

Çinko Eksikliğinde ve Oral Zn Tedavisinden Sonra Fagositoz*

PHAGOCYTOSIS IN ZINC DEFICIENT PATIENT SAFTER ORAL ZINC TREATMENT

Prof.Dr. Naci M.BOR, Dr. Zahide İBRAHİMOĞLU, Prof.Dr. Ayvaz KARABIYIKOĞLU

Hacettepe Üniversitesi Cerrahi Araştırma Birimi, ANKARA

ÖZET

Polimorfonükleer lökositlerin fagositozu polystiren partikül metodu ile ZN eksikliği olan 11 insanda tedaviden önce ve Zn eksikliği olan 17 hastada tedaviden sonra değerlendirildi. Bunlardan alınan kan heparinize edildikten sonra polystiren partiküllerle enkübe edildi ve sonra yayma preparatlar boyanarak formül lökositler yapıldı. Sayılan her 100 lökosit içinde hangi alt grupların kaç adet partikül fagosite ettikleri teker teker sayıldı ve bulgular istatistik olarak değerlendirildi.

Tedavi öncesi grupta 100 akyuvardan ortalama 43.5 ± 2.6 'sının nötrofil lökositler olduğu görüldü. Bunlardan 27.1 ± 2.9 'unun fagositoz yaptığı ve 16.4 ± 2.5 'inin fagositoz yapmadığı bulundu. Zn tedavisine tabi tutulan grupta ise 100 akyuvardan 46.7 ± 1.5 tanesi nötrofil lökosit idi. Bunlardan 38.5 ± 2.0 'ı fagositoz yapmış 8.2 ± 1.1 'i ise fagositoz yapmamıştı. Her iki gruptan fagositoz yapan ve yapmayan lökositler arasındaki fark istatistik yönden önemli idi ($p < 0.05$). nötrofil lökosit başına düşen fagosite edilmiş lateks sayısı ise kontrol vaka/arda 30.7 ± 2.1 ve tedavi edilenlerde 36.9 ± 1.9 ($p < 0.05$) bulundu.

Bulgularımız çinko eksikliğinde lökositler fagositozun azaldığını ve Zn verilince bu durumun düzeldiğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Zn eksikliği, Fagositoz, Polimorfonükleer lökositler

TKlin Araştırma, 1991, 9:58-65

Geliş Tarihi: 6.11.1990

Kabul Tarihi: 10.11.1990

Yazışma Adresi: Prof.Dr. Naci M.BOR
Hacettepe Üniversitesi Cerrahi Araştırma Birimi. ANKARA

SUMMARY

Phagocytosis was evaluated in a total of 26 patients presenting with zinc deficiency symptoms. 11 of these were studied before zinc treatment started and 17 after their serum zinc levels returned to normal. It was observed that of 100 leucocyte of the peripheral blood 43.5 ± 2.6 were neutrophils and of these 27.1 ± 2.9 had contributed to phagocytosis and 16.4 ± 2.5 were free of microspheres, in the group receiving oral zinc therapy there were 46.7 ± 1.5 neutrophils 38.5 ± 2.0 of which had actively ingested 8.2 ± 1.1 had not ingested any microspheres. Comparison of the corresponding subgroups revealed that the differences were statistically important ($p < 0.05$).

It was also noted that an average neutrophil leucocyte had ingested 30.7 ± 2.1 particles in the control group and 36.9 ± 1.9 particles in the zinc treated group ($p < 0.05$). It is concluded that PMN phagocytosis is depressed in patients with zinc deficiency and that it returns to normal upon treatment.

KeyWords: Zinc deficiency, Phagocytosis, Polymorphonuclear leucocytes

Turk J Rest- Med Sci. 1991. 9:58-65

*Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Teşebbüs Destekleme Ajansı (TDA) ve Anadolu Sağlık ve Araştırmalar Vakfı tarafından desteklenerek. Hacettepe Üniversitesi Cerrahi Araştırma Birimi'nde yapılmıştır.

