

Hemodiyalizin Albümin ve Serbest Tiroksin Düzeyleri Üzerine Etkisi

[Effects of Hemodialysis on Albumin and Free Thyroxine Levels]

Mehmet Şeneş¹
Nuran Kazan¹
Murat Duranay²
Rabia Şeker¹
Oğuzhan Zengi¹
Havva Öztürk²
Doğan Yücel¹

¹ S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Klinik Biyokimya Laboratuvarı
² S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Nefroloji Kliniği

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Doç. Dr. Doğan YÜCEL
Adres: S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Biyokimya Laboratuvarı, Cebeci/Ankara
Telefon: 0 312 595 32 12
Fax: 0 312 362 18 57
e-mail : doyuysel@yahoo.com.

Kayıt tarihi 22.08.2005; kabul tarihi 01.12.2005
[Received 22.08.2005; accepted 01.12.2005]

ÖZET

Çalışmamızda kronik hemodiyaliz hastalarında plazma albümin düzeylerinin iki farklı albümin boya bağlama yöntemine göre [bromoresol green (Alb_{BCG}) ve bromoresol purple (Alb_{BCP})] nasıl değiştiğini ve serbest tiroksin (sT4) düzeylerinin hemodiyalizden nasıl etkilendiğini araştırmayı amaçladık. Haftada üç kez düzenli olarak hemodiyalize giren 26 hastanın (17E, 9K, yaş: 43±2) hemodiyaliz öncesi ve hemodiyaliz sonrası kan örneklerinde ve böbrek fonksiyonları normal yaş ve cinsiyetçe eşleştirilmiş 28 kontrol hastasının (15E, 13K, yaş: 41±6) kan örneklerinde her iki albümin yöntemiyle eş zamanlı ve paralel albümin ölçümleri yapıldı, sT4 düzeyleri belirlendi. Alb_{BCP} yöntemiyle gerek hemodiyaliz öncesi, gerekse hemodiyaliz sonrası örneklerde Alb_{BCG} yöntemine göre daha düşük albümin sonuçları saptandı (sırasıyla P=0.016 ve P=0.026). Hemodiyaliz öncesinde her iki yöntemle de düşük albümin değerleri gözlemlendi. Hemodiyaliz öncesi sT4 düzeyleri hemodiyaliz sonrasına göre düşüktü (P<0.001); hemodiyaliz grubu sT4 düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sadece hemodiyaliz öncesi örneklerde anlamlı düşüklük görüldü (P=0.017). Hemodiyaliz hastalarında Alb_{BCP} yönteminin, özellikle düşük albümin konsantrasyonlarında, Alb_{BCG} yöntemine göre daha düşük değerler vermesinin nedeni böbrek yetmezliğinde biriken toksik plazma bileşenlerinin yol açtığı negatif interferans olabilir. Hemodiyaliz öncesinde, hemodiyaliz sonrasına göre elde edilen daha düşük albümin değerleri hemodiyaliz öncesi hemodilüsyondan ve bunu izleyen hemokonsantrasyondan kaynaklanabilir. Kontrol grubuna göre sadece hemodiyaliz öncesinde görülen sT4 düşüklüğü de serumdaki üremik bileşenlerin negatif interferansından kaynaklanabilir.

Anahtar Kelimeler: Albümin, Hemodiyaliz, Serbest Tiroksin, Son Aşama Böbrek Yetmezliği, Üremik Toksinler, Yöntem Karşılaştırma

ABSTRACT

We aimed to investigate the alterations due to hemodialysis in albumin levels by use of two different dye-binding methods [bromoresol green (Alb_{BCG}) and bromoresol purple (Alb_{BCP})] in sera of chronic hemodialysis patients and how free thyroxine (FT4) levels are affected by a hemodialysis session. Albumin and FT4 levels were measured parallelly and simultaneously in blood samples drawn before and after hemodialysis in 26 hemodialysis patients undergoing hemodialysis three times a week (17 M and 9 F, ages 43±2) and in age- and sex-matched healthy 28 controls (15 M and 13 F, ages 41±6). Lower albumin concentrations were obtained by Alb_{BCP} method in both pre- and post-hemodialysis samples (P=0.016 and P=0.026, respectively). The albumin concentrations in predialysis samples were low with two methods. FT4 levels of pre-dialysis samples were lower than those of postdialysis (P<0.001); and only FT4 levels of pre-dialysis samples were lower as compared to controls (P=0.017). The lower albumin results by Alb_{BCP} than Alb_{BCG} in hemodialysis patients, especially in decreased plasma albumin levels, may result from a negative interference due to uremic toxins accumulated in renal insufficiency. Additionally, the lower albumin concentrations in pre-dialysis samples may arise from a passage from hemodilution to hemoconcentration. Uremic serum constituents may play a role for lower FT4 concentrations only in predialysis samples as compared to controls.

Key Words: Albumin, hemodialysis, Free Thyroxine, End Stage Renal Disease, Uremic Toxins, Method Comparison

GİRİŞ

Serum albümin konsantrasyonu gerek akut, gerekse kronik hastalıklarda mortalite, hastanede yatış süresi ve yeniden hastaneye başvuru olasılığının değerlendirilmesi açısından önemli bir biyokimyasal testtir. Plazma albümin konsantrasyonu hemodiyaliz hastalarında prognoz açısından da değerlidir (1). Düşük plazma albümin düzeyleri hemodiyaliz hastalarında kötü prognoza işaret eder (2). Bu hastalarda düşük albümin düzeylerinin diyaliz işlemlerinin yetersizliğine mi, yoksa bunun yanı sıra diğer hastalıklara da mı bağlı olduğu konusunda açıklık yoktur. Buna rağmen, Amerika Birleşik Devletleri'nde hemodiyaliz hastalarının albümin düzeyleri diyaliz ünitelerinin kalite göstergesi olarak kabul edilmektedir (3). Dolayısıyla, hemodiyaliz hastaları açısından böylesine önemli olan albüminin ölçüm yöntemleri de önemlidir.

