

T.C
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
NEFROLOJİ BİLİM DALI

KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ NEDENİ İLE HEMODİYALİZ TEDAVİSİ
GÖREN HASTALARDA BETA GLUKAN'IN İMMÜNOSTİMULAN ETKİLERİ

(Yandal Uzmanlık Tezi)

Dr. Bahtişen Güven

Tez yöneticisi
Prof. Dr. Emel AKOĞLU

İSTANBUL- 2004

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son dönem Böbrek yetersizliği (SDBY) nedeni ile hemodiyaliz veya periton diyalizi tedavisi alan hastalarda en sık ikinci ölüm nedeninin infeksiyon olduğu saptanmıştır. (1)

Ringoir ve arkadaşları tarafından 1980'li yıllarda yapılan araştırmalar, ürenin polimorf nüveli lökositlerin fonksiyonları etkilediği gösterilmiştir. (2)

Bu konuda yapılan çeşitli çalışmalar, hücrel immunitede yetersizlik olduğunu işaret eden kanıtlar ortaya çıkarmış olup T lenfosit ve makrofaj fonksiyonları üzerine dikkatleri çekmiştir. Kanıtlar bu hastalarda hepatit B, pnömokok ve influenza aşılardan sonra serokonversiyonda azalma olduğunu ve tuberkuloz sıklığında sağlıklı kişilere kıyasla 6-16 kat artış olduğunu göstermiştir. (3, 4, 5, 6)

Son veriler T lenfosit fonksiyonlarının normal olduğunu ve asıl sorunun antijen sunucu hücrelerdeki (APC) yetersizlikten kaynaklandığını ve özellikle B7/CD 28 yolunda bozukluklar olabileceğini düşündürmektedir (7, 8, 9)

İmmün yetersizliğin nedeni olarak üremi dışında, birçok toksin: fenolik asit, indoller, ürik asit, spermin, spermidin, endorfinler, parathormon, Ig hafif zincirine benzer granulosit baskılayıcı protein, angiogenin – granulosit degranulasyonu baskılayan protein, komplement D, ubiquitin, P- cresol gibi her geçen yıl uzayan bir liste tanımlanmaktadır. (10, 11)

Bu hastaların immün yetersizliğinin düzeltilmesi ve enfeksiyondan korunmaları; yeterli diyaliz, biyoyumlu membran kullanımı, yüksek geçirgenlikli diyalizör, purifiye diyalizat gibi yöntemlerden geçmektedir. (12,13)

Bunların yanında immünmodülatörlerin kullanımı da güncel konulardan birini oluşturmaktadır. Quroga ve arkadaşları HBV aşısının cevabını arttırmak amacı ile rekombinant gama interferon verilmesi ile serokonversiyon oranının %88'e çıktığını ve antikor titrelerinin daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. T hücre stimulanı olarak T hücre olgunlaşmasını uyaran timupentinin de immün cevabı arttırdığını gösteren çalışmalar vardır.(14,15)

Tüm bu uygulamaların maliyeti yüksek olması nedeni ile kullanımı kabul görmemiştir. Kullanımı kolay, yan etkileri olmayan, maliyeti düşük immün stimulan arayışlarında Çinko, Lavamizol, Tetanus toksoidi gibi maddelerin etkilerini gösteren çalışmalar vardır. (16, 17)

Bunlara benzer beta-glukan, Saccharomyces cervisiae (ekmek mayası) hücre duvarından elde edilen polisakkarid, lif yapısında doğal bir maddedir (18). Oral olarak uygulanan beta-glukan gastrointestinal sistemden emilerek makrofaj, nötrofil, NK (natural killer) ve B-lenfosit hücrelerinde bulunan reseptörlere bağlanarak aktive olmalarını sağlar. Beta-glukan barsaklarda bulunan Payer Plağı denilen bölgelerden de emilerek, burada GSF (granulosit koloni stimulan faktör) ve diğer sitokinlerin salınımlarını artırır. Bu sitokinler, immün sistemin aktivasyonunda rol alırlar.(19,20)

