

DIABETES MELLİTUSLU HASTALARDA NÖTROFİL FAGOSİTOZU VE FAGOSİTOZ SIRASINDA NÖTROFİLLERİN GLUKOZ KULLANIMI

Dr. Ali BAYRAM (x)

Dr. Ebubekir BAKAN (xxx)

Dr. Özden VURAL (xx)

ÖZET :

Bu çalışma Diabetes Mellituslu 24 hasta ile, sağlıklı 13 kişiden oluşturulan kontrol grubu üzerinde uygulandı. Vakalardan ve kontrollerden izole edilen nötrofiller Candida albicans ile fagositoza sokularak, hem fagositik indeksler hem de fagositoz sırasında nötrofillerin glukoz kullanımı tesbit edildi.

Diabetes Mellituslularda fagositik indeks ve glukoz kullanımının kontrollere oranla düşük olduğu belirlendi. Diabetiklerin nötrofillerinde, normal serum ortamında denemmelerine rağmen hem fagositik indeksin hem de glukoz kullanımının düşük olması, nötrfillerde intrinsik defekt olduğunu göstermektedir.

Hiperglisemi seviyesi ile fagositik indeks arasında önemli negatif korelasyon tesbit edildi; glukoz seviyesi yükseldikçe fagositik indeksin düştüğü gözlemlendi.

Hipergliseminin fagositozu inhibe ettiği tesbit edildiğinden, diabetlilerde enfeksiyonu önlemek veya kontrol altına almakta kan şekeri regülasyonunun önemli olduğu kanaatine varıldı.

GİRİŞ :

Diabetes Mellitus (DM), insülinin mutlak veya fonksiyonel yetersizliği sonucu meydana gelen ve sık görülmesi nedeniyle toplum sağlığını yakından ilgilendiren bir endokrin ve metabolizma hastalığıdır (1-3). DM eskiden juvenil ve erişkin tip olmak üzere iki grupta incelenmekte idi. Juvenil tip DM büyük bir çoğunlukla çocukluk veya gençlik çağında, erişkin tip ise genellikle daha ileri yaşlarda başlar (1,3-5). Ancak, bunun aksi de olabilir. Bu nedenle juvenil tip DM yerine "Tip-1

(x) İç Hastalıkları Uzmanı.

(xx) Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, Prof.Dr.

(xxx) Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Uzmanı.

Diabetes Mellitus" ya da "İnsüline bağımlı diabetes mellitus", erişkin tip DM yerine de "Tip-2 Diabetes Mellitus" ya da "İnsüline bağımsız Diabetes Mellitus" terimleri kullanılmaktadır (1-3).

Diabetin çeşitli komplikasyonlarından birisi de enfeksiyondur. Enfeksiyon insülin ihtiyacını artırarak diabetin kontrolünü güçleştirdiği gibi, diabetlilerdeki ölümlerin % 17'sinden de sorumludur (6,7).

Nötrofil fagositozu enfeksiyonlara karşı vücudun en önemli savunma mekanizalarından birisidir (8-12). Diabetlilerin hemen her türlü enfeksiyona yatkın olduklarının bildirilmesine rağmen, nötrofil fonksiyonlarına ait yayınlar çelişkili olmakta, diabetlilerde enfeksiyona yatkınlığı artırabilecek hümoral ya da sellüler defekt her zaman gösterilememektedir (13-18).

Nötrofil fagositozu büyük  l de enerji gerektiren bir olaydır. Bu enerji hem nötrofillerdeki glikojen depolarından, hem de hücre dışındaki glukozdan sağlanmaktadır (19-26).

Çalışmamızda, diabetlilerde nötrofil fagositozunu, fagositoz ortamındaki glukozun nötrofiller tarafından kullanılmasını ve aralarındaki ilişkiyi tesbit etmeyi amaçladık.

GEREÇLER VE YÖNTEM

Bu  alışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniėine müracaat eden, klinik ve laboratuvar bulgularıyla DM tanısı konmuş toplam 24 hasta üzerinde uygulandı. Bütün vakalar nonproteinik nitrojen, kreatinin ve karbon dioksit değerleri normal olan, asit-baz ve sıvı-elektrolit denge bozukluğu olmayan diabetliler arasından seçildi.

Kontrol grubu, subjektif hiçbir řik yeti olmayan, fizik muayene ve laboratuvar testleriyle normal bulunan 13 kişiden oluřturuldu.

Tüm vakalarda, DM tedavisinde veya herhangi bir nedene bağlı olarak kullanılan il lar özenle soruldu ve DM'la birlikte enfeksiyon olup olmadığı ısrarla araştırıldı. Vakalarda ve konrollerde hemoglobin (Hb), beyaz küre (BK), formül lökosit, mm³'deki nötrofil sayısı ve glukoz oksidaz metoduna göre açlık kan şekeri (AKş) tayinleri yapıldı.

Lökosit izolasyonu ve lökosit süspansiyonunun hazırlanması Bakan'ın (5) metoduna göre, fagositoz ortamının hazırlanması ve fagositik indeksin (Fİ) tesbiti Modifiye Miller ve Nilson (27) metoduna göre yapıldı. Lökosit canlılığı vital boyama ile (Eosin-Y) kullanılarak tesbit edildi (28). Ekstrasellüler ortamdaki glukoz "Glukoz Oksidaz" metoduna göre başlangıçta (0 dk.) fagositozun 30. ve 60. dakikalarında Bakan'ın (19) deney tertibi uygulanarak tayin edildi.

BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan 24 vaka ve 13 kontrolün özellikleri, laboratuvar bulguları ve deney sonuçları tablo 1 ve 2'de verilmiştir.

Hasta ve kontrol grubuna ait Fİ değerleri ve istatistiki yönden karşılaştırılması tablo 3'de verilmiştir.

Vakalardaki AKŞ değerleri ile Fİ değerleri ve istatistiki yönden karşılatırmaları tablo 4'de, aralarındaki korelasyonla ilgili serpiştirme diyagramları ise şekil 1,2 ve 3'de gösterilmiştir.