Günümüzde klinik laboratuvarlarda serum veya plazmada albümin konsantrasyonu ölçümünde daha çok boya bağlama yöntemleri [bromcresol green (Alb_{BCG}) ve bromcresol purple (Alb_{BCP})] kullanılmaktadır. Çok az laboratuvar da immünotürbidimetri, immünonefelometri veya immünofloresans teknikleri yer almaktadır (4). Alb_{BCG} yönteminin özellikle düşük albümin/globülin oranına sahip örneklerde özgüllüğü düşüktür. Alb_{BCP} yöntemi globulinlerden ve diğer proteinlerden daha az etkilenmektedir (4). Hemodiyaliz hastalarında durum daha karışıktır. Bu hastalarda atılmayan bazı toksik plazma bileşenleri boya bağlama yöntemlerinin doğruluğunu etkileyebilmektedir. Hemodiyaliz hastalarının plazmasında bazı üremik toksinler [3-karboksi-4-metil-5-propil-2-furanpropiyonik asit (CMPF), indoksil sülfat, hippürik asit v.b.] yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmektedir. Bunlar, boya bağlama yöntemlerinde boyaların albümine bağlanmalarını inhibe ederek negatif interferansa neden olabilmektedir (4).

Kronik böbrek yetmezliğinde (KBY) tiroid hormonu metabolizması herhangi bir tiroid hastalığı olmaksızın değişebilmektedir. Bu hastalarda KBY'nin indüklediği metabolik ve endokrin bozukluklara ek olarak malnütrisyon, enfeksiyon, diyabet gibi tiroid hormonu metabolizmasını etkileyen böbrek ve tiroid dışı hastalıklar da gelişebilmektedir (5). KBY'de serum serbest T4 (sT4) ve total T4 (tT4) konsantrasyonları hastaların ötiroid olmalarına rağmen düşük bulunabilmektedir. Bu düşüklüklerden de üremik toksinlerin sorumlu olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle ötiroid KBY hastalarının tiroid hormon metabolizmasındaki değişikliklerin iyi değerlendirilmesi, hipotiroidizm veya hipertiroidizm tanısının doğru konulması daha bir önem kazanmaktadır (5).

Üremik bileşenlerin bazıları diyaliz ile uzaklaştırılabilir, bazıları ise uzaklaştırılamamaktadır. Albümin yöntemlerinin diyaliz olabilen ve olamayan üremik bileşenlerden etkilenmesi konusunda çelişik bilgiler vardır

(3,4). Diyaliz olabilen ve olamayan bileşenlerin albümin ölçüm yöntemleri üzerindeki etkisinin diyaliz öncesinde ve sonrasında farklı olması beklenir. Bu durum hemodiyaliz öncesi ve sonrası örneklerde ölçülen analit konsantrasyonlarında beklenenden farklı sonuçlar elde edilmesine neden olabilir. İmmünokimyasal tiroid hormon ölçüm yöntemlerinden sT4, proteine bağlanmayan fraksiyon olmakla birlikte konsantrasyonu albümin konsantrasyonuna bağlı olarak değişebildiğinden ve sT4 de albümin gibi üremik bileşenlerden etkilendiğinden, albümin ile paralel olarak sT4 konsantrasyonunun ölçülmesi, sonuçlardaki değişiklikleri yorumlama açısından yararlı olacaktır. Bu bilgiler ışığında, kronik hemodiyaliz hastalarında iki farklı albümin boya bağlama yönteminin (Alb_{BCG} ve Alb_{BCP}) ve sT4 konsantrasyonlarının diyaliz olabilen ve olamayan üremik bileşenlerden nasıl etkilendiğini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla hemodiyaliz hastalarında tek bir hemodiyaliz seansından önce ve sonra Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} yöntemleriyle albümin ve sT4 ölçümleri yaptık. Bu parametrelere kronik hemodiyalizin etkisini görmek amacıyla bu ölçümleri aynı zamanda sağlıklı kontrol grubunda yaptık. Aynı gruplarda hemodilüsyon ve hemokonsantrasyonun ölçüsü olarak total protein konsantrasyonunu da ölçtük. Literatürde albümin düzeylerinin her iki yöntem ile hem diyaliz öncesinde hem de sonrasında ölçüldüğü, aynı zamanda paralel sT4 düzeylerinin belirlendiği bir çalışma henüz yoktur. Literatürde albümin yöntemleriyle ilgili çalışmalar sadece diyaliz öncesinde yapılmıştır. Dolayısıyla, üremik plazma bileşenlerinden etkilendiği öne sürülen bu analitlerin diyaliz sonrasındaki durumunu görmek açısından yaptığımız çalışma orijinallik taşımaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta ve kontrol grupları. Çalışmamıza S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hemodiyaliz Ünitesi'nde uzun süreden beri (> 6 ay) ve haftada üç kez düzenli olarak ortalama 4 saatlik diyalize alınan 26 hasta (17E, 9K; yaş:43±2) alındı. Hemodiyaliz işleminde klasik modifiye olmayan polisülfon membran kullanıldı. Kontrol grubu yaş ve cinsiyet olarak hasta grubuna benzer, böbrek fonksiyonları normal 28 kişiden (15E, 13K; yaş: 41± 6) oluşturuldu.

