

# BETA-GLUKAN'IN RATLARDA KONTRAST NEFROPATİYİ ÖNLEYİCİ ETKİSİNİN NEBİVOLOL VE N-ASETİLSİSTEİN İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Eyüp KOÇ \*, Kadriye ALTOK REİS<sup>1</sup>, Fatma AYERDEN EBİNÇ<sup>1</sup>,  
Hatice PAŞAOĞLU<sup>2</sup>, Canan DEMİRTAŞ<sup>2</sup>, Suna ÖMEROĞLU<sup>3</sup>, Ülver  
BOZTEPE DERİCİ<sup>1</sup>, Galip GÜZ<sup>1</sup>, Yasemin ERTEN<sup>1</sup>, Musa BALI<sup>1</sup>,  
Turgay ARINSOY<sup>1</sup>, Şükrü SİNDEL<sup>1</sup>

\*Ankara Numune Eğt. ve Araşt. Hastanesi, Nefroloji Kliniği

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nefroloji BD

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya BD

<sup>3</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji BD

# GİRİŞ ve AMAÇ

- Kontrast nefropati (KN); hipotansiyon ve cerrahiye bağlı ABY'den sonra 3. en sık hastane kaynaklı böbrek yetmezliği nedenidir ve olguların %11'inden sorumludur. [1,2]

[1] McCullough PA. Crit Care Clin 2005;21(2):261-80.

[2] Gleeson TG. AJR Am J Roentgenol 2004;183(6):1673-89

# GİRİŞ ve AMAÇ

- Klinik çalışmalarda en sık kullanılan tanımlama;
  - farklı bir neden olmaksızın, KM verilmesinden 48 saat sonra SCr düzeyinin  $\geq 0.5$  mg/dl ( $\geq 44.2$   $\mu\text{mol/L}$ ) veya bazal değerin  $\geq 25\%$  artması şeklindedir. [11,12]

[11] Mehran R, et al. Kidney Int Suppl 2006;100):S11-5

[12] Ozcan EE, et al. Am Heart J 2007;154(3):539-44

# GİRİŞ ve AMAÇ

- KN insidensinin düşürülmesi ile hastaların morbiditesinde, mortalitesinde ve hastanede kalış sürelerinde azalma sağlanabilir.
- Ekstrasellüler volüm genişletilmesi dışında, herkes tarafından kabul edilen KN'yi önlemede etkili bir protokol henüz yoktur.

# GİRİŞ ve AMAÇ

- N-asetilsisteinin (NAC) KN'yi önleyici etkisi konusunda çelişkili sonuçlar vardır [1,2] (yararlı: 3,4 yararlı: 5,6). Bu ajan günümüzde, KN proflaksisinde sıklıkla kullanılmaktadır.
- Nebivolol'ün KN'yi önlemede yararlı olduğu, ratlarda yapılan bir çalışmada gösterilmiştir [7].

[1] Alonso A, et al. Am J Kidney Dis 2004;43(1):1-9

[2] Pannu N, et al. Kidney Int 2004;65(4):1366-74

[3] Tepel M, et al. N Engl J Med 2000;343(3):180-4

[4] Kay J, et al. JAMA 2003;289(5):553-8

[5] Briguori C, et al. J Am Coll Cardiol 2002;40(2):298-303

[6] Durham JD, et al. Kidney Int 2002;62(6):2202-7

[7] Toprak O, et al. Nephrol Dial Transplant 2008;23(3):853-9

# GİRİŞ ve AMAÇ

- Çeşitli hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde yararlı olduğu düşünülen doğal ürünlerin kullanılması tercih edilebilir.
- Bu polisakkaridler içinde, *maya hücresi* (*Saccharomyces cerevisiae*) duvarından elde edilen **1-3-Beta glukan (BG)**, en yüksek biyolojik etkileri nedeniyle daha çok incelenmiştir.<sup>[1]</sup>

[1] Sener G, et al. Eur J Pharmacol 2006;542(1-3):170-8

# GİRİŞ ve AMAÇ

- Beta Glukan'ın (BG) immünomodulator ve antioksidan etkileri bilinmektedir. Ayrıca, böbrekte iskemi/reperfüzyon hasarını önlediği rapor edilmiştir [1].
- Bu çalışmada, BG'lerin bu olumlu etkileri nedeniyle,
  - KN'yi önlemede de yararlı olup olmadığı,
  - eğer yararlı ise bunun NAC ve nebivolol ile karşılaştırılarak değerlendirilmesi amaçlandı.