Tablo- 2: Kontrol Grubunun Özellikleri, Laboratuvar Bulguları ve Deney Sonuçları

Sıra No.	Yaş/cins	AKŞ	PNL/mm3	Fİ15	Fİ30	Fİ60	OSG30	OSG60
1	18/K	97	4315	186	239	386	96	96
2	22/K	89	4896	80	118	183	121	97
3	26/E	92	4500	78	133	94	94	91
4	32/E	87	4240	93	117	183	100	103
5	35/E	97	5100	59	116	153	100	100
6	21/K	96	4760	57	83	115	91	91
7	26/E	74	4224	43	71	90	100	106
8	18/K	96	6642	27	41	79	100	100
9	35/E	82	5700	47	81	119	97	97
10	26/K	98	6970	23	52	97	106	107
11	31/E	90	4550	46	72	69	93	86
12	25/E	68	5200	170	120	190	109	105
13	26/E	89	3944	70	82	96	107	103

K: Kadın

E: Erkek

AKŞ : Açlık Kan Şekeri

PNL/mm3: mm3'deki Polimorf Nüveli Lökosit Sayısı

Fİ₁₅: 15. dakikadaki fagositik indeks

Fİ₃₀: 30. dakikadaki Fagositik İndeks

Fİ₆₀: 60. dakikadaki Fagositik İndeks

OSG₃₀: 30. dakikada Ortamda Bulunan Glukoz Miktarı (%)

OSG₆₀: 60. dakikada Ortamda Bulunan Glukoz Miktarı (%)

Tablo-3: Hasta ve Kontrol Grubuna Ait Fagositik İndeks Değerleri ve İstatistiki Yönden Karyılaştırılması.

Parametreler	HASTALAR	KONTROL GRUBU		
	$\bar{X} \pm SH$	$\bar{X} \pm SH$	t	p
FI_{15}	43,0 $\pm$ 27,4	70,0 $\pm$ 41,8	1,752	< 0,05
FI_{30}	66,9 $\pm$ 40,6	97,2 $\pm$ 49,7	1,869	< 0,05
FI_{60}	108,4 $\pm$ 57,7	156,6 $\pm$ 83,1	1,650	< 0,05

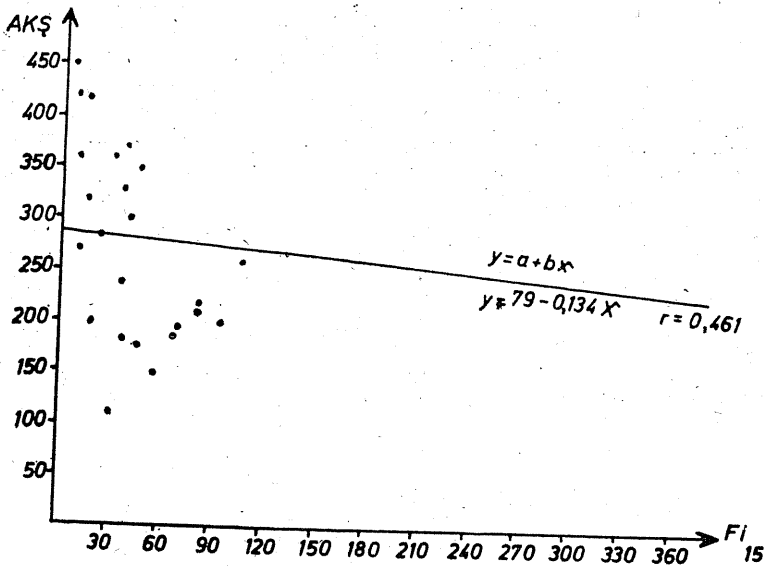
FI_{15} : 15. dakikadaki fagositik indeks

FI_{30} : 30. dakikadaki fagositik indeks

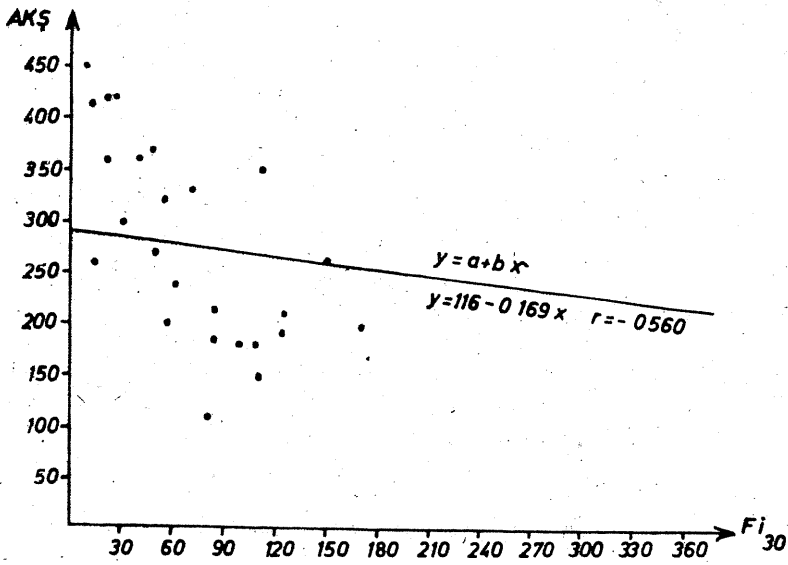
FI_{60} : 60. dakikadaki fagositik indeks

Tablo- 4: Vakalardaki AKŞ Değerleri ile Fagositik İndeks Değerleri ve İstatistiki Yönden Karşılaştırılması.

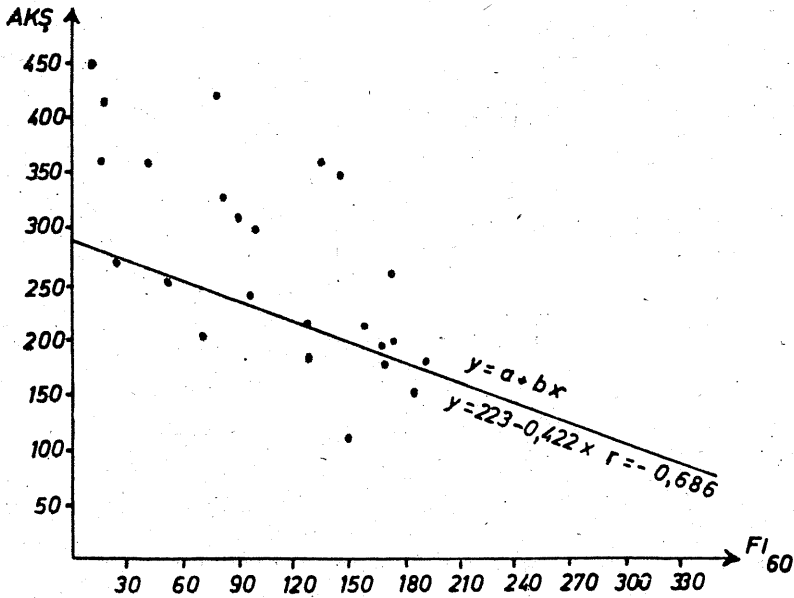
Parametreler	$\bar{X} \pm SH$	r	t	p
AKŞ	272,3 $\pm$ 93,7	-0,461	2,436	< 0,01
FI_{15}	43,0 $\pm$ 27,4			
AKŞ	272,3 $\pm$ 93,7	-0,560	3,822	< 0,001
FI_{30}	66,9 $\pm$ 40,6			
AKŞ	272,3 $\pm$ 93,7	-0,686	4,221	< 0,001
FI_{60}	108,4 $\pm$ 57,7			