Kan örnekleri. Hasta grubu kanları, hemodiyaliz hastalarının aylık kontrolü sırasında, hemodiyaliz öncesinde ve 4 saatlik hemodiyaliz seansı sonrasında düz biyokimya tüplerine (BD Vacutainer®, SST™ II Advance) alındı. Kontrol grubunda yer alan, böbrek fonksiyonu normal deneklerin açlık kanları da düz biyokimya tüplerine alındı. Örnekler 30 dakika bekletildikten sonra 1300 g'de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı. Ayrılan örneklerde aynı gün ve aynı seri içinde, eş zamanlı ve çift olarak serum albümin (her iki yöntem ile), total protein ve sT4 ölçüldü.

Çalışma için Yerel Etik Kurul onayı alındı. Hastalara çalışma hakkında sözlü bilgi verildi.

Serum albümin, total protein ve sT4 ölçümü. Serum albümin ölçümü için Alb_{BCG} (6) ve Alb_{BCP} (7) boya bağlama yöntemleri, total protein ölçümü için biüre yöntemi kullanıldı. Alb_{BCP} ve total protein ölçümü orijinal Beckman Coulter kitleri ile Alb_{BCG} ölçümü ise kendi hazırladığımız ayıraçlar ile Beckman-Coulter LX20 Pro analizöründe (Beckman-Coulter Inc., Fullerton, CA) yapıldı. Alb_{BCG} yönteminde spesifik olmayan bağlanma olasılığını ortadan kaldırmak için kısa inkübasyon süreli (reaksiyon zamanı 20 s) Alb_{BCG} yöntemi kullanıldı (8).

Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} yöntemlerinin kalibrasyonunda standart olarak orijinal Beckman-Coulter kalibratörleri kullanıldı [Synchron Protein Calibrators 1 (Albümin: 22.7 g/L) ve 2 (Albümin: 48.3 g/L)].

Serum sT4 düzeyleri ise elektrokemilüminesans tekniğiyle Modular Analytics E170 immünokimya analizöründe (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) çalışıldı.

Tüm testler her örnekte çift olarak çalışıldı. İstatistiksel hesaplamalarda bu değerlerin ortalamaları alındı. Albümin yöntemlerinin çalışma içi tekrarlanabilirlik çalışması düşük, orta ve yüksek konsantrasyonda albümin içeren Beckman-Coulter kontrol örnekleri (Synchron Control Level 1, 2 ve 3) ile yapıldı (n=21). Alb_{BCG} yönteminin değişkenlik katsayıları (%CV) sırasıyla %1.26, %1.27 ve %0.93; Alb_{BCP} yönteminin değişkenlik katsayıları (%CV) %1.27, %1.28, %1.26 idi. sT4 %CV değerleri ise düşük, orta ve yüksek serum havuzları için (n=21) sırasıyla %1.4, %1.8 ve %2.0 idi.

İstatistiksel analiz. İstatistiksel hesaplamalarda her bir örnek için elde edilen çift değerlerin ortalamaları kullanıldı. Hemodiyaliz hastalarında giriş ve çıkış kanları arasındaki farklar eşleştirilmiş (paired) Student t testi ile, kontrol ve hasta grupları arasındaki farklar ise bağımsız Student t testi ile yapıldı. P<0.05 ise gruplar arasındaki fark anlamlı kabul edildi. Ayrıca albümin yöntemleri arasındaki ilişki lineer regresyon analizi ve Pearson ko-

relasyon katsayısı ile değerlendirildi. Tüm istatistiksel hesaplamalar için paket istatistik programı "SPSS for Windows version 10.0" kullanıldı.

BULGULAR

Hasta ve kontrol grubu Alb_{BCG}, Alb_{BCP}, Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} farkı (Alb_{BCG}-Alb_{BCP}), total protein, sT4 değerleri Tablo 1'de görülmektedir.

Hemodiyaliz öncesi örneklerin Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} değerleri kontrol grubuna göre düşüktü (sırasıyla P<0.001 ve P<0.001). Hemodiyaliz sonrası örneklerde ise sadece Alb_{BCP} yönteminin sonuçları kontrol grubuna göre düşüklük gösterdi (P=0.008). Total protein konsantrasyonları karşılaştırıldığında hasta grubunun hemodiyaliz öncesi örnekleriyle kontrol grubu arasında anlamlı fark bulundu (P=0.017). Hemodiyaliz sonrası örneklerde ise bu fark ortadan kalktı (P=0.953). Benzer şekilde sT4 konsantrasyonları da hasta grubunda hemodiyaliz öncesi örneklerde kontrol grubuna göre anlamlı düşüklük gösterdi (P<0.001). Hemodiyaliz sonrası örneklerde ise herhangi bir fark bulunamadı (P=0.160).

Hasta grubunda hemodiyaliz öncesi ve hemodiyaliz sonrası örnekler arasındaki fark hem Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} grubunda önemli idi (sırasıyla P=0.016 ve P=0.026). Benzer şekilde total protein ve sT4 değerleri de iki grup arasında anlamlı fark gösterdi (sırasıyla P=0.023 ve P<0.001). Ancak, hemodiyaliz öncesi ve sonrası albümin düzeyleri, hemokonsantrasyon için düzeltme amacıyla total proteine oranlanarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (P>0.05). Hemodiyaliz öncesi ve sonrası sT4 düzeyleri total proteine oranlandığında gruplar arasındaki fark anlamlıydı (P<0.001).

