

Inflamatuvar barsak hastalığında mikroalbüminüri

Microalbuminuria in inflammatory bowel disease

Canan ALKIM¹, Hüseyin ALKIM², Mustafa BALCI³, Fazıla ATAKAN ERKAL⁴, Erkan PARLAK⁵, Ülkü DAĞLI⁵, Aysel ÜLKER⁵, Gülsevrim SAYDAM⁴, Burhan ŞAHİN⁵

Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ¹Gastroenteroloji Kliniği, İstanbul

Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ²Gastroenteroloji Kliniği, İstanbul

Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi, ³İmmunoloji Laboratuvarı, ⁴Biyokimya Laboratuvarı ve ⁵Gastroenteroloji Kliniği, Ankara

Amaç: Mikroalbüminürinin, inflamatuvar barsak hastalığının tipini ve aktivitesini yansıtan iyi bir parametre olup olmadığını ve TH1/TH2 sitokinleri olan IFN- γ /IL-4 serum düzeyleriyle bir korelasyon gösterip göstermediğini araştırmayı amaçladık. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya, 31 ülseratif kolit, 18 Crohn hastası ve 8 sağlıklı kontrol alındı. Serum örneklerinde kreatinin, β -2 mikroglobulin, IL-4 ve IFN- γ , 24 saatlik idrarda kreatinin, mikroalbümin ve β -2 mikroglobulin çalışıldı. **Bulgular:** Böbrek işlevleri açısından, ülseratif kolit grubunun kreatinin klerensi daha düşük gibi görünse de, ülseratif kolit, Crohn hastalığı ve sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel önemde farklılık yoktu. Her üç grubun da idrar β -2 mikroglobulin seviyesi ölçülebilecek düzeyin altındaydı, yani tübüler hasar yoktu. Serum IL-4 düzeyi, ülseratif kolit grubunda kontrol grubundan istatistiksel önemde yükseklik gösteriyordu (49.3 ± 81.7 pg/ml, 1.6 ± 0.0 pg/ml, $p < 0.01$). Ülseratif kolit grubunun mikroalbüminüri miktarı kontrolden fazlaydı, ama farklılık istatistiksel önemde değildi. Crohn hastalığı grubunun IL-4 düzeyi (54.8 ± 58 pg/ml) hem ülseratif kolit hem de kontrolden yüksekti, ancak sadece kontrol grubuyla anlamlı farklılık gösteriyordu ($p < 0.01$). Bütün çalışma gruplarının serum IFN- γ düzeyleri, ölçülebilen düzeyin altındaydı. Serum β -2 mikroglobulin düzeyleri, gruplar arasında farklılık göstermiyordu. **Sonuç:** Mikroalbüminüri, serum IFN- γ ile serum β -2 mikroglobulin düzeyleri inflamatuvar barsak hastalığının tanısında veya aktivasyonunu belirlemede yetersizdir. IL-4 düzeyi, inflamatuvar barsak hastalığı grubunda aktivasyonla ilişkisiz olarak yüksektir, ancak kontrol grubuyla benzer değerleri gösteren hasta sayısı çok olduğundan, rutin kullanıma girmesi uzak bir olasılıktır.

Anahtar kelimeler: Inflamatuvar barsak hastalığı, mikroalbüminüri, IL-4, IFN- γ , β -2 mikroglobulin

Background and Aims: We aimed to investigate whether microalbuminuria reflects inflammatory bowel disease type and/or activity and whether there is any relation between microalbuminuria and serum levels of TH1/TH2 cytokines IFN- γ /interleukin (IL)-4. **Materials and Methods:** Thirty-one ulcerative colitis and 18 Crohn's disease patients together with 8 healthy controls were enrolled into the study. Serum creatinine, β -2 microglobulin, IL-4, and IFN- γ levels together with 24-hour urine creatinine, microalbumin and β -2 microglobulin levels were studied. **Results:** Although the creatinine clearance level of the ulcerative colitis group seemed lower than of the healthy control group, no statistically important difference in renal function was present between the ulcerative colitis, Crohn's disease and healthy control groups. Urine β -2 microglobulin levels of all three study groups were found lower than the detectable level, so tubular damage was not present. Serum IL-4 level of the ulcerative colitis group was found significantly higher than of the healthy control group (49.3 ± 81.7 pg/ml, 1.6 ± 0.0 pg/ml, respectively; $p < 0.01$). The microalbuminuria level of the ulcerative colitis group was found minimally higher than of the healthy control group, but the difference was insignificant. The serum IL-4 level of the Crohn's disease group (54.8 ± 58 pg/ml) was found higher than both the ulcerative colitis and healthy control groups, but a statistically significant difference was present only with the healthy control group ($p < 0.01$). Serum IFN- γ levels of all study groups were found lower than the detectable level. No difference was detected in the β -2 microglobulin level between the study groups. **Conclusions:** Microalbuminuria and serum IFN- γ and β -2 microglobulin levels were insufficient in the diagnosis of inflammatory bowel disease and in determining the activation of the disease. Serum IL-4 levels were high in inflammatory bowel disease without any relation with activation. However, the number of patients with values similar to those of the healthy control group was high, so its routine usage seems to be unjustified.

