

Piotr MYŚLIWIEC<sup>1</sup>  
 Hanna MYŚLIWIEC<sup>2</sup>  
 Dariusz PAWLAK<sup>3,6</sup>  
 Jacek DADAN<sup>1</sup>  
 Włodzimierz BUCZKO<sup>4</sup>  
 Krystyna PAWLAK<sup>5</sup>

## Tryptofan i jego metabolity u pacjentów po transplantacji nerki

### Tryptophan and its metabolites in renal allograft recipients

<sup>1</sup>I Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej  
 Kierownik: Dr hab. Jacek Dadan

<sup>2</sup>Klinika Dermatologii i Wenerologii  
 Kierownik: Prof. dr hab. Bożena Chodynicka

<sup>3</sup>Samodzielna Pracownia Farmakoterapii Monitorowanej  
 Kierownik: Dr hab. Dariusz Pawlak

<sup>4</sup>Zakład Farmakodynamiki  
 Kierownik: Prof. dr hab. Włodzimierz Buczek  
 Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

<sup>5</sup>Klinika Nefrologii i Transplantologii  
 Kierownik: Prof. dr hab. med. Michał Myśliwiec

<sup>6</sup>Katedra Nauk Medycznych  
 Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

#### Dodatkowe słowa kluczowe:

3-hydroksykynurenina  
 kynurenina  
 kwas chinolinowy kwas kinurenowy  
 przewlekła choroba nerek  
 przeszczepienie nerki  
 tryptofan

#### Additional key words:

3-hydroxykynurenine  
 chronic renal failure  
 kynurenic acid  
 kynurenine  
 quinolinic acid  
 renal transplantation  
 tryptophan

**Cel:** Zaburzenia metabolizmu aminokwasów są często spotykane w zaawansowanych stadiach przewlekłej choroby nerek i częściowo ustępują po transplantacji nerki. Tryptofan (TRP) jest egzogennym aminokwasem, z którego, na drodze enzymatycznych przemian, syntetyzowana jest kinurenina (KYN). Zmiany jej metabolizmu mogą prowadzić do licznych zaburzeń w tym: zmian neurologicznych, nadciśnienia tętniczego i niedokrwistości. Celem pracy było porównanie obwodowego układu kinureninowego u 28 biorców przeszczepu nerki (12 kobiet i 16 mężczyzn) wobec 10 chorych ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych hemodializami oraz 10 zdrowych osób. **Metody:** Pomiar osoczkowego stężenia TRP, KYN, 3-hydroksykynureniny (3HKYN), kwasu kinurenowego (KYNA) i kwasu chinolinowego (QA) wykonano techniką chromatografii cieczowej wysokociśnieniowej. **Wyniki:** U chorych ze schyłkową niewydolnością nerek zaobserwowano istotne zmniejszenie osoczkowego stężenia TRP. Zmianom tym towarzyszył jednoczesny wzrost stężenia KYN, 3-HKYN, KYNA oraz QA. Przeszczepienie nerki normalizowało stężenie TRP, a także powodowało istotne statystycznie obniżenie stężenia badanych pochodnych KYN w porównaniu z grupą chorych ze schyłkową niewydolnością nerek, pomimo utrzymującego się ich podwyższenia w porównaniu z grupą kontrolną. W przeprowadzonej analizie statystycznej wykazano obecność ujemnej korelacji pomiędzy stężeniem TRP a stężeniem kreatyniny i mocznika we krwi. **Wnioski:** Przeszczepienie nerki powoduje podwyższenie stężenia TRP i bardzo duże zmniejszenie stężenia KYN oraz jej metabolitów we krwi, ale nie prowadzi do ich pełnej normalizacji. Ustępowanie niektórych objawów schyłkowej niewydolności nerek po transplantacji nerki, takich jak: zaburzenia neurologiczne, nadciśnienie tętnicze i niedokrwistość może być związane z obniżeniem stężenia we krwi metabolitów KYN. Tylko stężenie TRP korelowało ze stopniem niewydolności nerki przeszczepionej.

**Aim:** Disturbances in amino acids metabolism are common in chronic renal failure and subside partially after renal transplantation. Tryptophan (TRP) is one of the most important exogenous amino acids. Its main derivative is L-kynurenine (KYN). Disorders in the TRP metabolism via kynurenine pathway may lead to neurologic disturbances, hypertension and anaemia. The aim of this study was to assess peripheral kynurenine pathway in 28 renal allograft recipients (RAR) (12 women and 16 men) in comparison to 10 hemodialysed patients with chronic renal failure (CRF) and 10 healthy subjects. **Methods:** TRP, KYN, 3-hydroxykynurenine (3-HKYN), kynurenic acid (KYNA) and quinolinic acid (QA) were determined in plasma using high performance liquid chromatography technique. **Results:** The plasma concentration of tryptophan in RAR was not significantly different from the control group, but it was almost twice higher than in CRF. There was an increase in most of kynurenine metabolites in RAR as compared to healthy subjects, although not as high as in CRF. We found a significant negative correlation between TRP and serum concentration of urea and creatinine as well as a positive correlation with GFR. **Conclusions:** Kidney transplantation tends to normalize TRP level and markedly lowers blood concentration of kynurenine and its main derivatives. A significant negative correlation was found between TRP level and the concentration of urea and creatinine. Lowering of the KYN metabolites level may play a role in lessening uremic neurological symptoms as well as hypertension and anemia in kidney graft recipients.