Muhtelif sebeplerle oral ZnSCM tedavisine tabi tutulan pek çok hasta genellikle bir hafta on gün içinde kendini daha enerjik ve sağlıklı hisseder ve kronik şikayetleri kaybolur. Neticede uzun süreden beri devam eden iltihaplı olaylar son bulur ve yaralar kapanır (1-3). Bütün bu iyileşme olaylarında bağ dokusunun ve özellikle kollajen liflerin katkısı ayrıntıları ile incelenmiştir (5). Ancak aynı şartlarda özellikle kronik enfeksiyonların iyileşmesinde fagositlerin önemli katkıları olması muhtemeldir (6). Nitekim Martinez ve ark. (7) ileri derecede beslenme bozukluğu olan hastalarda serum Zn seviyesinin normalin altında olduğunu ve bunlara oral Zn verilince fagositozun arttığını gösterdiler, buna karşılık literatürde Zn'nun fagositozu inhibe ettiğine işaret eden çalışmalar vardır (8-10). Çelişen bu iddiaları değerlendirmek ve konuya açıklık kazandırmak için laboratuvarımızda klinik ve deneysel araştırmalar planlandı. Bu makalemizde bahis konusu çalışmalarımızın ilk sonuçlarını sunuyoruz.

MATERYAL VE METOD

Çinko tedavisinden önce (kontrol dönemi) 11 ve Zn⁺⁺ tedavisi altında olan 17 hasta bu çalışma için tesadüf (random) metodu ile seçildi (Tablo 1). Bütün hastalarda alopesi, migren, acne vulgaris ile ilgili şikayetler mevcuttu. Hastalardan tam bir anamnez alındıktan sonra, her biri fizik muayeneden geçirildi. İki grupta da lökositozu etkilediği bilinen bir hastalığın delillerine rastlanmadı. Bunlardan postabsorptif durumda alınan kandan ayrılan 0.1 ml'lik bir örnek heparinli tübe nakledildi ve üzerine standard latex (0.81 µm) süspansiyonundan 0.05 ml ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra 35°C de 20 dakika inkübe edildi. Lâm üzerinde yayma preparat yapılarak Giemza ile boyandı. Sonra 100 lökosit içinde alt gruplar değerlendirilerek fagositoz yapan ve yapmayan lökositler teker teker sayıldı ve her birinin içinde kaç adet latex partikülü olduğu kaydedildi (Tablo 1 ve 2).

Alınan kan örneklerinde ayrıca serum ve eritrosit Zn⁺⁺ düzeyleri ve 10¹⁰ eritrositin ihtiva ettiği Zn⁺⁺ miktarı ölçüldü. Bunlara ilave olarak Cu⁺⁺ seviyesi ve bu iki eser metal ile ilgili bazı enzimler ölçüldü. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmeleri Mann-Whitney U testine göre yapıldı.

Tablo 1.

	Tedavi Öncesi (%)	Tedavi Sonrası (%)	İstatistiksel Önem
Nötrofil lökositlerin yaptığı fagositoz sayısı	27.1 ± 2.9	38.5 ± 2.0	P < 0.05
Pagositoz yapmayan nötrofil sayısı	16.4 ± 2.5	8.2 ± 1.1	P<0.05
Nötrofil başına düşen fagosite edilmiş latex sayısı	30.7 ± 2.1	36.9 ± 1.9	P<0.05
Nötrofil lökositlerin fagosite ettiği toplam latex sayısı	813.0 ± 85.2	1425.0 ± 112.0	P<0.05

Tablo 2.

	Tedavi Öncesi (9e)	Tedavi Sonrası (↔)	İstatistiksel Önem
Fagositoz yapmayan lökosit sayısı (%)	67.8 ± 2.5	56.5 ± 1.1	P<0.05
Fagositoz yapan lökosit sayısı (%)	32.2 ± 3.3	45.5 ± 1.9	P<0.05
Lökositlerin fagosite ettiği toplam latex sayısı	978.0 ± 95.9	1600.0 ± 119.2	P<0.05
Lökosit başına düşen latex sayısı	30.8 ± 2.1	37.3 ± 1.8	P<0.05