Keywords: Inflammatory bowel disease, microalbuminuria, IL-4, IFN- γ , β -2 microglobulin

GİRİŞ

Inflamatuvar barsak hastalığı (İBH), ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığını (CH) içermekte olup tekrarlayan aktivasyon atakları ve remisyonlarla seyreden kronik bir hastalıktır. Hastalık aktivasyonunun belirlenmesi ve monitör-

zasyonu İBH'nın klinik yönetiminde çok önemlidir. Hastanın yakınmaları inflamasyon ve hastalık aktivasyonunu belirlemede yol göstericidir, ancak subjektiftir ve yansız olmayan durumlardan; darlık ve safra tuzu malabsorbsi-

İletişim: Canan ALKIM

Ünsal Karahan Sitesi C Blok D:49 Nişantaşı İhlamur Yolu, No:51-1

Teşvikiye/Şişli, 34365 İstanbul, Türkiye

E-mail: alkimca@hotmail.com

Geliş Tarihi: 05.07.2011 • **Kabul Tarihi:** 15.07.2011

yonu gibi, kolaylıkla etkilenir. Bu nedenle şikayet, fizik muayene bulguları ve bazı laboratuvar parametrelerini içeren hastalık aktivite indeksleri geliştirilmiştir. Bu indekslerin hasta başı kullanımı zordur ve subjektif hasta şikayetlerine dayanmaktadır. Manyetik rezonans görüntüleme, tomografi, baryumlu grafiler ve enteroklizis yöntemleri pahalı olması ve hastanın radyasyona maruz kalması gibi nedenlerle yaygın kullanılmamaktadır. Barsak inflamasyonunu gösteren 'gold standart' tanı yöntemi endoskopi ve biyopsidir. Fakat invaziv bir yöntemdir, tüm gastrointestinal sistemi görüntülemek zahmetli olup her zaman mümkün olmayabilir. Bu nedenle hastalık aktivitesini objektif yansıtan, ucuz ve kolay bir laboratuvar belirteci bulmak için eritrosit sedimentasyon hızı, lökosit ve trombosit sayısı, albumin, orosomucoid, C reaktif protein, fibrinojen, serum amiloid A, α 1-antitripsin, interlökinler (IL-1, IL-6, IL-8), interlökin reseptörleri (IL-2R, IL-6R), tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF- α) gibi bir çok molekül araştırılmıştır. Ayrıca fekal lökosit atılımı, fekal serum proteinleri yada lökosit ürünleri aktivasyon belirteci olarak çalışılmıştır (1-4).

Mikroalbuminüri, 24 saatlik idrarda 30 miligramdan daha fazla albumin atılmasıdır. Diabetik hastada mikroalbuminüri saptanması diabetik nefropatiyi düşündürür ve artmış kardiyovasküler mortalite ve morbidite sıklığı ile birliktedir. Mikroalbuminüri sepsis, travma, yanık, miyokard infarktüsü gibi iskemik hasarlarda olduğu gibi akut hastalıkların nonspesifik belirtecidir. Büyük bir olasılıkla inflamatuvar sitokinlere karşı oluşan akut faz yanıtının sonucu gelişmektedir. Bu nedenle mikroalbuminüri daha uzun süreli ve kolay ölçülebilen bir akut faz belirteci olabilir (5).

İBH'daki barsak inflamasyonu karmaşık bir örüntü ile kontrol edilmektedir. Sitokinler immun hücrelerden salınır, hücreler arası ilişkiyi sağlar. Ayrıca T lenfositlerin Th1, Th2, Th17 ve regülatör hücrelere farklılaşmasını sağlar. CH'da Th1 T hücre aracılı immun yanıt ön plandadır ve interferon gamma (IFN- γ), IL-2 ve TNF- α salınımının artışı ile karakterizedir. ÜK'de ise lokal yanıt daha az polarize olmakla birlikte Th2 sitokin yapımı ile karakterizedir. Th2 sitokinler içinde IL-4, IL-5 sayılabilir (6,7).