Hasta grubunda hemodiyaliz öncesi, hemodiyaliz sonrası ve kontrol grubu örneklerinde Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} yöntemleri arasındaki farklar ayrı ayrı incelendiğinde her üç grupta da bu farkların anlamlı olduğu saptandı (sırasıyla P<0.001, P<0.001, P=0.047).

Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} yöntemleri arasında beklendiği gibi her düzeyde güçlü bir korelasyon vardı (r=0.965; P<0.001).

Tablo 1. Hasta ve Kontrol Grubu Albümin, Total Protein ve sT4 Değerleri.

	Alb _{BCG} (g/L)	Alb _{BCP} (g/L)	Alb _{BCG} -Alb _{BCP} (g/L)	TP (g/L)	Alb _{BCG} /TP	Alb _{BCP} /TP	sT4 (ng/dL)
Diyaliz öncesi (n=26)	35.8±6.9 ^{†a} , § ^d	31.9±7.6 ^{†a} , § ^d	3.8±1.8 ^{†a} , § ^d	67.3±11.4 ^{†d} , § ^d	0.53±0.059	0.47±0.07	0.98±1.14 ^{†a} , § ^a
Diyaliz sonrası (n=26)	39.3±8.9 ^{§d}	35.1±9.2 ^{†c} , § ^d	4.3±1.9 ^{†a} , § ^d	73.6±14.1 ^{§d}	0.49±0.10	0.47±0.08	1.20±0.2 ^{§a}
Kontrol (n=28)	42.1±5.5	41±7.3	0.87±2.2	73±6	0.57±0.048	0.56±0.072	1.28±0.21

† Hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki fark.

§ Hemodiyaliz öncesi ve hemodiyaliz sonrası gruplar arasındaki fark.

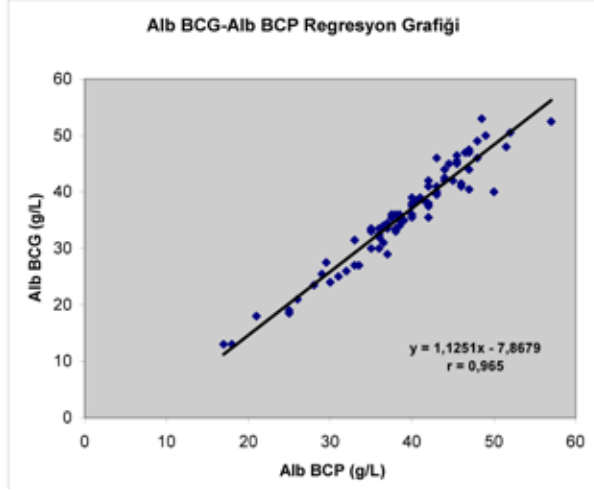
^a P<0.001

^b P<0.005

^c P<0.01

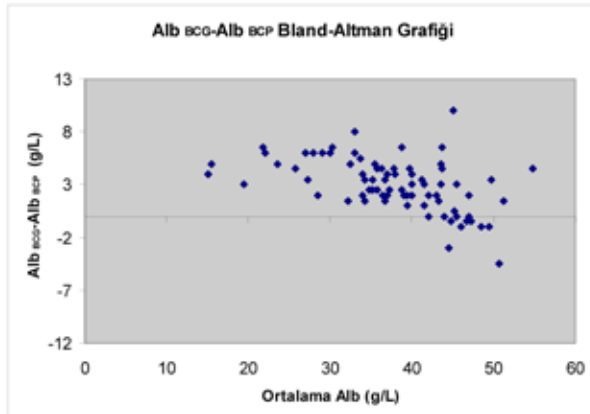
^d P<0.05

Yöntemlerin regresyon grafiği Şekil 1’de görülmektedir. Kontrol ve hasta gruplarında her iki yöntemle elde edilen albümin değerleri için Bland-Altman grafikleri Şekil 2A, 2B, 2C ve 2D’de verilmektedir.



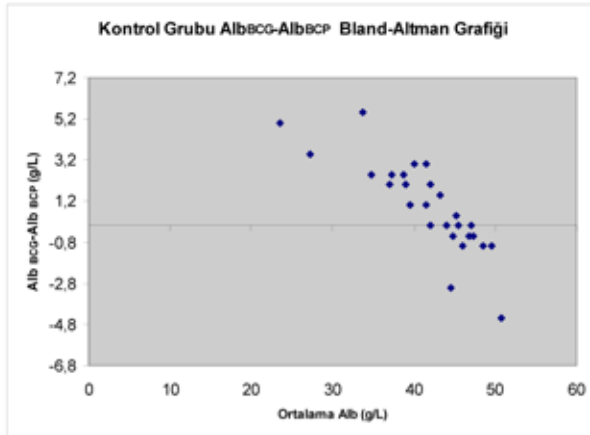
Şekil 1. AlbBCG ve AlbBCP yöntemleri arasındaki regresyon grafiği.

A



Şekil 2A. Kontrol ve hasta grubu Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} değerlerine göre Bland -Altman grafiği.

