

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

HEMODİYALİZ HASTALARINDA PARATİROİD HORMON
DÜZEYİNİN FARKLI METODLARLA DEĞERLENDİRİLMESİ
VE PARATİROİD HORMON İLİŞKİLİ PEPTİD
KONSANTRASYONUNUN ÖLÇÜMÜ

UZMANLIK TEZİ

DR. FATİH ATEŞ

AFYONKARAHİSAR -2008

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

HEMODİYALİZ HASTALARINDA PARATİROİD HORMON
DÜZEYİNİN FARKLI METODLARLA DEĞERLENDİRİLMESİ
VE PARATİROİD HORMON İLİŞKİLİ PEPTİD
KONSANTRASYONUNUN ÖLÇÜMÜ

UZMANLIK TEZİ

DR. FATİH ATEŞ

DOÇ. DR. TÜLAY KÖKEN

TEZ DANIŞMANI

Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 07.TIP.27 proje numarası ile desteklenmiştir.

AFYONKARAHİSAR 2008

İşbu çalışma jürimiz tarafından BİYOKİMYA ANABİLİM DALI'nda
TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

ONAY

DEKAN

Tez konusunun belirlenmesinde, tez çalışmalarımın planlanması, yapılması ve yürütülmesi esnasında ve benim yetişmemde emeği geçen değerli tez hocam ve aynı zamanda [Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Tülay KÖKEN'e teşekkür ederim.

Asistanlığım boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Ahmet KAHRAMAN'a teşekkür ederim.

Tezimin numune toplanma aşamasında ve çalışma esnasında bana çok yardımcı olan arkadaşlarım Arş. Gör. H.Buğra Koca ve Arş. Gör. Ayhan Vurmaz 'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca AKÜ Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına da bana verdikleri destekten dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca, benim bugünlere gelmemde büyük emeği geçen annem ve babama ve tezimle ilgili çalışmalarım sırasında her zaman yanımda olan ve büyük sabır gösteren sevgili eşime teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
II. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Böbrek Yetmezliği	4
2.1.1. Kronik Böbrek Yetmezliği	4
2.1.1.1. KBY'de İnsidans	6
2.1.1.2. Etiyoloji	6
2.1.1.3. KBY'de Tedavi	7
2.1.1.3.1. Hemodiyaliz (HD)	7
2.1.1.3.2. Uygulamada Hemodiyaliz Prensipleri	8
2.2. Sekonder Hiperparatiroidizm	10
2.2.1. Sekonder Hiperparatiroidinin Patogenezi	10
2.2.1.1. Fosfor Retansiyonu	11
2.2.1.2. D Vitamini Metabolizmasındaki Değişiklikler	12
2.2.1.3. D vitamini	12
2.2.1.4. Serum İyonize Ca Düzeyleri ile PTH Arasındaki Feed-back Mekanizmasındaki Değişiklik	14
2.2.1.5. İskelet Sisteminin PTH Etkisine Direnci	14
2.2.1.6. Böbreklerde PTH Yıkımının Azalması	14
2.2.2. Sekonder Hiperparatiroidinin Önlenmesi ve Tedavisi	16
2.2.2.1. Hiperfosfateminin kontrolü	16
2.3. Paratiroid Hormon (PTH)	17

2.3.1. Parathormon Etkileri	19
2.3.1.1. PTH' nun Kemikler Üzerine Etkisi	19
2.3.1.2. PTH'nun Böbrekler Üzerine Etkisi	20
2.3.1.3. PTH'nun Barsaklar Üzerine Etkisi	20
2.3.1.4. PTH'un Diğer Etkileri	20
2.3.2. Paratiroid Hormon Sentezi ve Salgılanmasının Regülasyonu	21
2.4. Serum PTH Ölçüm Yöntemleri	21
2.4.1. İmmünolojik Teknikler	22
2.4.1.1. Radioimmunoassay (RIA)	23
2.4.1.2. Immunradyometrik Assay (IRMA)	23
2.4.1.3. Enzyme-Linked İmmunosorbant Assay (ELISA)	25
2.4.1.4. Immunkemiluminisan Assay (ICMA)	25
2.5. Paratiroid hormon related peptid (PTHrP)	26
III. MATERYAL METOD	28
3.1. Biyokimyasal Analiz	29
3.1.1. Irma Yöntemi İle Parathormon Tayini	29
3.1.2. Elisa Yöntemi İle Parathormon Tayini	30
3.1.3. Elisa Yöntemi İle PTHrP'in Çalışılması	31
3.1.4. Eclia Yöntemi İle Parathormon Tayini	32
3.2. İstatistiksel Analiz	32
IV. BULGULAR	33

4.1. Çalışmaya katılan tüm hastaların PTH, PTHrP, Ca, P değerleri	33
4.2. Farklı PTH Değerlerinin Karşılaştırılması	35
4.3. Farklı PTH Ölçüm Metodları Arasındaki Korelasyon	37
4.4. PTHrP Değerlerinin Karşılaştırılması	40
V. TARTIŞMA	42
VI. ÖZET	50
VII. SUMMARY	51
VIII. KAYNAKLAR	52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABY: Akut Böbrek Yetmezliği

ACE: Angiotensin konverting enzim

AFP: Alfa-fetoprotein

AKÜ: Afyon Kocatepe Üniversitesi

ALP: Alkalen fosfataz

Ab: Antibody (antikor)

Ag: Antigen (antijen)

BMI: Body Mass Index (Vücut kütle indeksi)

BUN: Blood Ure Nitrogen (Kan üre nitrojeni)

cAMP: Siklik Adenozinmonofosfat

CA: Cylase activating (Siklaz aktive edici)

CEA: Carsino embriogenic antigen (Karsino embriyojenik antijen)

C-PTH: Paratiroid hormonun karboksil ucu

CYP- 24: Sitokrom P 24

CYP 450: Sitokrom P450

DM: Diabetes mellitus

DOQI: Dialysis Outcome Quality Index

EEG: Elektroensefalografi

ECLIA: Electrochemiluminescence immunoassay

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EMIT: Enzyme- multiplied immunoassay technique

EIA: Enzyme immunoassay

GC: Gas chromatography (Gaz kromatografisi)

GH: Growth Hormon

GFR: Glomerüler Filtrasyon Rate (Glomeruler Filtrasyon Hızı)

G-6-P-D: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz

hCG: Human koryogonadotropin

HD: Hemodiyaliz

ICMA: İmmunokemiluminometrik Assay

Ig E: İmmünoglobulin E

I-PTH: İntakt PTH

IRMA: Immunradiometrik Assay
I ¹²⁵: İyot 125
k: Dializörün üre klirensi
kD: kilodalton
KBY: Kronik Böbrek Yetmezliği
LC: Liquid Chromatography (Likid kromatografi)
m RNA: Mesenger ribonükleik asid
N-PTH: Paratiroid hormonun amino ucu
PSA: Prostat spesifik antijen
PTH: Paratiroid Hormon
PTHr P: Paratiroid Hormon related peptid
RIA: Radyoimmunassay
Ru (bgy) ₃⁺²: Tris (2, 2'-bipyridyl) ruthenium (III) complex
ROD: Renal osteodistrofi
SA-HRP: Streptavidin- horseradish peroxidase
SD: Standart deviation (standart sapma)
SDBY: Son Dönem Böbrek Yetmezliği
SHPT: Sekonder Hiperparatiroidi
TMB: Tetramethylbenzidine
TPA: Tripropylamin
TSH: Tiroid stimulan hormon
1,25 (OH)₂ D₃: 1,25 dihidroksi vit D₃ (calsitriol)
25 (OH) vit D: 25 hidroksi vitamin D

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil-1: Kalsiferollerin Kimyasal yapısı	13
Şekil-2: Kalsiyum homeostazı ve parathormon	15
Şekil-3: Preparatiroid hormonun yapısı	18
Şekil-4: iPTH ölçümünde kullanılan bölgelerin yapısı	22
Şekil-5: RIA'da Ölçüm Şekilleri	24
Şekil-6: PTHrP prohormon değişik paternleri	26
Şekil-7: Malignensi ile ilişkili hiperkalsemililerdeki parakrin ve humoral yollar	27
Şekil-8: IRMA ile ECLIA ve ELISA metodlarının karşılaştırılması	36
Şekil-9: IRMA ile ECLIA ve ELISA metodları arasındaki yüzde fark	39
Şekil-10: ECLIA- IRMA arasındaki Korelasyon Grafiği	38
Şekil-11: ECLIA -ELISA arasındaki Korelasyon Grafiği	39
Şekil-12: IRMA–ELISA arasındaki Korelasyon Grafiği	39

TABLULAR

Tablo-1: Böbreğin temel fonksiyonları	4
Tablo-2: Kronik böbrek hastalığının DOQI sınıflamasına göre GFR Değerleri	5
Tablo-3: Ülkemizde 1995 ve 2004 yıllarında saptanan yeni KBY olgularının nedenleri	7
Tablo-4: PTH ölçüm metodları ile ölçülebilen veya ölçülemeyen esas PTH'ın dolaşımdaki fragmanları	22
Tablo-5: Tüm Hastaların PTH, PTHrP, Ca, P Değerleri	33
Tablo-6: IRMA ile ECLIA ve ELISA metodlarının karşılaştırılması	35
Tablo-7: Farklı 3 PTH yöntemlerinin p(anlamlılık) değerlerinin Karşılaştırılması	35
Tablo-8: IRMA ile ECLIA ve ELISA metodları arasındaki yüzde fark	36
Tablo-9: Gruplar arasındaki korelasyon katsayıları (r) ve istatistiksel anlamlılıkları (p)	38
Tablo-10: Farklı Yöntemler ile Ca, P arasındaki korelasyona ait katsayılar ve istatistiksel anlamlılık	40
Tablo-11: PTHrP'si yüksek çıkan 6 Hastanın, PTH, Ca, P değerleri	41

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), kronik seyirli böbrek hastalıklarında, ilerleyici nefron kaybı sonucunda böbrek fonksiyonlarının giderek bozulması ile ortaya çıkan, kalıcı glomerül filtrasyon hızının (GFR) azalması ile kendini gösteren bir tablodur. Böbrek fonksiyon kaybı kritik bir düzeyi aşınca altta yatan nedenin giderilmesi, çoğu kez hastalığın ilerlemesini durduramamaktadır (1,2).

Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) gelişen hastalarda renal replasman tedavilerinden birini uygulamak gerekir. Renal replasman tedavileri hemodiyaliz, periton diyalizi ve böbrek transplantasyonudur (1).

Vücutta biriken metabolik atıkların uzaklaştırılmasını sağlayan bir tedavi yöntemi olan hemodiyaliz tedavisi yaklaşık 40 yıllık geçmişi olan bir tedavi yöntemidir. Bu tedavi yöntemi SDBY olan hastalarda yaşam süresini uzatmakta ve yaşam kalitesini arttırmaktadır (1).

Glomerüler filtrasyon hızı (GFR) düşmeye başlayınca renal tübüllerden fosfor atılımı azalır. Kan fosfor düzeyinin artışına serum kalsiyum düzeyinin düşüşü eşlik eder ve bu durum parathormon (PTH) salgılanmasını uyandır.

PTH, böbreklerden fosfor atılımını artırır ve kan fosfor düzeyi normal sınırlarda tutulmaya çalışılır. Bu etki GFR %30'un altına düşünce ortadan kalkar ve serum fosfor seviyesi yükselir. Bu dönemde hipokalsemi, hiperfosfatemi ve PTH'da belirgin artış vardır. PTH'ın aşırı yapımı, vit D'nin sentezinin azalması ve metabolik asidozun varlığı hastalarda kemik sorunlarının ortaya çıkmasına neden olur (3,4).

Paratiroid bezler hem biyolojik olarak aktif olan intakt hormon, hem de orta-bölgesinde yer alan aminoasitleri içeren parça ile karboksil ucu

tarafındaki aminoasidleri içeren (C-PTH) aktif olmayan parçaları salgılar. Biyolojik olarak aktif intakt PTH yarı ömrü 5 dk'dan az olup, karaciğer ve böbrek tarafından hızlıca aktif olmayan parçalara yıkılır. Bu aktif olmayan parçalar tam olarak karakterize edilememiş olmakla birlikte, parçaların 8–84 ve 7–84 aminoasid içerdiği bildirilmiştir (3,4).

Bu inaktif parçalar glomeruler filtrasyon ile temizlenir ve yarı ömürleri 1 dakikadan daha azdır. Yarı ömürleri ve dolaşımdaki konsantrasyonları, renal fonksiyon bozukluğu olan kişilerde önemli miktarda yüksektir. SDBY'li hastalarda dolaşımdaki PTH'nın %90'ı C-terminal PTH fragmanıdır. Bu yüksek konsantrasyondaki fragmanlar aktif olan PTH'nın ölçülmesinde hatalara yol açmaktadır.

SDBY'li hastalarda; sekonder hiperparatiroidizmde (SHPT), intakt PTH düzeyinin paratiroid fonksiyonlarının değerlendirilmesinde önemli bir ölçüm olduğu kabul görmektedir (5,6). Ancak birçok intakt paratiroid hormon (I-PTH) ölçüm kitleri, PTH(1–84)'ın dolaşımdaki formları ile reaksiyona girebilmektedir (7).

Kronik böbrek yetmezliğinde SHPT'a bağlı osteodistrofilerin profilaktik tedavisi aktif vitamin D (Calcitrol) ve kalsiyum ile mümkün olmaktadır. Tedaviye başlamada ve takibinde PTH konsantrasyonu karar verdirici etkenler arasındadır.

SHPT'a bağlı osteodistrofilerin profilaktik tedavisinde kullanılan D vitamininin aşırı miktarda alımı hiperkalsemi, kalsemik arteriyopati ve metastatik kalsifikasyon gibi ciddi yan etkilere sahip olduğundan, yükselen PTH'nın supresyonunun takibinde PTH ölçümü kritik bir öneme sahiptir.

Bu nedenle çalışmamızda ülkemizde yaygın olarak kullanıldığını tesbit ettiğimiz 3 farklı yöntem (1.Yöntem: Immunradiometric Assay (IRMA), 2.Yöntem: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA),

3.Yöntem: Electrochemiluminescence Immun Assay (ECLIA)) ile çalışılan farklı firmalara ait PTH kiti ile hemodiyaliz hastalarının PTH düzeylerini ölçmeyi ve sonuçlarını karşılaştırmayı planladık.

Çalışmada ayrıca hemodiyaliz hastalarının PTH related peptid (PTHrP) düzeylerinin de ölçülmesi planlandı. PTHrP bazı kanserlerin neden olduğu hiperkalseminin mekanizmaları araştırıldığı sırada 1987'de bulunmuştur. PTHrP' in tam olarak dolaşımdaki formları bilinmemesine karşın, 139, 141, 173 aminoasid uzunluğundaki 3 izoformunun, mRNA kesilmesi ile oluştuğu gösterilmiştir. PTHrP'nin (aminoterminal) N-terminal sonu, PTH ile benzer homolojiye sahiptir. Bu benzerlik PTHrP'nin PTH'nin biyolojik etkilerine benzer etkilere sahip olmasını sağlamaktadır (8).

Çalışmamızda ayrıca, PTH'u yüksek hastaların, PTHrP ile bir ilişkisi olup olmadığını anlamak ve PTH ölçüm yöntemlerini interfere edip etmediğini görmek için PTHrP'i ölçtük.

II. GENEL BİLGİLER

2.1. BÖBREK YETMEZLİĞİ

Her iki böbrekteki nefron sayısı yaklaşık olarak 2.000.000'dur ve bir nefron temel olarak glomerül ve tübülü olmak üzere iki kısımdan oluşur. Nefronda, glomerüler filtrasyon, tübüler reabsorpsiyon (geri emilim) ve tübüler sekresyon (salgılama) sonucu idrar oluşur. Böbreğin idrar oluşumu dışında da birçok fonksiyonu vardır (Tablo 1).

Tablo-1: Böbreğin Temel Fonksiyonları

1. VÜCUT SIVI VE ELEKTROLİT DENGESİNİN KORUNMASI: Su, sodyum, potasyum, hidrojen, bikarbonat, kalsiyum, fosfor, magnezyum.
2. METABOLİK ARTIK ÜRÜNLERİN ATILIMI: Üre, ürik asit, kreatinin...
3. İLAÇLAR, TOKSİNLER VE METABOLİTLERİNİN DETOKSİFİKASYONU VE ATILIMI
4. EKSTRASELLÜLER SIVI HACMİ VE KAN BASINCININ HORMONAL DÜZENLENMESİ: Renin-angiotensin sistemi, renal prostaglandinler, renal kallikrein-kinin sistemi
5. HORMON ÜRETİMİ VE METABOLİZMASINA KATKI: Eritropoietin, D vitamini...
6. PEPTİD HORMONLARININ YIKIMI: İnsülin, glukagon, parathormon, kalsitonin, büyüme hormonu...
7. KÜÇÜK MOLEKÜL AĞIRLIKLI PROTEİNLERİN YIKIMI: Hafif zincirler, beta ₂ -mikroglobülin...
8. METABOLİK ETKİ: Glukoneogenez, lipid metabolizması.

Böbrek yetmezliğinde, böbreğin bu temel fonksiyonlarında bozulmalar olur ve değişik adaptif sistemler devreye girer (9). Böbrek yetmezliği akut veya kronik olabilir. Böbrek yetmezliğinin derecesinin belirlenmesinde kullanılan en objektif parametre glomerüler filtrasyon hızının ölçülmesidir (10).

2.1.1. Kronik Böbrek Yetmezliği

Kronik böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon değerinde azalmanın sonucu böbreğin sıvı-solut dengesini ayarlama ve metabolik-endokrin fonksiyonlarında kronik ve ilerleyici bozulma hali olarak tanımlanabilir.

