

UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI
ODDZIAŁ KSZTAŁCENIA PODYPLOMOWEGO
WYDZIAŁU FARMACEUTYCZNEGO
UL. MUSZYŃSKIEGO 1
91-151 ŁÓDŹ

**PRACA DOŚWIADCZALNA W DZIEDZINIE
LABORATORYJNEJ DIAGNOSTYKI MEDYCZNEJ**

MGR MATEUSZ PIGOŃ

**HORMONY TARCZYCY, TSH ORAZ NT-pro-BNP U
CHORYCH DIALIZOWANYCH W PRZEBIEGU
PRZEWLEKŁEJ NIEWYDOLNOŚCI NEREK**

KIEROWNIK SPECJALIZACJI

MGR JOANNA KOWALCZYK

ŁÓDŹ 2009

SPIS TREŚCI

1. Wstęp	3
2. Cel pracy	4
3. Materiały i metody	5
4. Wyniki	6
5. Dyskusja	11
6. Wnioski	15
7. Piśmiennictwo	16

WSTĘP

Stan przewlekłej niewydolności nerek jest przyczyną powstawania i rozwijania się istniejących już chorób układu sercowo-naczyniowego. Jedną z ról nerek jest zachowanie równowagi wodno-elektrolitowej. Rola ta w przypadku znacznego obniżenia się przesączania kłębuszkowego oraz ogólnego uszkodzenia funkcji nefronu jest zmniejszona bądź zniesiona wywołując w krótkim czasie stan zagrożenia życia w wyniku m. in. narastających stężeń substancji toksycznych oraz osmotycznie czynnych. Zaburzeniu ulega równowaga ciśnień onkotycznych pomiędzy łożyskiem naczyniowym a przestrzenią po za naczyniową doprowadzając do przewodnienia organizmu, nadciśnienia i obrzęków. Nadciśnienie jest istotnym czynnikiem rozwoju niewydolności mięśnia sercowego, który to stan jest powszechny u osób z przewlekłą niewydolnością nerek pomimo, że są one regularnie poddawane zabiegowi hemodializy. Jednym z biochemicznych markerów niewydolności mięśnia sercowego jest peptyd natriuretyczny BNP oraz N-końcowy fragment pro-BNP jednak jego stężenia u osób z przewlekłą niewydolnością nerek bez zdiagnozowanej niewydolności krążenia w skali NYHA III/IV znacząco odbiegają od przyjętych dla danej grupy wiekowej wartości referencyjnych.

Wolna frakcja hormonu tarczycy trójiodotyroniny fT3 u osób z przewlekłą niewydolnością nerek leczonych hemodializą znalazła zastosowanie jako czynnik prognostyczny związany z rozwojem niewydolności serca oraz toczących się procesów zapalnych. Obecność znacznych stężeń toksyn mocznicowych oraz podawanie heparyny może mieć wpływ na procesy oznaczania fT3, fT4 oraz TSH przez ich dostępność biologiczną *in vitro* przy udokumentowanej w literaturze zmianie dostępności *in vivo*.

CEL PRACY

Celem pracy jest:

1. Ocena wpływu zabiegu hemodializy na stężenie TSH, fT3, fT4 w odniesieniu do stanu klinicznego
2. Ocena skuteczności NT-pro-BNP jako wskaźnika niewydolności mięśnia sercowego u chorych dializowanych w przebiegu przewlekłej niewydolności nerek
3. Próba określenia stężenia NT-pro-BNP różnicującego osoby z przewlekłą niewydolnością nerek pod kątem obecności u nich stanu niewydolności mięśnia sercowego w stopniu NYHA II/III.

MATERIAŁY I METODY

Dla realizacji celów pracy zgromadzono materiał oraz dane kliniczne od 19 osób leczonych zabiegiem hemodializy w przebiegu przewlekłej niewydolności nerek:

- 19 chorych w wieku 33-73 lat z przewlekłą niewydolnością nerek (na tle kłębuszkowego zapalenia nerek oraz cukrzycy) leczonych hemodializą typu high flux przez okres wielu lat oraz erytropoetyną i preparatami żelaza
 - u 7 pacjentów rozpoznano dodatkowo POCHP
 - u 18 pacjentów stwierdzono nadciśnienie

U wszystkich chorych dwukrotnie pobierano krew „na skrzep”

- bezpośrednio przed hemodializą, przed podaniem heparyny
- po zakończeniu hemodializy
- Grupę odniesienia stanowiło 19 osób w wieku 30-68 lat, u których wykluczono niewydolność nerek oraz choroby serca.