Adres do korespondencji:  
 Piotr Myśliwiec  
 I Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej  
 Uniwersytecki Szpital Kliniczny  
 ul. M. Skłodowskiej-Curie 24a  
 15-276 Białystok  
 Tel.: (85) 746 86 72; Fax: (85) 746 86 20  
 e-mail: mpiotr@umwb.edu.pl

## Wstęp

Przewlekła choroba nerek (PChN) prowadzi do zaburzenia w przebiegu przemian enzymatycznych wielu aminokwasów [11,16,28]. TRP odgrywa wśród nich szczególną rolę. W organizmie człowieka wykorzystywany jest do biosyntezy białka (około 4-5%), niewielka jego część jest przekształcana w serotoninę (około 1%), natomiast ogromna większość, bo aż 93-94%, ulega przemianom metabolicznym w szlaku kinureninowym [31] (rycina 1), prowadzącym między innymi do powstawania kwasu nitotynowego [13].

Nerki w dwojaki sposób uczestniczą w regulacji stężenia TRP oraz jego metabolitów w ustroju. Z jednej strony, usuwają z krwiobiegu ich nadmiar, z drugiej zaś – produkują enzymy katalizujące przemiany metaboliczne TRP i jego pochodnych [7]. W PChN dochodzi do kumulacji metabolitów szlaku kinureninowego: KYN, 3-HKYN, KYNA, QA, przy jednoczesnym zubożeniu w TRP [12,14,23,24,28,32]. Wzrost stężenia metabolitów szlaku kinureninowego jest proporcjonalny do stopnia niewydolności nerek [28]. Hemodializa prowadzi do obniżenia stężenia wszystkich kinurenin [20,22,28], jednak wartości te są nadal istotnie wyższe niż u osób zdrowych [19].

W badaniach na zwierzęcym modelu PChN stwierdzono, że stężenie TRP ulega obniżeniu, a poziom KYN, 3-HKYN, KYNA oraz QA rośnie nie tylko we krwi, ale również w tkankach wątroby, nerek, płuc, jelita oraz śledziony [21,32]. Do nagromadzenia KYN oraz 3-HKYN dochodzi również w tkance mózgowej [28,34,35]. W związku z własnościami neurotoksycznymi obydwu tych metabolitów [15], mogą one przyczynić się do zaburzeń neurologicznych stwierdzanych w PChN. Inną potencjalną neurotoksyną jest QA [25,31], ulegający znacznej kumulacji nie tylko w PChN [17,21,23], ale także u pacjentów po przeszczepieniu nerki [14]. Znane są także własności neuroaktywne KYNA [31].

QA oraz 3-HKYN może także uczestniczyć w patogenezie niedokrwistości w PChN. Zaobserwowano ujemną korelację pomiędzy stężeniem 3-HKYN a parametrami hematologicznymi, takimi jak: hematokryt, stężenie hemoglobiny oraz liczba erytrocytów. Zmianom tym towarzyszyło niewielkie obniżenie poziomu erytropoetyny (EPO) w osoczu krwi. W badaniach przeprowadzonych w warunkach *in vitro* autorzy wykazali, że zarówno 3-HKYN, jak też QA hamuje uwalnianie EPO z komórek HepG2, a zatem 3-HKYN oraz QA mogą przyczynić się do zmniejszenia syntezy erytropoetyny [17].

Opisywano także wpływ KYN, 3-HKYN oraz QA na nasilenie stanu zapalnego, stresu oksydacyjnego oraz miażdżycy w PChN. U chorych ze schyłkową niewydolnością nerek wykazano dodatnią korelację pomiędzy KYN i QA a markerami stanu zapalnego, stresu oksydacyjnego oraz nasileniem zmian miażdżycowych. Ponadto zaobserwowano w wieloczynnikowej analizie regresji, że QA i stosunek QA/KYN jest niezależnie związany z nasileniem zmian miażdżycowych w grupie chorych z PChN [23].

*Rudziłe* i wsp. [27] sugerowali udział

Tabela I

Stosunek stężenia osoczowego wybranych metabolitów tryptofanu (TRP). KYN - kinureнина, 3HKYN - 3-hydroksykinureнина, KYNA - kwas kinurenowy, QA - kwas chinolinowy. Wartości podano jako średnia. Znamienne statystycznie różnice w stosunku do grupy kontrolnej oznaczono jako: \*\* p<0,01, \*\*\* p<0,001; w stosunku do grupy chorych z przewlekłą chorobą nerek (PChN): ^^ p<0,01, ^^ p<0,001.

