. 2001. Hemodynamic, renal, and hormonal effects of ghrelin infusion in patients with chronic heart failure. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5854-5859.
  71. Jofre, R., Rodriguez-Benitez, P., Lopez-Gomez, J.M., and Perez-Garcia, R. 2006. Inflammatory syndrome in patients on hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 17:S274-280.
  72. Arici, M., and Walls, J. 2001. End-stage renal disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link? *Kidney Int* 59:407-414.
  73. Stenvinkel, P. 2001. Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patient. *Blood Purif* 19:53-61.
  74. Himmelfarb, J., Stenvinkel, P., Ikizler, T.A., and Hakim, R.M. 2002. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* 62:1524-1538.
  75. Bellomo, G., Lippi, G., Saronio, P., Reboldi, G., Verdura, C., Timio, F., and Timio, M. 2003. Inflammation, infection and cardiovascular events in chronic hemodialysis patients: a prospective study. *J Nephrol* 16:245-251.
  76. Zoccali, C., Mallamaci, F., and Tripepi, G. 2002. Atherosclerosis in dialysis patients: does *Chlamydia pneumoniae* infection contribute to cardiovascular damage? *Nephrol Dial Transplant* 17 Suppl 8:25-28; discussion 40.
  77. Chen, L.P., Chiang, C.K., Chan, C.P., Hung, K.Y., and Huang, C.S. 2006. Does periodontitis reflect inflammation and malnutrition status in hemodialysis patients? *Am J Kidney Dis* 47:815-822.
  78. Rahmati, M.A., Craig, R.G., Homel, P., Kaysen, G.A., and Levin, N.W. 2002. Serum markers of periodontal disease status and inflammation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 40:983-989.
  79. Kadiroglu, A.K., Kadiroglu, E.T., Sit, D., Dag, A., and Yilmaz, M.E. 2006. Periodontitis is an important and occult source of inflammation in hemodialysis patients. *Blood Purif* 24:400-404.
  80. Welch, G.N., Upchurch, G.R., Jr., Farivar, R.S., Pigazzi, A., Vu, K., Brecher, P., Keaney, J.F., Jr., and Loscalzo, J. 1998. Homocysteine-induced nitric oxide production in vascular smooth-muscle cells by NF-kappa B-dependent transcriptional activation of Nos2. *Proc Assoc Am Physicians* 110:22-31.
  81. Hofmann, M.A., Lalla, E., Lu, Y., Gleason, M.R., Wolf, B.M., Tanji, N., Ferran, L.J., Jr., Kohl, B., Rao, V., Kisiel, W., et al. 2001. Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. *J Clin Invest* 107:675-683.
  82. Hashimoto, C., Hudson, K.L., and Anderson, K.V. 1988. The Toll gene of *Drosophila*,