En önemli etkilerinden biri makrofaj aktivasyonudur. Aktif makrofaj terimi makrofajın fonksiyonel, biyokimyasal ve morfolojik değişiklikleri sonucu artmış hücrel aktivitesini simgeler (21). Çalışmalarda bu aktivasyon makrofaj adhezyon yeteneğinde, kemotaktik

aktivitesinde ve sitotoksik özelliklerinde artma olarak gösterilmiştir (22, 23). Beta-glukan ile aktive makrofajlar IL-1, IL-6, IL-8, GSF, TNF- α gibi mediatorler salgılayarak immun cevabın artmasını sağlarlar.(24)

Beta-glukan ile çalışmalar daha çok ağır cerrahi girişim geçiren ve onkoloji hastalarında yapılmıştır. Onkoloji-cerrahi operasyonu geçiren hastalarda 15 ay boyunca beta-glukan kullanımının relaps oranını önemli ölçüde azalttığı ve yaşam süresini arttırdığı görülmüştür (25). Şiddetli ve çok sayıda travması olan hastalarda nazokomial pnömoni ve sepsisi önlemek amacıyla antibiyotik ile birlikte beta-glukan (30-60 mg/gün) kullanılmasının infeksiyon komplikasyonlarını %25 azalttığı, hastanede kalma süresini 17 günden 12 güne indirdiği, ölüm oranını da %30'dan %4,8'e düşürdüğü görülmüştür (25).

Beta-glukan'ın farklı etkilerini ve özelliklerini gösteren çalışmalar mevcuttur:

- Serbest radikalleri nötralize eder, antioksidan özelliği vardır (26).

- Radyasyonun olumsuz etkilerini azaltır (26).

- Kolesterol düzeyini düşürür (27).

- Kan şekeri düzeyinin azalmasına katkıda bulunur (27).

- Antitümöral etkileri vardır (28).

Bu çalışmalar immun yetersizliği olan hastalarda yapılmıştır, kronik böbrek yetmezliği ve hemodiyalize giren hastaların immun yetersizlik olduğu iyi bilinmektedir. Buradan yola çıkarak beta-glukanın bu hasta grubunda immunstimulan etkilerini araştırmayı amaçladık.

(29) başlıca

başlıca, T_H1

konferansları

alan diğer

cevapları

T_H1 konferans

tanımları

metabolizma

metabolizma

metabolizma

metabolizma

metabolizma

metabolizma

4. SONUÇLAR

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubunun yaşları, beta glukan alan grupta (n:40) 32-76yıl (ort 55,25±14,79 yıl), kontrol (beta glukan) grubunda ise (n:10) 30-77yıl (ort 53,60±6,67 yıl) arasında değişiyordu. Kontrol ve tedavi verilen gruplardaki yaş ortalamaları arasında istatistiksel fark yoktu($p>. =0,05$) Kadın (K) erkek (E) dağılımı beta glukan grubunda 22K/18E, kontrol grubunda 5K/5E olarak tespit edildi. Hemodiyalize giriş sürelerine bakıldığında, beta glukan grubunda ortalama 5,35±1,90 yıl iken kontrol grubunda da 5,90±0,88 yıl benzer bulunmuştur.

Tablo-2. Grupların demografik özellikleri

Tedavi Öncesi	Çalışma Gr		Kontrol Gr	
	Ort±SS (n:40)	Ort±SS (n:10)	t	P
Yaş	55,25±14,79	53,60±6,67	0,34	>0,05
Erkek	18 (%45)	5 (%50)		
Kadın	22 (%55)	5 (%50)	$\chi^2:0,05$	>0,05
Hemodiyaliz süresi	5,35±1,90	5,90±0,88	-0,89	>0,05