BULGULAR

Fagositoz yalnız nötrofiller için değerlendirildiğinde Zn⁺⁺ tedavisi görmeyen kontrol vakalarda toplam 100 akyuvardan 43.5 ± 2.6 tanesinin nötrofil lökositler olduğu ve bunlardan 27.1 ± 2.9'unun fagositoz yaptığı, geri kalan 16.4 ± 2.5 adedinin fagositoz yapmadığı anlaşıldı (Tablo 2). Zn⁺⁺ tedavisine tabi tutulan grupta ise 100 akyuvardan toplam 46.7 ± 1.5 tanesi nötrofil lökosit olarak saptandı. Bunlardan 38.5 ± 2.0'si fagositoz yapmış, 8.2 ± 1.1'i fagositoz yapmamıştı. Her iki gruptan fagositoz yapan ve yapmayan lökositler arasındaki farkın istatistik bakımından önemli olduğu bulundu (p<0.05). Nötrofil lökosit başına düşen fagosite edilmiş latex sayısı ise tedavi görmeyenlerde 30.7 ± 2.1 ve görenlerde 36.9 ± 1.9 bulundu. Bu sayılar arasındaki fark da önemli idi (p<0.05, Şekil 1 ve 2).

Nötrofil lökositler tarafından fagosite edilen toplam latex sayısının kontrol ve tedavi görmekte olan hastalarda 818.0 ± 85.2 ve 1425.0 ± 112.0 olduğu bulundu. Bunların aralarındaki fark da önemli idi (p < 0.05, Tablo 1).

Monosit, cozinofil ve lenfositlerde fagositoz yapan ve yapmayan hücreler bu metotla değerlendirildiğinde fagositoz yapma yeteneği açısından gruplar arasında önemli fark bulunmadığı anlaşıldı ($p > 0.05$).

Her iki grupta 100'er lökositin bütün alt gruplarından fagositoz yapanlar ile yapmayanlar ve fagosite edilen toplam latex sayısı ile her lökosit başına isabet eden latex sayısı, iki grupta karşılaştırıldığında, bu parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$, Tablo 2).

Çalışmaya alınan her iki hasta grubunun serum Zn^{++} ve Cu^{++} seviyeleri karşılaştırıldığında tedavi öncesi 76.9 ± 2.2 $\mu\text{g/dl}$ olan serum Zn^{++} seviyelerinin tedavi sonrası bulgularından (89.2 ± 4.4 mg/dl) istatistiksel olarak anlamlı kabul edilebilecek düzeyde artmış olduğu ($p < 0.05$), tedavi öncesi 103.8 ± 0.1 $\mu\text{g/dl}$ olan serum Cu^{++} düzeylerinde tedavi sonrası (107.1 ± 6.0 u.g/dl) ise önemli bir değişiklik göstermediği müşahede edildi ($p > 0.05$).

Tedavi öncesi (1159 ± 63.8 u.g/dl) olarak ölçülen eritrosit çinko seviyeleri, tedavi sonrası ise (1178 ± 47.8 u.g/dl) bulunurken, 10^{10} eritrosit Zn^{++} muhtevaları, tedavi öncesi (12.0 ± 0.7 $\text{mg} \times 10^{10}$), tedavi sonrası (12.5 ± 0.05 $\text{mg} \times 10^{10}$) olarak ölçüldü ve her iki parametre istatistiksel olarak farklı bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 3).