[1] Bayrak O, et al. Am J Nephrol 2008;28(2):190-6

# GEREÇ ve YÖNTEM

- Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde yetiştirilen 36 adet Wistar-albino dişi rat (6 haftalık, ort.  $235 \pm 38$  g) çalışmaya alındı.

# Çalışma Planı ve İlaçlar

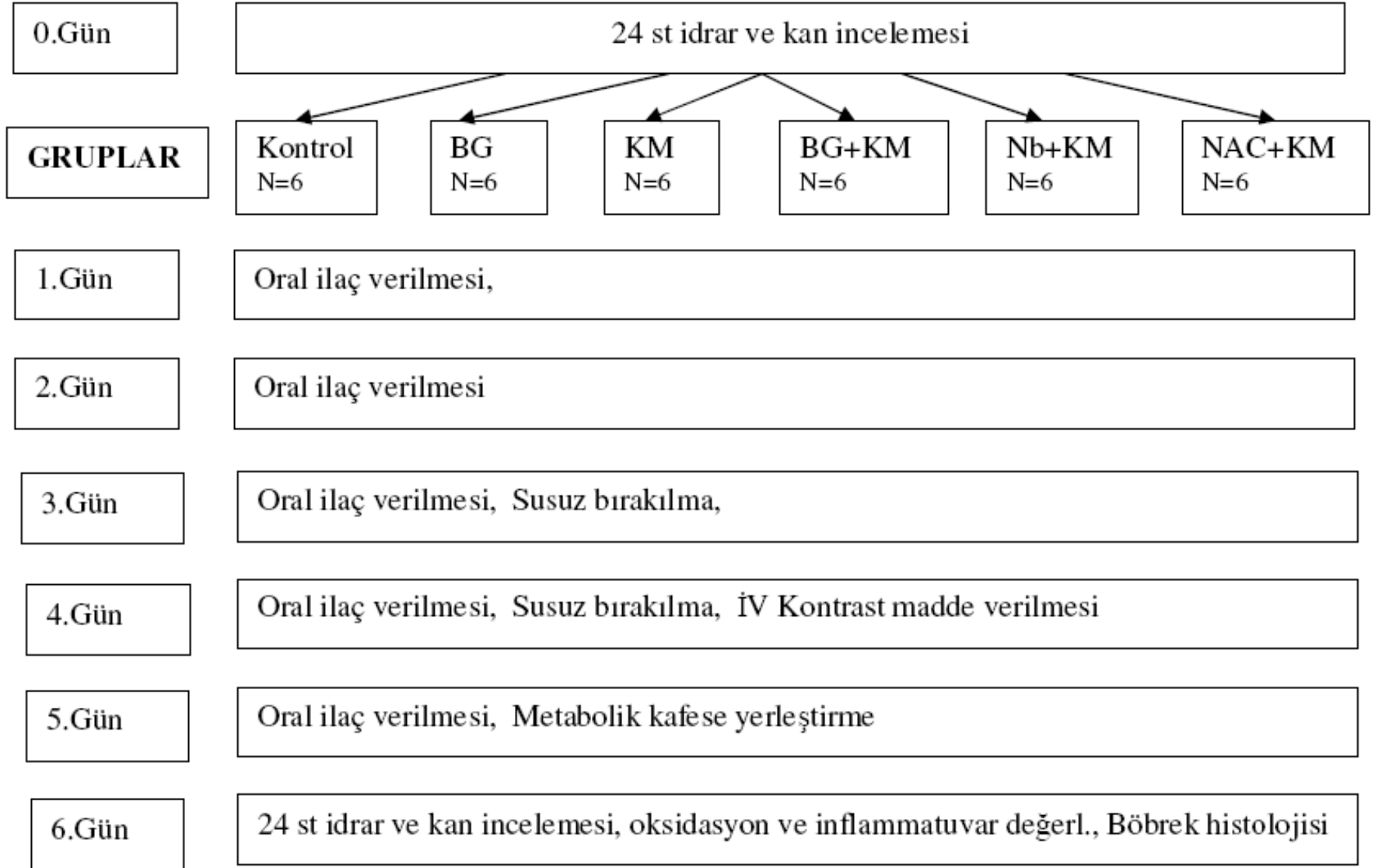
- Her grupta 6'şar rat olmak üzere, ratlar rastgele olarak 6 gruba ayrıldılar:
  - *1.Grup*: Kontrol,
  - *2.Grup*: Sadece KM verilen grup (KM),
  - *3.Grup*: B-Glukan grubu (BG),
  - *4.Grup*: B-Glukan ve KM verilen grup (BG+KM),
  - *5.Grup*: Nebivolol ve KM verilen grup (Nb+KM),
  - *6.Grup*: NAC ve KM verilen grup (NAC+KM).