B



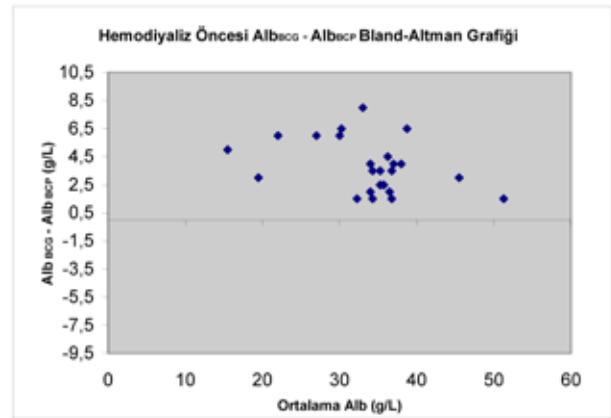
Şekil 2B. Kontrol grubu Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} değerlerine göre Bland-Altman grafiği.

TARTIŞMA

Kronik hemodiyaliz hastalarında albümin son derece önemli bir parametredir. Bu nedenle klinik biyokimya alanında albümin düzeylerinin doğru ölçülmesiyle ilgili çalışmalar, yaklaşık olarak 35 yıldır devam etmektedir. Bu alanda Alb_{BCG} boya bağlama yönteminin geliştirilmesi önemli bir adım olmuştur. Ancak bu yöntemin özgüllüğü, boyanın diğer plazma proteinlerine de bağlanması nedeniyle düşüktür (9). Alb_{BCP} yönteminin Alb_{BCG} yöntemine göre daha özgül olduğu belirtilmektedir (10). Ancak Alb_{BCP} yönteminde de çeşitli sorunlar yaşanmaktadır. *In vitro* çalışmalarda albümine kovalanarak bağlı bilirubinin (delta bilirubin) bu yöntemde negatif interferansa yol açtığı gösterilmiştir (11).

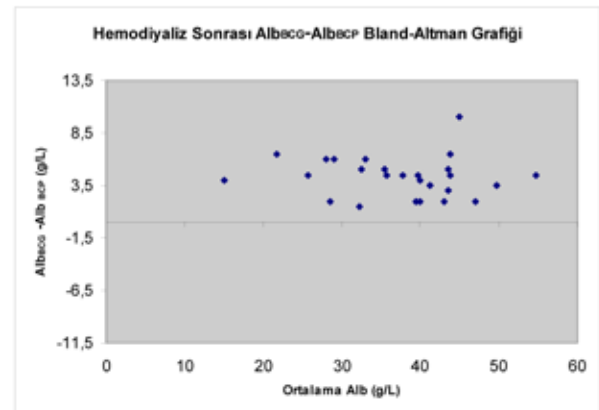
Yapılan bir çalışmada (12), diyalize gerek duyulmayan hastalarda, Alb_{BCP} yönteminin albümin için referans yöntem olarak kabul edilen “electroimmunoassay” tekniği (roket elektroforez, EIA) ile elde edilen sonuçlara göre 0.6 g/L kadar düşük olduğu belirtilmektedir. Diyaliz hastalarında ise Alb_{BCP}, EIA yönteminden 7 g/L daha düşük

C



Şekil 2C. Hemodiyaliz öncesi Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} değerlerine göre Bland-Altman grafiği.

D



Şekil 2D. Hemodiyaliz sonrası Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} değerlerine göre Bland-Altman grafiği.

sonuçlar vermiştir (13). İmmünonefelometrik yöntemle göre bu fark 3 g/L kadardır (14). Bu düşüklüğün diyalize olamayan üremik toksin CMPF'den kaynaklandığı belirtilmektedir. Beyer ve arkadaşları (15) düşük Alb_{BCP} sonuçlarının sadece hemodiyaliz hastalarıyla sınırlı olduğunu, böbrek yetmezliği olan ancak hemodiyaliz olmayan hastalarda ve periton diyalizi hastalarında böyle bir düşüklüğün olmadığını rapor etmişlerdir. Joseph ve arkadaşları (3) ise hemodiyaliz ve periton diyalizi hastalarında Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} yöntemlerini albümin ölçümü için altın standart kabul edilen immünonefelometrik yöntemle karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada kısa süreli Alb_{BCG} yöntemi, nefelometre ile iyi uyum göstermiştir. Alb_{BCP} yöntemi ise nefelometreye göre 5.2 g/L kadar düşük sonuçlar vermiştir. Alb_{BCP} bu çalışmada Alb_{BCG}'ye göre 6.5 g/L düşük sonuç vermiştir. Blag ve arkadaşlarının (16) yaptığı çalışmada ise Alb_{BCP} sonuçları hem hemodiyaliz hem de periton diyalizi hastalarında nefelometre ile uyumluluk göstermiştir. Bu çalışmada Alb_{BCG} ile Alb_{BCP} yöntemleri arasındaki farkın 5 g/L olduğu saptanmıştır. Kronik hemodiyaliz hastaları ve diğer hastalık gruplarında yapılan bir diğer çalışmada Alb_{BCG} ve immünotürbidimetrik yöntemler karşılaştırılmıştır (17). Bu çalışmada Alb_{BCG}'nin, özellikle hipotalbüminemi durumlarında, yüksek sonuçlar verdiği saptanmıştır. Özellikle renal hastalıklarda Alb_{BCG} yönteminin Alb_{BCP}'ye göre daha yüksek sonuç verdiği saptanmıştır. Bu yükseklik 3.5 g/L düzeyindedir.