TARTIŞMA

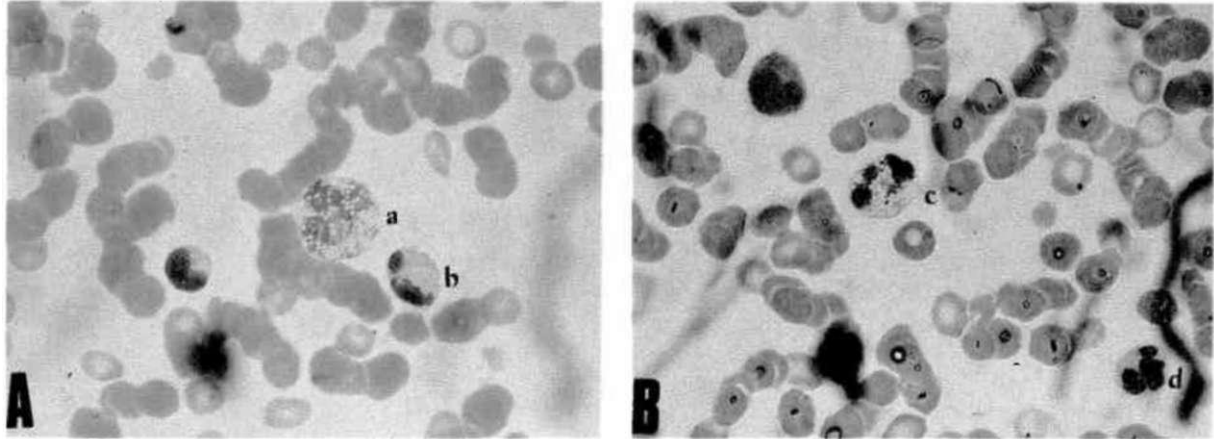
Fagositozu bedenın önemli bir korunma mekanizması olarak tanıtan Metchnikof (1901), bu fonksiyonun bozulması halinde çok önemli hastalıklar görülebileceğini idrak etmişti (11). Ancak bu ihtimalin kesinlikle ispatı öncelikle fagositozun ölçülebilir hale gelmesine bağlı idi. Nitekim in vitro ortamlarda fagositoza etki eden faktörleri inceleyen Sbarra (1963) KCl, NaCl, Na, K malonate ve K₂SG⁴'ın fagositozu inhibe ettiğini göstermiştir (12). Ayrıca ortamda aşırı tuz konsantrasyonunun fagositlerin solunumu kısıtlamak suretiyle fagositozu inhibe ettiğini göstermiştir (12). Ayrıca ortamda aşırı tuz konsantrasyonunun fagositlerin solunumu kısıtlamak suretiyle fagositozu inhibe ettiğini bulmuştur. Yüksek tuz konsantrasyonu glycolysis'i ve heksoz monofosfat shunt'ı yolu ile glukoz yapımını inhibe ederek gene fagositozu azaltıyordu (13).

Weisman ve Korn (1967) acanthoamoeba'nın fagositozunu ölçmek için polystirene partiküller (mikroküreler) metodunu geliştirdiler (14). Daha sonra Wetzel (1969) aynı metodu kullanarak acanthoamoeba'nın kendi vücut kitlesinin %15'i nisbetinde fagositoz yapabileceğini buldu (15). Steinkamp (1982) de fluoresan partiküller kullanarak fagositozu ölçtüler (16). Aynı araştırmacılar (16) glucose, vitaminler, Mg^{++} , Ca^{++} , Fe^{++} , proteoz-pepton, serum protein, **K₂PO₄**, optimum konsantrasyonlarda NaCl, pH ve osmolaritenin fagositik aktiviteyi arttırdığını buldular (1967).

Fagositlerin fonksiyonları arasında hareket kabiliyeti (molilic) ve lokotaxis'in mikroplarla organizmanın mücadelesinde tartışılmaz bir rolü vardır. Nitekim Ward (1969), tekrarlayan enfeksiyonları olan bir vakada nötrofil lokotaksis'i inceledi ve azalmış olduğunu gözledi (17). Clark (1973) aynı şekilde kronik ve tekrarlayan enfeksiyonları olan bir vakada lökositlerin metabolik aktivitelerini ve fagositoz, bakterisidal aktivite, pasif motilite ve diğer bütün fonksiyonlarının normal olduğunu fakat kemotaksisin azaldığını (18), Boxer (1974) tekrarlayan bakteriel enfeksiyonlara yakalanan bir yeni doğan bebekte nötrofil hareketlerinde (locomotion) ve mikroorganizmaları fagosite etmesinde yavaşlama olduğunu buldu (19).

Bütün bu müşahedeler Zn eksikliğinde bir veya birçok lökosit fonksiyonunun bozulmuş olabileceğini ifade etmektedir. Nitekim Gaskin ve Kress (1977) tubulini ve mikrotubulilerle ilgili diğer proteinleri purifiye ettiler (20) ve Zn konsantrasyonunun hücre içinde bu proteinlerin ve dolayısıyla mikrotubulilerin yapılmasını uyardığını gösterdiler. Bu bulgular Zn eksikliğinde fagositlerde bu açıdan da bozukluk olabileceğini ifade eder. mesela lökosit salgı fonksiyonlarının bozulabileceğini düşündürür. Bu bakımdan Ganz ve arkadaşları (1985) insan nötrofillerinden "defensin" adını verdikleri tabii antibiotikler salgılandığını gösterdiler (21). Ancak bunlarla Zn metabolizması arasındaki ilişki henüz incelenmiş değildir. Buna karşılık Yavuz Yılmaz ve ark. (1987) serum Zn seviyeleri normalin altında olan periodontitisli hastalarda kemotaksisin önemli derecede azaldığını gösterdiler (22).