W obu grupach badanych oznaczono TSH, fT3, fT4, NT-pro-BNP metodą ECLIA na analizatorze Cobas 601e. Dla oceny efektywności hemodializy u chorych oznaczono stężenie mocznika przed i po zabiegu. Dla porównania uzyskanych wyników wykorzystano test t-Studenta lub U Manna-Whitney'a. Wyniki poddano analizie „całościowej” oraz po podzieleniu na dwie podgrupy:

- chorych z nieudokumentowaną niewydolnością serca, oznaczonej NYHA (-)
- chorych z udokumentowaną niewydolnością serca w stopniu II/III NYHA

Dokonano porównania wyników TSH, fT3 i fT4 obu grup z wynikami populacji zdrowej.

WYNIKI

Przed hemodializą:

	TSH	fT3	fT4	NT-pro-BNP	MOCZNIK
Średnia	1,72	3,75	15,55	11091,7	119,6
SD	1,44	0,63	2,88	8599,55	28,61
CV	83,5	16,86	18,49	77,53	23,92

Po hemodializie:

	TSH	fT3	fT4	NT-pro-BNP	MOCZNIK
Średnia	1,53	4,38	20,36	14294,17	34,49
SD	1,22	0,81	5,01	11362,36	16,46
CV	79,80	18,39	24,63	79,49	47,73

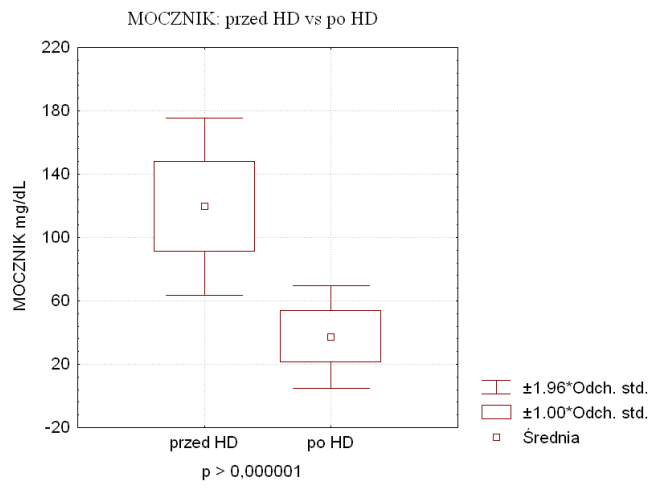
Grupa kontrolna – osoby zdrowe:

	TSH	fT3	fT4
Średnia	1,52	5,03	16,91
SD	0,6	0,52	2,28
CV	39,71	10,42	13,51

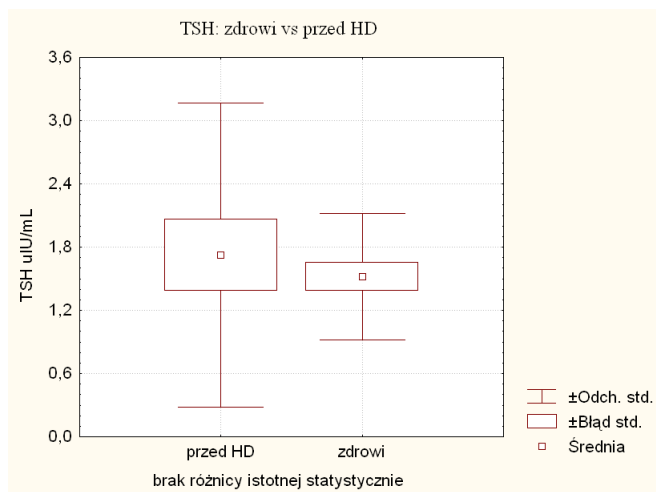
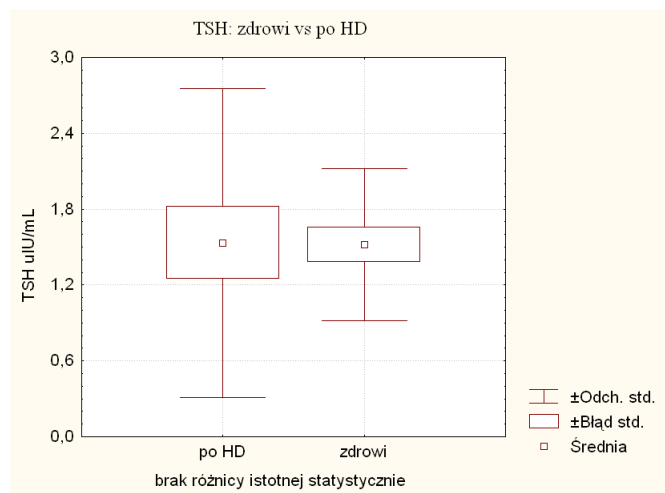
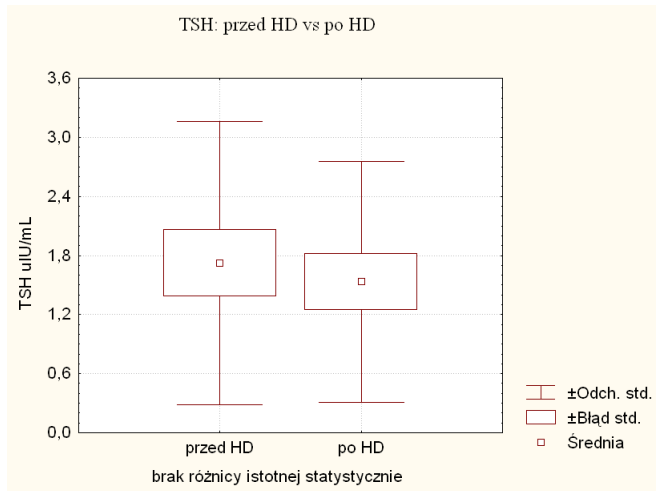
Wartości referencyjne:

TSH: 0,27-4,2 uIU/mL fT3: 3,95 - 6,8 pmol/L fT4: 12 - 22 pmol/L	NT-pro-BNP pg/mL: 18-45 lat: do 97 45-55 lat: do 121 55-65 lat: do 198 65 - 75 lat: do 285 75 i więcej lat: do 526
---	---

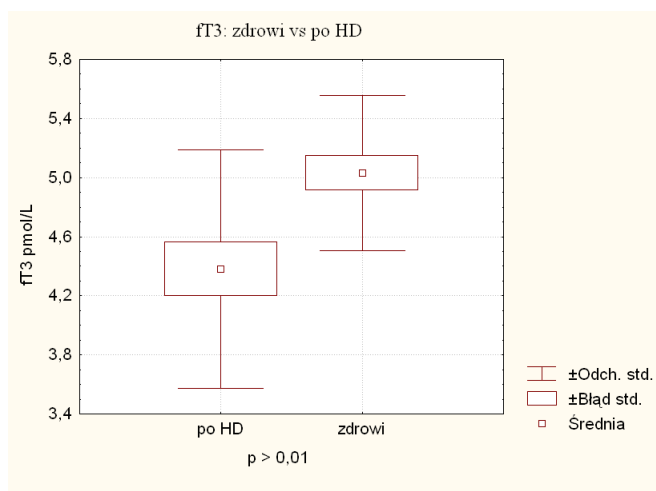
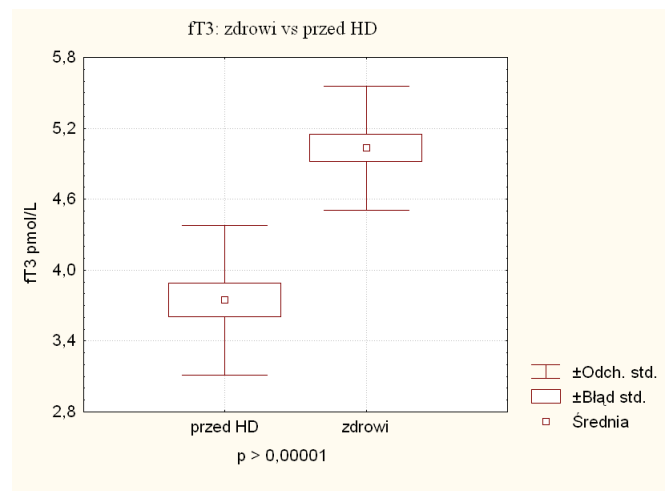
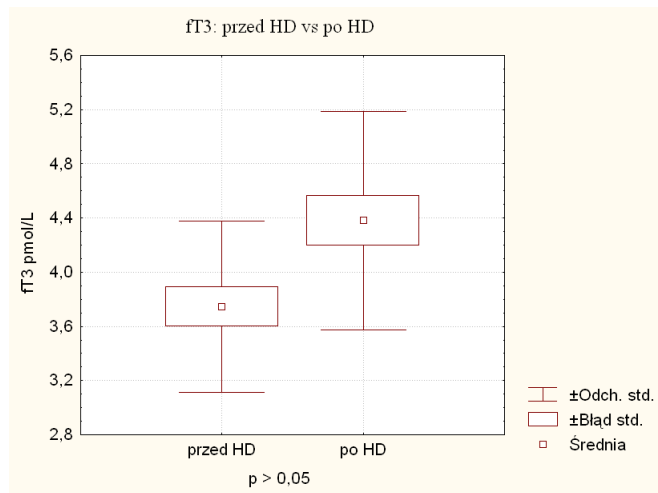
Stężenia mocznika przed i po hemodializie:



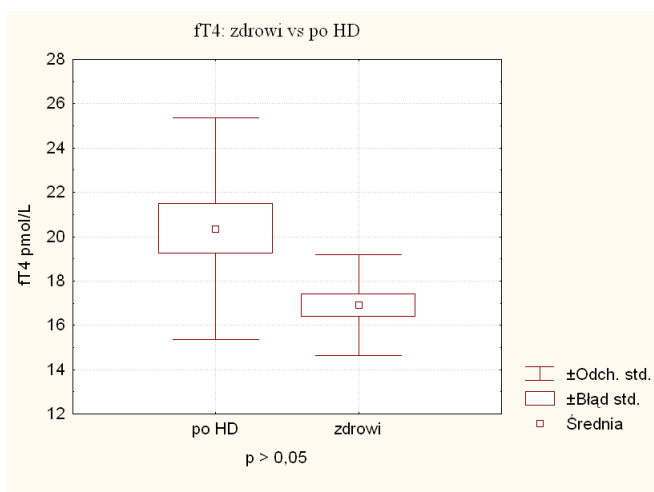
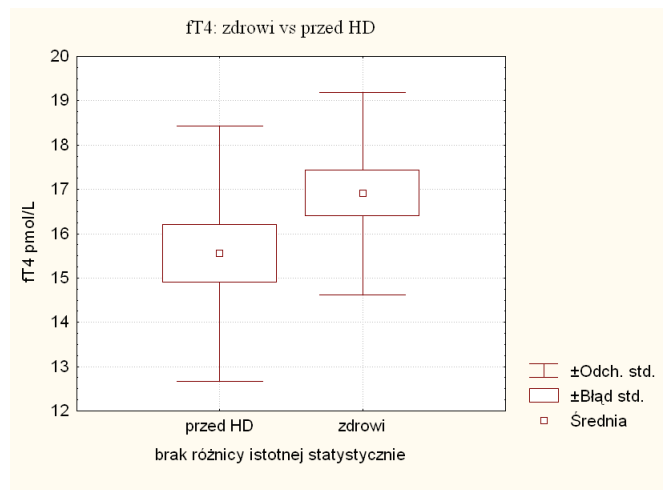
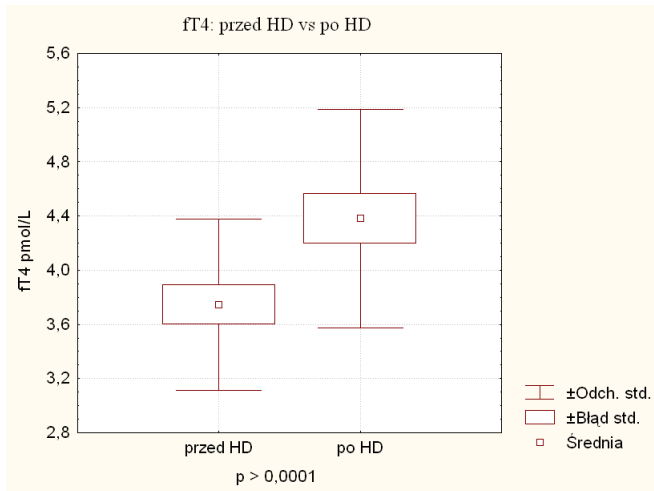
Stężenia TSH:



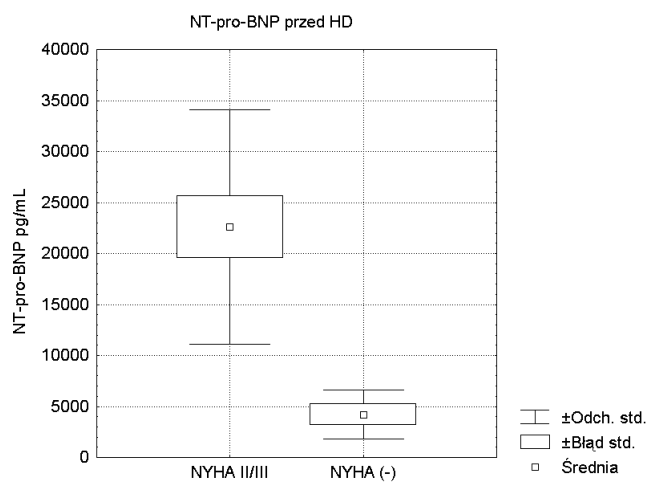
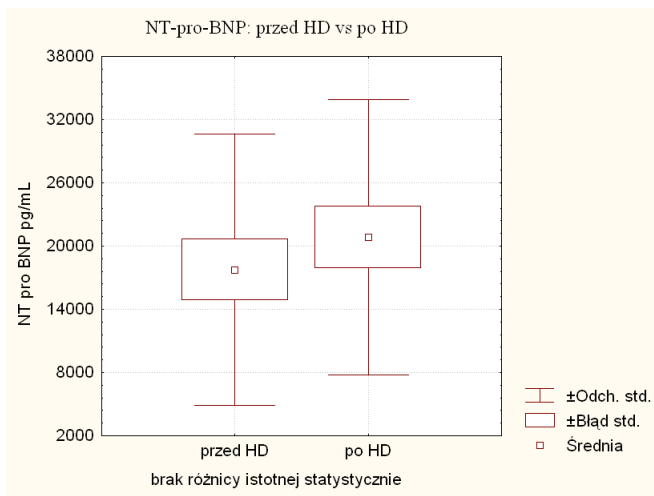
Stężenia fT3:



Stężenia fT4:



Stężenia NT-pro-BNP:



DYSKUSJA

Postępujący wraz z wiekiem, naturalny spadek wydolności układu krążenia ma swe odzwierciedlenie w wartościach NT-pro-BNP w różnych grupach wiekowych. Określenie wartości oczekiwanych określających podwyższony fizjologicznie poziom NT-pro-BNP u osób po 40-50 roku życia jest utrudniony ze względu na wzrastającą populację ludzi, których układ krążenia podlega osłabieniu nie tylko w wyniku starzenia się ale przede wszystkim przez przebyte choroby, nadciśnienie, stres, siedzący tryb pracy, niechęć do aktywnych form wypoczynku oraz używki (np. palenie tytoniu, alkohol). Obecność poważnych chorób jak przewlekła niewydolność nerek sprawia, że ustalone wartości oczekiwane stają się zupełnie nieprzydatne. Jednocześnie pojawia się pytanie jak premedykacja osób dializowanych oraz obecność w ich krążeniu wysokich stężeń toksyn mocznicowych wpływa na dostępność hormonów *in vitro* podczas samego procesu oznaczania ich metodami immunochemicznymi.

Najczęściej wymieniane w literaturze toksyny mocznicowe kwas hipurowy, kwas indoksylowy, kwas 3-karboksy, 4-metylo, 5-propylo, 2-furano propianowy oraz znaczne stężenia substancji-mediatorów zapalenia mogą przyczyniać się do upośledzenia procesu wiązania się hormonów z białkami przez co wpływać znacząco na ich biodostępność [2]. Podobny wpływ ma heparyna stosowana jako lek zapobiegający wykrzepianiu się krwi podczas procesu hemodializy. U osób dializowanych przeważnie obserwuje się przejściowe zmniejszenie się stężenia fT4 w wyniku wzrostu wiązania hormonu przez białka niejako odblokowane dzięki usunięciu toksyn mocznicowych. W przypadku fT3 spadek stężenia w okresie predializacyjnym oraz w trakcie długiego okresu leczenia dializami tłumaczy się spadkiem aktywności enzymów odpowiedzialnych za syntezę hormonu – dejodynaz jodotyroninowych 1 i 2 [2]. Otrzymane wyniki w przypadku fT4 odbiegają od danych dostępnych w literaturze. Stężenia fT4 okazały się wyższe u osób po zabiegu hemodializy w porównaniu z grupą osób zdrowych co może sugerować silny wpływ heparyny na oznaczenie wykonane konkretną metodą (Roche Elecsys, ECLIA). W przypadku fT4 stężenia uzyskane przed hemodializą nie różniły się statystycznie