Çalışmamızda Alb_{BCP} değerleri Alb_{BCG} değerlerine göre önemli düşüklük gösterdi. Bu düşüklük gerek hemodiyaliz öncesi örneklerde, gerekse hemodiyaliz sonrasında yaklaşık 4 g/L civarındadır. İki yöntem arasındaki fark sağlıklı grupta ise 1 g/L düzeyine inmektedir. Bu sonuçlar literatür bilgisiyle uyumludur. Bland-Altman grafikleri iki yöntem arasındaki farkın düşük albümin konsantrasyonlarında daha yüksek olduğunu göstermektedir. Albümin konsantrasyonu arttıkça yöntemler arasındaki fark azalmaktadır. Bu durum özellikle sağlıklı grup için geçerlidir. Hemodiyaliz grubunda albümin konsantrasyonu artsa da Alb_{BCG} yönteminin Alb_{BCP}'ye göre daha yüksek sonuçlar verdiği görülmektedir. Yöntemler arasındaki bu farkın nedeni hemodiyaliz grubunda diyalize olmayan toksik madde CMPF'dir. Çünkü diyaliz sonrasında da Alb_{BCP} düşüklüğü devam etmektedir. CMPF diyalize olamadığından Alb_{BCP} değerlerinde negatif interferansa yol açmaktadır. Albümin konsantrasyonlarının hemodiyaliz sonrasında artmasına rağmen iki yöntem arasındaki farkın hemodiyaliz sonrasında daha da büyümesi, Alb_{BCP} yöntemi üzerinde CMPF etkisini doğrulamakta, buna karşılık Alb_{BCG} yönteminin CMPF'den etkilenmediğini göstermektedir. Alb_{BCG} yönteminin CMPF'den etkilenmemesinin nedeni açık olmamakla birlikte, BCG'nin ve CMPF'nin albümin molekülünde farklı yerlere bağlanmasından ileri gelebilir.

Alb_{BCP} yönteminin daha az olmakla birlikte kontrol gru-

bunda da düşük sonuçlar vermesinin nedeni farklıdır. Genel olarak Alb_{BCP}'nin Alb_{BCG}'ye göre daha düşük sonuçlar verdiği bilinmektedir (4). Ancak, kullanılan kalibratöre göre bu fark tersine de dönebilmektedir. Örneğin, paradoksal olsa da, CAP 1993-1995 Chemistry Survey sonuçlarına göre Alb_{BCG} yöntemi Alb_{BCP}'den daha düşük sonuçlar vermiştir. Bunun nedeni Alb_{BCP} yöntemi için kullanılan kalibratörlerin Alb_{BCG} yöntemi ile kalibre edilmesine dayandırılmaktadır (4). Bizim çalışmamızda Alb_{BCG} yöntemi için kullandığımız kalibratörler Alb_{BCP} yönteminin kalibratörleri idi. Dolayısıyla Alb_{BCG}'nin daha yüksek değerler vermesinde kullanılan kalibratörlerin de önemi vardır. Joseph ve arkadaşları (3) Alb_{BCG}'nin diyaliz hastalarında altın standart olarak kabul edilen immünonefelometrik albümin ölçüm yöntemine daha yakın sonuçlar verdiğini bulmuşlardır. Buna karşılık Blag ve arkadaşları (15) ve Carfray ve arkadaşları (16) Alb_{BCP}'nin immüno kimyasal yöntemlerle daha uyumlu sonuçlar verdiğini belirtmektedirler. Bu çelişik görünen sonuçlarda kullanılan kalibrasyon materyalindeki farkların da rolü olabilir. Dolayısıyla, yöntemler arasındaki farklar değerlendirilirken albümin ölçüm yöntemlerinin izlenebilirliği (traceability) de göz önüne alınmalıdır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz diğer önemli bir bulgu, hemodiyaliz hastalarında, diyaliz öncesinde görülen hemodilüsyon ve diyaliz sonrasında görülen hemokonsantrasyondur. Diyaliz öncesi ve sonrası total protein değerleri bu durumu doğrulamaktadır. Diyaliz öncesi total protein değerleri diyaliz sonrasında ortalama 6.3 g/L artış göstermiştir. Hemodilüsyon – hemokonsantrasyon değişikliklerine bağlı bu artışın albümin konsantrasyonlarına yansımaları da kaçınılmazdır. Nitekim, diyaliz öncesi ve sonrası albümin değerleri total protein değerlerine oranlanarak karşılaştırıldığında, gruplar arasında farkın kaybolduğu görülmektedir (P>0.05).

İki albümin ölçüm yöntemi arasındaki fark CLIA 1988 (18) kriterlerine göre yeterlilik testlerinde beklenen sınırlar göz önüne alındığında önemlidir. Bu sınır albümin için hedef değer $\pm 10\%$ olarak verilmektedir. Buna göre iki yöntem arasındaki fark kontrol grubu için önemsiz olarak düşünülebilir. Ancak fark, gerek diyaliz öncesinde, gerekse sonrasında $\pm 10\%$ sınırlarının üzerindedir. Bu yüzden, hemodiyaliz hastalarında albümin ölçüm yönteminin seçimi önemlidir.