Şekil-1: AKŞ İle FI_{15} Arasındaki Korelasyonla İlgili Serpiştirme Diyagramı



Şekil-2: AKŞ İle FI₃₀ Arasındaki Korelasyonla İlgili Serpiştirme Diyagramı



Şekil-3 : AKŞ İle FI₆₀ Arasında Korelasyonla İlgili Serpiştirme Diyagramı

Kontrolllerde AKŞ ve Fİ değerleri ve istatistiki yönden karşılaştırılmaları tablo 5'de verilmiştir.

Vakalarda mm3'deki PNL sayısı ile Fİ değerleri ve istatistiki yönden karşılaştırılmaları tablo 6'da, kontrol grubunda mm3'deki PNL sayısı ile Fİ değerleri ve istatistiki yönden karşılaştırılması tablo 7'de verilmiştir.

Tip-1 DM ile Tip-2 DM'lularda Fİ değerleri ve istatistiki yönden karşılaştırılması tablo 8'de verilmiştir.

Enfeksiyonlu ve enfeksiyonsuz vakaların Fİ değrleri ve istatistiki-yönden karşılaştırılmaları tablo 9'da gösterilmiştir.

Vakalar ile kontrollerde, fagositoz ortamındaki glukoz miktarına ait değerler ve istatistiki yönden arşılaştırılması tablo 10'da, Fİ ile "Fagositoz Süresi" arasındaki ilişki şekil 4'de gösterilmiştir.

Tablo- 5: Kontrollırde AKŞ ile Fİ Değerleri ve İstatistiki Yönden Karşılaştırılmaları.

Parametreler	$\bar{X} \pm SH$	r	t	p
AKŞ	89,4 $\pm$ 9,8	-0,238	0,978	> 0,05
Fİ ₁₅	70,0 $\pm$ 51,8			
AKŞ	89,4 $\pm$ 9,8	0,049	0,161	> 0,05
Fİ ₃₀	97,2 $\pm$ 49,7			
AKŞ	89,4 $\pm$ 9,8	0,059	0,192	> 0,05
Fİ ₆₀	153,6 $\pm$ 83,1			

Tablo- 6: Vakalarda PNL Sayısı ile Fagositik İndeks Değerleri ve İstatistiki Yön- den Karşılaştırılması.

Parametreler	$\bar{X} \pm SH$	r	t	p
PNL/mm ³	< 3375 $\pm$ 1800			
Fİ ₁₅	43,0 $\pm$ 27,4	0,176	1,192	> 0,05
PNL/mm ³	3375 $\pm$ 1500			
Fİ ₃₀	666,9 $\pm$ 40,6	0,235	1,134	> 0,05
PNL/mm ³	3375 $\pm$ 1800			
Fİ ₆₀	108,4 $\pm$ 57,7	0,339	1,690	> 0,05

Tablo- 7: Kontrol Grubunda PNL Sayısı ile Fagositik İndeks Değerleri ve İstatistiki Yönden Karşılaştırılması

Parametreler	$\bar{X} \pm SH$	r	t	p
PNL/mm ³	5138 $\pm$ 891	-0,430	1,579	> 0,05
FI ₁₅	70,0 $\pm$ 51,8			
PNL/mm ³	5135 $\pm$ 891	-0 509	1,961	> 0,05
FI ₃₀	97,2 $\pm$ 49,7			
PNL/mm ³	5138 $\pm$ 891	-0,365	1,300	> 0,05
FI ₆₀	150,6 $\pm$ 83,1			

Tablo- 8: Tip-1 ve Tip-2 Diabetes Mellitus'lularda Fagositik İndeks Değerleri ve İstatistiki Yönden Karşılaştırılması.

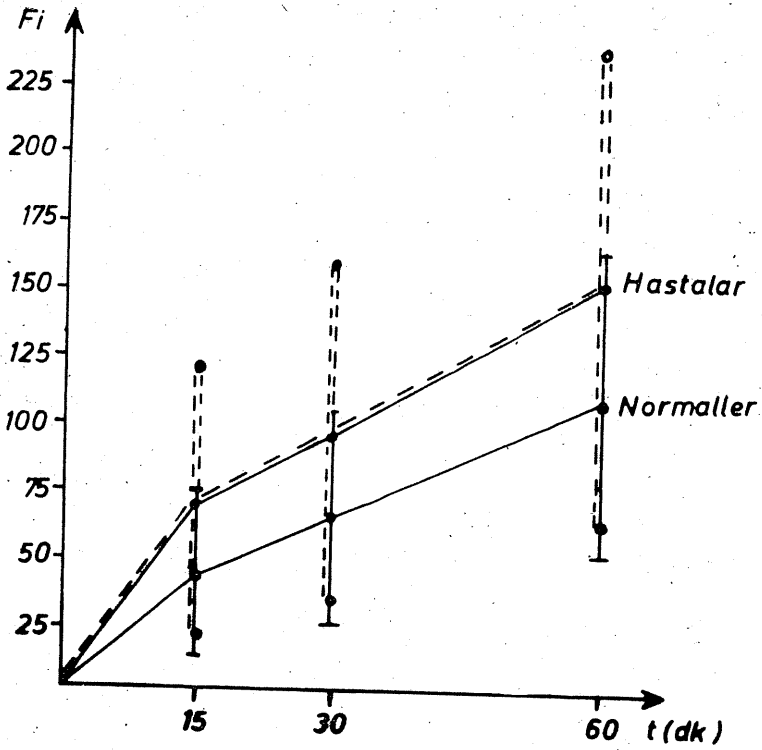
Parametreler	Tip- DM	Tip-2 DM	t	p
	$\bar{X} \pm SH$	$\bar{X} \pm SH$		
FI ₁₅	35,5 $\pm$ 28,8	47,7 $\pm$ 27,2	0,926	> 0,05
FI ₃₀	63,5 $\pm$ 42,3	81,5 $\pm$ 45,8	0,999	> 0,05
FI ₃₀	95,8 $\pm$ 58,5	119,1 $\pm$ 57,1	1,000	> 0,05

Tablo- 9: Enfeksiyonlu ve Enfeksiyonsuz Vakaların Fagositik İndeks Değerleri ve İstatistiki Yönden Karşılaştırılması.