- required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell* 52:269-279.
83. Belvin, M.P., and Anderson, K.V. 1996. A conserved signaling pathway: the *Drosophila* toll-dorsal pathway. *Annu Rev Cell Dev Biol* 12:393-416.
  84. Medzhitov, R., Preston-Hurlburt, P., and Janeway, C.A., Jr. 1997. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 388:394-397.
  85. Takeuchi, O., Hoshino, K., Kawai, T., Sanjo, H., Takada, H., Ogawa, T., Takeda, K., and Akira, S. 1999. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity* 11:443-451.
  86. Bochud, P.Y., and Calandra, T. 2003. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *Bmj* 326:262-266.
  87. Ulevitch, R.J., and Tobias, P.S. 1994. Recognition of endotoxin by cells leading to transmembrane signaling. *Curr Opin Immunol* 6:125-130.
  88. Vijay-Kumar, M., and Gewirtz, A.T. 2008. Guardians of the gut: newly appreciated role of epithelial toll-like receptors in protecting the intestine. *Gastroenterology* 135:351-354.
  89. Ulevitch, R.J., and Tobias, P.S. 1995. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu Rev Immunol* 13:437-457.
  90. Wright, S.D., Ramos, R.A., Tobias, P.S., Ulevitch, R.J., and Mathison, J.C. 1990. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 249:1431-1433.
  91. Haziot, A., Chen, S., Ferrero, E., Low, M.G., Silber, R., and Goyert, S.M. 1988. The monocyte differentiation antigen, CD14, is anchored to the cell membrane by a phosphatidylinositol linkage. *J Immunol* 141:547-552.
  92. Mathison, J.C., Tobias, P.S., Wolfson, E., and Ulevitch, R.J. 1992. Plasma lipopolysaccharide (LPS)-binding protein. A key component in macrophage recognition of gram-negative LPS. *J Immunol* 149:200-206.
  93. Heumann, D., Gally, P., Barras, C., Zaech, P., Ulevitch, R.J., Tobias, P.S., Glauser, M.P., and Baumgartner, J.D. 1992. Control of lipopolysaccharide (LPS) binding and LPS-induced tumor necrosis factor secretion in human peripheral blood monocytes. *J Immunol* 148:3505-3512.
  94. Bazil, V., Baudys, M., Hilgert, I., Stefanova, I., Low, M.G., Zbrozek, J., and Horejsi, V. 1989. Structural relationship between the soluble and membrane-bound forms of human monocyte surface glycoprotein CD14. *Mol Immunol* 26:657-662.
  95. Fearn, C., Kravchenko, V.V., Ulevitch, R.J., and Loskutoff, D.J. 1995. Murine CD14 gene expression in vivo: extramyeloid synthesis and regulation by lipopolysaccharide. *J Exp Med* 181:857-866.
  96. Frey, E.A., Miller, D.S., Jahr, T.G., Sundan, A., Bazil, V., Espevik, T., Finlay, B.B., and Wright, S.D. 1992. Soluble CD14 participates in the response of cells to lipopolysaccharide. *J Exp Med* 176:1665-1671.
  97. Read, M.A., Cordle, S.R., Veach, R.A., Carlisle, C.D., and Hawiger, J. 1993. Cell-free pool of CD14 mediates activation of transcription factor NF-kappa B by lipopolysaccharide in human endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:9887-9891.
  98. Landmann, R., Knopf, H.P., Link, S., Sansano, S., Schumann, R., and Zimmerli, W. 1996. Human monocyte CD14 is upregulated by lipopolysaccharide. *Infect Immun* 64:1762-1769.
  99. Nockher, W.A., and Scherberich, J.E. 1995. Monocyte cell-surface CD14 expression and soluble CD14 antigen in hemodialysis: evidence for chronic exposure to LPS.