Tüm gruplarda iki albümin yöntemi arasında önemli istatistiksel fark olmakla birlikte, tüm albümin konsantrasyonlarında güçlü bir korelasyon vardı ($r=0.965$). İki yöntem arasındaki ilişki eğer sadece hemodiyaliz hastaları için saptanırsa, biriyle elde edilen değer ötekine dönüştürülebilir. Çalışmamızda hemodiyaliz öncesi ve sonrası kanlarında ($n=52$) Alb_{BCG} ve Alb_{BCP} yöntemleri arasındaki ilişkiyi belirleyen denklem şöyle bulunmuştur: $y(\text{Alb}_{\text{BCG}}, \text{g/L}) = 0.985 \text{ Alb}_{\text{BCP}} (\text{g/L}) + 4.6456$. Bu ilişki yardımıyla Alb_{BCP} sonuçları Alb_{BCG} sonuçlarına

dönüştürülebilir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz diğer önemli bir bulgu sT4 düzeylerinin hemodiyaliz öncesinde hemodiyaliz sonrası örneklerle göre düşük olmasıydı. Hemodiyaliz sonrasında sT4 düzeylerinde artış ortalama olarak %19'u bulmaktaydı ve istatistiksel olarak anlamlı idi ($P<0.001$). Hemodiyaliz öncesi örneklerin sT4 düzeyleri sağlıklı kontrollerle göre de anlamlı düşüklük gösteriyordu ($P<0.001$). Oysa bu düşüklük, hemodiyaliz sonrasında ortadan kalktı ($P>0.05$). Gerçekte, *in vivo* olarak üremik serum bileşenlerinin albümine sT4 bağlanmasını azaltması, dolayısıyla serumda sT4 fraksiyonunu artırması beklenir. Ancak analitik ortamda bu etki tam tersine sonuçlanabilir. Serum sT4 düzeylerinin son aşama böbrek yetmezliğinde kullanılan yöntemle bağlı olarak düşük ya da yüksek olabileceği belirtilmektedir (5). Gerçekte "equilibrium dialysis" yöntemi ile çalışıldığında ötiroid son aşama böbrek yetmezliği hastalarında sT4 düzeylerinin %87-97 oranında normal olduğu belirtilmektedir (19,20,21). Oysa, işaretli analog kullanılan yöntemlerde sT4 düzeyleri düşük bulunmaktadır. Bu düşüklükten serumda bulunan üremik bileşenlerin sorumlu olabileceği belirtilmektedir (22). Kullandığımız sT4 ölçüm yönteminde de işaretli analog kullanılmaktadır. Dolayısıyla hemodiyaliz öncesinde sT4 düzeylerindeki düşüklük CMPF, hippürik asit, indoksil sülfat, indol asetik asit gibi organik maddelerin, reaksiyon ortamında sT4'ün antikora bağlanmasını azaltmasına bağlanabilir. Reaksiyon sinyali serumdaki sT4 konsantrasyonu ile ters orantılı olduğundan, bu durumda, gerçek değerlerin altında sT4 sonuçları alınacaktır. Diyaliz işlemi sonucunda üremik toksinlerden hippürik asit, indoksil sülfat ve indol asetik asit ortamdan uzaklaştırılabilmektedir (20). Bu nedenle hemodiyaliz sonrasında sT4 düzeyleri yükselmiş olabilir. Hemodiyaliz sonrasında sT4 konsantrasyonunun yükselmesinden sorumlu diğer bir olay da hemodilüsyon-hemokonsantrasyon değişiklikleri olabilir. Ancak sT4/total protein oranları karşılaştırıldığında hemodiyaliz öncesi ve sonrası arasında farkın anlamlı olması bu olasılığı azaltmaktadır.

Kaynaklar

1. Hermann, F.R., Safran, C., Levkoff, S.E., Minaker, K.L. (1992) Serum albumin level on admission as a predictor of death, length of stay and readmission. Arch. Intern. Med. 52:125-30.
2. Lowrie E.G., Lew N.L. (1990) Death risk in haemodialysis patients: the predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities. Am. J. Kidney Dis. 15: 458-82.
3. Joseph R., Tria L., Mossey R.T., Bellucci A.G., Mailloux L.U., Vernace M.A., Miller I., Wilkes B.M. (1996) Comparison of methods for measuring albumin in peritoneal dialysis and hemodialysis patients. Am. J. Kidney Dis. 27: 566-72.
4. Dumas B.T., Peters Jr T. (1997) Serum and urine albumin: a progress report on their measurement and clinical significance. Clin. Chim. Acta 258:3-20.

Bu sonuçlar, işaretli analog tekniğinin kullanıldığı sT4 ölçümlerinin son aşama böbrek yetmezliğinde kandaki üremik bileşenlerden negatif yönde etkilendiğini doğrulamaktadır. CLIA 1988 kriterleri (17) sT4 için yeterli performansı, ortalama ± 3 s olarak vermektedir. Çalışmamızda kullandığımız sT4 ölçümlerinin çalışma içi %CV'si maksimum %2'dir. Dolayısıyla sT4 için bizim çalışma koşullarımızda izin verilebilir hata maksimum hedef değer ± 6 'sı kadar olabilir. Oysa hemodiyaliz hastalarında giriş ve çıkış kanları arasındaki fark yaklaşık olarak %20'yi bulmaktadır. Bu durum, hemodiyaliz hastalarında sT4 ölçümleri için hangi örneğin uygun olabileceği sorusunu karşımıza çıkarmaktadır. Hemodiyaliz işlemi sonucunda üremik toksinlerin önemli bir bölümü kandan uzaklaştırıldığından, sT4 ölçümlerinde hemodiyaliz çıkış kanlarının kullanılması daha doğru bir yol olarak gözükmektedir. Ancak, hemodiyaliz hastalarında heparinin etkileri de göz önüne alınmalıdır. Heparin lipoprotein lipaz enzimini aktive eder. Bunun sonucunda ortaya çıkan serbest yağ asitlerinin de işaretli analog kullanılan tekniklerde sT4 artışına yol açtığı belirtilmektedir (21). Ayrıca, albümin düzeylerindeki değişikliklerin de sT4 ölçümlerini etkileyebileceği belirtilmektedir (23). Düşük albümin düzeylerinin bazı immünokimyasal yöntemlerde sT4 sonuçlarını negatif yönde değiştirdiği belirtilmektedir (22). Çalışmamızda Alb_{BCG}-sT4 ve Alb_{BCP}-sT4 konsantrasyonları arasında bulduğumuz pozitif korelasyon (sırasıyla $r=0.275$, $P=0.014$ ve $r=0.291$, $P=0.009$) bu bilgileri desteklemektedir.