Parametreler	HASTALAR				t	p
	Enfeksiyonlu		Enfeksiyonsuz			
	X	SH	X	± SH		
FI ₁₅	52,6	± 27,1	43,5	± 29,62	0,086	> 0,05
FI ₃₀	66,7	± 40,8	72,3	± 54,5	0,300	> 0,05
FI ₆₀	116,5	± 44,6	98,9	± 71,2	0,802	> 0,05

Tablo- 10: VJkalar ile Kontrollerde Fagositoz Ortamındaki Glukoz Miktarına Ait Değerler ve İstatistiki Yönden Karşılaştırılması.

Parametreler	VAKALAR		KONTROL GRUBU		p
	$\bar{X}$	SH	$\bar{X} \pm SH$	t	
OSG ₃₀	105,1	$\pm$ 22,1	101,5 $\pm$ 8,3	0,550	> 0,05
OSG ₆₀	102,7	$\pm$ 11,0	91,3 $\pm$ 29,1	1,007	> 0,05



Şekil 4: Fİ ile Fagositöz Süresi Arasındaki Regresyon Eğrisi.

TARTIŞMA

DM'lularda nötrofil fagositozu birçok araştırmacı tarafından incelenmiş olup, bu hususta çelişkili sonuçlar bildirilmiştir.

Baybee ve Rogers (29) ketoasidozlu diabetlilerde yaptıkları çalışmada Fİ'i düşük bulmuşlardır. Cornelle (30) DM'lularda, izole ettiği nötrofillerle yaptığı çalışmada bütün vakalarda Fİ'in azalmış olduğunu göstermiştir. Bagdade, Nielson ve Bulger (31), test mikroorganizması olarak pnömokokları kullandıkları çalışmalarında Fİ'i ve hücre içi öldürmeyi önemli ölçüde düşük bulmuşlardır. Drachman ve arkadaşları (13) farelerde, Tan ve arkadaşları (31) ise DM'lu insanlarda yaptıkları incelemelerde nötrofil fagositözünde azalma tesbit etmişlerdir.

Bagdade, Aielson, Root ve Bulger (33) diabetlilerde Fİ'i düşük bulmuşlar, normal serum ilâvesiyle fagositözün düzelmediğini, ancak insülin tedavisiyle normal düzeylere çıktığını bildirmişlerdir. Dobozy ve Simon (34) da diabetlilerde Fİ'i düşük bulmuşlardır; bu araştırmacılar hasta nötrofillerini sağlamların serumlarında da deneyerek Fİ'in düzelmediğini gözlemişler ve diabetlilerde enfeksiyonlara yatkınlığın nötrofillerdeki primer defekte bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Walters ve arkadaşları (20) tam kan kullanarak yaptıkları çalışmada, asidoz varlığında Fİ'in düşük olduğunu, asidozun düzelmesiyle Fİ'in normale döndüğünü tesbit etmişlerdir. Bagdade, Root ve Bulger (16) AKŞ'leri kontrol altına alınmamış diabetlilerde tam kan kullanarak yaptıkları çalışmalarında hem Fİ'i hem de hücre içi öldürmeyi yetersiz bulmuşlar ve bunu, hipergliseminin inhibitör etkisine bağlamışlardır. Bu araştırmacılar, diabetlilerin nötrofillerini, kontrollerden elde ettikleri serum ortamında incelediklerinde fagositozun düzeldiğini ve kontrollere oranla aradaki farkın önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Nolan ve arkadaşları (13) AKŞ'leri yüksek olan diabetlilerde yaptıkları çalışmalarında 20. ve 30. dakikalarda Fİ'i kontrollere oranla önemli derecede düşük bulmuşlar ve bu farkın zamanla kapanarak 60. dakikada istatistiki yönden anlamlı olmayan bir düzeye indiğini tesbit etmişlerdir.

Tan, Anderson ve Phair (35) bir kısım diabetlilerde Fİ'i normal, bir kısmında ise düşük bulmuşlar ve Fİ düşüklüğünün, nötrofillerdeki enerji metabolizması bozukluğuna bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Vrosby ve Allison (36) Fİ'i normal bulurlarken, Miller ve Baker (15) C. albicans kullandıkları çalışmalarında Tip-1 DM'lularda Fİ'i normal bulmuşlardır.

Çalışmamızda vakalarda Fİ15 $42,0 \pm 27,4$, kontrollerde $70,0 \pm 51,8$; Fİ30 vakalarda $66,9 \pm 40,6$, kontrollerde $82,2 \pm 49,7$ ve Fİ60 vakalarda $108, \pm 57,7$ kontrollerde $150,0 \pm 81,1$ olarak tesbit edildi. Vakalarla kontrollerini Fİ'leri arasında istatistiki yönden yapılan karşılaştırmada önemli farklılık tesbit edilemedi (Tablo 3).

Bizim sonuçlarımız, diabetlilerden elde ettikleri nötrofilleri normal serum ortamında inceleyen araştırmacıların sonuçlarıyla uygunluk göstermektedir (15,16, 30,36).

Vakalardan izole ettiğimiz nötrofilleri normal serum ortamında incelemesine rağmen 15., 30. ve 60. dakikalarda Fİ'in kontrollere oranla daha düşük olduğunu tesbit ettik. Bu sonuçlar, diabetlilerin nötrofillerinde defekt olduğunu göstermekte ve diğer araştırmacıların bulgularıyla da uygunluk göstermektedir (30-35).

Hipergliseminin fagositozu inhibe ettiği çeşitli yayınlarda bildirilmektedir (37-79). Winkelstein ve Drachman (11) hipergliseminin ketoasidozsuz diabetlilerde bile Fİ'i azalttığını tesbit etmişlerdir. Bagdade, Nielson ve Bulger (31) tam kan kullanarak yaptıkları çalışmada, katoasidozu olmayan hiperglisemili vakalarda, hem Fİ'in hem de hücre içi öldürmenin azalmış olduğunu tesbit etmişlerdir; aynı vakalarda tedavi ile AKŞ değerlerinin normale indirilmesinden sonra fagositoz anormalliğinin kaybolmasını belirlemişlerdir. Bagdade, Root ve Bulger (16) hipergliseminin Fİ'i azalttığını, ortamın glukoz seviyesi yükseldiğinde normallerin nötrofillerinde de Fİ azalması olduğunu gözlemişlerdir. Drachman ve arkadaşları (13) da, diabetik farelerde yaptıkları incelemelerde yüksek glukoz seviyelerinin Fİ'i

azalttığını belirlemişlerdir. Bagdade, Nielson, Root ve Bulger (33) de hipergliseminin fagositozu ters yönde etkilediğini bildirmişlerdir.