Ayrıca; kardiyovasküler sistem, gastrointestinal sistem, nörolojik, immünolojik, hematolojik ve endokrin sisteme ait çeşitli patolojiler olur (9). Kronik böbrek yetmezliği ilerleyici karakterdedir. Fonksiyon kaybının oranına göre klinik ve laboratuvar bulgularıyla ortaya çıkar ve bu hastaların klinik semptom ve bulguları böbrek yetmezliğinin derecesi ve gelişme hızı ile yakından ilişkilidir (11,12). Kronik böbrek yetmezliğinden etkilenmeyen organ veya sistem yok kabul edilebilir. Glomerüler filtrasyon değeri 30–59 ml/dk'nın altına inmedikçe hastalar semptomsuz olabilir. Hastanın ilk semptomları nokturi ve anemiye bağlı halsizliktir. GFR değeri 15–29 ml/dk olunca hastada üremik semptomlar ortaya çıkmaya başlar. GFR, <15 ml/dk olunca diyaliz, transplantasyon gibi renal replasman tedavilerine ihtiyaç duyarlar (Tablo-2).

Tablo-2: Kronik böbrek hastalığının DOQI (Dialysis Outcome Quality Index) sınıflamasına göre GFR değerleri (13).

Evre	Tanım	GFR (ml/dk/1,73 m ²)
1	Artmış risk	≥ 90
2	Böbrek hasarı (normal veya artmış GFR ile birlikte)	≥ 90
3	Hafif GFR azalması	60–89
4	Orta derecede GFR azalması	30–59
5	Ağır GFR azalması	15–29
6	Son Dönem Böbrek Yetmezliği	< 15 (veya diyaliz)

Kalıcı böbrek harabiyetinin ilerleyici karakterde olmasında hipertansiyon, ağır egzersiz, genetik faktörler, büyüme hormonu, glukagon, glukokortikoidler, atrial natriüretik peptidler, tiroid hormonu, seks hormonları ve beslenme rol oynar (11,12,14). İlerlemeyi yavaşlatmak için sıklıkla diyet tedavisi uygulanır. Fazla protein verilmesi glomeruloskleroza

hızlandırır ve düşük proteinli diyet progresyonu yavaşlatır (15). Diyalize girmeyen son dönem böbrek yetmezliğinde günlük protein alımı 0,3–0,4 g/kg'a kadar indirilebilir (15).

Kronik böbrek yetmezliği sürecindeki hastalarda kan basıncı 130/85 mmHg altında tutularak ilerleme yavaşlatılabilir. Son dönemde Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitörlerinin de glomerül içi basıncı ve proteinüriyi azalttığı gösterilmiştir (16,17).

2.1.1.1. KBY'de İnsidans

Kronik böbrek yetmezliği görülme sıklığı ülkemizde kesin olarak bilinmemektedir. Türk Nefroloji Derneği verilerine göre 1998 yılı içinde kronik böbrek yetmezliği nedeni ile 13288 hasta yatırılarak, 52891 hasta ise poliklinikte takip edilmiştir. Böbrek yetmezliği için ülkemizdeki prevalans (65 milyon nüfusa göre) 350/1.000.000 olarak belirlenmiştir. Kronik renal yetmezlikli hasta popülasyonu, dramatik bir şekilde dünyada artış göstermektedir. Her yıl, diyaliz tedavisine gereksinim duyan hasta sayısı yaklaşık olarak %10 civarında artmaktadır (18).

2.1.1.2. KBY'nin Etiyolojisi

Kronik böbrek yetmezliği etiolojisinde çok çeşitli faktörler rol oynar. Nefroloji Derneğinin verilerine göre ülkemizdeki olguların birçoğunda etiyoloji kesin olarak belirlenememektedir. Belirlenenler arasında en sık görülen neden kronik glomerulonefrit, primer nefroskleroz, diabetes mellitus (DM), amiloidoz, ürolojik ve kalıtsal nedenlerdir (19). SDBY'nin baş sebebi önceleri kronik glomerulonefrit ve sebebi belli olmayanlar iken (% 21–22), son zamanlarda ise diabetes mellitus (DM) olup yeni teşhis edilmiş olan SDBY vakalarının % 25'ini oluşturmaktadır. İkinci en sık sebep ise SDBY vakalarının % 17,2'sini oluşturan hipertansiyondur. SDBY'ye sebep olan diğer nedenler ise kronik interstisiel nefrit, polikistik böbrek hastalığı ve obstrüktif üropatidir (Tablo-3) (20).

Tablo-3: Ülkemizde 1995 yılı ve 2004 yılı saptanan yeni kronik böbrek yetmezliği olgularının nedenleri

ETİYOLOJİ	1995 (%)	2004 (%)
Kronik glomerülonefrit	21	13.4
Diyabetik nefropati	16	25.3
Hipertansiyon, nefroskleroz	16	17.2
Kronik interstisiyel nefrit	7	4
Kistik böbrek hastalıkları	5	3.9
Diğerleri (nedeni belli)	6	6.8
Belirsiz	22	23.6

2.1.1.3. KBY'de Tedavi

Diyalizin geniş kullanılabilirliği ile birlikte, yüzbinlerce SDBY olan hastaların hayatı uzatılmıştır. SDBY hastalığının genelde görülme sıklığı 242/1.000.000/yıl'dır. SDBY hastalarının nüfusu her sene %8 oranında artmaktadır. Böbreklerin ağır yetersizlik durumlarında onun görevini yerine getirecek tedavi türleri diyaliz (yapay böbrek) ve böbrek nakli (renal transplantasyon) olarak iki bölümde inceler. Devrim niteliğindeki bu iki tedavi tarzına renal replasman tedavisi de denilmektedir (20). Bugün yeryüzünde 1 milyona yakın böbrek hastası renal replasman tedavisinden yararlanarak hayatını sürdürmektedirler. Yaklaşık olarak Amerika'da 400 000, Japonya'da 200 000, Avrupa'da 300 000, Türkiye'de 30 000'e yakın kişi renal replasman tedavisinden yararlanmaktadır. Yıllık yeni hasta oranları ise Amerika'da 336/1.000.000, Japonya'da 225/1.000.000, Avrupa'da 120/1.000.000, Türkiye'de 52/1.000.000'dur (21).

2.1.1.3.1. Hemodiyaliz (HD)

HD, diyalizle birlikte toksinlerin ve atık ürünlerin uzaklaştırılmasını içerir. Solütler büyük ölçüde kimyasal bir gradyan boyunca difüzyonla uzaklaştırılır ve ultrafiltrasyon, hidrostatik basınç gradyanına bağlı olarak gerçekleşir. 1946 yılında Willem Koff tarafından ilk hemodiyaliz

uygulaması başlangıçta akut böbrek yetmezliği (ABY) tedavisinde, 1960'lerden itibaren de giderek KBY bulunan hastalarda uygulanmaya başlandı (22).

Diyaliz, bir A solüsyonunun solüt (çözünmüş madde) içeriğini, bu solüsyonu yarı geçirgen bir membran vasıtasıyla bir B solüsyonu ile karşılaştırarak değiştiren bir işlemdir. Yarı geçirgen membran, porları ya da delikleri olan bir kâğıda benzetilebilir. Her iki solüsyonda bulunan su molekülleri ile düşük molekül ağırlıklı solütler, yarı geçirgen membranın porlarından geçerek birbirine karışırken, büyük solütler (proteinler gibi) membrandan geçemedikleri için, membranın her iki yanında başlangıçtaki konsantrasyonlarında kalırlar. Membranın porlarından geçebilen solütler, iki farklı mekanizma ile taşınırlar: difüzyon ve ultrafiltrasyon (konveksiyon) (23).

HD'in hedefleri, üremik semptomların tedavisi, asideminin düzeltilmesi, hiperkalemi ve yaşamı tehdit eden elektrolit bozukluklarının engellenmesi, solüt dengesinin yerine konması ve hacim durumunun korunmasıdır. Kronik HD ile tedavi edilen SDBY hastaları için uzun vadeli hedefler, yaşam kalitesini korumak, nutrisyonel stabliteyi idame ettirmek, mortalite ve morbiditeyi azaltmaktadır (11,12).

2.1.1.3.2. Uygulamada Hemodiyaliz Prensipleri

Hemodiyaliz bir ekstrakorporal (vücut dışında gerçekleştirilen) tedavi şeklidir. Standart hemodiyaliz hastası haftada 3 kez, dörder saat süre ile diyalize tabi tutulur. Bu işlemde vücut dışına alınan kan özel şekilde dizayn edilmiş filtrelerden (diyalizör) geçirilerek temizlenir. Diyalizörlerde kan ve dengeli bir elektrolit solüsyonu olan diyalizat ayrı ayrı kompartmanlarda birbirine ters yönde akar; bu aşamada diyalizörün temel yapısını oluşturan yarı geçirgen zarlar vasıtası ile difüzyon olayı gerçekleşir. Böylece filtrenin bir ucundan giren kirli kan temizlenirken, diğer ucundan temiz giren diyalizat kirlenir; toksik maddeler pasif şekilde vücuttan uzaklaştırılır.

Diyalizör membranları diyaliz işleminin odak noktasını oluşturur. Selülozik, substütiye selüloz, selüsentetik ve sentetik membranlar olarak dörde ayrılır. Temel madde olan selüloz pamuktan elde edilir (23,24).

Bir kronik diyaliz hastasının kanı bir yıl içinde ortalama 400m² membran materyali ile karşı karşıya gelir; o nedenle membranların vücutta reaksiyon oluşturmayacak (biyouyumlu) şekilde seçilmeleri büyük önem taşır. Sentetik membranların hem biyouyumluluğu fazladır, hem de vücuttan su çekmede (ultrafiltrasyon) ve diyaliz etkinliğini sağlamada üstünlükleri vardır. Diyalizin etkin olabilmesi için dakikada 200–400 ml kanın özel filtrelerden geçirilmesi lazımdır. Söz konusu kan akımı iki yöntemle elde edilir: 1) Büyük venalara özel kataterler takılır 2) Üst ekstremitelerde bir arter ile venanın ağzlaştırılması ile fistüller oluşturulur; bu şekilde fazla miktarda kan vücut dışına alınır. Kanın diyalizörden geçirilmesi aşamasında küçük lifler içinde pıhtılaşmayı önleyebilmek amacıyla hastaya antikuagülasyon yapılır; bu amaçla konvansiyonel veya düşük molekül ağırlıklı heparin kullanılabilir. Araştırmalara göre diyaliz sırasında ürenin temizlenmesi 3 ana parametreye bağlı olarak değişir. Bunlar: 1) Diyalizörün üre klirensi (K), 2) Diyaliz tedavisinin dakika cinsinden süresi (t) ve 3) Ürenin vücutta dağılım volümü (V)dir. Bu parametrelerin K.t/V şeklinde formüle edilmesi ile uygulanan diyaliz miktarı hesap edilir. Haftada 3 kez hemodiyalize giren bir hastada K.t/V değerinin en azından 1,2 olması morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde azaltabilir. Tüm gelişmelere rağmen, diyaliz uygulamalarında böbreğin ekskresyon fonksiyonları ancak kısmen yerine getirilir (23,24).

Hemodiyalize giren KBY'li hastalarda, diyaliz toplam vücut P'unun çoğunun hücre içinde olması nedeniyle P kontrolü için genellikle yeterli değildir. Bu hastalarda glomerüler filtrasyonun azalmasına bağlı fosfor atılımında azalma, fosfor birikimine bağlı hiperfosfatemi olur. Buna bağlı serum Ca'unda azalma ve paratiroid bezleri devamlı uyarılarak, serum PTH düzeylerini artarak SHPT meydana gelir (25).

2.2. SEKONDER HİPERPARATİROİDİZM

PTH'nun bir veya birden fazla paratiroid bezinden aşırı salgılanması sonucu ortaya çıkan tabloya hiperparatiroidi denir. Hastalık, paratiroid bezlerinde primer hiperplazi, adenom veya karsinoma bağlı olduğu zaman primer hiperparatiroidi adını alır (25).

Serum iyonize Ca' unu azaltarak paratiroid bezlerini sürekli uyaran ve böylece serum PTH düzeylerini arttıran hallerde SHPT sözkonusudur (26). SHPT terimi, paratiroid glandlarının dış faktörler nedeniyle uyarılarak, PTH üretimini arttırmalarını ve sonuçta hiperplastik veya adenomatöz (nodüler) değişikliğe uğramasını ifade eder. Sonuçta dört gland hiperplazisi olabildiği gibi iki ya da üç glandda ortaya çıkan adenomatöz hiperplazi söz konusu olabilmektedir (6,27).

Hipoparatiroidiye bağlı olmayan hipokalsemilerin hemen hepsinde serum PTH düzeylerinin arttığı bilinmesine rağmen, pratikte en sık karşılaşılan durum, KBY'de görülen sekonder hiperparatiroididir (27). SHPT gelişmesinde; hipokalsemi, hiperfosfatemide, düşük $1,25(OH)_2$ kolekalsiferol konsantrasyonu, PTH sekresyonunun artması, PTH metabolizmasındaki bozukluk, PTH'a karşı iskelet direncinin artması gibi değişik faktörler rol oynar (28). Yapılan bazı çalışmalarda böbrek fonksiyonları çok az bozulmuş hastalarda bile erken dönemde paratiroid bezlerde esas hücre hiperplazisi ile birlikte PTH düzeylerinde artışlar saptanmıştır (26).

2.2.1. Sekonder Hiperparatiroidinin Patogenezi

SHPT gelişiminde öne sürülen mekanizmalar:

- 1) Fosfor retansiyonu sonucu ortaya çıkan hiperfosfatemide,
- 2) D vitamini metabolizmasındaki bozukluğa bağlı olarak barsaklardan yeterince Ca emilememesi,
- 3) Serum Ca düzeyleri ile PTH arasındaki feed-back

mekanizmasının değişmesi,

4) PTH'nun kalsemik etkisine iskelet sisteminin direnci,

5) Böbrek fonksiyonunun bozulmasına bağlı olarak PTH yıkımının azalması olarak sıralanabilir (29).

2.2.1.1. Fosfor Retansiyonu

Bricker, ilk olarak 1972 yılında üremik hastalarda " Trade-off " hipotezini ortaya koyarak SHPT gelişmesinde hiperfosfateminin önemine dikkatleri çekmiştir. KBY'de işlev gören nefronların kaybıyla filtre olan P yükü azalır ve P birikimi olur. Serum P konsantrasyonunda ortaya çıkan artış ve buna eşlik eden serum Ca konsantrasyonunda azalma, PTH salınımını uyarır. Paratiroid aktivitesindeki artış, serum PTH düzeylerini aşırı yükseltmek pahasına, böbrekte fosfatürik etkiyle hiperfosfatemi düzeltmeye çalışır (30,31).

Slatopolsky ve ark. (32) glomerüler filtrasyonu azalmış köpeklere yüksek (fosfor) P içeren diyetlerin verilmesi ile serum PTH düzeylerinin arttığını, P kısıtlı diyetlerle beslenen köpeklerde ise hormon düzeylerinin düştüğünü gözlemlemişlerdir. Ancak böbrek yetersizliğinin çok ilerlediği durumlarda sadece P kısıtlaması ile SHPT önlenememektedir. Bu bulgu, SHPT gelişmesinde P retansiyonu dışında başka etkenlerin de rol oynadığını göstermektedir.

P retansiyonunun, PTH sekresyonu üzerine etkisi halen tartışmalıdır. Serum Ca düzeyini azaltarak dolaylı veya PTH üzerine doğrudan etkileri ile ilgili araştırmalar mevcuttur. Tek başına P düzeylerinin, serum Ca' undan bağımsız olarak PTH salınımını değiştirdiği gösterilmiştir. İleri KBY'de hiperfosfatemi; hipokalsemi gelişiminde, metastatik kalsifikasyonda, periferik vasküler yetersizlikte, kaşıntıda ve SHPT'nin kötüleşmesinde anahtar rol oynamaktadır (26).

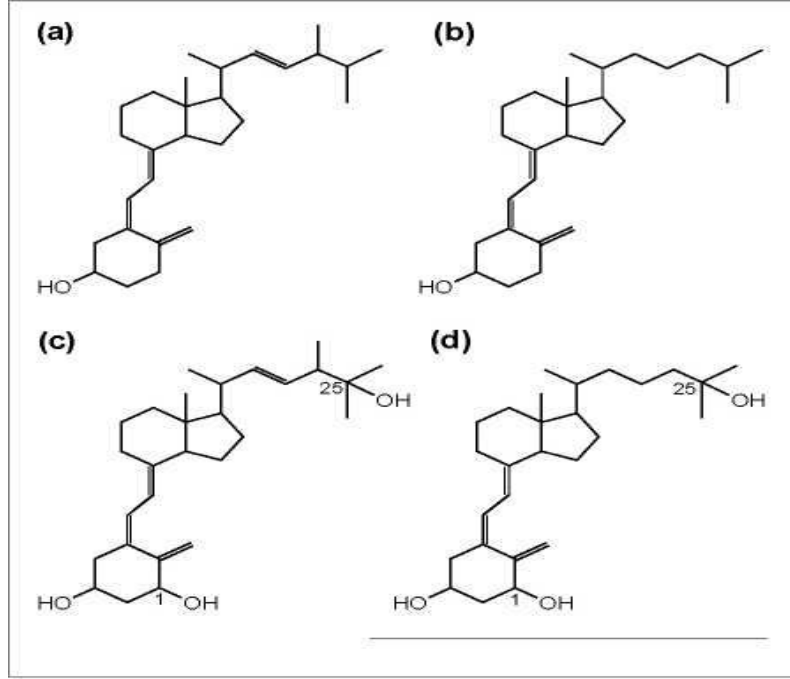
KBY'nin ileri dönemlerinde; hipokalsemi, hiperfosfatemi ve PTH'da belirgin artış vardır. PTH'ın aşırı yapımı, D vitaminin sentezinin azalması ve metabolik asidozun varlığı hastalarda kemik sorunlarının ortaya çıkmasına neden olur (3,4). Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda, D vit metabolizmasının ve PTH sekresyonunun değişiklikleri ile ilişkili olarak Ca ve fosfor homeostasisinde, D vit ve PTH'ın major rolleri vardır.