od populacji zdrowej natomiast po hemodializie stężenia wzrosły ($p > 0,05$). Dla fT3 stężenia były niższe zarówno przed ($p > 0,00001$) i po ($p > 0,01$) hemodializie niż w grupie porównawczej lecz uległy po zabiegu wzrostowi ($p > 0,05$). Obie informacje dotyczące hormonów tarczycy sugerują iż fT3 faktycznie ulega obniżeniu w wyniku obniżonej konwersji enzymatycznej natomiast stężenia fT4 po hemodializie zdają się być trudne do oceny ze względu na wpływ heparyny. Żadna z osób w grupie dializowanych nie miała zdiagnozowanych zaburzeń tarczycy. Niskie stężenia fT3 w tej grupie uznawane są za niezależny czynnik ryzyka zgonu [5]. Pomimo, że zebrane dane z dokumentacji medycznej są zbyt małe dla obróbki statystycznej zaobserwowano większy odsetek zgonów osób z najniższymi poziomami fT3. Obecnie jest dostępnych bardzo niewiele prac dotyczących wpływu toksyn mocznicowych na jakość oznaczeń hormonów tarczycy jednak nie można wykluczyć możliwego ich wpływu co wykazano dodając do surowicy osób zdrowych związki należące do toksyn mocznicowych oraz dokonując oznaczeń metodami rutynowymi i metodą referencyjną równowagi dializacyjnej [1]. Otrzymane wyniki nie dają jednoznacznej odpowiedzi lecz odmienne od opisanego w literaturze zachowanie się stężeń fT4 przed i po hemodializie może być efektem wpływu toksyn mocznicowych na sam przebieg oznaczenia.

Bieżące opracowanie nie wykazało żadnych różnic statystycznych pomiędzy grupami w zakresie stężeń TSH. Wraz z danymi pochodzącymi z dokumentacji medycznej można przypuszczać, że u osób dializowanych w przebiegu przewlekłej niewydolności nerek TSH pozostaje tak samo jak u osób zdrowych dobrym testem przesiewowym zaburzeń tarczycy, których nie udokumentowano dla grupy dializowanej.

NT-pro-BNP będące obiektem badań podlega eliminacji w zdrowych nerkach w przeciwieństwie do BNP, które eliminowane jest z udziałem swoistych receptorów tkankowych oraz neutralne endopeptydazy [9]. Podczas zabiegu hemodializy zarówno BNP jak i NT-pro-BNP ulegają filtracji lecz stopień oczyszczania osocza z peptydów natriuretycznych zależy od rodzaju hemodializy (high flux oraz low flux) [3,9]. Membrany high flux cechują się lepszą skutecznością zarówno dla BNP i NT-pro-BNP natomiast membrany low flux są skuteczne jedynie dla BNP ze względu na jego mniejszą masę cząsteczkową (3,5 kDa, NT-pro-BNP – 8,5kDa) [9]. W związku z naturalnymi drogami eliminacji NT-pro-BNP należy oczekiwać, że u osób cierpiących na przewlekłą niewydolność nerek stężenie NT-pro-BNP będzie