Nolan ve arkadaşları (12) hasta lökositlerini izole ederek, normal serumda denemişler ve buna rağmen kan glukoz düzeyleri ile Fİ arasında olumsuz korelasyon bulmuşlardır. Crosby ve Allison (36), Tan, Anderson ve Phair (35) ve Miller ve Baker (15) ise, AKŞ ile Fİ arasında ilişki olmadığını bildirmişlerdir.

Biz de, AKŞ değerleri ile Fİ arasında ilişki olup olmadığını araştırdık. Çalışmamızda AKŞ değerleri ile Fİ15 arasında istatistiki yönden önemli, AKŞ ile Fİ30 ve Fİ60 arasında çok önemli negatif korelasyon tesbit ettik; AKŞ değerleri yükseldikçe Fİ azalmaktadır (Tablo 4 ve Şekil 1-3). Sonuçlar, literatürle büyük ölçüde uygunluk göstermektedir (11-13, 15, 14, 31, 33, 4-39).

Normal serum ortamında incelenmelerine rağmen AKŞ ile Fİ arasında önemli negatif korelasyonun olması, insülin yetersizliği ile nötrofillerdeki primer defekt arasında paralellizm olduğunu göstermektedir.

Kontrol grubunda ise, AKŞ ile Fİ değerleri arasında önemli korelasyon tesbit edilememiştir (Tablo 5).

Nötrofil fonksiyon bozukluklarının yanı sıra, nötropeni drumunda da enfeksiyona yatınlık artmaktadır (23, 40-42). Toksik granülasyon gösteren nötrofillerde Fİ ve hücre içi öldürmenin azalmış olduğu bildirilmektedir (42-44).

Solberg ve Hellum (38), toksik granülasyon ve sitoplazmik vakuolizasyon gösteren genç nötrofillerin fagositoz kabiliyetlerinin azalmış olduğunu isbatlamışlardır.

Çalışmamızda, mm³'deki PNL sayısı ile Fİ arasındaki ilişkiyi de araştırdık. Gerek vakalarda, gerekse kontrollerde Fİ ile PNL sayısı arasında anlamlı bir ilişki tesbit edemedik (Tablo 6 ve 7). Nötropeni bulunan 3 vaka hariç tutulursa, vakaların lökosit sayısı ve formülü yönünden normal olması, Fİ'lerin fazla düşük olmaması ve PNL sayısı ile ilişki göstermemesini izah edebilir.

Mutlak nötropeni bulunan 3 vakada ise (PNL/mm³ 1400,360 ve 1512) Fİ'ler ortalama değerlere göre çok düşük bulunmuştur (Tablo 2). Nötropenik durumlarda nötrofillerde intrinsik defekt olduğu da bildirilmektedir (23,45). Bu ise, nötropenik olan 3 vakada Fİ değerlerinin düşük olmasını açıklayabilir.

Baguade, Nielson ve Bulger (31) ketoasidozsuz vakalarda tam kan kullanarak yaptıkları çalışmada, her iki tip DM'da Fİ'i düşük bulmuşlar ve diabetin tedavisi ile bu anormalliliğin önemli ölçüde düzeldiğini, ancak yine de normallerin düzeyine çıkamadığını bildirmişlerdir. Bagdade, Root ve Bulger (16), Tip-1 DM'lularda tam kan kullanarak yaptıkları çalışmada, nötrofilleri pnömokoklarla fagositoza sokarak Fİ'in düşük olduğunu tesbit etmişlerdir.

Miller ve Baker (15) ise, C. albicans kullanarak Tip-1 DM'lularda yaptıkları çalışmada Fİ'in normal olduğunu bildirmişlerdir.

Vakaları diabetin tipine göre de gruplandırarak Fİ yönünden karşılaştırdık. Tip-1 DM'lularda Fİ15 $47,5 \pm 28,8$, Tip-2 DM'lularda $47,7 \pm 27,2$; Fİ30 Tip-1 DM'lularda $63,5 \pm 42,3$, Tip-2 DM'lularda $81,5 \pm 45,8$ ve Fİ60 Tip-1 DM'lularda $95,8 \pm 58,3$ Tip-2 DM'lularda $119,0 \pm 57,1$ olarak bulundu. Aradaki fark istatistiki yönden anlamlı değildi (Tablo 8).

Çalışmamızda izole nötrofil ve normal serum kullandığımızdan, bulgularımızı ancak Miller ve Baker'inki (15) ile kıyaslayabildik; bizim sonuçlarımız bu araştırmacılarınkilerle uygunluk göstermektedir.

Enfeksiyon, fagositoz bozukluklarının sonucu oluşabildiği gibi, enfeksiyonun bizzat kendisi de fagositozu bozabilir. Dobozy ve Simon (34) enfeksiyonlu DM'lularda Fİ'i, enfeksiyonsuzlara oranla daha düşük bulmuşlardır. Mowat ve Baom (43) ve McCall ve arkadaşları (44) akut enfeksiyonların seyrinde nötrofil fonksiyon bozukluklarının görebileceğini bildirmişlerdir. Solberg ve Hellum (38) enfeksiyonlu 100 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, vakaların 1/3'ünde kontrollere oranla Fİ'i düşük bulduklarını, tedaviden sonra ise, Fİ'in normale döndüğünü tesbit etmişlerdir.

Tip-1 ve Tip-2 DM'lular arasında Fİ yönünden önemli farklılık bulamadığımızdan vakaları enfeksiyonlu ve enfeksiyonsuz olmak üzere iki gruba ayırarak da karşılaştırdık. Enfeksiyonlu grupta Fİ15 $42,6 \pm 27,1$; enfeksiyonsuz grupta $43,5 \pm 29,6$; enfeksiyonlu grupta Fİ30 $66,7 \pm 40,8$, enfeksiyonsuz grupta $72,3 \pm 54,5$ ve enfeksiyonlu grupta Fİ60 $116,5 \pm 44,6$ ve enfeksiyonsuz grupta ise $98,9 \pm 71,2$ olarak tsbit edildi. Fİ'lerin istatistiki yönden arşılaştırılmasında önemli farklılık tesbit edilemedi (Tablo 9).