2.2.1.2. D Vitamini Metabolizmasındaki Değişiklikler

2.2.1.3. D vitamini

D vitamini prekürsör formda ya sindirim yoluyla alınır ya da deri altı yağ dokusunda ultraviyole etkisi ile 7-dehidrokolesterolden sentezlenir. Yağda eriyen vitamindir. Kalsiyum konsantrasyonları üzerinde etkili molekül olabilmesi için iki hidroksilasyon basamağından geçer. Birinci hidroksilasyon basamağı 25.karbon üzerinde karaciğerde, ikinci hidroksilasyon ise artmış PTH yanıtı olarak 1. karbon üzerinde böbreklerde olur (her iki hidroksilasyon sitokrom (CYP) P 450 içerir). Ortaya çıkan 1,25(OH)₂ vitamin D (vit D₃), kalsiyum ve fosforun gastrointestinal kanaldan emilimini ve kemik resorpsiyonunu uyararak kalsiyum konsantrasyonlarını artırır. Vit D₂ de benzer bir mekanizma ile sterol ön maddesinden bitkilerden elde edilir (Şekil 1) (33). Vit D terimi, kolekalsiferol ve ergokalsiferolün metabolitlerinin her ikisi için ortak olarak kullanılır (Şekil 1).

D vitamini barsaklarda Ca bağlayan bir proteinin (kalbindin) sentezini sağlayarak, geçirgenliğini artırır ve bu iyonun hücre içi organellerde toplanmasını sağlar. Ayrıca D vitamininin barsaklardan P transportunu da arttırdığı bilinmektedir (34). Kemiklerde kesin olmamakla birlikte Ca resorpsiyonuna yol açtığı ve kollajen yapımını inhibe ettiği düşünülmektedir (35).



Şekil-1: Kalsiferollerin kimyasal yapısı (a)Ergokalsiferol (b) Kolekalsiferol (c) 1,25-dihidroksiergokolekalsiferol (d) 1,25-dihidroksikolekalsiferol (33).

D vitamini, paratiroid bezlerine direkt olarak etki ederek PTH salınımında da rol oynar. Slatopolsky ve ark. (31) yaptıkları çalışmalarda intravenöz $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ uygulamasının serum PTH düzeylerini azalttığını saptamışlardır. Fizyolojik ölçülerde $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ' ün PTH sentezi üzerine invivo genomik transkripsiyonel düzeyde doğrudan inhibitör etkisinin gösterilmesiyle kanıtlar daha da ilerletilmiştir. Bu bulgular, KBY'de SHPT'ye neden olan esas anomalinin, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ düzeyindeki düşmeye bağlı intestinal Ca emiliminde azalma olabileceğini göstermişlerdir (34,36).

Böbrek yetmezliğinin erken evrelerinde serum $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ seviyeleri normaldir. KBY'de, GFR'ın 50 ml/dk altına düşünce $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ yapılamaz ve Ca, P barsaktan emilemez. PTH'nun iskelet üzerindeki kalsemik etkisi azalır, kollajen sentezi değişir, myopatiler oluşur ve PTH sekresyonunun feed-back mekanizması bozulur (37).

2.2.1.4. Serum İyonize Ca Düzeyleri ile PTH Arasındaki Feed-back Mekanizmasındaki Değişiklik

Serum PTH düzeylerini ayarlayan en önemli faktör, iyonize Ca düzeyidir. Hipokalsemi halinde PTH salınımı artmakta, hiperkalsemide ise azalmaktadır (Şekil-2) (35).

Yapılan çalışmalar, üremik hastalardan elde edilen paratiroid hücrelerinden PTH salınımını süprese etmek için, daha yüksek konsantrasyonda Ca'un gerekli olduğunu göstermiştir. KBY hastalarında paratiroid bezde Ca'un, PTH sekresyonu üzerine olan süpresif etkisine duyarlılığı değişmektedir. Bu gözlem Ca ilişkili PTH salınımı için "set-point" in (ayar-noktası) paratiroid bezindeki artışa paralel olarak kayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca Ca duyarlı reseptörlerdeki bozuklukların da feed-back mekanizmasını bozarak SHPT'ye neden olabileceği düşünülmüştür (33,35).

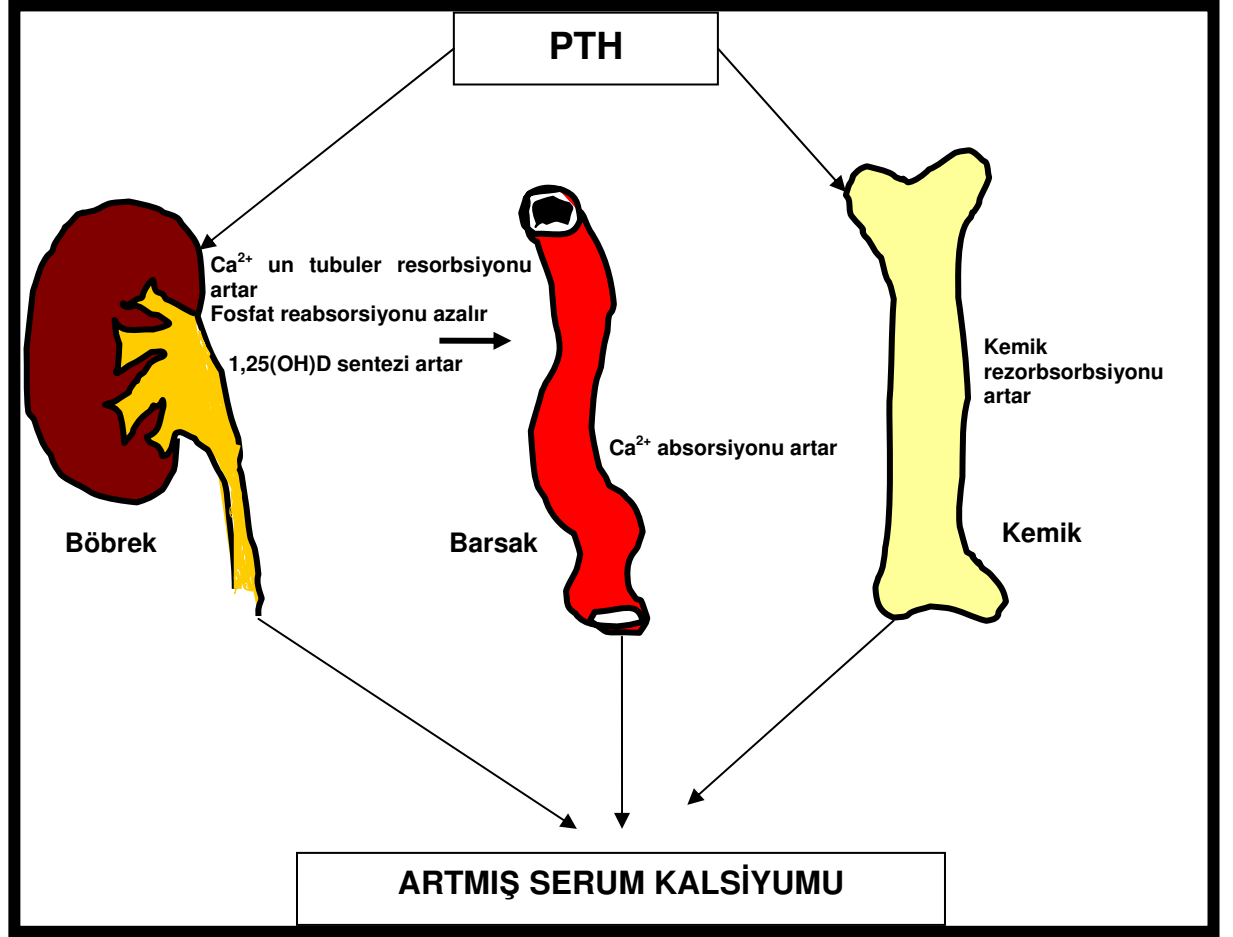
2.2.1.5. İskelet Sisteminin PTH Etkisine Direnci

Böbrek yetersizliğinin erken dönemlerinden itibaren hipokalseminin düzeltilebilmesi için daha yüksek oranda PTH düzeyleri gerektiği bulunmuştur (35). Kemiklerin PTH etkisine olan bu direnci, D vitamini metabolizması bozukluğu, hiperfosfatemi ve üremik toksinler nedeniyle olur. Düzenli hemodiyaliz tedavisi ile kemiklerin PTH'a karşı duyarlılığının artması, PTH direncinde üremik toksinlerin rolünü vurgulamaktadır (36).

2.2.1.6. Böbreklerde PTH Yıkımının Azalması

KBY'de PTH'nun karboksi-terminal uçlarının plazma düzeyleri daha fazla artmakla beraber, diğer parçalar ve intakt PTH molekülünde de artışlar saptanmaktadır. Böylece üremide SHPT patogeneğinde PTH

sekresyonunun artışı yanında metabolik klirensinin azalması da önemli rol oynamaktadır (2).



Şekil-2: Kalsiyum homeostazı ve parathormon (38).

Renal osteodistrofi (ROD) son dönem renal yetmezlikli hastalarda en önemli morbidite nedenlerinden biridir. Hipokalsemi ve hiperfosfatemide birlikte sekonder hiperparatiroidizm, 1-alfa-hidroksilasyonda azalma ve D vitaminine hedef doku yanıtı azlığı, renal osteodistrofinin belirleyici özellikleridir (39).

Hemodiyaliz tedavisi son dönem renal yetmezlikli hastalarda yaşam süresini uzatarak ROD' nin görülme sıklığını arttırmaktadır (40,41). Tedaviye başlamada ve takibinde PTH konsantrasyonu karar verdirici etkenler arasındadır (42).

2.2.2. Sekonder Hiperparatiroidinin Önlenmesi ve Tedavisi

KBY'de SHPT tedavisinde,

- 1) Serum Ca ve P değerlerini fizyolojik sınırlarda tutarak paratiroid bezlerin hiperplazisini önlemek,
- 2) PTH salgılanmasını baskılayarak gerek iskelet sistemi gerekse diğer organ ve sistemler üzerinde bu üremik toksinin etkisini azaltmak hedeflenir. Bu amaca yönelik tedavi uygulamaları şunlardır:

2.2.2.1. Hiperfosfateminin Kontrolü

Hiperfosfateminin başarılı olarak kontrol altına alınabilmesi için, düşük fosforlu diyet, uygun diyaliz ve uygun P bağlayıcı tedavi gerekmektedir. P kısıtlaması GFH 60-70 ml/dk'nın altına indiği zaman başlatılmalıdır. Ancak diyetle P kısıtlaması ile uygun protein alımı arasındaki dengeyi korumak önemlidir (43,44). Çünkü düşük serum albumin düzeyi morbidite ve mortaliteyle ilişkili bulunmuştur.

Diyaliz toplam vücut P'unun çoğunun hücre içinde olması nedeniyle P kontrolü için genellikle yeterli değildir. Bu nedenle hemen hemen tüm diyaliz hastaları diyetle P'un emilimini azaltmak ve hiperfosfatemiye engellemek için P bağlayıcılar kullanmak zorundadırlar. Son derece etkin olmasına rağmen alüminyum içeren P bağlayıcılar toksik etkileri sonucunda kemik hastalığına, demansa, miyopatiye ve anemiye neden olmaktadır (45,46). Bu Ca tuzlarının kullanımını öne çıkarmıştır. Bunlar arasında en etkin olan ve en yaygın kullanılanlar, kalsiyum karbonat (CaCO_3) ve kalsiyum asetat ($\text{Ca}(\text{CHCOO})_2$). Ancak Ca içeren P bağlayıcılar vücutta Ca yükü oluşturarak yumuşak dokularda ve organlarda kalsifikasyon riskini arttırabilirler (47).

Sevelamer ve Lanthanum gibi metal içermeyen bağlayıcılar da geliştirilmiştir. Sevelamer katyonik bir polimer olup P'ı iyon değişimi

sırasında bağlamaktadır. Birçok çalışma bu ilacın plazma Ca'unu etkilemeden etkili bir P bağlayıcı olduğunu göstermiştir. Total kolesterol konsantrasyonunu azaltma avantajı da vardır (48,49).

2.3. PARATİROİD HORMON (PTH)

İlk kez Collip tarafından paratiroid bezlerin aktif ekstresi şeklinde hazırlanan PTH bundan 35 yıl sonra, 1939'da purifiye edildi.

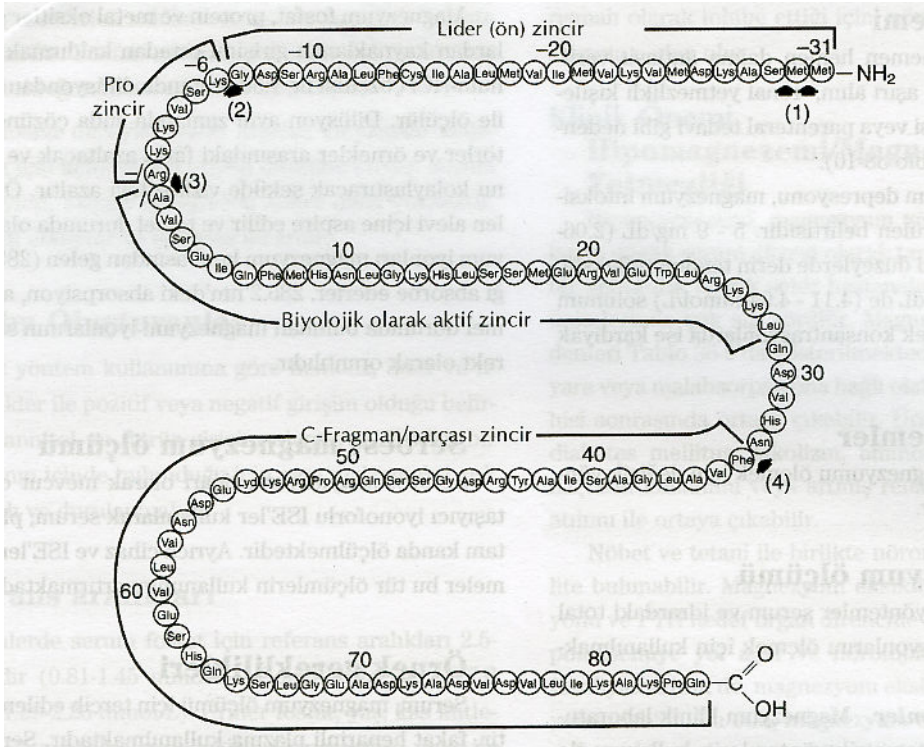
Paratiroid bezler endodermal orijinlidir. Gebeliğin 5.-14. haftalarında brankiyal poşların 3. ve 4. çiftlerinden (üst paratiroidler 4. alt paratiroidler 3. poşdan) gelişir ve boynun ventral kısmına göç ederek tiroide çok yakın bir komşulukla yerleşirler. Alt paratiroid çiftinin embriyolojik gelişimi timusla birliktedir ve timusla beraber kaudal migrasyona uğrarlar. Bu migrasyon sırasında değişik yerleşimleri, alt paratiroidlerin farinksden göğüs boşluğuna kadar değişik lokalizasyonda olmalarına neden olur; timus dokusu ile birlikte ön mediastende bulunabilir. Bu bezlerin oluşumu, özellikle bu hücrelerde oluşan transkripsiyon faktör için anahtar düzenleyici gen şifresi kontrolü altındadır (50,51).

Yetişkin insanda paratiroidlerin histolojik yapısı 3 tip epitelyal hücreden oluşur: Esas hücreler (chief-cell), oksifil hücreler, Waterclear hücreler. Transizyonel formlar da görülür. Esas hücreler bütün hayat boyunca vardır ve paratiroidlerin başlıca sekretuar hücreleridir (52,53).

PTH yaklaşık 9500 kilodalton (kD) mol ağırlıklı, 84 aminoasitten oluşan düz zincirli bir polipeptid hormondur. Esas hücrelerde PTH sentezinde ilk kademe ribozomlarda 115 aminoasitli polipeptid (preproPTH) sentezidir (52). PTH şef hücreler tarafından prepro-PTH (115 aminoasitli bir protein) olarak endoplasmik retikuluma gönderilir. 25. aminoasidin, molekülün amino terminalinden ayrılması ile pro-PTH ortaya çıkar. Molekülün amino terminalinden 6 amino asidin ayrılmasıyla son ürün olan PTH hücre tarafından salgılanır (Şekil-4) (34,36).

PTH kalsiyum homeostazının hızlı kontrolünde merkezi rol üstlenmiştir (Şekil-2). Barsaklar, böbrek ve kemik üzerindeki koordine etkisi ile kalsiyumun ekstrasellüler sıvıya akışını hızlandırarak kan kalsiyum düzeyini yükseltir. PTH, aminoterminal (1-28) ve karboksi terminal kısımlarına ayrılmadan önce dolaşımda 2-3 dakika gibi kısa bir yarı ömrü vardır (35). Dolaşımda 2-3 dakika gibi kısa bir yarılanma ömrü olup, amino terminali (1-28 amino asitler) ve karboksi terminali (37-84 aminoasid) olarak parçalanır. Bu nedenle hücre dışı sıvıda kalsiyum konsantrasyonunun düşmesi durumunda birkaç saat içinde PTH biyosentezi artar (27).

Sadece 1-28 kısmı biyolojik aktivite gösterir. PTH hedef hücre membranı üzerindeki spesifik reseptörlere bağlanır: bu reseptörler renal ve kemik hücreler, fibroblastlar, kondrositler, vasküler düz kaslarda, adipositler ve plental trofoblastlarda bulunur (34,54,55).



Şekil-3: Preparatiroid hormonun yapısı (54).