Bu çalışmanın amacı, mikroalbuminürinin, İBH'nın tanısında yardımcı ve/veya hastalık aktivitesini yansıtacak bir laboratuvar belirteci olup olmadığını araştırmak ve Th1/Th2 sitokinlerle ilişkisini saptamaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, 31 ÜK, 18 CH ve 8 sağlıklı kontrol alındı (yaş ortalamaları, sırasıyla, 42±13, 35±13 ve 36±14 yılı). İBH'lı tanısı endoskopik, histolojik ve radyolojik bulgular ve klinik

tabloya dayanılarak konmuştur. 70 yaş üstü hastalar, diabetikler, hipertansiyonu olanlar, böbrek hastalığı olanlar, idrar yolu enfeksiyonu olanlar, nonsteroid antiinflamatuvar ilaç ile diüretik kullananlar ve kalp yetmezliği olan hastalar çalışma dışında bırakıldı. Çalışma protokolü Helsinki bildirgesine uygun yürütüldü. Tüm hastalar çalışma hakkında bilgilendirildi ve bilgilendirilmiş onamları alındı. Hastalarımızın 10 tanesi sülfasalazin, 35 tanesi mesalazin kullanılıyordu. ÜK hastalarının aktivasyonu Rachmilewitz endoskopik aktivite indexi ile, CH hastalarının aktivasyonu ise Harvey-Bradshaw (Simple indeks) indeksiyle değerlendirildi, skor 4'ün üzerindeyse aktif kabul edildi. ÜK grubunun 13 tanesi, CH grubunun 8 tanesi aktif olarak değerlendirildi. Hastalara 24 saatlik idrar toplatıldı. 24 saatlik idrarda dansite, sodyum, potasyum, kreatinin, total protein çalışıldı. Toplanan idrarda mikroalbuminüri immünonefemetrik yöntemle çalışıldı. Renal tubuler patoloji olup olmadığını araştırmak için idrarda β -2 mikroglobulin bakıldı.

Hastalardan idrarla eşzamanlı iki kan örneği alındı. Örneklerden birisinde rutin biokimya testleriyle birlikte kreatinin ve β -2 mikroglobulin çalışıldı. Diğer kan örneği santrifüj edilerek serumu ayrıldı, -20 derecede donduruldu. ELISA yöntemiyle (Bender MedSystems, Austria) IL-4 ve IFN- γ düzeyleri toplu olarak çalışıldı.

İstatistik Yöntem

Bütün istatistiksel testler SPSS 13 ile yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standard sapma şeklinde verildi. Parametrik olmayan değerler için Kruskal Wallis testi, parametrik değerler için Anova ve Student t-testi kullanıldı. İstatistiksel önem sınırı $p < 0.05$ olarak alındı.

BULGULAR

Böbrek işlevleri açısından, ÜK grubunun kreatinin klerensi daha düşük gibi görünse de, ÜK, CH ve sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel önemde farklılık yoktu (Tablo 1, Şekil 1). Bütün çalışma grubunda idrar β -2 mikroglobulin seviyesi ölçülebilecek düzeyin altındaydı, yani tubuler hasarı gösterir bulgu yoktu. ÜK grubunun mikroalbuminüri miktarı kontrolden fazlaydı, ama farklılık istatistiksel önemde değildi. CH grubunun mikroalbuminüri düzeyi kontrol grubuna yakındı, ayrıca ÜK ve CH arasında da mikroalbuminüri açısından farklılık yoktu. Aktif inflamatuvar barsak hastalığı grubu ile inaktif inflamatuvar barsak hastalığı grubu değerlendirildiğinde iki grup arasında fark bulunamadı. Ayrıca, aktivasyon ile mikroalbuminüri arasında korelasyon yoktu.