Çalışmamızda enfeksiyonlu ve enfeksiyonsuz gruplar arasında önemli farklılık olmamasının sebebi; enfeksiyonların daha çok ürener sisteme ait olması, nötrofillerde sola kayma, toksik granülasyon ve sitoplzmik vakuoizasyon gibi belirtilerin olmaması ve nötrofil fagositozunun, sağlam kişilerden elde edilen serum ortamında incelenmesiyle açıklanabilir.

Fagositoz, enerji gerektiren bir olay olup, bu, özellikle "yutma" safhası için büyük önem arzeder (20,21,41,46). Nötrofillerde fagositoz sırasında glikojenin enerji kaynağı olarak kullanıldığı gerçektir ve glikojen depoları ilk 30 dakikada yarıya iner (25). Fagositoz sırasında ayrıca ekstrasellüler ortamdaki glukoz da enerji sağlamak için kullanılır (25,26, 47-49).

Iyer ve arkadaşları (21). fagositozun "yutma" safhasında nötrofil metabolizmasında artış olduğunu, glikojen yıkımının ve laktat üretiminin hızlandığını, ekstrasellüler ortamda yeterli glukoz bulunmadığında ise metabolizma hızlanmasının olmadığını göstermişlerdir.

Nolan ve arkadaşları (12) fagositoz sırasında nötrofiller tarafından ekstrasellüler ortamdan glukozun alındığını göstermişlerdir. Bu araştırmacılarla birlikte

Fussnger (50) de, insülinin, glukozun hücre içerisine girişini hızlandırmadığını, ancak, insülin varlığında glikojen metabolizmasının hızlandığını belirtmişlerdir.

Martin ve arkadaşları (51) DM'lularda nötrofillerin glukoz kullanımının kontrollere oranla önemli ölçüde düşük olduğunu, insülin ilâvesiyle glukoz kullanımının ileri derecede arttığını ve normallerdeki değere yaklaştığını tesbit etmişlerdir. Munroe ve Shipp (52), insülin tedavisi gören DM'lularda glukoz kullanımının normallerinkine eşit olduğunu, tedavi edilmemiş vakalarda ise düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Bagdade, Nielson ve Bulger (31) insülinin, granülosit membranından glukoz geçişini etkilemediğini, fakat glikolitik yolun bazı enzimlerinin (glukokinaz, fosfofrüktokinaz, piruvat inaz v.b.) fonksiyonlarını kolaylaştırarak etki ettiğini belirtmişlerdir.

Esmann (52) ekstrasellüler ortamdan glukoz alınımını değerlendirebilmek için deneye dört saat süreyle devam edilmesi gerektiğini, bir saatlik sürenin sonunda ortamdaki glukoz miktarının fazla değişmediğini göstermiştir; izole nötrofillerin bir saatlik süre sonunda glikojen depolarının ancak % 80'ini harcadığı bildirilmiştir (28).

Bakan (19), normallerden oluşturduğu 156 kişilik bir grupta, izole nötrofillerin ekstrasellüler ortamda glukoz kullanımını incelemiştir. Bakan çalışmasında, 1. saatin sonunda ortamdaki glukozun hafif yükselme gösterdiğini, glukoz kullanımının ise ancak 2. saatte başladığını tesbit etmiştir.

Çalışmamızda Fİ ile ekstrasellüler ortamdaki glukozun kullanımını arasındaki ilişkiyi de araştırdık. Bu amaçla, başlangıçta fagositoz ortamında bulunan glukoz miktarını 100 kabul ederek, 30. ve 60. dakikalarda glukoz tayini yaptık. OSG30 vakalarda $105,1 \pm 22,1$, kontrollerde $101,5 \pm 8,3$ ve OSG60 vakalarda $102,7 \pm 11,0$ kontrollerde $91,3 \pm 29,1$ olarak tesbit edildi. Vakalarla kontrollerin istatistiki yönden karşılaştırılmasında önemli farklılık tesbit edilemedi (tablo 10).

Eosin-Y ile yaptığımız tetkiklerde, tüm deney süresince nötrofillerin % 95-98'inin canlı olduğunu tesbit ettik. Bu nedenle, 30. dakikada görülen glukoz artışını nötrfillerden ortama glukoz verilmesine bağladık.

Çalışmamızda glukoz kullanımını bir saat süreyle izledik. Kontrollerle mukayese edildiğinde aradaki farkın önemli çıkmaması sürenin kısa olmasından ileri gelebilir. Yine de, 30. ve 60 dakikalarda vakaların glukoz kullanımı kontrollere oranla düşüktü. Bu düşüklüğün sebebi; diabetiklerin nötrofillerindeki intrinsik defekt veya defektler ile ilgili olabilir.

Nötrofil fagositozunun incelendiği çalışmalarda süre ile Fİ arasında olumlu korelasyon bulunmuştur. Leprer ve Cline (54) normal kişilerde yaptıkları çalışmada süre ile Fİ arasında pozitif korelasyon bulmuşlardır. Nolan, Beaty ve Bagdade

(12) DM'lu vakalarda yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Bu araştırmacılar 20. ve 30. dakikalarda kontrollere oranla Fİ önemli ölçüde düşük iken, 60. ve 120. dakikalarda Fİ'in gittikçe yükseldiğini, ancak, kontrollerin seviyesine çıkmadığını tesbit etmişlerdir.

Çalışmamızda, hem vakalarda hem de kontrollerde Fİ ile zaman arasında pozitif korelasyon tesbit ettik; faositoz süre ile doğru orantılı olarak artış gösteriyordu ve bu artış ilk 15 dakikada en yüksek oranda idi. Zaman'la orantılı olarak Fİ'in yükselmesine rağmen tüm deney süresince vakaların Fİ'leri kontrollere oranla düşüktü (Şekil 4).