The ratios of plasma concentrations of chosen metabolites of tryptophan (TRP). kynurenine (KYN), 3-hydroxykynurenine (3HKYN) kynurenic acid (KYNA) and quinolinic acid (QA) in all groups studied. Values are given as the means. Significant differences vs control: \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001; vs chronic renal failure: ^^ p<0.01, ^^ p<0.001.

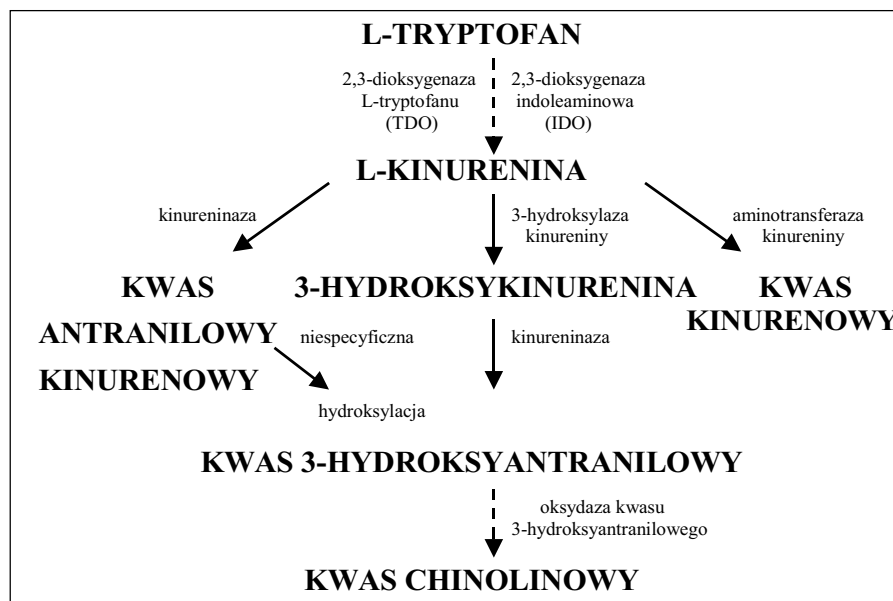
	kontrola	PChN		po przeszczepieniu nerki	
KYN/TRP	0,061	0,306	***	0,102	*** ^^
3HKYN/KYN	0,032	0,115	***	0,065	*** ^^^
KYNA/KYN	0,012	0,161	***	0,018	** ^^^
QA/KYN	0,275	2,110	***	0,676	*** ^^^

Tabela II

Korelacje pomiędzy stężeniami osoczowymi badanych metabolitów oraz wybranymi wskaźnikami klinicznymi i laboratoryjnymi u pacjentów po przeszczepie nerki (znamienne korelacje podano tłustym drukiem). R - współczynnik Spearmana; TRP - tryptofan, KYN - kinureнина, 3HKYN - 3-hydroksykinureнина, KYNA - kwas kinurenowy, QA - kwas chinolinowy.

Correlations between plasma concentrations of the metabolites studied and selected clinical and laboratory data in renal allograft recipients (significant correlations in bold type). R-Spearman's index; TRP - tryptophan, KYN - kynurenine, 3HKYN - 3-hydroxykynurenine, KYNA - kynurenic acid, QA - quinolinic acid.

	TRP	KYN	3HKYN	KYNA	QA
czas po przeszczepieniu nerki	R=-0,15 p>0,05	R=0,32 p>0,05	R=0,06 p>0,05	R=0,65 p<0,001	R=0,51 p<0,01
filtracja kłębuszkowa (GFR)	R=0,64 p<0,001	R=-0,15 p>0,5	R=-0,39 p>0,5	R=-0,25 p>0,5	R=-0,18 p>0,5
mocznik w surowicy	R=-0,39 p<0,5	R=0,20 p>0,5	R=0,33 p>0,5	R=0,33 p>0,5	R=0,36 p>0,5
kreatynina w surowicy	R=-0,447 p<0,5	R=0,391 p<0,5	R=0,17 p>0,5	R=0,35 p>0,5	R=0,30 p>0,5



Rycina 1

Schemat szlaku kinureninowego. Linia przerywaną oznaczono przemianę dwuetapową, której drugi etap katalizowany jest przez enzym będący w nadmiarze lub nieenzymatycznie.

The scheme of kynurenine pathway. Dashed line was used to indicate 2-stage transformation, the second stage being catalysed by enzyme in excess or nonenzymatically.

KYN w powstawaniu zaburzeń rytmu serca, a także nadciśnienia tętniczego, związany z uszkodzeniem komórek mięśnia sercowego i nasileniem działania presyjnego noradrenaliny oraz serotoniny.

Przeszczepienie nerki jest nie tylko najtańszą, ale też najwygodniejszą dla pacjentów metodą leczenia nerkozastępczego [36, 38]. Celem pracy było kompleksowe zbadanie stężenia TRP i metabolitów szlaku kinu-

reninowego (KYN, 3-HKYN, KYNA oraz QA) u chorych po przeszczepieniu tego narządu.