Beta glukan grubunda toplam 40 hastanın 12'sinde (%30) diabetes mellitus, 15'inde (%37) hipertansiyon, 14'ünde (%33) diğer (kr.pyelonefrit,polikistik böbrek hastalığı, nedeni bilinmeyen) nedenlere bağlı son dönem böbrek yetmezliği, ve kontrol grubunda 10 hastanın 3'ünde(%30) diabetes mellitus, 3'ünde(%30) hipertansiyon, 4'ünde(%40) diğer nedenler bağlı böbrek yetmezliği gelişmişti. Tüm hastalar Eritropoetin (50-80 Ü/kg), Venofer ihtiyaca göre hedef Ferritin 350-400 mg/dl, Epargriseovit ay/1, Bemiks C gün/1, Folbiol gün/1, Antilipemik(Simvastatin) 20 mg/gün kullanmaktaydılar. Beta glukan grubunda 10 hasta (%25) ACE inhibitör (enalapril) 10mg/gün ve 6 hasta (%13) beta bloker (metoprolol) 100mg/gün, kontrol grubunda ise 4 hasta (%40) beta bloker (metoprolol) 100mg/gün kullanmaktaydı.

Klinik ve Laboratuvar Parametreleri

Tedavi öncesi beta glukan ve kontrol grubunda bakılan parametreler tabloda görüldüğü gibi hepsi, hemoglobin dışında benzer bulunmuştur. Hemoglobin seviyeleri tedavi grubunda ort 9,80±0,88 kontrol grubunda ise 9,10±0,88 bulunmuş olup tedavi grubunda, kontrol grubuna göre ($p<0,05$) anlamlı yüksek saptanmıştır.

Tablo-3. Çalışma öncesi grupların laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması.

Tedavi Öncesi	Çalışma Gr	Kontrol Gr	t	P
	Ort±SS (n:40)	Ort±SS (n:10)		
CD14CD 80	47,57±22,57	55,56±6,10	-1,10	>0,05
CD14CD 86	72,48±16,46	74,72±5,63	-0,42	>0,05
İntl. 1 β	2,54±2,29	1,86±0,42	0,92	>0,05
Hb	9,80±0,88	9,10±0,88	2,25	<0,05
Hct	29,10±2,89	27,30±3,13	1,73	>0,05
Lökosit	6,00±2,26	5,90±1,56	0,14	>0,05
Platelet	164,43±43,58	142,90±33,42	1,45	>0,05
Açlık Kan Şekeri	136,62±72,14	110,20±35,55	1,12	>0,05
Üre	142,90±20,41	143,40±29,48	-0,06	>0,05
Kreatin	9,35±2,63	9,88±2,14	-0,59	>0,05
Total Kolesterol	180,05±44,56	166,30±31,38	0,92	>0,05
Trigliserid	176,18±101,97	171,70±109,97	0,12	>0,05
Albumin	3,94±0,34	3,81±0,38	1,04	>0,05
AST	19,38±11,22	15,60±4,14	1,04	>0,05
ALT	15,60±6,88	17,60±5,32	-0,86	>0,05

Tedavi Öncesi	Çalışma Gr	Kontrol Gr	t	P
	Ort±SS (n:40)	Ort±SS (n:10)		
Ferritin	439,13±278,27	436,90±163,79	0,02	>0,05
PTH	299,53±270,09	345,10±269,33	-0,48	>0,05
Kt/V	1,31±0,28	1,23±0,19	0,88	>0,05

Ferritin seviyeleri beta glukan grubunda ort 439,13±278,27, kontrol grubunda ise ort 436,90±163,79 bulunmuştur ve istatistiksel anlam taşımamaktadır(p> 0,05).

İntakt Parathormon beta glukan grubunda ort 299,53±270,09, kontrol grubunda ort 345,10±269,33 bulunmuş olup istatistiksel fark (p>0,05) yoktur.

Kt/V değerlerine bakıldığında iki grup arasında benzer olduğu ve istatistiki (p> 0,05) anlam taşımadığı görülmüştür. (beta glukan grubunda ort 1,31±0,28, kontrol grubunda ort 1,23±0,19). Tabloda her iki grubun özellikleri gösterilmektedir.

Tablo- 4. Beta glukan grubunun tedavi öncesi ve sonrası parametrelerin karşılaştırılması.