Bulgularımız Nolan ve arkadaşlarına uygunlu göstermektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada 11'i Tip-1 DM'lu ve 13'ü Tip-2 DM'lu olmak üzere-toplam 24 hasta ile sağlıklı 13 kişiden oluşturulan kontrol grubunda nötrofil fagositozu ve nötrofillerin eksresellüler ortamda glukoz kullanımı incelendi. Sonuçlar şu şekilde sıralanabilir:

1. Hastalarda Fİ'ler düşük bulundu.
2. AKŞ düzeyi ile fagositoz arasında çok önemli negatif korelasyon bulundu; AKŞ değerleri yükseldikçe Fİ azalmaktadır.
3. Nötrofil sayısı (mm³'deki) ile fagositoz arasında istatistiki yönden anlamlı bir ilişki tesbit edemedik nötrofenik vakalarda ise fagositoz önemli ölçüde düşük bulundu.
4. Tip-1 ve Tip-2 DM'lular arasında Fİ yönünden önemli farklılık tesbit edilemedi.
5. Enfeksiyonlu ve enfeksiyonsuz vakalar arasında, fagositoz yönünden önemli farklılık tesbit edilemedi.
6. Vakalarda glukoz kullanımı kontrollere oranla düşük bulundu. Bu hususta, 14C (Radyoaktif karbon) ile işaretli glukoz kullanılarak radyoimmunoassay metodu-ile hassas çalışmaların yapılmasının uygun olduğu kanaatindeyiz.
7. Normal serum ortamında denenmelerine rağmen, diabetlilerin nötrofillerin de hem Fİ'in hem de glukoz kullanımının düşük olması, nötrofillerde intrinsik defekt olduğunu göstermektedir.
8. Fagositoz ile süre arasında pozitif korelasyon tesbit edildi; süre uzadıkça Fİ artmaktadır.
9. Çalışmamızda, hipergliseminin fagositozu inhibe ettiğini açıkça belirledik. Diabetlilerde enfeksiyonları önlemek veya kontrol altına almakta kan şekeri regülasyonunun önemli olduğu kanaatine vardık.

PHAGOCYTOSIS OF NEUTROPHILS FROM PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS AND THE GLUCOSE CONSUMPTION OF CELLS DURING PHAGOCYTOSIS

SUMMARY

In present study, the neutrophils isolated from the blood of 24 diabetic patients and 13 matched controls were treated with *Candida Albicans*, and the phagocytic index and glucose utilization during phagocytic activity were determined. Phagocytic index and glucose consumption for diabetics were found to be low when compared with those of controls. The abnormalities both in phagocytosis and glucose utilization in diabetic neutrophils show an intrinsic defect in the cell. A significant negative correlation between hyperglycemia levels and phagocytic index was determined. In other words, phagocytic index decreased as hyperglycemia level increased. It has been concluded that since hyperglycemia inhibits the phagocytosis, regulation of blood glucose in diabetic patients is of importance in order to prevent infections in diabetics and control the disease.

KAYNAKLAR

1. Kürkçüoğlu, M., Tunç, B.: *Diabetes Mellitus ve Diabetik Ketoasidozis*, Atatürk Üniv. Tıp Fak. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bilim Dalı Ders Notları (1982).
2. John, H. K.: *Diabetes Mellitus, Current Medical Diagnosis and Treatment*, 10 th Ed., Lange Med. Los Angeles, California, p. 717-719, 1977.
3. Mark, A.S.: *Diabetes Mellitus*, *Ped. Clin. North Am.*, 26: 149-169, 1979.
4. Alp, H., Sencer, E.: "Şekerli Diyabet" *Endokrin ve Metabolik Hastalıkları*, İst. Tıp Fak. Klinik Ders Kitapları, Sermet Matbaası, İst., s. 309-360, 1976.
5. Daniel, W. F.: "Diabetes Mellitus", *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 9 th Ed., New-York, McGraw-Hill Book Co., p. 1741-1755, 1980.
6. Howard, T.: *Management of Juvenile Diabetes Mellitus*, 2 nd Ed., C. V. Mosby, Co., St. Louis, p. 1-4, 171.
7. Crowels, H. C.: *Diabetes Mellitus in Childhood and Adolescence*, *Med. Clin. North, Am.*, 55 (4): 985, 1971.
8. Guyton, A.C.: "Kan Hücreleri, Bağışıklık ve Kan Pıhtılaşması", (Çev.: Bilge, M.), *Fizyoloji (Textbook of Medical Physiology)*, I. Baskı, Güven Matbaası, Ankara, cilt 1, s. 32,33, 107-110, 1977.

9. Badwey, UJ. A., Karnovsky, M. L.: Production of Superoksidi and Hydrogen Peroxide by an NADH Oxidase in Guinea Pig PMN, *J. Biol. Chem.* 254: 11530, 1979.
10. Stites, D. P.: "Neutrophil Function" Basic, and Clinical Immunology, Lange Med. Pub., Los Altos, Cal., p. 5r70, 1976.
11. Win)elbtein, J. A., Drachman, R. H.: Phagocytosis: The Normal Porocess and Its Clinically Significant Abnormalities, *Ped. Clin. North Am.*, 21: 51-556, 1974.
12. Nolan, C. M., Beaty, H. N., Bagdade, J. D.: Further Charmacterisization of the Impaired Bactericidal Function of Granulocytes in Patients With Poorly Controlled Diabetes., *Diabetes*, 27 (9): 888-894, 1978.
13. Drachman, R. H., Root, R. K., Wood, W. B.: Studies on The Effect of Experimental Nonketotic Diabetes Mellitus on Antibacterial Defense: Demonstration of a Defect in Phagocytosis, *J. Exp. Med.*, 124: 227-240, 1966.
14. Thornton, G. F.: Infections and Diabetes, *Med. Clin. North Am.*, 55 (5): 931-938, 1971.
15. Miller M., Baker, L.: Leukocyte functions in Juvenile Diabetes Mellitus, *J. Ped.*, 81: 979-982, 1972.
16. Bagdada, J. D., Root, R. K. Bulger, R. J.: cmpaired Leukocyte Function in Patients wi(h Porrlly Controlled Diabetes, *Diabetes* 23: 9-15, 1974.
17. Paschkis, K. E., Rakoff, A.E., Cantaron, A., Rupp, I. I.: *Endocrinology*, 3 th Ed., Harper an Row Publishers, New-York, I. 772-785, 1967.
18. Bostancı, N.: eker Has-alığı, 2. baskı, Bözak Matbaası, İstanbul, s. 27, 38, 48, 179, 1977.
19. Bakan, E.: Erzurum ve çevresindeki sağlam şahıslarda nötrofil alkalen fosfataz enzim seviyelerinin tesbiti, serum alkalen fosfatازی ile ilgisinin araştırılması ve lökositlerin glukoz tüketiminin tayin edilmesi, *Uzmanlık Tezi*, Erzurum, 1982.
20. Walters, M. I., Leesler, M. A., Stevenson, S. T.: Oxidative Metabolism of Leukocytes from Mond diabetic and Diabetic Patients, *J. Lab. Clin. Med.*, 28 (1): 158-166, 1971.
21. Iyer, Y. N., Ilam, M. F., Quastem, J. H.: Bidchemical Ashects of Phagocytosis, *Nature*, 192: 535-541, 1961.
22. Hirsch, J. G., Cohn, Z. A.: Degranulation of Polymorphonuclear Lukocytes Following Phagocytosis of Microorganisms, *J. Exp. Mer.* 112: 1005-1015, 1960.