## Materiał i metody

Badania przeprowadzono u 28 biorców przeszczepu nerki leczonych w Poradni Transplantacyjnej w Białymstoku, 10 chorych hemodializowanych z powodu schyłkowej niewydolności nerek w Klinice Nefrologii i Transplantologii Akademii Medycznej w Białymstoku oraz 10 zdrowych ochotników.

Wśród biorców przeszczepu nerki było 16 mężczyzn oraz 12 kobiet. Średnia wieku wynosiła 41,7 lat (od 24 do 67 lat). Pacjenci byli od 1 miesiąca do 12 lat po przeszczepieniu alogenicznej nerki (średnio 2 lata i 5 miesięcy). Stężenie kreatyniny w surowicy krwi wynosiło u nich od 0,62 do 4,32 mg/dl (średnio 1,64), a stężenie mocznika w surowicy krwi: 24,3 do 125 mg/dl (średnio 64,5). Pierwotną przyczyną PChN były: przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek (n=15), przewlekłe odmiedniczkowe zapalenie nerek (n=2), nefropatia cukrzycowa (n=2), wielotorbielowate zwyrodnienie nerek (n=1), nefropatia nadciśnieniowa (n=1). U pozostałych 7 chorych nie udało się ustalić etiologii PChN.

Wykluczono wszystkie osoby z klinicznymi lub laboratoryjnymi objawami zakażenia lub ostrej niewydolności przeszczepionej nerki. Wszyscy biorcy przeszczepu nerki otrzymywali w momencie badania doustnie leki immunosupresyjne. Większość pacjentów (26 z 28) miała zastosowaną terapię potrójną: prednizon (Encorton w dawce od 7,5 do 25, średnio 11 mg/dobę), azatiopryna (Imuran w dawce od 10 do 200, średnio 98 mg/dobę) oraz cyklosporyna (Sandimmun-Neoral – od 175 do 500, średnio 328 mg/dobę w 2 dawkach podzielonych). Jeden z chorych nie był leczony cyklosporyną, a inny – azatiopryną. Ponadto, 23 pacjentów po przeszczepieniu nerki otrzymywało leki hipotensyjne, najczęściej w terapii łączonej z 2 lub 3 preparatami (blokery kanałów wapniowych, inhibitory konwertazy angiotensyny, beta-blokery, diuretyki). Z innych leków wymienić należy: Ranigast (7 pacjentów), nityraty (4 pacjentów), doustne preparaty żelaza (4 pacjentów), preparaty wapnia (2 pacjentów), insulinę (2 pacjentów). Pojedynczy pacjenci otrzymywali preparaty potasu lub magnezu, kwas acetylosalicylowy, amidaron lub doustny antykoagulant.

W grupie chorych hemodializowanych z powodu PChN było 6 mężczyzn i 4 kobiety w wieku od 25 do 71 (średnio 54,4) lat. Stężenie kreatyniny w surowicy wynosiło od 5,31 do 12,54 (średnio 8,28) mg/dl; stężenie mocznika – od 97,8 do 153,2 (średnio 123,9) mg/dl. Przyczyną niewydolności nerek były w tej grupie: kłębuszkowe zapalenie nerek (4 osoby), torbielowatość nerek lub odmiedniczkowe zapalenie nerek (po 3 osoby). Wszyscy chorzy byli leczeni hemodializami 3 razy tygodniowo po 4 ± 0,5 godziny.

Grupę kontrolną stanowiło 10 ochotników (7 kobiet i 3 mężczyzn) w wieku od 30 do 55 (średnio 37,4) lat, którzy na 10 dni przed pobraniem krwi nie przyjmowali żadnych leków.

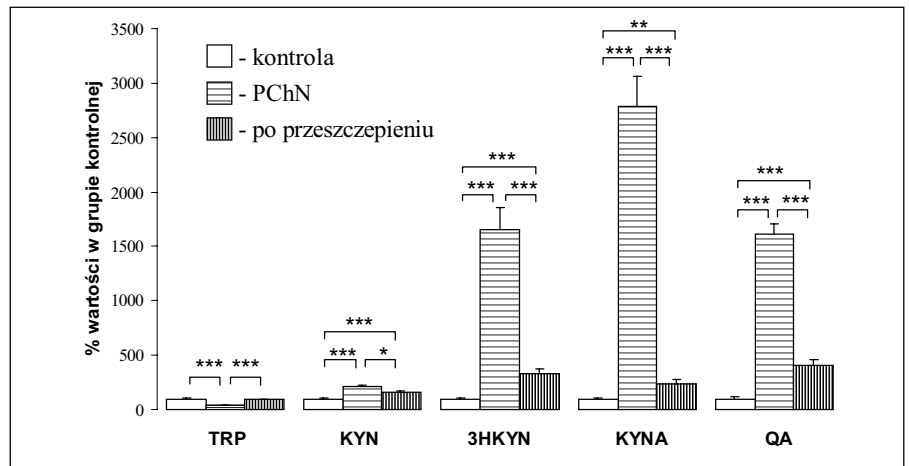
W analizowanej grupie oznaczano stężenie mocznika i kreatyniny rutynowymi badaniami, z wyliczeniem wskaźnika filtracji kłębuszkowej (GFR) metodą *Cockcrofta Gaulta*. Oznaczano także TRP, KYN, 3-HKYN, KYNA oraz QA, przy użyciu chromatografii cieczowej wysokiej wydajności (HPLC). Krew pobierano na 3,8% cytrynian sodu w stosunku 1 : 10, na czczo, po nocnym odpoczynku; od osób dializowanych – przed zabiegami hemodializy. Osocze ubogopłytkowe przechowywano w temperaturze -70°C do czasu badań biochemicznych.