Amino terminalindeki (N-terminal) 1-28 aminoasit, molekülün tüm biyolojik ve immunolojik aktivitesini taşır (34).

Neticede dolaşımında PTH(1-84) dışında çeşitli immunoreaktif peptidler de bulunur ve bunlar PTH(1-84)'e karşı antikor kullanılan radioimmunoassay'lerde çapraz reaksiyon verirler. PTH(1-84)'ün plazma yarı ömrü 20–30 dakikadır. Keza, N-terminal fragmanının yarı ömrü de kısadır, hâlbuki C-terminal fragmanının yarı ömrü çok daha uzundur (saatlerce), hatta böbrek fonksiyon bozukluğunda, klirensi azaldığından, günlerce plazmada kalır. Hiperkalsemiye paratiroid bezinden salgılanan C-terminal fragmanlarının oranı artar. PTH salgılanmasında bir miktar günlük değişim vardır: En yüksek PTH düzeyleri gecedir. Bu, muhtemelen serum kalsiyum konsantrasyonlarına bağlıdır (52,54, 56).

2.3.1. Parathormonun etkileri

PTH, kemikler ve böbrekler üzerine direkt, barsaklar üzerine indirekt etki ederek, serum iyonize Ca düzeyini fizyolojik sınırlar içerisinde tutar. PTH'un 3 hedef organı kemik (osteoblastlar), böbrek ve barsaktır. Her biri üzerine etkisi hücre dışı sıvıda kalsiyum konsantrasyonunu arttırıcı yöndedir, böylece organizmayı hipokalsemiden korur. Plazma kalsiyum konsantrasyonunun regülasyonu 2 mekanizma ile olur.

1. PTH'un yokluğunda, kemiğin değişebilen kalsiyum havuzu ile plazma arasındaki serbest iyon değişimi hormonal etki altında değildir. Bu değişim sonucunda kan kalsiyumu 7 mg/dl civarında tutulur ve nadiren 7 mg/dl'nin altına iner. İskelet kalsiyumunun yaklaşık %1'i hücre dışı sıvı ile serbest değişimlidir.
2. PTH'un kemik üzerindeki resorbtif etkisi ile kalsiyum mobilizasyonu sonucu serum kalsiyumu 10 mg/dl civarında tutulur (52,57).

2.3.1.1. PTH' nun Kemikler Üzerine Etkisi

PTH, kemikte 2 ayrı hücre sistemi üzerine etkilidir. PTH hem osteoklast sayısını ve rezorpsiyonunu arttırarak hem de osteoblast

aktivasyonu yoluyla kemik yapımını uyararak kemik döngüsünü artırır (35, 36).

2.3.1.2. PTH'nun Böbrekler Üzerine Etkisi

PTH'nun böbreklerde, iyon transportu (Ca, P, Mg, Na, K, HCO₃), 1.25(OH)₂D₃ sentezi ve metabolizması için 1- α -hidroksilaz aktivasyonu gibi böbrek epitelyal işlevleri üzerine çok sayıda etkisi vardır. PTH'nun öncelikli renal etkisi, proksimal tübülüslerden P geri emilimini baskılayarak fosfatüriye neden olmasıdır. Filtre edilen Ca'un yarısından fazlası proksimal tübülüsten emilmesine ve proksimal tübülüs hücrelerinin PTH reseptörü eksprese etmelerine karşın, PTH'nın Ca reabsorbsiyonunu uyarması, distal tübülüslerde olur. PTH'nun net etkisi Ca' un tübüler geri emilimini arttırarak, Ca atılımını azaltmaktır (35).

2.3.1.3. PTH'nun Barsaklar Üzerine Etkisi

PTH'nun, 25(OH)D₃'ün barsaktan Ca emilimini doğrudan etkileyen 1.25(OH)₂D₃'e dönüşümünü arttırması, bu hormonun barsak üzerine etkilerini açıklamaktadır. PTH, bu yolla barsak mukozasından Ca transportunu da aktive eder. D vitamini eksikliğinde PTH'nun barsak ve kemik üzerindeki etkisi kısıtlanır. Buna karşın renal tübüler etki D vitamininden bağımsız görünmektedir (35).

PTH'nun böbrekler üzerine etkisi dakikalar içinde, kemiklere etkisi saatler içinde, oysa intestinal etkisi günler, haftalar içinde görülür (34).

2.3.1.4 PTH'un Diğer Etkileri

PTH fazlalığı veya eksikliği durumlarında santral sinir sisteminin, periferel sinirlerin, kasların ve diğer endokrin bezlerin fonksiyonunda, serum kalsiyum konsantrasyonundaki değişikliklere bağılı olarak değişiklikler görülür (51, 55).

2.3.2 Paratiroid Hormon Sentezi ve Salgılanmasının Regülasyonu

PTH salgılanmasını kontrol eden bir tropik hormon yoktur. Tüm hormonların salınımını kontrol eden bir tropik hormon söz konusu iken paratiroidin salgılanmasını sağlayan serum kalsiyum seviyesidir. Serum kalsiyumundaki 0,1 mg/dl azalması dahi paratiroid hormonun iki kat salgılanmasına neden olur. Hipokalsemiye paratiroid bezi dakikalar içinde cevap verir. Fosfatın paratiroidler üzerine doğrudan bir etkisi gösterilmemiştir, ancak hiperfosfatemi kalsiyumu düşürerek PTH salgılanmasını artırır. Potasyumun yüksek konsantrasyonu PTH salgılanmasını stimüle eder. Paratiroid hormonun kemik üzerine etkisi iki fazlıdır. 2 saat içinde olan hızlı faz osteositlerin aktive olması ile osteositik osteolizdir (55,57).

2.4. SERUM PTH ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

PTH ölçüm metodları; 1. kuşak ölçümler esas olarak kompetitif ölçümleri, 2. ve 3. kuşak ölçümler ise esas olarak non- kompetitif ölçümleri içerir (25). İlk bulunan yol radioimmünassay'dir. Bu yolla PTH ölçümü ilk kez 1963'te Berson tarafından tanımlanmış olmakla beraber, ancak son yıllarda yaygın klinik uygulama bulmuştur (52).

Son zamanlarda sentetik insan PTH veya fragmanlarının kullanılması ölçümleri daha güvenilir yapmıştır. Bugün PTH molekülünün N-terminal, C-terminal veya mid-fragman aminoasitlerine karşı spesifik antikorların kullanıldığı ölçümler vardır (Şekil 4).

Tablo-4'de 1, 2, 3. kuşak ölçüm yöntemleri karşılaştırılmıştır.

Tablo-4: PTH ölçüm metodları ile ölçülebilen veya ölçülemeyen esas PTH'ın dolaşımdaki fragmanları (2).

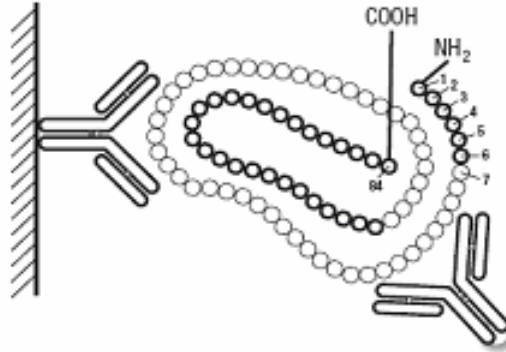
	1.kuşak ölçümler	2.kuşak ölçümler	3.kuşak ölçümler
Genel tanımlamalar	C-PTH, mid-PTH	'intak' PTH 'sandwich'	'Whole' PTH, Ca-PTH, 'Biointak'PTH.
(1-84)	Evet (RIA).	Evet ('sandwich').	Evet ('sandwich').
Non (1-84)	Evet ölçülebilir.	Evet ölçülebilir.	Hayır ölçülemez.
C-terminal	Evet ölçülebilir.	Hayır ölçülemez.	Hayır ölçülemez.
Amino PTH	Evet ölçülebilir.	Anti terminal ab bağlı, 13-24 ise hayır, ölçülemez 26-32 ise evet ölçülebilir.	Evet ölçülebilir.

'Whole' PTH: sadece PTH (1-84)

'Ca-PTH': Siklaz aktive edici PTH , sadece PTH (1-84)

'Biyointak' PTH: biyosentetik PTH (1-84) (kemiluminisan yöntemde kullanılan PTH burada da sadece (1-84) PTH ölçülür.

Tipik intak PTH Ölçümü



Şekil-4: iPTH ölçümünde kullanılan, bölgelerin yapısı ve N-terminal ve karboksi ucu antikörlerin, antijenik bölgeleri (56).

2.4.1. İmmünolojik Teknikler

Serum PTH düzeyleri, immünoassay yöntemler ile ölçülmektedir. İmmünolojik teknikler, antijen-antikor etkileşmesine dayanan analiz yöntemleridir. Bu yöntemlerde bilinen bir antijen olduğunda örnek materyal içerisinde özgül antikor veya bilinen bir antikor olduğunda örnek

materyal içerisinde özgül antijen saptanabilir. Ayrıca örnek materyal içerisindeki özgül antijen veya antikor miktarları niceliksel testlerle saptanabilir (58,59).

2.4.1.1. Radioimmunoassay (RIA)

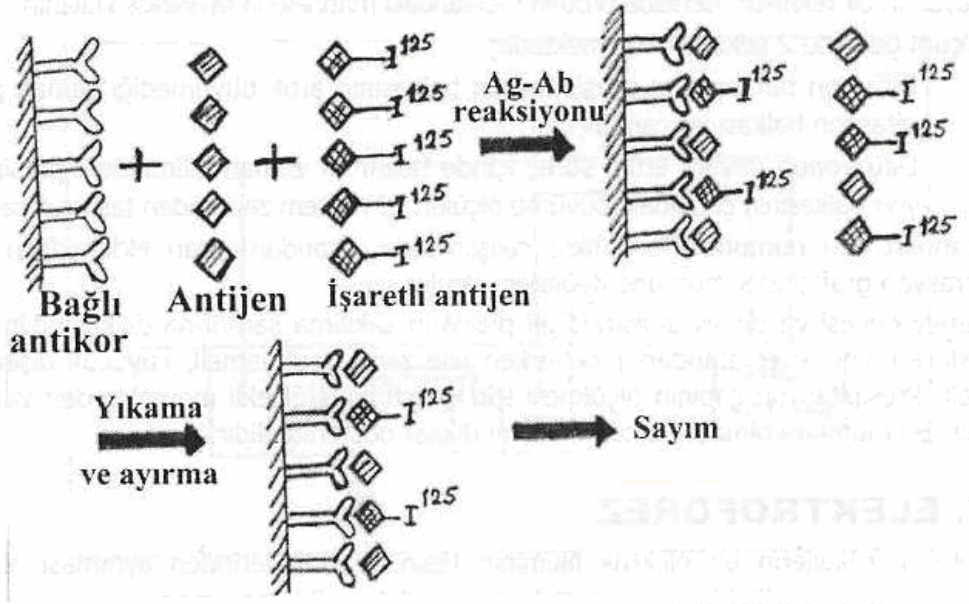
Radyoimmunoassay'de temel mekanizma, radyoizotop bir madde ile işaretli antijen veya antikor aracılığı ile karşılığı olan (özgül olduğu) antikor veya antijenin varlığını ve miktarını saptamaktır. En fazla kullanılan madde radyoaktif iyottur (I^{125} veya I^{131}). Kompetisyon mekanizmasına dayalı (RIA) ve sandwich yöntemi şeklinde (IRMA) uygulanabilir. Bu yöntemle pikomolar konsantrasyonlarda hormonlar, plazma proteinleri, koagulasyon faktörleri ve izoenzimler ölçülebilir.

RIA ölçüm yönteminde, inkübasyon süresince, varsa serumdaki ve eklenen radyoizotop işaretli antijenler (antijen*) antikora bağlanmak için yarışır; antikor-antijen ve antikor-antijen* kompleksleri oluşur. İnkübasyondan sonra yıkama ile çözeltideki antikor-antijen ve antikor-antijen* kompleksleri dışındaki maddeler ortamdan uzaklaştırılır. Ölçüm tüpündeki antikor-antijen* kompleksinin radyoaktivitesi bir gamma sayacı kullanılarak ölçülür. Serum örneğinde aranan antijen az ise, gamma sayacında yüksek düzeyde okuma elde edilir; serum örneğinde aranan antijen fazla ise gamma sayacında düşük düzeyde okuma elde edilir. Standart inhibisyon eğrisi kullanılarak miktar tayini yapılır (Şekil-5) (58,59).

2.4.1.2. Immunradyometrik Assay (IRMA)

Sandvic yöntemine dayalı IRMA (immünoradyometrik yöntemde) serumda varlığı araştırılan antijene özgü antikor katı faza (plastik veya polistren tüpün iç yüzeyi) bağlanmıştır. Tüp içerisine serum örneği eklenir ve bir süre beklenir (inkübe edilir). İnkübasyon süresince, varsa serumdaki antijenler antikora bağlanırlar; antikor-antijen kompleksi

oluşur. İnkübasyondan sonra yıkama ile antikor-antijen kompleksi dışındaki maddeler ortamdan uzaklaştırılır. Yıkama işlemi sonrası tüpe aynı antijene özgül ve radyoizotop işaretli antikor (antikor*) eklenerek inkübe edilir. İnkübasyon süresince radyoizotop işaretli antikor, katı fazdaki antikor aracılığı ile tutulmuş olan antijene bağlanır; antikor-antijen-antikor* kompleksi oluşur. İnkübasyondan sonra yıkama ile çözeltideki antikor-antijen-antikor* kompleksi dışındaki maddeler ortamdan uzaklaştırılır. Ölçüm tüpündeki antikor-antijen-antikor* kompleksinin radyoaktivitesi bir gamma sayacı kullanılarak ölçülür. Gamma sayacında okunan değer, serum örneğindeki antijen miktarı ile ilişkilidir. Standart eğri kullanılarak miktar tayini yapılır.



Şekil-5: RIA'da ölçüm şekilleri (59).

IRMA (immunoradiometric assay) yöntemi, RIA'ya göre daha hızlı ve daha duyarlıdır; serum proteinleri, faktör VIII, ferritin, tiroksin bağlayıcı globulin, CEA, AFP, IgE, PSA, TSH, prolaktin, GH, hCG gibi hormonları ölçümünde kullanılır (58, 59).

2.4.1.3. Enzyme-Linked İmmunosorbant Assay (ELISA)

Enzim immün ölçüm immunolojik reaksiyonları saptamak ve ölçmek için enzimlerin katalitik özelliklerini kullanır (58). Bu metod, ELISA, enzyme immunoassay (EIA) ve enzyme- multiplied immunoassay technique (EMIT) gibi farklı teknikler ile uygulanabilmektedir.

Tekniğin prensibi RIA ve IRMA'da olduğu gibi antijenle antikor arasındaki reaksiyona dayanır. İşaretsiz antijen tayin etmek istediğimiz maddedir. İşaretli antijenin hazırlanmasında RIA'da radyoaktif madde, bunda ise işaretleyici olarak enzim kullanılır. Bunun için metoda enzim immunoassay adı verilmiştir. Alkalen fosfataz (ALP) ve Horseradishperoksidaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G-6-P-D) ve beta – galaktozidaz EIA' da ençok belirteç olarak kullanılan enzimlerdir (59).

Reaksiyonun tamamlanmasından sonra separasyon (ayırma) işlemi yapılır ve ortama bir substrat ilave edilerek spektrofotometrik olarak enzim aktivitesi ölçülür. Enzim aktivitesi ile tayin edilmek istenen madde arasındaki ilişkiden analit konsantrasyonu tayin edilir (58).

2.4.1.4. Immunkemiluminisan Assay (ICMA)

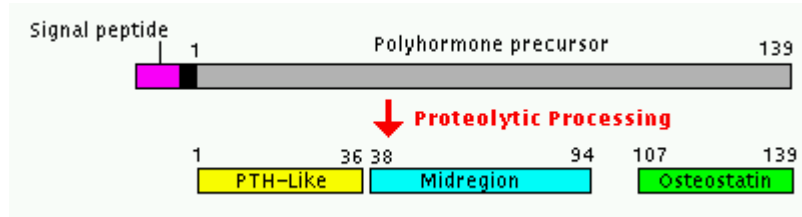
Kemiluminisansın prensibi de RIA'ninkine benzer. Fakat burada işaretleyici madde olarak radyoizotop yerine reaksiyona girdiğinde ışık yayan madde (kemiluminisan madde) kullanılır. Işık yoğunluğu luminometre adı verilen cihazlarda ölçülür. RIA'da olduğu gibi standart değerlerle karşılaştırılarak sonuçlar otomatik olarak hesaplanır (59).

ECLIA yöntemi, maddelerin bir platin elektrod yüzeyinde elektrokimyasal olarak oluşturdukları kemiluminisans reaksiyonlara dayanır. Bu metotta, çoğunlukla rutenyum (II) tris-bipyridyl ($Ru(bgy)_3^{+2}$) ile tripropylamin (TPA) arasındaki kemiluminisans etkileşim kullanılır. $Ru(bgy)_3^{+2}$, protein, hapten, peptid ve nükleik asitler gibi çeşitli biyolojik moleküllerle kolayca birleşen çok stabil tuzlar oluşturur. ECLIA'da sinyal

üretim mekanizması çok kompleks olmakla birlikte immunoassaye uygulanması oldukça basittir. Bu özelliği ile çok sayıda analitin tayininde kullanılabildiği gibi otoanalizörlere kolaylıkla uygulanabilmektedir. Metod son derece hassas ve linearitesi çok yüksektir (58, 59).