Serum IL-4 düzeyi, ÜK'de sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel önemde yükseklik gösteriyordu (sırasıyla, 49.3±81.7 pg/ml, 1.6±0.0 pg/ml, $p < 0.01$). CH grubunun

Tablo 1. Çalışma ve kontrol gruplarının sonuçları

	Ülseratif Kolit	Crohn Hastalığı	Sağlıklı Kontrol
Kreatinin klerens (ml/dk)	78,83±9,63	86,02±9,85	95,75±10,23
Mikroalbuminüri (mg/gün)	14,28±6,86	16,58±7,12	5,23±1,21
β-2 mikroglobulin (mg/l)	1,67±0,7	1,76±0,8	1,52±0,7
İnterlökin (IL)-4 (pg/ml)	49,32±81,7*	54,85±58*	1,6±0,0

*p<0.01

IL-4 düzeyi (54.8±58 pg/ml) hem ÜK hem de sağlıklı kontrolden yüksekti, ancak sadece kontrol grubuyla anlamlı farklılık gösteriyordu (p<0.01). Bütün çalışma grubunda serum IFN-γ düzeyi, ölçülebilir düzeyin altındaydı. Serum β-2 mikroglobulin düzeyleri, oldukça düşüktü ve gruplar arasında farklılık göstermiyordu. Mikroalbuminüri ile IL-4 arasında korelasyon yoktu.

TARTIŞMA

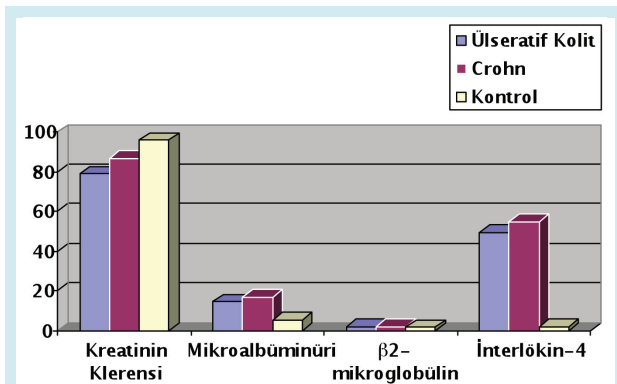
İBH hastalarının tanısı konulurken, hastalığın ciddiyetini belirlerken ve verilen ilaçlara yanıtı izlemek için objektif laboratuvar belirteçlerine gereksinim vardır. Bu laboratuvar belirteci hastanın kliniğiyle, endoskopisiyle ve aktivasyonu ile çok iyi korele olmalıdır. Ayrıca ucuz, kolay, hızlı ve yaygın kullanılabilir olmalıdır. Bu amaçla, Mahmud ve ark. (5) İBH'da mikroalbuminüriyi ilk olarak 1994 yılında çalıştılar. Mikroalbuminürinin hastaların aktivasyonu ile korele olarak İBH'da yükseldiğini, inaktif hastanın bile sağlıklı kontrolden yüksek mikroalbuminüri olduğunu iddia ettiler. İki yıl sonra, aynı araştırmacılar mikroalbuminürinin histolojik aktiviteyle orantılı olarak yükseldiğini bildirdiler (8). Derici ve ark. (9) ÜK'de mikroalbuminüri ve tübüler proteinürinin (α-1 mikroglobulin) hastalık aktivasyonu ile belirgin şekilde arttığını, remisyonda ise kontrol grubundan farklı olmadığını bildirdiler. Bizim çalışmamızda İBH grubunda, hem ÜK, hem de CH grubunda mikroalbuminüri sağlıklı kontrol grubundan farklı değildi ve

hastalık aktivasyonu ile korelasyon göstermiyordu. Poulo ve ark. (10), hastalık aktivitesinden bağımsız olarak, ÜK'de %12,9, CH'da %6 oranında mikroalbuminüri artışı bildirdiler. Son zamanlarda yayınlanan bir başka çalışmada da CH'da mikroalbuminürinin aktivasyonu yansıtmadığı gösterilmiştir (11). Bu iki çalışmanın bulguları bizim bulgularımızı desteklemektedir.

Çalışmamızda hastaların böbrek işlevleri tamamen normal bulundu. Sadece ÜK grubunun kreatinin klerensi kontrol grubundan düşüktü, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Mikroalbuminüri glomerüler protein kaçışını yansıtır. Tübüler proteinüriyi ekarte etmek için 24 saatlik idrarda β-2 mikroglobulin bakıldı. Tüm çalışma gruplarımızda β-2 mikroglobulin ölçülebilir düzeyin altındaydı. Literatürde İBH'da tübüler proteinüri %0 ile %75 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (10). Hatta hastalık aktivasyonu ile arttığı iddia edilmiştir (9). Ancak biz İBH'da ve kontrollerde tübüler proteinüri saptayamadık. İBH'da tübüler proteinüri; ekstraintestinal böbrek tutulumuna ve ilaçlara, özellikle 5-amino salisilik asite (5-ASA), bağlı olarak gelişebilir. Bizim İBH grubumuzda 4 hasta dışında tüm hastalar (45/49, %91,8) 5-ASA kullanıyordu. Ancak hiçbirinde tübüler proteinüri yoktu. Bu bulgu 5-ASA kullanımının güvenli olduğunu desteklemektedir.