Po odmożeniu, osocze wstępnie odbiałczano przy pomocy 2 M kwasu trichlorooctowego, a następnie wirowano z prędkością 14.000 g w temperaturze 4°C, uzyskując supernatant, który dodatkowo filtrowano przez zastosowaniu filtra (WATERS 0,45 mm).

Pomiar stężenia TRP i KYNA w osoczu przeprowadzano według metody opisanej przez *Herve* i wsp. [4], KYN według *Holmesa* [7], 3HKYN według *Heyes'a* [5], natomiast QA oznaczano przy użyciu metody opisanej przez *Werner-Felmayer* i wsp. [37]. Szczegółowy protokół użytych technik chromatograficznych został zamieszczony w pracy *Pawlak* i wsp. [22].

Badanie zostało zatwierdzone przez lokalną Komisję Bioetyczną.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej, wykorzystując w tym celu testy nieparametryczne. Do porównania grup pomiędzy sobą użyto testu *Manna-Whitneya*, natomiast do pomiaru wszystkich grup – nieparametrycznego odpowiednika testu Anova *Kruskala-Wallis*. Dodatkowo posłużono się testem korelacji porządku rang *Spearmana*. Za próg znamienności statystycznej przyjęto  $p < 0,05$ .



Rycina 2

Stężenia osoczowe badanych metabolitów szlaku kinreninowego w grupie kontrolnej, u chorych z przewlekłą chorobą nerek (PChN) oraz u pacjentów po przeszczepieniu nerki, wyrażone w % wartości z grupy kontrolnej. TRP - tryptofan, KYN - kinurenina, 3HKYN - 3-hydroksykinurenina, KYNA - kwas kinurenowy, QA - kwas chinolinowy. Wartości podane jako średnia ± błąd standardowy. Znamienne statystycznie różnice oznaczono jako: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

The plasma concentrations of kynurenine pathway metabolites in the control group (kontrola), in patients with chronic renal failure (PChN) and in renal allograft recipients (po przeszczepieniu), expressed in % of control value. TRP - tryptophan, KYN - kynurenine, 3HKYN - 3-hydroxykynurenine, KYNA - kynurenic acid, QA - quinolinic acid. The data given as the mean ± SEM. Statistically significant differences are expressed as: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

## Wyniki

Zaobserwowano znamienne, ponad 2-krotne obniżenie stężenia TRP w osoczu u chorych hemodializowanych z powodu PChN ( $p < 0,001$ ), zarówno w stosunku do osób zdrowych, jak i biorców przeszczepu nerki. Nie stwierdzono znaczących statystycznie zmian stężenia TRP u chorych po przeszczepieniu nerki wobec grupy kontrolnej (rycina 2).

W przeciwieństwie do TRP, stężenie KYN (rycina 2) w osoczu pacjentów z PChN znacznie wzrastało w stosunku do osób zdrowych ( $p < 0,001$ ). Podobny kierunek zmian, jednak o mniejszym natężeniu zaobserwowano u biorców przeszczepu nerki ( $p < 0,05$ ).

U biorców przeszczepu nerki stężenie 3HKYN wzrastało ponad 4-krotnie ( $p < 0,001$ ). Jeszcze większy, bo ponad 15-krotny w stosunku do grupy kontrolnej, wzrost stwierdzono u chorych dializowanych. W tej grupie pacjentów stężenie 3HKYN w osoczu krwi było jednocześnie kilkakrotnie wyższe niż u biorców przeszczepu nerki ( $p < 0,001$ ).

Stężenie KYNA w osoczu (rycina 2) u pacjentów po przeszczepie nerki było ponad 2-krotnie większe niż w grupie kontrolnej ( $p < 0,05$ ), natomiast u chorych z PChN różnica była niemal 30-krotna w stosunku do kontroli ( $p < 0,001$ ) i 10-krotna wobec pacjentów po transplantacji ( $p < 0,001$ ).

Stężenie QA po transplantacji było około 4-krotnie wyższe, niż w grupie kontrolnej (rycina 2). Zaobserwowano istotny wzrost QA u pacjentów z PChN. W porównaniu z grupą kontrolną stężenie jego było około 16 razy wyższe ( $p < 0,001$ ), zaś wobec biorców przeszczepu nerki – ponad 4 razy wyższe ( $p < 0,001$ ).