znacznie podwyższone. Wśród osób dializowanych objętych badaniem obecne były zdiagnozowane przypadki niewydolności krążenia o stopniu II/III NYHA. Niestety ilość danych okazała się niewystarczająca do analizy statystycznej testami istotności. Niemniej jednak porównanie średnich (uwzględniając na wykresie odchylenie standardowe oraz błąd standardowy) wyraźnie sugeruje obecność znacznie wyższych stężeń NT-pro-BNP u osób z przewlekłą niewydolnością nerek i zdiagnozowaną niewydolnością układu krążenia niż u osób bez niewydolności krążenia. Na podstawie analizy wykresu można spróbować określić wartość stężenia NT-pro-BNP, która pozwoli szybciej niż inne badania określić stopień zagrożenia bądź zakwalifikować osobę z niewydolnością nerek do grupy chorych z narastającą niewydolnością mięśnia sercowego. Proponuje się określenie wartości progowej dla pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek oraz NYHA (-) w przedziale 7000-10000 pg/mL. BNP uznane jest za lepszy wskaźnik diagnostyczny i prognostyczny zaburzeń mięśnia sercowego niż NT-pro-BNP ze względu na niezależne od nerek drogi eliminacji krążenia lecz NT-pro-BNP pozostaje nadal cennym niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu w całej populacji [4] oraz u osób z przewlekłą niewydolnością nerek [7].

WNIOSKI

1. Pomimo podwyższonych wartości fT4 u osób dializowanych brak jest u nich oznak nadczynności tarczycy. Skuteczna rola TSH jako badania przesiewowego zaburzeń tarczycy u osób dializowanych
2. Niskie wartości fT3 są zgodne z piśmiennictwem a więc i oczekiwaniami spadku fT3 u osób z klinicznymi objawami p.n.n.
3. Jedna na dwie osoby z grupy chorych dializowanych, które zmarły miała najniższą wartość fT3 w grupie przed hemodializą, druga – wartość graniczną
4. Otrzymane inne od obserwowanych w piśmiennictwie i oczekiwanych wartości fT4 nasuwają podejrzenie wpływu kwasów hipurowego, indoloctowego oraz innych toksyn mocznicowych na przebieg oznaczenia hormonów tarczycy (również fT3), możliwe interferencje
5. Stwierdzono brak użyteczności zakresów referencyjnych dla NT-pro-BNP przy ocenie tego parametru u osób dializowanych w przebiegu p.n.n. Propozycja przyjęcia wartości 10000pg/mL jako poziomu rozgraniczającego pacjentów NYHA (+) od NYHA (-)
6. Obecne w piśmiennictwie informacje wykazują przewagę BNP nad NT-pro-BNP jako wskaźnik n niewydolności mięśnia sercowego u osób z p.n.n. ze wskazaniem na główny powód kumulację NT-pro-BNP w krążeniu.

PIŚMIENNICTWO

1. Makoto Litaka. Serum substances that interfere with thyroid hormone assays in patients with chronic renal failure. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998 Jun;48(6):739-46
2. Ewa Filipowicz. Zaburzenia czynności tarczycy u chorych z przewlekłą chorobą nerek (PCHN) ze szczególnym uwzględnieniem nadczynności tarczycy i leczenia jodem (I^{131}). *Nefrol. Dial. Pol.* 2007, 11, 74-77
3. Zhenlu Zhang, Shuzheng Cao, Zejin Liu. Evaluations of BNP and NT-pro-BNP in the Diagnosis of Heart Failure in Patients with Renal Dysfunction. American Association of Clinical Chemistry Annual Meeting, Washington, D.C, July 27-31-2007
4. Aldo Clerico, Comparison of the diagnostic Accuracy of Brain Natriuretic Peptide (BNP) and N-Terminal Part of the propeptide of BNP Immunoassays in Chronic and Acute Heart Failure: A Systematic Review. *Clin. Chem.* 53:5, 813-822 (2007)
5. Zoccali C. Low triiodothyronine and survival in end-stage renal disease. *Kidney international*. 01/09/200609/2006; 70(3):523-8.
6. Zoccali C. Low triiodothyronine and cardiomyopathy in patients with end-renal disease. *J Hypertens*. 2006 Oct;24(10):2039-46.
7. Gorst-Rasmussen a. NT-pro-BNP is an independent predictor of mortality in patients with end-stage renal disease. *Clin Nephrol*. 2009 Apr;71(4):380-6.
8. Racek J. Brain natriuretic peptide and N-terminal proBNP in chronic haemodialysis patients. *Nephron Clin Pract*. 2006;103(4):c162-72.
9. Hans Günther Wahl. Elimination of the Cardiac Natriuretic Peptides B-Type Natriuretic Peptide (BNP) and N-Terminal proBNP by Hemodialysis. DOI: 10.1373/clinchem. 2003.030692 Technical Briefs