Çalışma Gr	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası	T	P
	Ort±SS (n:40)	Ort±SS (n:40)		
CD ₁₄ CD ₈₀	47,57±22,57	58,26±24,96	-2,38	<0,05
CD ₁₄ CD ₈₆	72,48±16,46	69,24±18,67	0,92	>0,05
İntl. 1 β	2,54±2,29	5,69±4,79	-5,76	<0,0001
Hb	9,80±0,88	9,99±0,88	-1,19	<0,05
Hct	29,10±2,89	30,43±2,56	-2,61	<0,05
Lökosit	6,00±2,26	6,54±2,22	-1,70	>0,05
Platelet	164,43±43,58	203,48±51,11	-5,37	<0,0001
Açlık Kan Şekeri	136,62±72,14	124,13±57,85	1,98	>0,05
Üre	142,90±20,41	158,58±31,61	-3,06	<0,01
Kreatin	9,35±2,63	8,39±1,98	3,43	<0,001
Total Kolesterol	180,05±44,56	160,18±40,92	3,19	<0,01
Trigliserid	176,18±101,97	153,85±88,32	2,15	<0,05
Albumin	3,94±0,34	3,93±0,24	0,09	>0,05
AST	19,38±11,22	20,70±15,84	-0,65	>0,05
ALT	15,60±6,88	17,23±13,92	-0,87	>0,05

Beta glukan alan grupta tedavi öncesi ve tedavi sonrası laboratuvar parametrelere bakıldığında CD₁₄CD₈₀ seviyelerinde tedavi öncesine (ort 47,57±22,57) göre tedavi sonrası (ort 58,26±24,96) istatistiksel ($p<0,05$) olarak daha yüksek bulunmuştur. CD₁₄CD₈₆ seviyeleri ise tedavi öncesi ort 72,48±16,46 iken tedavi sonrası ort 69,24±18,67 bulunmuştur ve istatistiksel açıdan ($p>0,05$) fark görülmemiştir.

Beta glukan grubunda hemoglobin ve Hematokrit düzeyleri sırası ile tedavi öncesi ort 9,80±0,88, ort 29,10±2,89 ve tedavi sonrası ort 9,99±0,88, ort 30,43±2,56 bulunmuştur. İstatistiksel değerlendirilmede her iki parametre tedavi sonrası tedavi öncesine göre ($p<0,05$, $p<0,05$) anlamlı yüksek bulunmuştur. Aynı anlamlı değişiklik trombosit için de ($p<0,0001$) görülmüştür: tedavi öncesi ort 164,43±43,58 , ve tedavi sonrası ort 203,48±51,11. Lökosit sayılarında tedavi öncesi ort 6,00±2,26 ve tedavi sonrası ort 6,54±2,22 istatistiksel açıdan ($p>0,05$) değişiklik olmamıştır

Beta glukan grubunda tedavi sonrası üre değerleri ort 158,58±31,61, tedavi öncesine ort 142,90±20,41 göre anlamlı ($p<0,05$) yüksek bulunmuştur. Kreatin değerleri ise tedavi öncesi ort 9,35±2,65 olup tedavi sonrası ort 8,39±1,98 istatistiki azalmış ($p<0,05$) bulunmuştur. Total kolesterol ve Trigliserid düzeyleri tedavi sonrası sırası ile ort 160,18±40,92, 153,85±88,32 tedavi öncesine göre ort 180,05±44,56, ort 176,18±101,97 anlamlı ($p<0,01$, $p<0,05$) düşük bulunmuştur. Açlık kan şekeri, AST ve ALT değerlerinde tedavi sonrası tedavi öncesine göre ($p>0,05$) fark görülmemiştir.

Tablo-5. Kontrol grubunun önce ve 3 ay sonra parametrelerin karşılaştırılması.