Poddano analizie stosunek KYN/TRP oraz pozostałych metabolitów KYN, co odzwierciedla aktywność odpowiednich szlaków enzymatycznych układu kinureninowego. Za nasileniem przemian enzymatycznych układu kinureninowego, zarówno u pa-

cientów ze schyłkową niewydolnością nerek, jak też po przeszczepieniu nerki, może świadczyć istotne statystycznie wzrost wszystkich wartości ilorazów produkt/substrat (KYN/TRP, 3-HKYN/KYN, KYNA/KYN, QA/KYN) (tabela I).

W tabeli II, zamieszczono korelację pomiędzy czasem, jaki upłynął od przeszczepienia nerki oraz KYNA ( $R = 0,65$ ;  $p < 0,001$ ), i QA ( $R = 0,51$ ;  $p < 0,01$ ). Filtracja kłębuszkowa była powiązana jedynie z TRP ( $R = 0,64$ ;  $p < 0,001$ ). Stwierdzono ujemną korelację pomiędzy stężeniem mocznika i TRP ( $R = -0,39$ ;  $p < 0,05$ ), a także kreatyniny i TRP ( $R = -0,447$ ;  $p < 0,05$ ).

## Omówienie

Po raz pierwszy przedstawiono kompleksowo zachowanie się szerokiego spektrum metabolitów TRP należących do szlaku kinureninowego u biorców przeszczepu nerki. Wykazano, że mimo normalizacji stężenia TRP, poziom jego produktów degradacji pozostaje nadal podwyższony (rycina 2). W największym stopniu kumulacji ulegają związki charakteryzujące się wysoką aktywnością biologiczną – QA oraz 3HKYN. Biorą one udział w generowaniu stresu oksydacyjnego, wykazują działanie neurotoksyczne, mogą uczestniczyć, na drodze zahamowania syntezy EPO, w rozwoju niedokrwistości i modulować czynność układu immunologicznego [17,18].

Transplantacja nerki powoduje wyrównanie wielu zaburzeń stwierdzanych w PChN, w tym normalizację stężenia TRP w surowicy, co jest zgodne z niedawnym doniesieniem *Laurence* i wsp. [12]. Wyniki naszych kompleksowych badań potwierdzają wcześniejsze dane innych autorów, którzy wykazali, że KYN [8-10] oraz QA [14] są nadal podwyższone po transplantacji nerki. Obecnie możliwa jest terapeutyczna ingerencja w szlak kinureninowy [26,30], co może być wykorzystane także u tych pacjentów, ale wymaga to dalszych badań.

Zmiany stężeń TRP i KYN mogą mieć znaczenie w monitoringu zachowania się przeszczepu. *Brandacher* i wsp. [2] wykazali, że podwyższony stosunek KYN/TRP dodatnio koreluje ze wskaźnikami odrzucenia przeszczepu nerki, między innymi neopteryną. Enzymem bezpośrednio zaangażowanym w zapoczątkowanie przemian szlakiem kinureninowym, którego aktywność można ocenić w pośredni sposób na podstawie ilorazu stężeń produktu (KYN) i substratu (TRP), jest 2,3-dioksygenaza indolowa (IDO) (rycina 1). Powyższe obserwacje zostały potwierdzone w biopsjach odrzucanych nerek. Na tej podstawie autorzy zaproponowali ocenę stosunku KYN/TRP jako metodę nieinwazyjnej diagnostyki odrzucania przeszczepu [2].

Rola IDO u biorców przeszczepu nerki jest wciąż niejasna. Jest to enzym nieswoisty, rozkładający również inne związki indolowe: 5-hydroksytryptofan, tryptaminę, serotoninę, melatoninę. I nie występuje w wątrobie, ale jest obecna w jelitach, płucach, łożysku, mózgu. Wydaje się, iż w patologii największe znaczenie ma synteza IDO przez makrofagi – komórki gromadzące się w chorym narządzie w ramach odpowiedzi zapalnej [33]. IDO jest zależna od układów tworzących reaktywne formy tlenu. Jej aktywność jest hamowana przez dysmutazę ponadtlenkową [31], a indukowana przez interferony, zwłaszcza przez interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ), [7]. Każdy stan zapalny, przez zwiększenie stężenia IFN- $\gamma$ , powoduje indukcję IDO, prowadząc dalej do wzrostu stężenia poszczególnych metabolitów KYN w proporcji właściwej możliwościom enzymatycznym danej tkanki [3,6,31].

W przeprowadzonym przez nas badaniu stwierdzono podwyższony stosunek wszystkich ocenianych szlaków enzymatycznych układu kinureninowego u chorych po przeszczepieniu nerki: KYN/TRP, 3HKYN/KYN, KYNA/KYN, QA/KYN (tabela I). Wcześniejsze doświadczenia, wykonane na modelu zwierzęcym eksperymentalnej PChN, wskazały, że obniżenie stężenia TRP i jednocześnie wzrost KYN wynika raczej ze wzrostu aktywności 2,3-dioksygenazy-tryptofanowej (TDO) [21,28,32]. Stwierdzone zaburzenia korelowały ze stopniem ciężkości niewydolności nerek. TDO jest enzymem swoistym dla TRP i występuje niemal wyłącznie w wątrobie [1]. Indukcję TDO, poza wzrostem stężenia TRP, wywołują także glikokortykosteroidy, co może mieć znaczenie u chorych otrzymujących glikokortykosteroidy w celu zapobiegania odrzuceniu przeszczepionej nerki. W stanach aktywacji immunologicznej TDO ma aktywność niezmienną lub nieznacznie zmniejszoną [29, 31]. Pozostaje do wyjaśnienia stopień, w jakim na degradację TRP u biorców przeszczepu nerki wpływa IDO, a w jakim TDO.