2.5. PARATIROID HORMON RELATED PEPTİD (PTHrP)

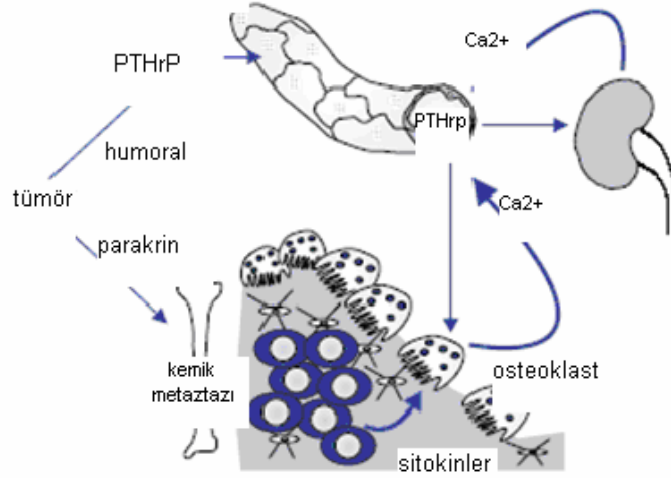
PTHrP bazı kanserlerin neden olduğu hiperkalseminin mekanizmaları araştırıldığı sırada 1987'de bulunmuştur. PTHrP'nin tam olarak dolaşımdaki formları bilinmemesine karşın, 139, 141, 173 aminoasid uzunluğundaki 3 izoformunun, mRNA kesilmesi ile oluştuğu gösterilmiştir. PTHrP'nin N-terminal sonu, PTH ile benzer homolojiye sahiptir. Bu benzerlik PTHrP'nin PTH'nin biyolojik etkilerine benzer etkilere sahip olmasını sağlamaktadır (Şekil 7) (56).



Şekil-6: PTHrP prohormon değişik paternleri, 3 farklı biyoaktif peptidi gösterir (56).

Maligniteler ile ilişkili hiperkalseminin etiyolojisinde kanser odağından salgılanan PTHrP önemli rol oynamaktadır. PTHrP, parat hormona özgü hedef dokulardaki membran reseptörlerine bağlanabilmek için PTH ile yarışmaktadır. PTH gibi kemik ve böbreklerde adenil siklazı aktive ederek cAMP üzerinden etkili olmaktadır. Osteoblastlardaki reseptörlere bağlanarak kemik resorpsiyonunu uyarırken, böbreklerden fosfat atılımını arttırmakta, kalsiyum atılımını ise engellemektedir (54).

PTHrP, endokrin, otokrin/parakrin ve justakrin etkileri vardır. PTHrP normal paratiroid hormonun fonksiyonu gibi etki eder (Şekil 7).



Şekil-7: Malignansi ile ilişkili hiperkalsemisi olanlardaki parakrin ve humoral yollar (37).

PTH ve PTH P kemik hücrelerine iki işaret yolu ile etki ederler (Dual signaling pathway). Başlıca hedef hücreler olgunlaşmamış osteoblastlardır. Osteoblast hücrelerinde tip 1 PTH/PTHrP reseptörü, adenil siklaz aktive edici protein olan Gs ve fosfolipaz C aktive edici protein olan Gq proteine bağlanır ve Gs ile Gq'yu aktive eder. Paratiroid hormonunun iskelet üzerine olan etkisi daha çok cAMP ve protein kinaz aktivasyonuna bağlıdır. Bu aktivasyon ise 1,7. aminoasidlerin işlevidir. Diğer yandan 28,32. aminoasid bölümü ise inositol trifosfat, diaçilgliserol/ protein kinaz C sisteminin aktivasyonunda anahtar rolünü oynar. Bu iki sistemin dengesi PTH'ın biyolojik etkisini sağlamaktadır. PTH 'ın adenil siklazı aktive etmesi ise osteoblast fonksiyonu için mutlaka gereklidir (35,42).

III. MATERYAL METOD

Çalışma, 10.01.2007 tarih ve 2007/1-1 sayılı kararı ile Afyon Kocatepe Üniversitesi (AKÜ) Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulundan onay almıştır.

Çalışma kapsamına Afyon Özel Diyaliz Merkezi'nde haftada 3 kez 4 saat hemodiyaliz tedavisi alan, 17-83 yaşları arasında 88 hasta alınmıştır.

Öncelikle hastalara çalışmayla ilgili hazırlanmış bilgi formu okutularak kendilerinden alınacak numuneler için rızaları alındı. Hastaların venöz kanları sabah aç karnına HD'den önce alındı.

Çalışma kapsamına dâhil olan 88 hemodializ hastasından 35'i kadın, kadınların yaş ortalaması 60 ± 12 , 53'ü erkek, erkeklerin yaş ortalaması 50 ± 16 idi. Bu hastaların 9 tanesinde (4'ü kadın, 5'i erkek) kronik hastalık olarak diabetes mellitus, 19 tanesinde (10'u kadın, 9'u erkek) hastada hipertansiyon, 1 kadın hastada kalp yetmezliği, 1 erkek hastada da mental retardasyon vardı. Bu hastaların KBY sebepleri arasında hipertansif nefropati, diyabetik nefropati, glomerülonefrit, polikistik böbrek hastalığı, kalıtsal nedenler ve ayrıca nedenleri bilinmeyenler vardı.

HD hastalarından HD'ye girmeden önce 8 ml lik düz tüplere kanları alındı. Kan numuneleri $+4^{\circ}\text{C}$ 'da 4000 rpm'de 5 dakika, santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Çalışma yapılıncaya kadar -20°C de saklandı.

Laboratuvar çalışmaları AKÜ Uygulama ve Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarında yapıldı. Sadece IRMA metodu ile yapılan çalışma Eskişehir Osman Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında yapıldı.

Serum numunelerinin PTH değerleri 3 ayrı metolla ölçölerek değerlendirildi. Ayrıca hemodiyaliz hastalarının PTHrP düzeyleri, Ca ve P değerleri de ölçüldü.

3.1. BİYOKİMYASAL ANALİZ

1. Yöntem: Immunradiometrik Assay (IRMA)
2. Yöntem: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)
3. Yöntem: Electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA)

3.1.1. Irma Yöntemi İle Parathormon Tayini

Biosource (Belgium) firmasının kiti ile çalışıldı. Radyoaktif madde olarak I^{125} 'in kullanıldığı bu metod, Roche firmasının Iso Data Series Gama Counter cihazı ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında yapıldı.

Reaktif ve örnek hazırlanması:

Bütün reaktiflerin oda sıcaklığına gelmesi sağlandı. Kalibratör dilüent, yıkama solüsyonunun belirtilen oranlarda kitin içindeki rekonstruktif solüsyon ile hazırlandı. Ayrı normal bir tüp de çalışma prosedüründe geçen total sayma tüpü olarak isimlendirildi.

Çalışma Prosedürü:

1. Bütün numuneler oda sıcaklığına getirildi.
2. Her kalibratör, kontrol ve numune tüplerinin üzeri yazılıp, ayrıca total count için ayrı bir tüp hazırlandı.
3. Her anti-PTH antikor (ab) kaplı tüpe 300 µl numune pipetlendi.
4. Ayrıca hazırlanan inkubasyon tamponundan 100 µl, total sayma tüpü hariç, bütün tüplere pipetlendi. Hava kabarcığı olmamasına dikkat edildi.
5. Bir saat oda ısısında 700 rpm'de tüp karıştırıcıda inkubasyona bırakıldı. İnkubasyonda, anti PTH ile kaplı tüplerin alt ve iç yüzeyine 1–28

PTH bağlandı.

6. 1 saat sonra 2 kez yıkama solusyonu ile yıkandı. Bağlanmayan maddeler antijen, orta-bölge ve C- terminal antikorlar yıkama ile uzaklaştırıldı. Tüplerin iyice boşalması için 2 dakika beklendi (total hariç).

7. Sonra total sayma tüpü de dâhil olmak üzere tüm tüplere 100µl 44- 68 PTH fragmanı ile işaretli anti-PTH -I¹²⁵ pipetlendi.

8. Yine bir saat oda ısısında 700 rpm'de tüp karıştırıcıda inkubasyona bırakıldı. 1 saat sonra 2 kez yıkama solusyonu ile yıkandı. (total sayma tüpü hariç). Tüplerin iyice boşalması için 2 dakika beklendi. Köpürmemesine dikkat edildi. Bu I¹²⁵ işaretli antiPTH ab, tüpteki anti PTH ab'lara bağlı olan PTH'a bağlandı. Bağlı olmayan diğer kısımlar yıkama ile uzaklaştırıldı ve kalan kısım intakt PTH konsantrasyonu olarak kabul edildi.

9. Sonra gama counter cihazında 60 saniyede numuneler okutuldu. Kitin referans sınırları: 6,2–29 pg/ml idi.

3.1.2. Elisa Yöntemi İle Parathormon Tayini

ELISA yönteminde Biosource- Europa SA firmasının PTH kiti ile çalışıldı. Ölçümler Trinity (Biotech Captia Reader, U.S.A.) model yıkayıcı ve okuyucu ile yapıldı.

PTH ELISA Reaktifleri: Bütün reaktiflerin oda sıcaklığına gelmesi sağlandı. Kalibratör dilüent, yıkama solüsyonunun belirtilen oranlarda distile su ile hazırlandı.

Çalışma Prosedürü:

- 1) 6 PTH kalibratörü, kontrol, hasta numuneleri (25 µl) kuyucuklara pipetlendi.
- 2) 50 µl biyotinile antikor her kuyucuğa pipetlendi.
- 3) Aynı şekilde enzimle işaretli antikor pipetlendi. Işıktan etkilenmeyecek şekilde mikropate 3,5 saat oda ısısında tüp karıştırıcıya bırakıldı.

- 4) Sonra yıkama sol ile 5 kez yıkandı.
- 5) Sonra her kuyucuğa 150 µl 3,3',5,5'- tetramethylbenzidine (TMB) substratı eklendi.
- 6) Yine oda ısısında karıştırıcıya 35 dakika bırakıldı.
- 7) 100 µl stop solusyonu koyuldu.
- 8) 450 nm'de değerler Trinity (Biotech Captia Reader, U.S.A.) model Elisa okuyucusu ile okutuldu.

3.1.3. Elisa Yöntemi İle PTHrP'in Çalışılması

Phonex Pharmaceuticals (USA) firmasının PTHrP kiti ile çalışılmıştır.

Bütün reaktiflerin oda sıcaklığına gelmesi sağlandı.

İşlem sırası:

1) 50 µl standart, numune ve pozitif kontrol, 25 µl primer antiserum ve 25 µl biotinilate peptide, sekonder antikor ve non-spesifik bağlanmayan kısımlar ile kaplı kuyucuklara pipetlendi. Bu sekonder antikor, primer antikorun (peptid ab), Fc fragmanına bağlanır. Bu peptidin Fab fragmanı, numunelerdeki hem biyotinile peptide, hem de standart peptide kompetitif olarak bağlanır.

2) Oda ısısında 2 saat tüp karıştırıcıda inkubasyona bırakıldı.

3) 350 µl tampon solusyonu ile 4 kere yıkama yapıldı.

4) 100 µl streptavidin- horseradish peroxidase (SA-HRP) solusyonu pipetlendi.

5) 1 saat oda ısısında tüp karıştırıcıda inkubasyona bırakıldı.

6) 350 µl tampon solüsyon ile 4 kere yıkama yapıldı.

7) 100 µl TMB substrat solusyon pipetlendi.

8) 1 saat oda ısısında tüp karıştırıcıda inkubasyona bırakıldı.

9) Son reaksiyon 100 µl 2N Hidroklorik asid (HCL) ile sonlandırıldı.

10) 450 nm de ELISA cihazı ile okutuldu.

3.1.4. Eclia Yöntemi İle Parathormon Tayini

Reaktifler:

ECLIA yönteminde, Roche (USA) firmasının PTH kiti ile çalışıldı.

Numuneler daha önceden oda sıcaklığına getirildi. PTH, Roche firmasının kiti ile kemiluminisan metodu ile Moduler Elecys 170 otoanalizörde çalışıldı.

Ca ve fosfor düzeyleri de Cobas Integra 400 adlı cihaz ile Roche firmasına ait Ca ve P kitleri ile fotometrik yöntem ile ölçüldü. Kitin referans değerleri: Ca: 8,4–9,7 mg/dl, P: 2,7–4,5 mg/dl idi.

3.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz SPSS 15.0.0 (Chicago, IL) paket programı kullanılarak yapıldı. PTH'ın için 3 farklı metod arasındaki karşılaştırma için Friedman non-parametrik varyans analizi ve Wilcoxon Signed Rank testi seçildi. Parametreler arasındaki korelasyon belirlenmesinde ise Pearson korelasyon katsayısı (r) kullanıldı. $p < 0.05$ ise anlamlı olarak kabul edildi.

IV. BULGULAR

4.1. ÇALIŞMAYA KATILAN TÜM HASTALARIN PTH, PTHrP, Ca, P DEĞERLERİ

Çalışmaya katılan tüm hastaların PTH, PTHrP, Ca, P değerleri Tablo 5'de sunulmuştur.

Tablo-5: Tüm Hastaların PTH, PTHrP, Ca, P Değerleri

HASTA	PTH			PTHrp N:0.43-4,7 ng/ml	Ca N:8,4-9,7 mg/dl	P N:2,7-4,5 mg/dl
	ECLIA N:12-65 pg/ml	IRMA N:6,2-29 pg/ml	ELISA N:8,9-69 pg/ml			
1	479	156	569	2,7	6,3	4,9
2	97	50	140	1,7	8,9	7,3
3	537	151	605	4,6	9,9	5,1
4	150	40	126	1,2	9,6	4,7
5	498	136	541	2,5	9,7	7,9
6	236	83	348	7,9	9,8	4,6
7	1111	378	1223	2,7	9,3	3,9
8	1066	268	635	2,3	10	4,8
9	716	216	659	2,2	10	6,3
10	378	104	616	2,4	8,8	7,2
11	462	150	438	1,5	8,5	6,2
12	196	51	325	3,2	9,3	5,6
13	251	80	348	1,7	8,7	4,5
14	996	307	534	1,5	9,5	4,8
15	257	96	370	1,4	7,1	6,9
16	53	20	86	1,3	9,3	6,5
17	256	74	311	1,1	9,6	4
18	129	32	156	1,5	9,1	3,6
19	189	50	244	1,6	9,3	7,4
20	198	79	263	1,6	9,3	3,2
21	548	164	498	1,2	8,7	4,7
22	163	38	146	1,8	9	4
23	946	309	819	3,1	8,6	8,2
24	733	237	707	1,5	9,6	5,9
25	235	79	278	2,7	8,6	5,9
26	224	51	245	1,7	7	6,2
27	317	99	367	4,1	8,6	5,9
28	178	37	220	2,2	7	6,2
29	1139	393	1057	7,3	10	7,2
30	1227	376	1022	3,7	10	7,4
31	1675	607	1374	1,1	9,7	5,4
32	1187	419	1055	1,1	9,2	8,2
33	190	62	253	2	9,5	4,8

34	129	54	198	1,1	8,8	3,1
35	59	21	87	1,3	9,3	3,5
36	63	22	100	3,1	8,1	4,6
37	544	166	600	3,9	8,1	5,4
38	836	299	933	1,1	8,9	5,5
39	512	148	558	5,3	10	5,5
40	329	139	460	1,1	8,9	2,4
41	1356	598	1137	1	8,6	9,3
42	791	322	850	1,5	8,4	7,5
43	428	169	554	1,6	9,5	5,3
44	262	96	353	1,5	8,6	5,4
45	601	208	682	3,6	9	6,3
46	193	64	252	1,4	9	5,3
47	222	79	274	1,2	8,5	5,2
48	105	30	132	1,3	8,9	5
49	989	372	857	1,5	9,2	7
50	698	223	689	1,7	8,1	4,7
51	1027	367	916	1,4	9,4	12,7
52	250	87	329	4	8,7	4,5
53	106	57	110	2	9,2	5,1
54	772	302	725	4	9,2	6,7
55	504	201	529	5,3	9,6	5,7
56	254	79	241	2,5	9,4	5,7
57	179	90	275	1,1	7,7	4,3
58	219	97	325	1,4	9,1	8,3
59	115	43	158	1,3	9,1	4,3
60	1020	341	835	1,9	9,9	9
61	36	15	145	2,4	9,6	3,6
62	435	113	457	1,2	9,5	7
63	84	31	102	1,2	9,6	6,1
64	194	54	191	1,6	9	4,6
65	224	79	257	1,1	9,4	6
66	242	84	274	1,1	9	4,4
67	552	220	573	3,5	9,1	5,7
68	255	86	322		8,8	5,3
69	164	53	265	1,9	10,2	3,9
70	1403	418	1082	1,8	10,3	7,2
71	495	156	574	3,5	9,4	5,7
72	129	38	189	3,5	9,7	4,7
73	556	173	595	2	8	4,4
74	1325	473	1084	1,3	9,6	6,5
75	435	129	441	1,5	9,3	7,1
76	46	13	65	1,3	9,1	3,2
77	63	27	89	1,5	8,4	6,2
78	2206	1000	1476	1,3	10,3	6,9
79	153	42	171	1,5	8,9	7,4
80	224	81	297	1,3	9	8
81	393	134	393	0,5	9,3	7,4
82	616	240	513	3,3	10,3	5,9
83	31	12	41	1,3	6,8	6,3
84	97	41	126	2,9	8,8	6,3
85	162	55	235	1,1	9	3,9
86	1948	700	1322	1,4	11,3	7,3
87	1521	472	1093	8,2	11	6,8
88	606	200	592	2,3	9,5	5

4.2. FARKLI PTH DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Hemodiyaliz hastalarının 3 farklı yöntemle elde edilen PTH değerlerinin min-maks ve ortalama \pm standart sapmaları Tablo 6'da sunulmuştur. IRMA yöntemi ile ELISA ve ECLIA yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Sırası ile $p < 0.001$; $p < 0.001$). ELISA ile ECLIA karşılaştırıldığında ise anlamlı fark bulunmamıştır ($p < 0.068$). İstatistiksel olarak Friedman Varyant Analizi ve Wilcoxon Signed Rank testi ile p değerleri bulunmuştur (Tablo-7, Şekil-8).