Zissis ve ark. (12) β-2 mikroglobulin serum düzeyinin CH'da iyi bir aktivasyon belirteci olabileceğini bildirmişlerdir. Ancak, ÜK'de ise aynı ilişkiyi saptayamadılar. Bizim çalışmamızda β-2 mikroglobulin serum düzeyinin tüm İBH grubunda çok düşük olduğu, sağlıklı kontrolden farkının olmadığı ve aktivasyonu yansıtmadığı bulundu.

Mikroalbuminürinin sitokinlere bağlı olarak böbrek mikrovasküler geçirgenliğinin artışı ve protein kaçışının olmasına bağlı geliştiği düşünülmüştür (5). Biz de çalışmamızda Th1 sitokinleri temsilen IFN-γ ve Th2 sitokinleri temsilen IL-4 serum düzeylerini çalıştık. IFN-γ serum düzeyi tüm çalışma grubunda ölçülebilecek düzeyin altındaydı. Bu durum serumları saklama şartlarımızdan ya da yöntemden kaynaklanmış olabilir. Sitokinlerin serum düzeyleri değişkenlik gösterebilmektedir. IL-4 düzeyleri İBH grubunda kontrollere göre belirgin yüksekti, ancak aktivasyon

**Şekil 1.** Çalışma gruplarının sonuçları.

yonla korelasyon göstermiyordu. Ancak standart sapması büyük olduğu için klinik uygulamaya aktivasyon belirteci olarak girmesinin zor olduğunu düşünüyoruz.

Sonuç olarak İBH hastalarının 5-ASA kullanımına karşın böbrek fonksiyonlarının hem glomerüler hem tübüler yönden normal olduğunu saptadık. Mikroalbuminüri, IFN- γ , β -2 mikroglobulin ve IL-4'ün, hem İBH'yı hem de

İBH'nin aktivasyonunu göstermede yetersiz belirteçler olduklarını saptadık. Son zamanlarda, fekal kalprotektinin İBH'nin en iyi belirteci olabileceğine dair görüşler ağırlık kazanmaktadır. Ancak çalışma zorluğu nedeniyle gaita ile ilgili testlerin yaygın kullanıma girmesi zor olmaktadır. İBH'da ideal laboratuvar belirtecini bulmak için ileri çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Konikoff MR, Denson LA. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 524-34.
2. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut* 2006; 55: 426-31.
3. Tibble JA, Bjarnason I. Non-invasive investigation of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 460-5.
4. Pardi DS, Sandborn WJ. Predicting relapse in patients with inflammatory bowel disease: what is the role of biomarkers? *Gut* 2005; 54: 321-2.
5. Mahmud N, Stinson J, O'Connell MA, et al. Microalbuminuria in inflammatory bowel disease. *Gut* 1994; 35: 1599-604.
6. Sanchez-Munoz F, Dominguez-Lopez A, Yamamoto-Furusho JK. Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4280-8.
7. Holtmann MH, Galle PR. Current concept of pathophysiological understanding and natural course of ulcerative colitis. *Langenbecks Arch Surg* 2004; 389: 341-9.
8. Mahmud N, McDonald GSA, Kelleher D, Weir DG. Microalbuminuria correlates with intestinal histopathologic grading in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1996; 38: 99-103.
9. Derici U, Tuncer C, Ayerden Ebinç F, et al. Does the urinary excretion of alpha 1-microglobulin and albumin predict clinical disease activity in ulcerative colitis? *Adv Ther* 2008; 25: 1342-52.
10. Poulou AC, Goumas KE, Dandakis DC, et al. Microproteinuria in patients with inflammatory bowel disease: is it associated with the disease activity or the treatment with 5-aminosalicylic acid? *World J Gastroenterol* 2006; 12: 739-46.
11. Horjus CS, van Oijen MG, Davids AH, et al. Microalbuminuria is not a valuable marker for relapse in Crohn's disease. *Digestion* 2011; 83: 41-5. Epub 2010 Sep 16.
12. Zisis M, Afroudakis A, Galanopoulos G, et al. B2 microglobulin: is it a reliable marker of activity in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2177-83.