Stężenie metabolitów szlaku kinureninowego jest wypadkową wielu procesów zachodzących w organizmie, między innymi uwarunkowane jest ilością dostarczonego z dietą TRP, enzymatycznych przemian oraz wydalania nerkowego [28]. W prezentowanych badaniach własnych zaobserwowano istotny wzrost stężenia wszystkich produktów degradacji TRP oraz nasilenie przemian enzymatycznych w układzie kinureninowym

(KYN/TRP, 3-HKYN/KYN, KYNA/KYN, QA/KYN) u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek.

Interesującym może wydawać się fakt, że po przeszczepieniu nerki zaobserwowano, oprócz istotnego zmniejszenia stężenia kinurenin, redukcję stosunku produktu/substratu, który świadczy o zahamowaniu aktywności układów enzymatycznych. Nieznany, ale możliwy, jest wpływ leczenia immunosupresyjnego na te parametry. Hamowanie odpowiedzi immunologicznej organizmu może prowadzić do zmniejszenia aktywności enzymu, który zapoczątkowuje szlak metaboliczny TRP - IDO.

#### Wnioski

Wykazano, że przeszczepienie nerki prowadzi do normalizacji stężenia TRP we krwi. Stężenie badanych metabolitów TRP ulega obniżeniu w stosunku do chorych hemodializowanych z powodu PChN, pozostaje jednak wyższe, niż w grupie osób zdrowych. Jest możliwe, że ustępowanie niektórych objawów mocznicy po przeszczepieniu nerki związane jest z obniżeniem stężenia TRP i jego metabolitów we krwi.

#### Piśmiennictwo

1. **Bender D.A., Stone T.W.**: The kynurenine pathway of tryptophan metabolism; w: *Quinolinic Acid and the Kynurenines*. CRC Press, Boca Raton, 1989, str. 3.
2. **Brandacher G., Cakar F., Winkler C. et al.**: Non-invasive monitoring of kidney allograft rejection through IDO metabolism evaluation. *Kidney Int.* 2007, 71, 60.
3. **Christen S., Peterhans E., Stocker R.**: Antioxidant activities of some tryptophan metabolites: Possible implication for inflammatory diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1990, 87, 2506.
4. **Hervé C., Beyne P., Jamault H. et al.**: Determination of tryptophan and its kynurenine pathway metabolites in human serum by high-performance liquid chromatography with simultaneous ultraviolet and fluorimetric detection. *J. Chromatogr.* 1996, 675, 157.
5. **Heyes M.P., Quearry B.J.**: Quantification of 3-hydroxykynurenine in brain by high performance liquid chromatography and electrochemical detection. *J. Chromatogr.* 1988, 428, 340.
6. **Heyes M.P., Saito K., Major E.O. et al.**: A mechanism of quinolinic acid formation by brain in inflammatory neurological disease. *Brain* 1993, 116, 1425.
7. **Holmes E.W.**: Determination of serum kynurenine and hepatic tryptophan dioxygenase activity by high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.* 1988, 172, 518.
8. **Holmes E.W., Russell P.M., Kinzler G.J. et al.**: Inflammation-associated changes in the cellular availability of tryptophan and kynurenine in renal transplant recipients. *Clin. Chim. Acta* 1994, 227, 1.
9. **Holmes E.W., Russell P.M., Kinzler G.J. et al.**: Oxidative tryptophan metabolism in renal allograft recipients: increased kynurenine synthesis is associated with inflammation and OKT3 therapy. *Cytokine* 1992, 4, 205.
10. **Holmes E.W., Russell P.M., Reckard C.R. et al.**: Plasma free and total tryptophan in renal allograft recipients. *FASEB J.*, 1991 5A, 1318.
11. **Kopple J.D., Jones M., Fukuda S. et al.**: Amino acid and protein metabolism in renal failure. *Am. J. Clin. Nutr.* 1978, 31, 1532.
12. **Laurence A., Edbury S.M., Marinaki A.M. et al.**: 4-pyridone-3-carboxamide ribonucleoside triphosphate accumulating in erythrocytes in end stage renal failure originates from tryptophan metabolism. *Clin. Exp. Med.* 2007, 7, 135.
13. **Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A. i wsp.**: *Biochemia Harpera*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL Warszawa 1994, 375.
14. **Mysliwiec P., Pawlak D., Mysliwiec M. et al.**: Endogenous neurotoxic-quinolinic acid is increased in renal allograft recipients. *Transplant. Proc.* 2002, 34, 598.
15. **Okuda S., Nishiyama N., Saito H. et al.**: Hydrogen peroxide-mediated neuronal cell death induced by

endogenous neurotoxin, 3-hydroxykynurenine. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996, 12, 553.