- Kidney Int* 48:1469-1476.
100. Scherberich, J.E., and Nockher, W.A. 2000. Blood monocyte phenotypes and soluble endotoxin receptor CD14 in systemic inflammatory diseases and patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 15:574-578.
  101. Sato, Y., Takatsu, Y., Kataoka, K., Yamada, T., Taniguchi, R., Sasayama, S., and Matsumori, A. 1999. Serial circulating concentrations of C-reactive protein, interleukin (IL)-4, and IL-6 in patients with acute left heart decompensation. *Clin Cardiol* 22:811-813.
  102. Goncalves, S., Pecoits-Filho, R., Perreto, S., Barberato, S.H., Stinghen, A.E., Lima, E.G., Fuerbringer, R., Sauthier, S.M., and Riella, M.C. 2006. Associations between renal function, volume status and endotoxaemia in chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 21:2788-2794.
  103. 2002. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 39:S1-266.
  104. Sato, N., Kanai, S., Takano, S., Kurosawa, M., Funakoshi, A., and Miyasaka, K. 2003. Central administration of ghrelin stimulates pancreatic exocrine secretion via the vagus in conscious rats. *Jpn J Physiol* 53:443-449.
  105. Levey, A.S., Bosch, J.P., Lewis, J.B., Greene, T., Rogers, N., and Roth, D. 1999. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 130:461-470.
  106. Coresh, J., Astor, B.C., Greene, T., Eknoyan, G., and Levey, A.S. 2003. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis* 41:1-12.
  107. 1992. United States Renal Data System 1992 Annual Data Report. Analytical methods: technical notes. *Am J Kidney Dis* 20:100-107.
  108. Foley, R.N., Parfrey, P.S., and Sarnak, M.J. 1998. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 32:S112-119.
  109. Wanner, C., Krane, V., Marz, W., Olschewski, M., Mann, J.F., Ruf, G., and Ritz, E. 2005. Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 353:238-248.
  110. Efrati, S., Zaidenstein, R., Dishy, V., Beberashvili, I., Sharist, M., Averbukh, Z., Golik, A., and Weissgarten, J. 2002. ACE inhibitors and survival of hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 40:1023-1029.
  111. Besarab, A., Bolton, W.K., Browne, J.K., Egrie, J.C., Nissenson, A.R., Okamoto, D.M., Schwab, S.J., and Goodkin, D.A. 1998. The effects of normal as compared with low hematocrit values in patients with cardiac disease who are receiving hemodialysis and epoetin. *N Engl J Med* 339:584-590.
  112. Navarro, J.F., Mora, C., Muros, M., and Garcia-Idoate, G. 2003. Effects of atorvastatin on lipid profile and non-traditional cardiovascular risk factors in diabetic patients on hemodialysis. *Nephron Clin Pract* 95:c128-135.
  113. Chiang, C.K., Yang, S.Y., Peng, Y.S., Hsu, S.P., Pai, M.F., Huang, J.W., Hung, K.Y., and Wu, K.D. 2008. Atorvastatin Increases Erythropoietin-Stimulating Agent Hyporesponsiveness in Maintenance Hemodialysis Patients: Role of Anti-Inflammation Effects. *Am J Nephrol* 29:392-397.
  114. Ortega, O., Rodriguez, I., Gallar, P., Carreno, A., Ortiz, M., Espejo, B., Jimenez, J., Gutierrez, M., Olier, A., and Vigil, A. 2002. Significance of high C-reactive protein levels in pre-dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 17:1105-1109.
  115. Menon, V., Wang, X., Greene, T., Beck, G.J., Kusek, J.W., Marcovina, S.M., Levey, A.S., and Sarnak, M.J. 2003. Relationship between C-reactive protein, albumin, and

- cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 42:44-52.
116. Rauchhaus, M., Koloczek, V., Volk, H., Kemp, M., Niebauer, J., Francis, D.P., Coats, A.J., and Anker, S.D. 2000. Inflammatory cytokines and the possible immunological role for lipoproteins in chronic heart failure. *Int J Cardiol* 76:125-133.
  117. Ridker, P.M., Cannon, C.P., Morrow, D., Rifai, N., Rose, L.M., McCabe, C.H., Pfeffer, M.A., and Braunwald, E. 2005. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med* 352:20-28.
  118. Di Renzo, L., Noce, A., De Angelis, S., Miani, N., Di Daniele, N., Tozzo, C., and De Lorenzo, A. 2008. Anti-inflammatory effects of combined treatment with acetyl salicylic acid and atorvastatin in haemodialysis patients affected by Normal Weight Obese syndrome. *Pharmacol Res* 57:93-99.
  119. Yang, R.B., Mark, M.R., Gray, A., Huang, A., Xie, M.H., Zhang, M., Goddard, A., Wood, W.I., Gurney, A.L., and Godowski, P.J. 1998. Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signalling. *Nature* 395:284-288.
  120. Wittebole, X., Coyle, S.M., Kumar, A., Goshima, M., Lowry, S.F., and Calvano, S.E. 2005. Expression of tumour necrosis factor receptor and Toll-like receptor 2 and 4 on peripheral blood leucocytes of human volunteers after endotoxin challenge: a comparison of flow cytometric light scatter and immunofluorescence gating. *Clin Exp Immunol* 141:99-106.
  121. Armstrong, L., Medford, A.R., Hunter, K.J., Uppington, K.M., and Millar, A.B. 2004. Differential expression of Toll-like receptor (TLR)-2 and TLR-4 on monocytes in human sepsis. *Clin Exp Immunol* 136:312-319.
  122. Marsik, C., Mayr, F., Cardona, F., Derhaschnig, U., Wagner, O.F., and Jilka, B. 2003. Endotoxaemia modulates Toll-like receptors on leucocytes in humans. *Br J Haematol* 121:653-656.
  123. Koc M, T.A., Odabasi Z, Elbir Y, Eksioglu E, Glorieux G, Vanholder R, Akoglu E. . 2007. Toll Like Receptor Expression on Monocytes in Patients with CKD and HD: Relation with Inflammation and Endothelial Dysfunction. *J Am Soc Nephrol*:FC086.
  124. Dunzendorfer, S., Lee, H.K., Soldau, K., and Tobias, P.S. 2004. Toll-like receptor 4 functions intracellularly in human coronary artery endothelial cells: roles of LBP and sCD14 in mediating LPS responses. *Faseb J* 18:1117-1119.
  125. Wu, H., Chen, G., Wyburn, K.R., Yin, J., Bertolino, P., Eris, J.M., Alexander, S.I., Sharland, A.F., and Chadban, S.J. 2007. TLR4 activation mediates kidney ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest* 117:2847-2859.
  126. Frasnelli, M., and So, A. 2005. Toll-like receptor 2 and toll-like receptor 4 expression on CD64+ monocytes in rheumatoid arthritis: comment on the article by Iwahashi et al. *Arthritis Rheum* 52:2227-2228.
  127. Iwahashi, M., Yamamura, M., Aita, T., Okamoto, A., Ueno, A., Ogawa, N., Akashi, S., Miyake, K., Godowski, P.J., and Makino, H. 2004. Expression of Toll-like receptor 2 on CD16+ blood monocytes and synovial tissue macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 50:1457-1467.
  128. Babu, S., Blauvelt, C.P., Kumaraswami, V., and Nutman, T.B. 2006. Cutting edge: diminished T cell TLR expression and function modulates the immune response in human filarial infection. *J Immunol* 176:3885-3889.
  129. Komai-Koma, M., Jones, L., Ogg, G.S., Xu, D., and Liew, F.Y. 2004. TLR2 is expressed on activated T cells as a costimulatory receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:3029-3034.
  130. Nockher, W.A., and Scherberich, J.E. 1998. Expanded CD14+ CD16+ monocyte subpopulation in patients with acute and chronic infections undergoing hemodialysis.