Tablo-6: IRMA, ECLIA ve ELISA metodlarının karşılaştırılması

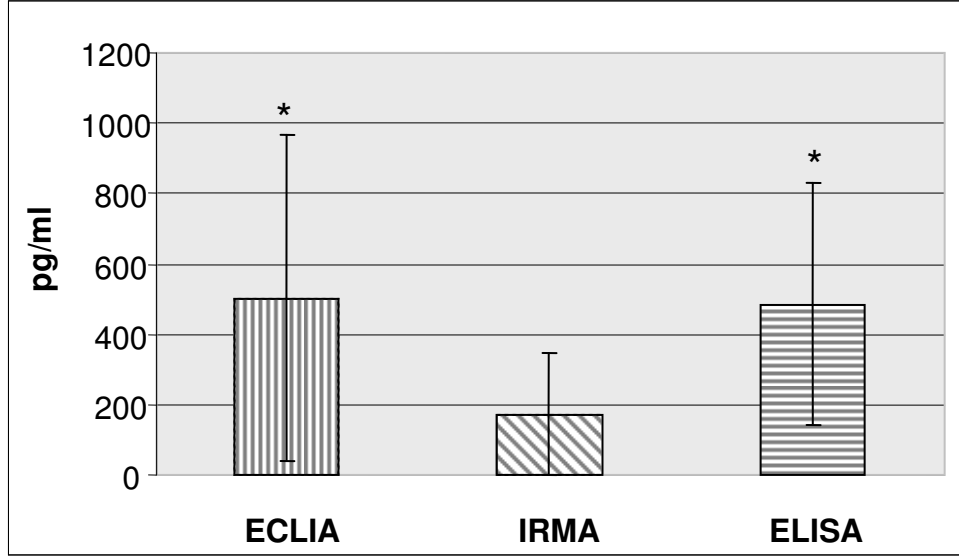
METOD	PTH (min-maks)	PTH (ort \pm SD)
ECLIA (pg/ml)	31–2206	502 \pm 463,6*
IRMA (pg/ml)	13–1000	173,2 \pm 174,1
ELISA (pg/ml)	41–1476	485,6 \pm 344*

* $p < 0.001$ Wilcoxon signed drank testi ile belirlendi.

Tablo-7: Farklı 3 PTH yönteminin p (anlamlılık) değerlerinin karşılaştırılması

METOD	ECLIA	IRMA	ELISA
ECLIA	-	* $p < 0.001$	$p = 0.068$
IRMA	$p < 0.001$	-	$p < 0.001$
ELISA	$p = 0.068$	$p < 0.001$	-

* $p < 0.001$ Wilcoxon signed drank testi ile belirlendi.



* $p < 0.001$ Wilcoxon Signe Drank test

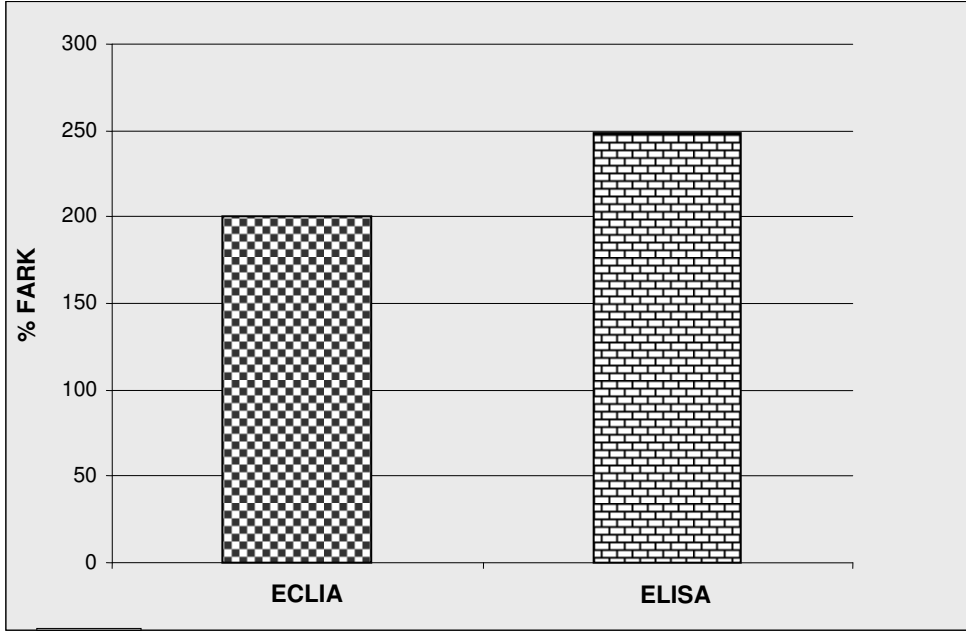
Şekil-8: IRMA ile ECLIA ve ELISA metodlarının karşılaştırılması

IRMA metodu ile ölçülen PTH sonuçları ile diğer yöntemler ile ölçülen PTH sonuçları arasındaki yüzde farklar Tablo-8 de ve Şekil-10'da verilmiştir.

Tablo-8: IRMA ile ECLIA ve ELISA metodları arasındaki yüzde fark

METOD	% FARK
ECLIA-IRMA	% 200 ± 53
ELISA-IRMA	% 248 ± 114

ELISA ve ECLIA metodu ile ölçülen PTH değerleri, kalibrasyon değerleri ve referans aralıkları birbirine yakın, IRMA'nın değerleri farklı olduğu için IRMA ile diğer 2 metod yüzde farka bakıldı. Yani ELISA ve ECLIA metodları ile bulunan değerler IRMA metodu ile bulunan değerden yüzde olarak ne kadar sapmıştır, bu değerleri bulduk.



Şekil-9: IRMA ile ECLIA ve ELISA metodları arasındaki yüzde fark (% fark)

IRMA metodunun % farkı, ECLIA-IRMA, ELISA-IRMA' ya göre sırası ile %200 ve % 248'dir.

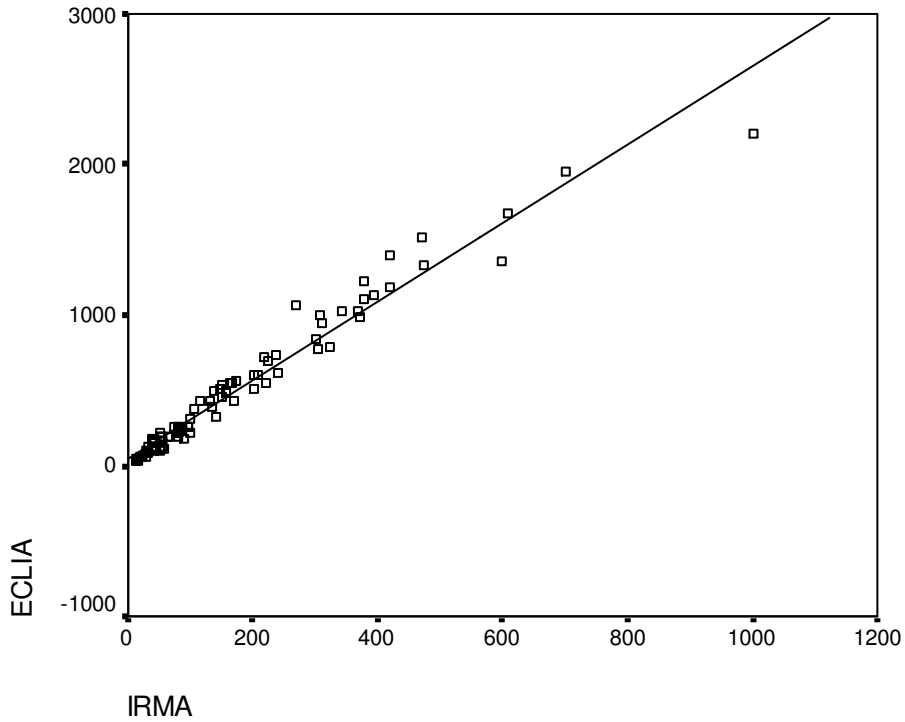
4.3. FARKLI PTH ÖLÇÜM METODLARI ARASINDAKİ KORELASYON

Parathormon ölçümü için 3 farklı metod arasındaki korelasyon araştırıldığında tablo 9'daki değerler elde edilmiştir. Buna göre her 3 grup arasında güçlü korelasyon ve istatistiksel anlamlılık bulunmuştur. En güçlü korelasyon IRMA ile ECLIA arasında saptanmıştır. Wilcoxon drank test ve Pearson korelasyon analizi ile değerlendirildi ($r = 0.97$, $p < 0.001$).

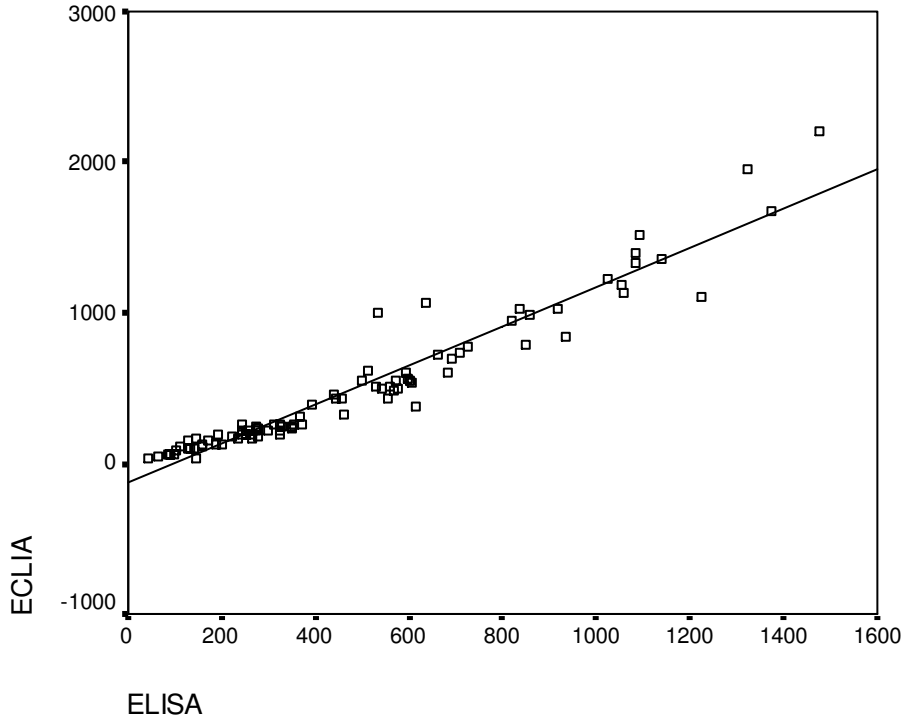
Tablo-9: Gruplar Arasındaki Korelasyon Katsayıları (r) ve İstatistiksel Anlamlılıkları (p)

METOD	r	p
IRMA-ECLIA	0.97	<0.001
ELISA- ECLIA	0.96	<0.001
ELISA-IRMA	0.94	<0.001

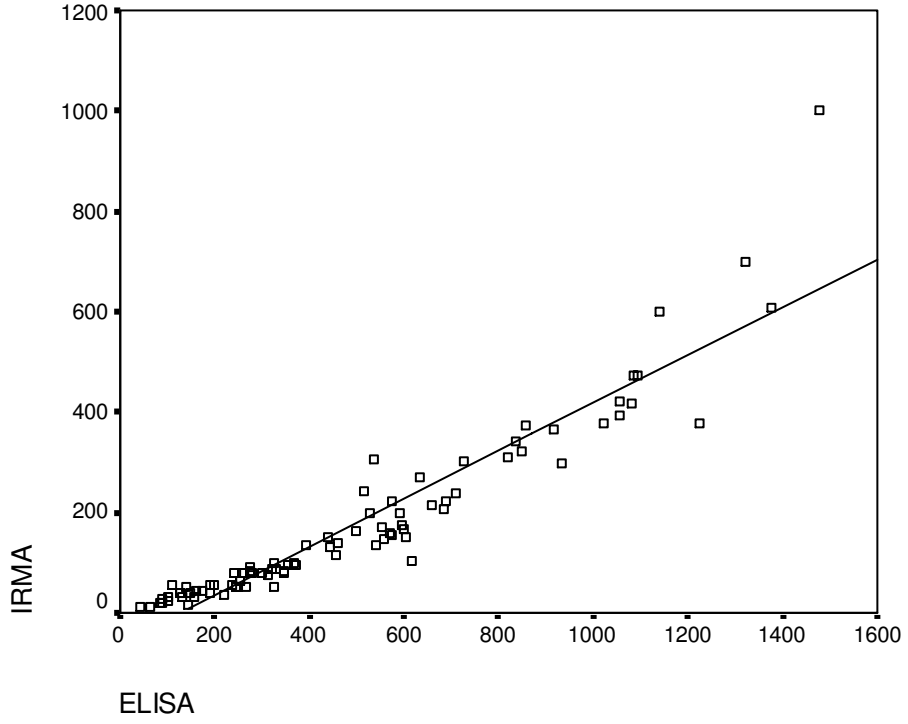
Farklı 3 PTH ölçüm metodu arasındaki korelasyon grafikleri şekil 10,11,12'de belirtilmiştir.



Şekil-10: ECLIA- IRMA Korelasyon Grafiği



Şekil-11: ECLIA -ELISA arasındaki korelasyon grafiği



Şekil-12: IRMA –ELISA arasındaki korelasyon grafiği

Hastaların ölçülen Ca değerleri ort \pm SD dğerleri (9.05 \pm 0.85 mg/dl) ve min-maks değerleri (6,3–11,3) mg/dl, P değerlerinin ort \pm SD değerleri (5,7 \pm 1,64 mg/dl) ve min-maks değerleri (2,4- 12,7) mg/dl'dir.

Farklı yöntemler ile bakılan PTH sonuçları ile Ca ve P değerleri arasındaki korelasyona ait katsayılar ve istatistiksel anlamlılık Tablo 10'da verilmiştir. Tüm yöntemler ile ölçülen PTH değerleri ile hem Ca hem de P değerleri arasında pozitif korelasyonlar ve istatistiksel anlamlılık görüldü. $p < 0.01$ anlamlı idi. Wilcoxon Signed Drank testi ile bulundu. r korelasyon değerleri Pearson korelasyon analizi ile bulundu.

Tablo-10: Farklı yöntemler ile Ca, P değerleri arasındaki korelasyona ait katsayılar ve istatistiksel anlamlılık

GRUP	Ca	P
ECLIA PTH	r	0.45
	p	0.01
IRMA PTH	r	0.41
	p	0.01
ELISA PTH	r	0.37
	p	0.01

4.4. PTHrP DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Tüm vakaların PTHrP ortalama \pm SD değerleri 2,26 \pm 1,47dir. PTHrP değerleri 6 hastada referans değeri aşmıştır. Fakat PTHrP referans aralığını aşan 6 hastadaki 3 farklı yöntemle ölçülen PTH değerlerinin yanı sıra Ca ve P değerlerinin de yüksek çıktığı saptanmıştır. PTHrP'nin üst

referans aralığını aşan 6 hastanın PTHrP, PTH, Ca ve P sonuçları Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo-11: PTHrP'si yüksek çıkan 6 Hastanın, PTH, Ca, P değerleri

HASTA	PTHrP ng/ml	PTH ECLIA pg/ml	PTH IRMA pg/ml	PTH ELISA pg/ml	Ca mg/dl	P mg/dl
1	4,6	537	151	605	8,9	5,1
2	7,9	236	83	348	8,5	5,6
3	7,3	1139	393	1057	10	7,2
4	5,3	512	148	558	10	5,5
5	5,3	504	201	529	9,6	5,7
6	8,2	1521	472	1093	11	6,8

88 hastanın 6'sının PTHrP'sinin referans aralığının üstünde olduğu görülmüştür. Yani tüm hastaların % 6.81'inde PTHrP değerleri yüksek çıkmıştır. Bu % 6.81 hastanın PTH, Ca ve P değerleri de belirtilen referans değerlerinin üzerinde bulunmuştur.

Friedman varyant analizi ve Wilcoxon signed drank test ile yapılan istatistiki karşılaştırmada tüm hastalardaki PTHrP değeri ile PTH sonuçları, Ca, P sonuçları karşılaştırıldığında bir korelasyon ve istatistiksel anlamlılığa rastlanmadı. PTHrP'i yüksek çıkan 6 hastanın PTHrP'si ile PTH, Ca ve P sonuçları ile karşılaştırıldığında bir istatistiki anlamlılık ve korelasyon bulunmadı. Yine de PTHrP ve PTH ve Ca arasında bir ilişki olup olmadığının araştırılması gerekir.

V. TARTIŞMA

KBY, ilerleyici nefron kaybı sonucunda böbrek fonksiyonlarının giderek bozulması ile ortaya çıkan bir tablodur. KBY geliştikten sonra, renal hasarı başlatan sebep ne olursa olsun, yavaş ve ilerleyici böbrek hasarı sonucu SDBY gelişmektedir (60,61).

SDBY ise endojen renal fonksiyonun irreversibl kaybı ile karakterize ve hayatı tehdit eden üremiden korunmak için hastaya devamlı olarak diyaliz veya transplantasyon gibi renal replasman tedavilerinin uygulandığı klinik bir tablo oluşturur. Böbrek fonksiyonları akut hasar sonrası tekrar kendi fonksiyonunu kazanabilir (62,63).

Glomerüler filtrasyon hızı düşmeye başlayınca renal tübüllerden fosfor atılımı azalır. Kan fosfor düzeyinin artışına serum kalsiyum düzeyinin düşüşü eşlik eder ve bu durum PTH salgılanmasını uyarır. PTH, böbreklerden fosfor atılımını artırır ve kan fosfor düzeyi normal sınırlarda tutulmaya çalışılır. Bu etki GFR %30'un altına düşünce ortadan kalkar ve serum fosfor seviyesi yükselir. Bu dönemde hipokalsemi, hiperfosfatemi ve PTH'da belirgin artış vardır. PTH'ın aşırı yapımı, vit D'nin sentezinin azalması ve metabolik asidozun varlığı hastalarda kemik sorunlarının ortaya çıkmasına neden olur (3,4).