16. **Ormsrod D., Miller T.**: Experimental uremia. *Nephron* 1980, 26, 249.
17. **Pawlak D., Koda M., Pawlak S. et al.**: Contribution of quinolinic acid in the development of anemia in renal insufficiency. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2003, 284, F693.
18. **Pawlak D., Koda M., Wolczynski S. et al.**: Mechanism of inhibitory effect of 3-hydroxykynurenine on erythropoiesis in patients with renal insufficiency. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003, 527, 375.
19. **Pawlak D., Pawlak K., Malyszko J. et al.**: Accumulation of toxic products degradation of kynurenine in hemodialyzed patients. *Int. Urol. Nephrol.* 2001, 33, 399.
20. **Pawlak D., Tankiewicz A., Buczko W.**: Kynurenine and its metabolites in the rat with experimental renal insufficiency. *J. Physiol. Pharmacol.* 2001, 52, 755.
21. **Pawlak D., Tankiewicz A., Matys T. et al.**: Peripheral distribution of kynurenine metabolites and activity of kynurenine pathway enzymes in renal failure. *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54, 175.
22. **Pawlak D., Tankiewicz A., Mysliwiec P. et al.**: Tryptophan metabolism via the kynurenine pathway in experimental chronic renal failure. *Nephron* 2002, 90, 328.
23. **Pawlak K., Brzosko S., Mysliwiec M. et al.**: Kynurenine, quinolinic acid-The new factors linked to carotid atherosclerosis in patients with end-stage renal disease. *Atherosclerosis* 2008, 13 października - publikacja elektroniczna przed wydrukowaniem.
24. **Pawlak K., Domaniewski T., Mysliwiec M. et al.**: The kynurenines are associated with oxidative stress, inflammation and the prevalence of cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease. *Atherosclerosis*, 2008, 26 sierpnia - publikacja elektroniczna przed wydrukowaniem.
25. **Rios C., Santamaria A.**: Quinolinic acid is a potent lipid peroxidant in rat brain homogenates. *Neurochem. Res.* 1991, 16, 1339.
26. **Rover S., Cesura A.M., Huguenin P. et al.**: Synthesis and biochemical evaluation of N-(4-phenylthiazol-2-yl)benzenesulfonamides as high-affinity inhibitors of kynurenine 3-hydroxylase. *J. Med. Chem.* 1997, 40, 4378.
27. **Rudzite V.K., Vitols A.V., Liepina D.J. et al.**: Increased blood kynurenine level as a factor inhibiting the therapeutic effect of antihypertensive agents in combined long-term treatment of essential hypertension. *Cor Vasa* 1990, 32, 56.
28. **Saito K., Fujigaki S., Heyes M.P. et al.**: Mechanism of increases in L-kynurenine and quinolinic acid in renal insufficiency. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2000, 279, F565.
29. **Saito K., Heyes M.P.**: Kynurenine pathway enzymes in brain - properties of enzymes and regulation of quinolinic acid synthesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1996, 398, 485.
30. **Saito K., Markey P., Heyes M.P.**: 6-chloro-D,L-tryptophan, 4-chloro-3-hydroxyanthranilate and dexamethasone attenuate quinolinic acid accumulation in brain and blood following systemic immune activation. *Neurosci. Lett.* 1994, 178, 211.
31. **Stone T.W.**: Neuropharmacology of quinolinic and kynurenic acids. *Pharmacol. Rev.* 1993, 45, 309.
32. **Tankiewicz A., Pawlak D., Topczewska-Bruns J. et al.**: Kidney and liver kynurenine pathway enzymes in chronic renal failure. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003, 527, 409.
33. **Taylor M.W., Feng G.**: Relationship between interferon-gamma, indoleamine-2,3-dioxygenase and tryptophan. *FASEB J.* 1991, 5, 2516.
34. **Topczewska-Bruns J., Pawlak D., Chabielska E. et al.**: Increased levels of 3-hydroxykynurenine in different brain regions of rats with chronic renal insufficiency. *Brain Res. Bull.* 2002, 58, 423.
35. **Topczewska-Bruns J., Pawlak D., Tankiewicz A. et al.**: Kynurenine metabolism in central nervous system in experimental chronic renal failure. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003, 527, 177.
36. **Vasudevan A., Phadke K.**: Growth in pediatric renal transplant recipients. *Transplant. Proc.* 2007, 39, 753.
37. **Werner-Felmayer G., Werner E.R., Fuchs D. et al.**: Characteristics of interferon induced tryptophan metabolism in human cells in vitro. *Biochim. Biophys. Acta* 1989, 1012, 140.
38. **Wolf P., Boudjema K., Ellero B. i wsp.**: *Podstawy przeszczepiania narządów*. Volumes Wrocław, 1993, 70.