Kontrol Gr	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası	T	P
	Ort±SS (n:10)	Ort±SS (n:10)		
CD14CD80	55,56±6,10	54,86±5,91	1,74	>0,05
CD14CD86	74,72±5,63	72,63±5,56	1,86	>0,05
İntl. 1 B	1,86±0,42	1,69±0,47	3,05	>0,05
Hb	9,10±0,88	8,90±1,37	0,56	>0,05
Hct	27,30±3,13	27,30±3,86	0,00	>0,05
Lökosit	5,90±1,56	5,45±1,25	0,78	>0,05
Platelet	142,90±33,42	156,30±34,44	-1,52	>0,05
Açlık Kan Şekeri	110,20±35,55	107,40±45,55	0,14	>0,05
Üre	143,40±29,48	144,20±25,99	-0,10	>0,05
Kreatin	9,88±2,14	9,73±2,70	0,18	>0,05
Total Kolesterol	166,30±31,38	142,30±41,50	1,35	>0,05
Trigliserid	171,70±109,97	150,44±62,71	0,69	>0,05
Albumin	3,81±0,38	3,86±0,44	-0,32	>0,05
AST	15,60±4,14	15,30±4,19	0,20	>0,05
ALT	17,60±5,32	15,50±5,93	1,16	>0,05

Kontrol grubunda yapılan ölçümlerde tedavi öncesi CD14CD80, CD14CD86, IL-1 β sırası ile ort 55,56±6,10, 74,72±5,63, 1,86±0,42 ve sonrası ort 54,86±5,91, 72,63±5,56, 1,69±0,47 bulunmuştur, hepsinde ($p>0,05$) saptanmıştır.

Kontrol grubunda hemogram parametrelerine bakıldığında, tedavi öncesi hemoglobin, Hematokrit, lökosit ve trombosit değerleri sırası ile ort 9,10±0,88, 27,30±3,13, 5,90±1,56, 142,90±33,42 ve tedavi sonrası 8,90±1,37, 27,30±3,86, 5,45±1,25, 156,30±34,44 bulunmuştur. Tüm değerlerde istatistiksel fark görülmemiştir ($p>0,05$)

Tablo-7. Beta glukan 10mg/gün ve 30mg/gün alan grupların karşılaştırılması.

İlaç Kullanımı	1	3	t	P
	Ort±SS (n:13)	Ort±SS (n:27)		
Yaş	60,10±11,76	50,40±16,17	2,17	<0,05
Erkek	7 (%35)	11 (%55)		
Cinsiyet Kadın	13 (%65)	9 (%45)	$\chi^2:1,6$	>0,05
Hemodiyaliz Süresi	5,55±1,67	5,15±2,13	0,66	>0,05
Ferritin	419,30±272,04	458,95±290,03	-0,45	>0,05
PTH	297,00±268,03	302,05±279,09	-0,06	>0,05
Kt/V	1,27±0,24	1,35±0,32	-0,87	>0,05
İlaç Kullanımı Tedavi Sonrası	1	3	t	P
	Ort±SS (n:20)	Ort±SS (n:20)		
CD ₁₄ CD ₈₀	58,07±22,59	59,62±27,62	-0,20	>0,05
CD ₁₄ CD ₈₆	69,52±16,50	68,96±21,06	0,09	>0,05
İntl. 1 β	5,86±5,54	5,53±4,05	0,22	>0,05
Hb	10,00±0,79	9,98±0,98	0,07	>0,05
Hct	30,70±2,39	30,15±2,76	0,67	>0,05
Lökosit	7,08±2,42	6,01±1,93	1,54	>0,05
Platelet	216,60±49,91	190,35±50,09	1,66	>0,05
Açlık Kan Şekeri	137,30±70,48	110,26±37,74	1,48	>0,05
Üre	152,55±29,33	164,60±33,39	-1,21	>0,05
Kreatin	7,88±2,05	8,90±1,81	-1,67	>0,05
Total Kolesterol	168,45±47,32	151,90±32,46	1,29	>0,05
Trigliserid	146,45±74,79	161,25±101,51	-0,53	>0,05
Albumin	3,90±0,26	3,97±0,21	-0,99	>0,05
AST	20,35±16,24	21,05±15,85	-0,14	>0,05
ALT	19,10±17,79	15,35±8,60	0,85	>0,05