- Infect Immun* 66:2782-2790.
131. Bas, S., Gauthier, B.R., Spenato, U., Stingelin, S., and Gabay, C. 2004. CD14 is an acute-phase protein. *J Immunol* 172:4470-4479.

**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**ARAŞTIRMA ETİK KURULU**

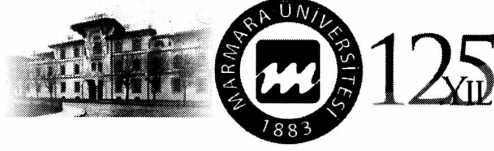
Sayı : B.30.2.MAR.0.01.00.02/AEK-781  
Konu:

11.05.2007

Sayın : Doç.Dr. Mehmet KOÇ

MAR-YÇ-2007- 0124 protokol nolu “Kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda intestinal permeabilitenin inflamatuvar parametrelerle ilişkisi “ isimli projeniz Fakültemiz Araştırma Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Prof. Dr. H. DİRESKENELİ  
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Araştırma Etik Kurul Başkanı



T.C.  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı


Sayı : B.30.2.MAR.0.70.00.03/373  
Konu :

İstanbul, 16/04/2008

Sayın Doç.Dr.Mehmet Koç  
Tıp Fakültesi  
Dahili Tıp Bilimleri Bölümü

**SAG-A-030408-0061** nolu “Kronik Böbrek Yetersizliği Olan Hastalarda İntestinal Permeabilitenin İnflamatuvar Parametrelerle İlişkisi” başlıklı projeniz Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun 03.04.2008 tarih ve 05/2008 sayılı toplantısında değerlendirilmiş olup, olumlu danışman raporları, bütçe olanakları ve nakit imkânları doğrultusunda **34.255.YTL** ile desteklenmesine ve tahakkuk ettirilmesine oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve 15 gün içerisinde sözleşme imzalamak için Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığına’na başvurmanızı saygılarımla rica ederim.

  
Prof. Dr. Sevim ROLPAS  
Bilimsel Araştırma  
Projeleri Komisyonu  
Yürütücü Sekreteri