SDBY ise endojen renal fonksiyonun irreversibl kaybı ile karakterize ve hayatı tehdit eden üremiden korunmak için hastaya devamlı olarak diyaliz veya transplantasyon gibi renal replasman tedavilerinin uygulandığı klinik bir tablo oluşturur. Böbrek fonksiyonları akut hasar sonrası tekrar kendi fonksiyonunu kazanabilir (62,63).

Böbrek yetmezlikli hastalarda görülen sekonder hiperparatiroidizm; kalsiyum, fosfor, vitamin D ve parathormon bozukluklarından kaynaklanmaktadır ve kemik değişiklikleri, yüksek döngü hızlı (sekonder hiperparatiroidizm, osteoitis sistika fibroza) ve düşük döngü hızlı

(osteomalazi ve adinamik kemik lezyonları) olmak üzere 2 şekilde değerlendirilir (41).

Renal osteodistrofi (ROD) teşhisinde gold standart metod kemik biyopsisidir. Fakat halen bu metod invazif ve travmatik komplikasyonları olduğu için pratikte sık kullanılmamaktadır. Bunun yerine alternatif metodlar kullanılmaktadır. PTH'ın dolaşımdaki konsantrasyonu, kemik yıkımı ile korele olduğu için ROD teşhisinde genelde PTH ölçüm metodları kullanılmaktadır (63,64).

Paratiroid bezler hem biyolojik olarak aktif olan intakt hormon, hem de orta bölgesinde yer alan aminositleri içeren parça ile karboksil ucu tarafındaki aminoasitleri içeren (C-PTH) aktif olmayan parçaları salgılar. Biyolojik olarak aktif olan intakt PTH (yarı ömrü 5 dk'dan az) karaciğer ve böbrek tarafından hızlıca aktif olmayan parçalara yıkılır. Bu aktif olmayan parçalar tam olarak karakterize edilememiş olmakla birlikte, parçaların 8–84 ve 7–84 aminoasitleri içerdiği bildirilmiştir. Bu inaktif parçalar glomeruler filtrasyon ile temizlenir ve yarı ömürleri 1 dakikadan daha azdır. Yarı ömürleri ve dolaşımdaki konsantrasyonları, renal fonksiyon bozukluğu olan kişilerde önemli miktarda yüksektir (3,4).

SDBY'li hastalarda dolaşımdaki PTH'ın %90'ı C-terminal PTH fragmanıdır. Bu yüksek konsantrasyondaki fragmanlar aktif olan PTH'nın ölçülmesinde hatalara yol açmaktadır. SDBY'li hastalarda, sekonder hiperparatiroidizmde intakt PTH düzeyinin paratiroid fonksiyonlarının değerlendirilmesinde önemli bir ölçüm olduğu kabul görmektedir (5,6).

PTH(1–84)'den farklı olarak PTH'ın diğer moleküler formları ile iPTH ölçümünde reaksiyona girer. PTH'ın (1–84) den farklı moleküler formları non(1–84) PTH olarak adlandırılır ve bunların PTH fizyolojisindeki önemi hala tam olarak açık değildir ve gecikmiştir (52). Bu gecikmede dolaşımdaki PTH'un heterojen tabiatı, uygun çok özel antiserumların kısıtlılığı gibi bazı teknik problemler rol oynamıştır. Ayrıca, standart olarak

kullanılan PTH preparatlarının cinsi ve saflığı da serum iPTH değerlerinin laboratuvarlar arasında fark bulunmasına neden olur.

PTH ölçümü için geliştirilmiş pek çok yöntem vardır. Bunlardan intakt PTH'ın hemodiyaliz hastalarında daha iyi bir göstere olduğu kabul edilmektedir (2). Biz de çalışmamızda intakt PTH ölçümü için geliştirilmiş yöntemler arasında farklılıklar olup, olmadığı araştırdık. Bu amaçla ELISA, IRMA ve ECLIA yöntemleri arasındaki farklılıkları ortaya koyduk. Bizim laboratuvarımızda rutinde kullandığımız yöntem ECLIA yöntemidir. Diğer 2 yöntem IRMA ve ELISA genelde araştırma amaçlı kullanılıyor. Çalışmamızda, 88 hemodiyaliz hastasında (53 erkek, 35 kadın) 3 farklı firmaya ait kit ve 3 farklı metotla intakt PTH'ı çalışıp, birbirleri ile karşılaştırdık. Her 3 metodun oldukça korele bulduk ancak IRMA yöntemi ile hem ELISA hem de ECLIA arasında anlamlı bir fark bulduk. IRMA yöntemi ile bulduğumuz iPTH sonuçları diğer yöntemlerden anlamlı olarak düşüktü. Yine her 3 yöntem ile ölçülen PTH sonuçları ile Ca, P arasında pozitif bir korelasyon bulduk.

Yamamoto ve ark. non(1-84)PTH'ın, hem iPTH(1-84)'ün periferik metabolizması ile hem de paratiroid hücrelerinin sekresyonu ile oluşabileceğini belirtmişlerdir. Non (1-84) PTH'ya örnek olarak başta 7-84 olmak üzere 4-84, 8-84, 10-84 ve 15-84 PTH'ları verilebilir (65).

Inaba ve ark. iPTH ölçümü ile sadece PTH(1-84)'ün değil aynı zamanda PTH(7-84)'ü de ölçüldüğünü göstermişlerdir (66). Bio-intakt PTH ölçümü ile de özellikle aktif PTH (1-84)'ü ölçüldüğünü göstermişlerdir. Renal disfonksiyonun, PTH(7-84)'ün idrarla atılımının bozulmasına, böbreklerde birikmesine yol açarak hemodiyaliz hastalarında Bio-PTH/iPTH oranında anlamlı bir düşmeye neden olduğunu bulmuşlardır. PTH (7-84)'ün, PTH (1-84)'ün biyolojik antagonisti olan bir fragman olduğunu, PTH(7-84) fragmanının birikiminin hemodiyalizli hastalardaki iskelet direncinde rol oynadığını da rapor etmişlerdir. Bu bilgiler ışığında Inaba ve

ark özellikle HD hastalarında, paratiroid fonksiyonunu değerlendirmede Bio-PTH ölçümünün, iPTH ölçümünden daha güvenilir olduğunu öne sürmüşlerdir (66,67).

D' Amor ve ark, yaptıkları çalışmalarda amino terminal yapısını kısmen korumuş non (1-84) PTH fragmanları ile C-PTH fragmanlarının da ölçüldüğünü göstermişler. Bu karmaşık sonuçların iPTH sonuçlarındaki mukayese eksikliği nedeni ile SDBY'li hastalardaki SHPT'nin tedavisi ve teşhisinde belli bir problem olarak kaldığını ileri sürmüşlerdir. Ayrıca hPTH (1-84) kalibratörlerindeki farklılıkları düzelttikten sonra iPTH değerlerinin farklı ölçümlerle ölçüldüğü halde sonuçların benzer olduğunu rapor etmişlerdir. Sonuç olarak ticari iPTH ölçümlerinin standartizasyonu için bir evrensel referans paneli geliştirilmesinin gerekli olduğu görüşünü ileri sürmüşlerdir (61,68).

Bugün çift yönlü işaretli antikor yöntemleri, intak PTH ölçümü için tercih edilir. Daha önceki yıllarda yarışmalı immunölçümler ve radyoimmunölçümlerin (RIA; C-terminal, N-terminal, orta bölge ölçümleri) inaktif parçaları ölçmesi nedeniyle, bozuk renal fonksiyon veya paratiroidle ilişkili olmayan malign hiperkalsemili olgularda sıklıkla yüksek değerler verdiği gözlenmiş fakat bu sonuçların gerçeği yansıtmadığı gözlenmiştir (64,67).

Çift yönlü, işaretli antikor yöntemleri eş zamanlı olarak PTH'ı bağlayabilen iki farklı antikor gerektirir : (1) sıklıkla karboksil terminale karşı geliştirilen katı faz yakalayıcı antikor (örn, 39-84, 53-84, aminoasit dizileri) ve (2) sıklıkla aminoterminal bölgeye karşı geliştirilen sinyal veya işaretli antikor (örn.1-34 aa dizileri). Yönteme bağlı olarak sinyal antikoru sinyal olarak kemiluminisans bileşik, (immunokemiluminometrik (ICMA) veya elektrokemiluminisan bileşik (ECLIA) veya radyoaktif I_{125} (immunoradyometrik) (IRMA) veya substratı kemilüminesans ürüne çeviren enzim (ELISA) ile işaretlenir (69).

Sourbille ve ark. Fransa'da rutin klinik kullanımda 15 farklı PTH ölçüm metodu ile 5. evre 47 hemodiyaliz hastasında dolaşımdaki PTH konsantrasyonlarının ölçümündeki metodlar arası farklılığı ortaya koymuşlardır. Bu yöntemlerin 7 tanesi immunoradyometrik yöntem, bir tanesi manuel immunoenzimolojik ölçüm metodu ve 7 tanesi immunometrik yöntemdi ve bu 15 ölçümün dışında 2 tanesi 3. kuşak ölçümlerdi. Ölçüm metodlarından intakt PTH IRMA metodu ile diğer 14 metod karşılaştırılmış ve oldukça korele olduğu bulunmuştur (70). Buradaki metodlar arasındaki farklılığı hem antikor spesifitesine hem de standartizasyon nedenlerine bağlamışlardır. Bizim çalışmamızda, değişik 3 PTH ölçüm metodu ile farklı sonuçlar bulunmasının nedenini de bu faktörlere bağlanabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızdaki IRMA metodununun sonuçlarını da diğer iki metod olan ECLIA ve ELISA sonuçları ile korele bulmamıza rağmen IRMA metodu ile PTH değerlerini daha düşük bulduk.

Markus ve ark yaptıkları çalışmada iki farklı IRMA kiti kullanarak, PTH'u ve iyonize kalsiyumu ölçüp paratiroid bezin fonksiyonunu karşılaştırmışlardır. Renal osteodistrofili bu hastalarda iki metod ile ölçülen PTH değerleri arasında anlamlı fark bulmuşlardır (71).

Yamashita ve ark. yeni whole PTH molekülü ölçümü ile özellikle intakt PTH (1-84)'ün ölçüldüğü saptamışlardır. Hemodiyaliz tedavisi alan SHPT'li hastalardaki PTH seviyesini IRMA metodu ile iPTH ve 'whole' PTH'ı (sadece PTH(1-84)) ölçmüşler. Bu hastalara daha sonra paratiroidektomi ameliyatı uygulanmış. Bu ameliyattan önce iPTH ve whole PTH değerleri arasında anlamlı bir fark ve korelasyon bulmuşlardır. Paratiroidektomiden sonra 'whole' PTH ile ölçülen PTH değerlerinin iPTH'dan daha hızlı düştüğünü gözlemlemişlerdir. Bu nedenle hızlı 'whole' PTH ölçümünün paratiroidektomili hastalarda daha faydalı olacağı kanısına varmışlardır (72).

Shidara ve ark yaptıkları çalışmada, hastaların serumunda aktif PTH'ını, hem 2-terafli kemiluminisan immunassay ile; sadece intakt PTH (1–84)'ü ölçen Bio-PTH metodu ve hem de intakt PTH'ını (1–84 PTH) ve (7–84) PTH'ı ölçen ikinci kuşak iPTH metodu (IRMA) ile ölçmüşlerdir. Hastaların BUN, fosfor, albumin, vücut ağırlığı, kreatinin gibi protein katabolik markırlarını da ölçmüşlerdir. iPTH (1–84) ile kreatinin ve fosfor arasında bir korelasyon olduğunu, PTH (7–84)' ün ise protein katabolik markırları (alb, BUN, vücut kitle indeksi (BMI) ve Ca) ile korele olduğunu bulmuşlardır. PTH(7–84)'ün HD hastalarındaki nutrisyonel durumu yansıtması, serum iPTH'un ölçülmesi ile elde edilen değerlerin protein katabolik markırları ile korele olması ile açıklamışlardır (73).

Çalışmamızda, 3 farklı PTH ölçüm metodundan biri olan IRMA ile diğer metodların (% difference) yüzde farkını karşılaştırdık. IRMA ile ECLIA arasında % 200, IRMA ile ELISA arasında ise % 248 farklılık bulduk. Bizim 3 metodla bulduğumuz PTH sonuçları genelde referans aralığının çok üstünde olduğu için, yüzde farkları da büyük çıkmıştır.

Cantor ve ark. da PTH'ı farklı firmalara ait kitlelerle IRMA ve ICMA yöntemleri ile ölçmüşlerdir. IRMA kiti ile ölçülen sonuçların diğer sonuçlar ile karşılaştırarak yüzde farkını hesaplamışlar ve iPTH IRMA ve iPTH ICMA ile az farklılık (<% 10) gösterirken, 2 farklı firmaya ait IRMA kiti ile karşılaştırıldığında büyük (% 40) farklılık gösterdiğini bulmuşlardır (68).

Çalışmamızda ayrıca, PTH'yüksek hastaların, PTHrp ile bir ilişkisi olup olmadığını anlamak ve PTH ölçüm yöntemlerini interfere edip etmediğini görmek için PTHrP'i ölçtük. Günümüzde PTHrP genellikle daha duyarlı ve özgün olan iki yönlü işaretli antikor (IRMA) yöntemi veya ELISA yöntemi ile ölçülmektedir. Biz de çalışmamızda bu peptidi ELISA yöntemi ile ölçtük.

PTHrP, başlangıçta malignansilerdeki humoral hiperkalsemi ile ilişkili olarak, tümörlerden izole edildi (1). PTHrP'nin hangi kanserlerin malignensideki humoral hiperkalsemiye neden olacağı ile ilgili mekanizmaların araştırılması sırasında bulundu.

PTHrP' nin tam olarak dolaşımdaki formları bilinmemesine karşın, 139, 141, 173 aminoasid uzunluğundaki 3 izoformu alternatif, m RNA kesilmesi ile oluşmaktadır PTH rp'nin N-terminal sonu, PTH ile benzer homolojiye sahiptir (13 aminoasidden 8'i benzer). Bu benzerlik PTHrp'nin PTH'nin biyolojik etkilerine benzer etkiler göstermesini açıklayabilir (8).

Paratiroid hormon 1 reseptörü, (PTH1R), metafizyel büyüme plaklarının prehipertirofik kondrositlerinde ve PTHrP'nin otokrin, parakrin etkilerini düzenleyen hücrelerinde üretilir. PTHrP'nin üretim paternlerine benzer olarak, PTH1R mRNA, diğer fetal ve erişkin organlarda üretilir. Örneğin PTHrP ve PTH1R, meme bezindeki dallanmış morfogenezisi düzenlediği ve deri, saç, pankreas ve dişlerdeki gelişimde bu proteinlerin rolü olduğu ileri sürülmüştür (74). PTH, PTHrP ve PTH/PTHrP reseptörlerinin biyolojik sistemde Ca regülasyonu, hücre proliferasyonu ve hücre farklılaşmasını içeren kritik rolleri vardır. PTHrP aynı zamanda meme bezi gelişimi ve laktasyona Ca'un plesental transferinde olduğu gibi yardımcı olur (35,42).

Bizim çalışma grubumuzdaki 88 hastanın 6'sında PTHrP değerini yüksek bulduk. Bu 6 hastanın diğer 3 metodla ölçülen PTH ve ölçülen Ca ve P değerlerinin de referans değerlerinin üzerinde çıktığını gördük. Hastaların PTHrP ile PTH, Ca ve P sonuçları arasında istatistiksel olarak bir korelasyon bulamadık. İleride PTH, PTHrP ve Ca arasındaki ilişkinin araştırılması gerekli olduğunu düşünüyoruz.

Sonuç olarak çalışmamızda, hemodiyaliz hastalarındaki 3 farklı ölçüm metodu ile ölçülen PTH değerleri arasında her ne kadar güçlü bir

korelasyon bulunsa da; sonuçların iyi bir şekilde takibi ve güvenilirliği açısından tek bir hastanın sonuçlarının tek bir ölçüm metodu kullanılarak takip edilmesi gerektiği sonucunu çıkardık. Ayrıca SDBY’li hastalardaki PTH ölçümündeki metodlar arasındaki farklılığın, antikorların spesifitesine ve standartizasyon ve kalibratörlerin farklılığından meydana geldiği ve bu sorunun ancak uluslar arası bir referans paneli oluşturularak aşılabilceği sonucuna vardık. Tüm intak PTH ölçümleri tek bir referans materyali ile kalibre edilmeli ve SDBY teşhis ve tedavisinde, kemik biyopsisi invazif ve komplikasyonlu olduğu için, PTH ölçüm metodları kullanılmalıdır.

VI. ÖZET

AMAÇ: KBY, ilerleyici nefron kaybı sonucunda böbrek fonksiyonlarının giderek bozulması ile ortaya çıkan bir tablodur. KBY geliştikten sonra, renal hasarı başlatan sebep ne olursa olsun, yavaş ve ilerleyici böbrek hasarı sonucu SDBY gelişmektedir. KBY’de sekonder hiperparatiroidizme (SHPT) bağlı osteodistrofilerin profilaktik tedavisi aktif vitamin D (Calcitrol) ve kalsiyum ile mümkün olmaktadır. Tedaviye başlamada ve takibinde PTH konsantrasyonu karar verdirici etkenler arasındadır. D vitaminin aşırı miktarda alımı hiperkalsemi, kalsemik arteriyopati ve metastatik kalsifikasyon gibi ciddi yan etkilere sahip olduğundan, PTH supresyonunun takibinde PTH ölçümü kritik bir öneme sahiptir.