Sonuç olarak, hemodiyaliz hastalarında albümin ölçümünde eğer Alb_{BCP} yöntemi kullanılıyorsa, bunun yerine Alb_{BCG} yöntemi kullanılabilir. Veya iki yöntem arasındaki lineer regresyon denklemi ile Alb_{BCP} sonuçları Alb_{BCG}'ye göre düzeltilir. Hemodiyaliz hastalarında sT4 sonuçlarını yorumlarken çok daha dikkatli olunmalıdır. Hastalarda tiroid fonksiyonu için daima çıkış kanları tercih edilebilir. Buna rağmen sT4 sonuçlarının diğer tiroid fonksiyon testleri ile birlikte yorumlanması şarttır.

5. Kaptein E.M. (1996) Thyroid hormone metabolism and thyroid disease in chronic renal failure. Endocr. Rev. 17:45-63.
6. Dumas B.T., Watson W.A., Biggs H.G. (1971) Albumin standards and the measurements of serum albumin with bromocresol green. Clin. Chim. Acta 31:87-96.
7. Pinnell A.E., Northam B.E. (1978) New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. Clin. Chem. 24: 80 - 6.
8. Concoran R.M., Durnan S.M. (1977) Albumin determinations by modified bromocresol green method. Clin. Chem. 23:765-6.
9. Northam B.E. (1981) Whither automation? Ann. Clin. Biochem. 18:189-99.
10. Gustafsson J.E.C. (1976) Improved specificity of serum albumin

determination and estimation of "acute phase reactants" by use of bromcresol green reaction. *Clin. Chem.* 22:616-22.

11. Bush, V., Reed R.G. (1987) Bromcresol purple dye-binding methods underestimate albumin that is carrying covalently bound bilirubin. *Clin. Chem.* 33:821-3.

12. Wells F.E., Addison G.M., Postlethwaite R.J. (1985) Albumin analysis in serum of haemodialysis patients: discrepancies between bromcresol purple, bromcresol green and electroimmunoassay. *Ann. Clin. Biochem.* 22:304-9.

13. Mabuchi H., Nakahashi H. (1987) Underestimation of serum albumin by the bromcresol purple method and major endogenous ligand in uremia. *Clin. Chim. Acta* 167:89-96.

14. Beyer C., Boekhout M., van Iperen H. (1994) Bromcresol purple dye-binding and immunoturbidimetry for albumin measurements in plasma or serum of patients with renal failure. *Clin. Chem.* 40:844-5.

15. Blagg C.R., Liedtke R.J., Batjer J. Racoosin B., Sawyer T.K., Wick M.J., Lawson L., Wilkens K. (1993) Serum albumin concentration-related Health Care Financing Administration quality assurance criterion is method-dependent: revision is necessary. *Am. J. Kid. Dis.* 21:137-44.

16. Carfray A., Patel K., Whitaker P., Garrick P., Griffiths G.J., Warwick G.L. (2000) Albumin as an outcome measure in haemodialysis in patients: the effect of variation in assay method. *Nephrol. Dial. Transplant.* 15:1819-22.

17. Garber C.C., Carey R.N. (2003) Evaluation of methods. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation* (Derleyen: Kaplan L.A., Pesce A.J., Kazmierczak S.C.), s. 379-426, Mosby, St. Louis.

18. Faber J., Heaf J., Kirkegaard C., Lumholtz I.B., Siersbaek-Nielsen K., Keolendorf K., Friis T. (1983) Simultaneous turnover studies of thyroxine, 3,5,3'- and 3,3',5'-triiodothyronine, 3,5-3,3' and 3',5'-diiodothyronine and 3'- monoiodothyronine in chronic renal failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 56:211-7.

19. Spector D.A., Davis P.J., Helderman J.H., Bell B., Utiger R.D. (1976) Thyroid function and metabolic state in chronic renal failure. *Ann. Intern. Med.* 85:724-30.

20. Iitaka M., Kawasaki S., Sakurai S., Hara Y., Kuriyama R., Yamanaka K., Kitahama S., Miura S., Kawakami Y., Katayama S. (1998) Serum substances that interferes with thyroid hormone assays in patients with chronic renal failure. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 48:739-46.

21. Liewendahl K., Tikanoja S., Mahonen H., Helenius T., Valimaki M., Tallgren L.G. (1987) Concentrations of iodothyronines in serum of patients with chronic renal failure and other nonthyroidal illnesses: role of free fatty acids. *Clin. Chem.* 33: 1382 - 6.

22. Nishikawa M., Ogawa Y., Yoshikawa N., Yoshimura N., Toyoda N., Shouzu A., Inada M. (1996) Plasma free thyroxine (FT4) concentrations during hemodialysis patients with chronic renal failure: effects of plasma non-esterified fatty acids on FT4 measurements. *Endocr. J.* 43:487-93.