Tedavi grubunda 20 hastaya günde 10mg ve diğer 20 hastaya da günde 30mg beta glukan uygulanmıştı, tedavi dozunun CD₁₄CD₈₀, CD₁₄CD₈₆, IL-1 β ve diğer laboratuvar değerlerine etkisine bakıldığında istatistiksel anlamlılık (p>0,05) görülmemiştir

6. ÖZET

Giriş ve Amaç: Son verilere göre SDBY nedeni ile hemodiyaliz veya periton diyalizi tedavisi alan hastalarda en sık ikinci ölüm nedeni immün yetmezliğe bağlı olarak gelişen infeksiyon hastalıklarıdır. Bu hastalarda hücrel immunitede bozukluk ve özellikle antijen sunucu hücrelerin (APC) B7/CD28 yolağında (pathway) yetersizlik olduğu gösterilmiştir. Beta-glukan, *Saccharomyces cerevisiae* (ekmek mayası) hücrelerinin duvarından elde edilen polisakkarid yapısında doğal bir madde olup makrofajları aktive etmektedir. Bu aktivasyon sonrası immün yetersizliği olan hastaların makrofajlarının adhezyon yeteneğinde, kemotaktik aktivitelerinde ve sitotoksik özelliklerinde artma izlenmiştir. Kronik böbrek yetmezliği hastalarında Beta-glukanın bu hastaların immün sistemi üzerine etkileri ile ilgili veri bulunmamaktadır. Bu çalışmada beta-glukanın hemodiyaliz hastalarında immunstimulan etkilerini araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Çalışmaya en az 1 yıldan beri düzenli hemodiyaliz tedavisi gören ve 18 yaş üzerinde olan toplam 50 hasta dahil edildi. Çalışma grubundaki 20 hastaya 3 ay boyunca β -glukan 10 mg/gün, 20 hastaya ise 30 mg/gün β -glukan verildi. On hasta ise β -glukan verilmeksizin izlendi ve kontrol grubunu oluşturdu. β -glukan tedavisi öncesi ve 3 aylık tedavi sonrası periferik kan örneklerinde monosit fonksiyonları ve hücre kültürlerinde aktive monositlerden salgılanan IL-1 β seviyeleri tespit edildi. Periferik kan örneklerinden izole edilen monositler üzerinde eksprese edilen B7-1 (CD80) ve B7-2 (CD86) reseptörlerinin ve intraselüler IL-1 β düzeylerinin florasan yoğunlukları flow sitometrik yöntemle ölçüldü.

Bulgular: β -glukan alan hastalar bir arada değerlendirildiğinde CD14CD80 florasan yoğunluğu tedavi öncesine göre anlamlı olarak yükseldi ($p < 0.05$). CD14CD86 seviyelerinde ise tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerler arasında farklılık izlenmedi. Yine β -glukan alan hastalar bir arada değerlendirildiğinde IL-1 β seviyeleri tedavi sonrası dönemde anlamlı ($p < 0.0001$) olarak yükseldi. Aktif tedavi alanlarda trombosit sayıları yükselirken ($p < 0.0001$) lökosit sayılarında değişim izlenmedi. Total kolesterol ve trigliserid düzeyleri anlamlı olarak azalma gösterdi. Kontrol grubunda, CD14CD80, CD14CD86, IL-1 β florasan yoğunluklarında anlamlı bir fark tespit edilmedi. Bu grubun diğer laboratuvar parametrelerinde de istatistiksel açıdan anlamlılık görülmedi.

Sonuç: Beta glukan hemodiyaliz hastalarında monosit aktivasyonu yaparak APC ve T hücre etkileşimde çok önemli olan ikincil sinyal yolağındaki CD14CD80 reseptörlerini uyarabilmektedir. Monositlerden IL-1 β yapımı uyarılmıştır. CD14CD86 reseptörleri ise beta glukan kullanımı ile uyarılamamıştır. Beta-glukan'ın hemodiyaliz hastalarında monosit aktivasyonuna yol açması, beta glukanın bu hastalarda immunmodulator olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Beta glukanın immün yetersizliğine ve infeksiyon hastalıkları üzerine olan olası iyi etkileri ise prospektif randomize kontrollü çalışmalarla araştırılmalıdır.