MATERYALLER VE METODLAR: Çalışma kapsamına, hemodializ hastası olan 17–80 yaş arasındaki 88 hasta alındı. Bunların 53’ü erkek, 35’i de kadındı. Çalışma grubundan ayrıca bir kontrol grubu kullanılmadı. PTH, ELISA, ECLIA metodları ile; PTHrp, ELISA ile Ca ve P düzeyleri de spektrofotometrik yöntemle ölçüldü.

BULGULAR: Hemodiyaliz hastalarında 3 farklı yöntem ile yaptığımız PTH analizi sonunda, IRMA sonucu ile ECLIA ve ELISA sonuçları arasında anlamlı bir fark görüldü ($p < 0.01$). ELISA ile ECLIA sonuçları arasında anlamlı bir fark görülmedi. IRMA-ECLIA ve IRMA- ELISA arasında sırası ile % 200 ve % 284 fark bulundu.

SONUÇ: Sonuç olarak çalışmamızda, hemodiyaliz hastalarındaki 3 farklı ölçüm metodu ile ölçülen PTH değerleri arasında her ne kadar güçlü bir korelasyon bulunsa da; sonuçların iyi bir şekilde takibi ve güvenilir olması açısından bir hastanın sonuçlarının tek bir ölçüm metodu ile takibinin yapılması gerektiği sonucunu çıkardık. PTHrP’si yüksek hastaların; diğer PTH, Ca, P sonuçları arasında ise bir anlamlılık ve korelasyon bulamadık. İleride PTH, PThrP ve Ca arasındaki ilişkinin araştırılması gerekli olduğunu düşünüyoruz.

VII. SUMMARY

PURPOSE: Chronic Renal Failure (CRF) is a process characterized with progressive renal dysfunction because of loss of nephrons. When progression of CRF is complete, end-stage renal failure (ESRD) occurs because of slow and progressive renal damage which is began by any reason. Prophylactic treatment of osteodystrophies, which is caused by secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure is possible with active vitamin D (Calcitrol) and calcium. The PTH concentration is one factor which is used for initiating and surveillance of treatment. There is critical importance of PTH measurements for surveillance of PTH suppression because of the fact that using vitamin D has serious side effects such as hypercalcemia, calcemic arteriopathy and metastatic calcification.

MATERIALS AND METHODS: Total 88 (53 male, 35 female) hemodialysis patients between 17- 80 years old were enrolled to study. Control group is not used. PTH was measured with different methods and results were found as follows: IRMA result was different from ECLIA and ELISA ($p < 0.01$). But ECLIA and ELISA results were not significantly different. Difference between IRMA and ECLIA was 200%, between IRMA and ELISA was 284%.

CONCLUSION: In conclusion, despite strong correlations among PTH values measured 3 different methods were found, we suggested that the measurements of patient should be done only one method because of surveillance of results and reliability. We not found correlation among PTH, Ca, P results in patients with elevated PTHrP. We concluded that the correlation to understand between these, further studies required.

VIII. KAYNAKLAR

- 1- Gensure Robert C, Gardella Thomas J, Juppner. Parathyroid hormone and Parathyroid hormone-related peptide, and their receptors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2005; 328: 666- 678.
- 2- Souberbielle JC, Friedlander G, Comier C. Practical Consideration in PTH testing. *Clinical Chimica Acta* 2006; 366: 81-89.
- 3- D' Amour P, Brossard J. H, Rousseau L, et all. Structure of non (1-84) fragments secreted by parathyroid glands in primary and secondary hyperparathyroidism. *Kidney International* 2005; 998-1007.
- 4-Faugere MC, Gao P, Geng Z, Cantor TL, Malluche HH. The 1–84: 7–84 ratio for determination of bone turnover in chronically dialyzed patients. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 256-259.
- 5- Bilezikian JP(ed). *The parathyroids: basics and clinical Concepts*. Philadelphia: Lippincot,1994.
- 6- Endres DB, Villanueva R, Sharp CF Jr, et all. Measurement of parathyroid hormone. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1989; 18: 611-629.
- 7- Cantor T, Scheibel S, Glowacki, P. Nonalignment of the Nichols IRMA Intact PTH Assay with the Nichols Advantage Intact PTH Assay: Implications for K/DOQI Dosing for Vitamin D Sterols Guidelines. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 587-589
- 8- Woltz M, Schmetter L, Dorner G, et all: Hemodynamic effects of Parathyroid hormone-related peptide (1–34) in Humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997; 82: 2548-2551.

9- Lazarus JM, Brenner BM. In: Fauci AC, Braunwald E, İssebacher KJ (eds), Mc Graw H. Harrison's principles of internal medicine: Chronic renal failure, 2002: 1513-1519.

10- United States Renal Data System Annual Data Report. American Journal of Kidney Diseases. 1996; 28: 1-165.

11- May RC, Kelly RA, Mitch WE: Pathophysiology of Uremia. In: Brenler BM, Rector FC (Eds) W.B Saunders Company. The Kidney. Philadelphia 1991; 2: 1997-2018.

12-Jacobson HR: Chronic renal failure and pathophysiology. Lancet 1991; 338: 419-423.

13- U.S. Renal Data System. Annual Data Report. The National Institutes of Health, National Institutes of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Bethesda, 2001.

14- Murhty BV, Pereira BJ: A 1990s perspective of hepatitis C, human immunodeficiencyvirus, and tuberculosis infection in dialysis patient. Semin Nephrol 1997; 17: 346-363.

15- Rezende L.T. T, Cuppary I, Carvalho A.B, Canziani M.E. F, Manfredi S.R, Cendroglo M, Sigulem D.M, Draibe S.A. Nutritional status on hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. Brazilian Journal of medical and Biological Research 2000; 33: 1305-1311.

16- Milne B. D. Eser Elementler (1. baskı). In: Burtis C.A. Ashwood E.R. Tietz. Eds Klinik Kimyada Temel İlkeler Palme Yayıncılık, Ankara. 2005: 568-80.

- 17- Martinez I, Saracho R, Montenegro J, Llach F. The importance of dietary calcium and phosphorus in the secondary hyperparathyroidism of patients with early renal failure. J Am Kidney Dis. 1997; 29: 496-502.
- 18- Ereğ E, Serdengeçti K, Süleymanlar G. Türkiye’de Nefroloji- Diyaliz transplantasyonu. Türk Nefroloji Derneği Yayınları, İstanbul 2004; 28-62.
- 19- Boelaert JR, Cantinieaux BF, Hariga C, Fondu PG. Recombinant erythropoietin reverses polymorphonuclear granulocyte dysfunction in iron-overload dialysis patients. Nephrol Dial Transplant 1990; 5: 504-507.
- 20- Lazarus RM H. JM. Initiation of dialysis. J Am Soc Nephrol 1995 6: 1319.
- 21- Ereğ E. (Ed) Ereğ Nefroloji. (1. baskı), Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2005.
- 22- Akpolat T, Ulaş C: Hemodiyaliz El kitabı, Erciyes Üniversitesi Matbaası, Kayseri, 1997.
- 23- Levy J, Morgan J, Brown E. (çev ed. Uslan İ.) SDBH komplikasyonları: Kemik Hastalığı, in: Oxford Diyaliz El kitabı. Nobel Kitabevi İstanbul. 2002; 454-70.
- 24- Delmez A, Kaye M,(çeviri: Kayacan M.S.) Kemik Hastalığı. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS (çev ed: Bozfakıoğlu S.) Diyaliz El Kitabı 3. Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi. 2003; 530-548.
- 25- Yamashita H, Gao P, Cantor T, Noguchi S, Uchino S, Watanabe S, Ogawa T, Kawamoto H, Fukagawa M. Comparison of parathyroid hormone levels from the intact and whole parathyroid hormone assays

after parathyroidectomy for primary and secondary hyperparathyroidism. Surgery 2004; 135: 149-56.

26- Hörl W.H. The clinical consequences of secondary hyperparathyroidism: focus on clinical outcomes. Nephrol Dial Transplant 2004; 5: 2-8.

27- Boran M, Doruk E, Gönenç F, Çetin S. Hemodiyaliz hastalarında yüksek doz 1,25 (OH)₂ kolekalsiferol uygulaması ve kullanılan değişik membranların serum Paratiroid Hormon (PTH) Düzeyi Üzerine Etkisi. Türk nefroloji Derneği Transplantasyon dergisi. 1995; 2: 91-96.

28- Cburn JW, Llach F. Renal osteodistrofy and maintenance dialysis in replacement of renal founction by dialiysis Drucker W, Parsous FM, Maher CF (eds), Martinus. Nijhoff publishers dortrecht 1990; 679-680.

29- Değerli Ü. Tiroid hastalıkları. Genel Cerrahi, 6. baskı. Editör: Değerli Ü. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 1998, 217-226.

30- Silver J, Naveh-Marry H, et all. Regulation by vitamin D metabolites of parathyroid hormone gene transcription in vivo in the rat. J Clin Invest 1986; 78: 1296-1301.

31- Slatopolsky E, Brown A, Dusso A. Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. Kidney Int 1999; 56: 14-19.

32- Slatopolsky E, Finch J, Clay P. A novel mechanism for skeletal resistance in Uremia. Kidney International 2000; 58: 753-61.

33- C.Norris K, Friedman T.C. The role of vitamin D in mild to moderate chronic kidney disease 2002; 13: 189-194.

34- Onat T, Emerk K, Sözmen E.Y. Hormonlar. İnsan Biyokimyası. Palme Yayıncılık, Ankara: 2002: 467-477.

35- Mihai R, Farndon JR. Parathyroid disease and calcium metabolism. *Br J Anaesth* 2000; 85: 29–43.

36- Guyton A, Eds. Hall J. *Textbook Medikal Physiology*. Gökhan N., Çavuşoğlu H.) *Endokrinoloji ve Üreme. Paratiroid Hormonu*. In: *Tıbbi Fizyoloji: Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 1989: 1364–1368*.

37- Camiileet G, Van Cromphaut S, Daci E, Maes C, Boullion R, Disorders of Ca hemostasis. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003; 17: 529–546.

38- Herrera MF, Gamboa-Domingez A. Parathyroid embryology, anatomy, and pathology. In: *Textbook of Endocrine Surgery* Ed.Orlo H. Clark, Quan-Yang Duh. WB Saunders Comp. Philadelphia 1997: 277–283.

39- Ritz E, Stefanski A. Endocrine disturbances of calcium metabolism in uremia: renal causes and systemic consequences. *Kidney Int.* 1996; 49: 1765–1768.

40- Dilek K. M, Güllülü M, Dinç H, Dalkılıç E, Savcı G, Yurtkuran M. Kronik Hemodiyaliz Olgularında Renal Osteodistrofi Sıklığı. *Türk nefroloji ve transplantasyon dergisi* 1995; 44- 49.

41- Goodman WG, Coburn JW, Ramirez JA, Slatopolsky E. Renal osteodystrophy in adults and children. In: Favus MJ (ed) *Primer on the Metabolic Bone Diseases and disorders of mineral metabolism*. Lippincott-Raven/Philadelphia. New York 1996; 304–323.

42- Seyrek N. Diyaliz Hastalarında Renal Osteodistrofinin Takibi ve Tedavisi. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2006; 4: 55-62.

43- Larusiripitat C, Shapiro JI, Chan L, et al. Reduction of remnant nephron hypermetabolism by protein restriction. *Am J Kidney Dis* 1991;

18: 367–374.

44- Alfrey AC. Aluminum metabolism and toxicity in uremia. *J Uoeh* 1987; 9: 123–132.

45- Alfrey AC. Aluminum toxicity in patients with chronic renal failure *Ther Drug Monit* 1993;15: 593–597.

46- Burke SK, Amin NS, Incerti C, et al. Sevelamer hydrochloride (Renagel), a phosphate-binding polymer, does not alter the pharmacokinetics of two commonly used antihypertensives in healthy volunteers. *Clin Pharmacol* 2001; 41: 199–205.

47- Nagona N, Miyata S, Obana S, et al. Sevelamer hydrochloride (Renagel), a non-calcaemic phosphate binder, arrests parathyroid gland hyperplasia in rats with progressive chronic renal insufficiency. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1870–1878.

48- Slatopolsky EA, Burke SK, Dillon MA. Renagel, A nonabsorbed calcium and aluminum free phosphate binder, lowers serum phosphorus and parathyroid hormone. The Renagel study group. *Kidney Intern* 1999; 55: 299–307.

49- Katz BS, Bell NH. The vitamin D endocrine system current concepts and unanswered questions. *Ital J Miner Electrol Metab* 1993; 7: 231–36.

50- Torres P.U. The need for reliable serum parathyroid hormone measurements. *Kidney International* 2006; 70: 240-243.

51- Usman A. Konan A. Sayek İ. Paratiroid Hastalıkları Ed: Sayek İ. Temel Cerrahi. 3. Baskı, Güneş Kitabevi Ankara, 2004: 1631-1648.

52- Brossard J.H. Yamamoto L.N and Amour P.D: PTH Metabolites in Renal Failure: Bioactivity and Clinical Implications. Seminars and Dialysis-2002; 15: 196-201.

53- Lindall AW, Elting J, Ells J, Roos BA. Estimation of biologically active intact parathyroid hormone in normal and hyperparathyroid sera by sequential N-terminal immuno extraction and mid-region radioimmunoasay. J Clin Endocrinol Metab 1983; 57: 1007-1014.

54- Burtis, Carl A. Ashwood Edward R. (Ed.), Aslan D. ve ark. (çev.): Mineral ve Kemik Metabolizması. In: Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler 2005; 797-819.

55- Karakoç D. Hamaloğlu E. Sıvı ve Elektrolit Metabolizması ve Bozuklukları Ed: Sayek İ. Temel Cerrahi. 3. Baskı, Güneş Kitabevi Ankara, 2004; 82-83.

56- Stewler GJ. The physiology of parathyroid hormone-related protein. New Eng J Med 2000; 342: 177-185.

57- Federica Pallotti, Ettore Seregini, Leonardo Ferrari. Diagnostic and Therapeutic aspects of Iatrogenic Hypoparathyroidism. Tumori 2003; 89: 547-549.

58- Kricka L. İmmünokimyasal tekniklerin İlkeler(1. baskı). In: Burtis C.A. Ashwood E.R. (Eds) Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler Palme Yayıncılık, Ankara, 2005 ; 177-195.

59- Mehmetoğlu İ. İmmunolojik Teknikler. In: Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı 3.baskı Konya 2004 ; 70-73.

- 60- Vieira J. G. H. Kunnii I. Nishida S. Evolution of PTH Assays. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50: 621-677.
- 61- D' Amour P, Brossard J.H, Rakel A. Evidence That the Amino-terminal Composition of Non-(1-84) Parathyroid Hormone Fragments Starts before Position 19. *Clinical Chemistry* 2005; 51:169-176.
- 62- Arık N (Ed). *Kronik Böbrek Yetmezliği. Nefroloji Seminerleri 4. Sanofi Yayınları* 1997; 1-118.
- 63- *Harrison's Principles of Internal Medicine(Çeviri) fifteenth edition.* 2004; 1551-1566.
- 64- Silver J, Levi R. Regulation of PTH synthesis and secretion relevant to the management of seconder hyperparathyroidism in chronic kidney disease. *Kidney International* 2005; 95: 8-12.
- 65- Yamamoto L.N. Rousseau L. Brossard J-H. Gao P. Cantor T. D'Amour P. Origin of parathyroid hormone (PTH) fragments detected by intact-PTH assays. *European Journal of Endocrinology* 2002; 147: 123-131.
- 66- Inaba M. Nakatsuka K. İmanishi Y. Watanabe M. Mamiya Y. Ishımura E. Nishizawa Y. Technical and Clinical characterization of the Bio-PTH(1–84) Immunochemiluminometric Assay and Comparison with a second-generation Assay for parathyroid hormone. *Chlinical Chemistry* 2004; 50: 385-390.
- 67- Tanno Y. Yokoyama K. Nakayama M. et all. IRMA (whole PTH) is a more useful assay for the effect of PTH on bone than the Allegro intact PTH assay in CAPD patients with low bone turnover marker: *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 97-98.
- 68- Cantor T, Yang Z, Caralani N, et al: Lack of Comparability of Intact Parathyroid Hormone Measurements among Commercial Assays for End-

Stage Renal Disease Patients: Implication for Treatment Decisions. *Clinical Chemistry* 52, 2006; 9: 1-5.

69- Kao P.C. Van Heerden J.A., Grant C.S., Klee G.G., Khosla S: Clinical Performance of parathyroid hormone immunometric assays. *Mayo Clin. Proc.* 1992; 67: 637-645.

70- Souberbille J. C, Boutten A, Carlier M.C, Chevenne D, Coumaros G, L.Body E, Massart C, Monge M, Myara J, Parent X, Plouvier E, Houllier P. Inter-method variability in PTH measurement: Implication for the care of CKD patients. *International Society of Nephrology* 2006; 345–350.

71- Markus R. J, Goodman W.G, Gao P, Cantor T, Salusky I, Juppner H. A novel Immunoradiometric Assay Detects Full-length Human PTH not Amino-terminally Truncated Fragments: Implications for PTH Measurements In Renal Failure. *The journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007; 4287-4290.

72- Yamashita H, Cantor T, Uchino S, Watanabe S, Ogawa T, Moriyama T, Takamatsu Y, Masafumi Noguchi S. Sequential Changes in Plasma Intact and whole Parathyroid Hormone Levels during Parathyroidectomy for Secondary Hyperparathyroidism. *World J. Surgery* 2005; 29: 169-173.

73- Shidara K, Inaba M, Okuno S, Imanishi Y, Yamakawa T, Ishimura E, Kumeda Y, Nishizawa Y. Influence of nutritional status on serum large N-truncated PTH, but not PTH (1–84) in hemodialysis patients. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2007; 61: 142-147.

74- Mannstadt M, Juppner H. J, Gardella T. Receptors for PTH and PTHrP: their biological importance and functional properties. Review. *Am J Physiol* 1999 ; 277: 665-675.