23. Torunoğlu, M.: Dolaşı , Solunum ve Kan Hastalıklarına Fiziopatolojisi, 1. Baskı, Ankara, Ankara Üniv. Tıp Fak. Yay., Cilt 1, s. 325, 1981.
24. Berkarda, B., Müftüoğlu, A. Ü. Ulutin, O. N.: Kan Hastalıkları, Güryay Matbaası, İstanbul, s. 113-114, 1983.
25. Özand, P., L3leli, Y., Karan, A.: Lökosit Fagositozunun Biyokimyası Üzerinde ATartışma, Çocu) Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, Cilt 17, sayı 2, 1974.
26. Lahrichi, M., Tarallo, P., Hoipert, Y., Siest, G.: Influence of Glucose and İnhibitörs of Glycolysis on Release of Total Proteins and Enzymes from Human Leukocytes, Cli, Chem. Acta 79 (2): 479-487, 1977.
27. Oiller, M. E., Nilsson, U. R.: A Familial Deficiency of The Phagocytosisenhancing Activity of Serum Releated to a Dysfunction of The Fifth Component of Complement, N. Eng. J. Med., 282: 354, 1970.
28. Karan, A.: İnsan Polimorf Nüveli Lökositlerinden Fagositoz Esnasında Ortama Lizozomal Erzim Salıverilişinin Kinetiği ve Oksalamininstkisi, Doçentlik Tezi, Hacettepe Üniv., Ankara, 1976.
29. Baybee, J. D., Rohers, D. E.: The phagocytic activity of PMN obtained from patients with Diabetes Mellitus, J. Lab. Clin. Med. 64: 1-13, 1964.
30. Cornell, R. P.: RES hyperphagocytosis by rats with streptozotoçin-induced diabetes mellitus, Am. J. Physiol., u40: G224, 1981.
31. Bagdade, J. D., Nielson, K. L., Bulger, R. J.: Reversible Abnormalities in PhagoJytic Function in Poorly Controlled Diabetic Patients, The Am. J. Mer. Sci., 263 (6): 451-456, 1972.
32. Tan, J. S.; Watanakunakorn, C., Phair, J. P.: Host resistance in diabetes: Neutrophil Dysfunction, J. Cln, Invest. 51: 960, 1972.
33. Bagdade, J. D., Dielson, K., Root, R., Bulger, R.: Host Defense in Diabetes: The Feeless Phagocyte During Poor Control and Ketoacidosis, Diabetes, 19: 364, 1970.
34. Dobozy, C.A., Simon, N.: Study of Phagocytic Function ,ith a Xmuantitative NBT Reduction Test in Diabetes Mellitus, Arc. Dermatol. Res., 268: 283-288, 1980.
35. Tan, J. S., Vnderson, J. I., Phair, J. P.: Neutrophil Dysfunction in Diabetes Mellitus, J. Lab. Clin. Med. 85 (1): 28-35, 1974.
36. Crosby, B., Albison, F.: Phagocytic and Sactericidal Capacity of Polymorphonuclear Leucocytes Recovered from Venous Blood of Human Beings, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 123: 660-664, 1966.

37. Wintrobe, M. M.: Clinical Haematology, 8 th Ed, Lea and Febiger, Philadelphia, p. 1199-202, 215-225, 1981.
38. Solberg, C. O.: Neutrophil Granulocyte Function in HBacterial Infections, *Lance*, Sat-7, Oct. 727, 1972.
39. Daniel, D. F.: "Diabetes Mellitus" Harrison's Principles of Internal Medicine, 9 th, Ed., New-York, Mc Graw-Hill Book Co., p. 1741, 1980.
40. David C. D.: "Abnormalities of Leukocyte", Harrison's Principles of Internal Medicine, 9 th Ed., New-York, Mc Graw-Hill Book Co., p. 284, 1980.
41. Stites, D. P.: "Neutrophil Function") Basic and Clinical Immunology, Lange Med. Pub., Los Altos, California, p. 58, 1976.
42. Quie, P. G.: Pathology of Bactericidal Power of Neutrophils, *Sem. Hem.*, 12: 143, 1975.
43. Muwat, A. G., Baum, J.: Polymorphonuclear Leukocyte Chemotaxis in Patients with Bacterial Infections, *Br. Med. J.* 3: 617-619, 1971.
44. McCall, C. E., Caves, J., Cooper, R., et al.: Functional characteristics of Human Toxic Neutrophils, *J. Infect. Dis.* 124: 68-75, 1971.
45. Tauber, A. I.: Current View of Neutrophil Dysfunction, *Am. J. Med.*, 70: 1237-1243, 1981.
46. Stossel, T. P.: Phagocytosis: Recognition and Ingestion, *Sem. Hematol.* 12: 83, 1975.
47. Terzioğlu, R.: "Kanın Bileşimi ve Fiziksel Özellikleri::, Gızyoloji Ders Kitabı, 1. Baskı, İstanbul Üniv. Yay., Cilt 2, s. 60, 68, 1978.
48. Schleisinger, M. J., Reynolds, J. A., Schlesinger, S.: Formation and Localization of the Alkaline Phosphatase of *E. coli*, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 166: 368, 1969.
49. Bainton, R. F.: Sequential Degranulation of The two Types of Polymorphonuclear Leukocyte Granules During Phagocytosis of Microorganism, *J. Cell Biol.*, 58: 249-264, 1973.
50. Fussanger, K. D.: Binding and Degradation of Insulin by Human Peripheral Granulocytes, *J. Bio., Chem.*, 251: 2761-2769, 1976.
51. Martin, S. P., McKinney, G. R., Green, R., Becker, C.: The influence of glucose, fructose, and insulin on the metabolism of leukocytes of healthy and diabetic subjects, *J. Clin. Invest.*, 32: 1171-1174, 1953.
52. Munroe, J. F., Shipp, J. C.: Glucose metabolism in leukocytes from patients with Diabetes Mellitus, with and without hypercholesterolemia, *Diabetes*, 14 (9): 584-590, 1965.

53. Esmann, V.: Effect of Insulin on Human Leucocytes, *Diabetes*, 12: 545-549, 1964.
54. Lehrer, R. I., Cline, M. J.: Interaction of *Candida albicans* with human leucocyte and serum, *J. Bact.*, June, 996-1004, 1969.