Bütün bu bulgular Zn ve fagosit fonksiyonlarının arasındaki ilişkinin yeniden incelenmesi gerektiğini ifade eder. Bu açıdan konuya yaklaşarak



Şekil 1.

- A. Resmin ortasındaki iri neutrofil lökositin (a) içinde fagosite edilmiş pekçok polystiren partikül görülüyor. Hemen onun altındaki daha küçük neutrofil lökositin ise (b) çok net olmamakla beraber daha az miktarda fagositoz yaptığı görülüyor.
- B. Resmin ortasındaki (c) parçalı lökosit ileri derecede fagositoz yapmış, sağ alt köşedeki (d) ise hiç fagositoz yapmamıştır.

bu yazımızda muhtelif hastalıklarla bize başvuran ve serum Zn seviyesi azalmış olan hastalarda fagositoz bulgularını sunduk. Diğer taraftan çinko eksikliği olan muhtelif hastalıklarda lökositlerde Zn muhtevasının azaldığı gösterilmiştir (23,24). Literatürdeki bu bilgileri ve bizim istatistik metodlarla teyid ettiğimiz bulguları bir araya koyarsak Zn eksikliğinde polimorf nötrofil lökositlerin yapılarında ve fonksiyonlarında ve bilhassa fagositozda bozukluklar meydana gelmekte olduğu sonucuna varırız. Bu bulgular iyileşmeyen yaraları olan hastalarda mevcut olduğunu bildiğimiz bağ dokusu metabolizması ile kemotaksidaki defekt ile beraber başka fagosit fonksiyonlarının da etkilenebileceği ihtimalini düşündürür. Bu görüşler bir taraftan eser metallerin insan patolojisindeki önemini arttırırken iyileşmesi geciken ve tekrarlayan enfeksiyonlarda yeni araştırmalar için önemli ipuçları verir.

Tartışmada önemle dikkate alınması gereken bir konu da fagositozdaki farkların çinko tedavisi ile ilgili olup olmadığı hususudur (7). Zn ile tedavi edilmekte olan grupta ortalama serum çinko seviyesinin kontrol gruba göre anlamlı derecede yüksek olması

bu soruyu cevaplandırmaktadır (Tablo 3). Diğer taraftan onlara az miktarda verilen Cu, Zn tedavisi esnasında azaldığı bilinen serum Cu seviyelerinin düşmesine mani olmak gayesini güdüyordu (25,26). Nitekim önceki çalışmalarımızda oral Zn tedavisine tabu tutulan hastalarda Cu seviyelerinin kısa bir zaman içinde azaldığı görülmüş ve bunu önlemek için hastalara az miktarda CuSCM (5F120) ilave olarak verilmişti. Bu hastalar çok yakından takip edilmiş ve serum Cu seviyelerinin normal hudutlarda olması sağlanmıştır (27,28). Nitekim bu serimizde de serum Cu seviyeleri başlangıçtakinden farklı değildi. Bu sebeplerledir ki kısa veya uzun bir

Tablo 3.

	Tedavi Öncesi (%)	Tedavi Sonrası (%)	İstatistiksel Önem
Serum çinko seviyesi (li-g/dl)	76.9 ± 2.2	89.2 ± 4.4	P<0.05
Serum bakır seviyesi (jJLg/dl)	103.8 ± 8.1	107.1 ± 6.0	P>0.05
Eritrosit çinko seviyesi (jµg/dl)	1159.0 ± 63.8	1178.0 ± 47.8	P>0.05
10 ⁶ eritrosit çinko miktan (p ^{pdO})	12.0 ± 0.7	12.5 ± 0.5	P>0.05