# Çalışma Planı ve İlaçlar

- İlaç alan ratlara 1. ve 5. günler arasında (5 gün süreyle) aşağıda belirtilen dozlarda ilaç verildi:
  - **B-Glukan**: 50 mg/kg, günde 1 kere, oral gavaj (Saccharomyces cerevisiae mayasından elde edilen mikropartiküler formda hazırlanmış ilaç [İmuneks, Mustafa Nevzat Drug Co, Türkiye], salin içinde süspansiyon haline getirildi).
  - **Nebivolol**: 2 mg/kg, günde 1 kere, oral gavaj (Vasoxen Tb, Berlin-Chemie AG, Menarini Group, Germany).
  - **N-asetilsistein**: 100 mg/kg, günde 1 kere, oral gavaj (Asist ampul).

# Çalışma Planı ve İlaçlar

- Ratlar, 3. ve 4. günlerde olmak üzere 2 gün süresince susuz bırakıldılar.
- 4. günde kontrol grubu dışındaki ratlara eter anestezisi altında iken, kuyruk venlerinden 6ml/kg dozunda **diatrizoat** (Urografin % 76, Schering AG, Germany) İV verildi.



## Çalışma Planı

# Biyokimyasal İncelemeler ve Renal Fonksiyon Değerlendirmesi

- 1. ve 6. günlerde;
  - BUN, kreatinin, Na için kan ve
  - Mikroprotein, Na (FENa için) ve CrCl ölçülmesi için 24 st'lik idrar örnekleri elde edildi.

# Biyokimyasal İncelemeler ve Renal Fonksiyon Değerlendirmesi

- 6. günde;
  - ileri protein oksidasyon ürünü (AOPP),
  - lipid peroksidasyon derecesini göstermek için malondialdehit (MDA),
  - glutatyon düzeyini değerlendirmek için total tiyol,
  - NO,
  - tümör nekroz faktörü-  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ),
  - interlökin- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) bakılması için kan örnekleri alındı.

# Biyokimyasal İncelemeler ve Renal Fonksiyon Değerlendirmesi

- 6. günde intraperitoneal xylazine ve ketamine ile genel anestezi uygulanıp böbrekler çıkarıldı.
- Sağ böbrek %10 formaline koyularak histopatolojik değerlendirme için ayrıldı.
- Soldaki ise böbrek dokusunda AOPP, MDA ve total tiyol bakılmak üzere -70 °C'de saklandı.

# Histopatolojik İnceleme

- Böbrek proksimal ve distal tübülüslerinde: vakuolizasyon, dejenerasyon, nekrotik değişiklikler
- Medullada: konjesyon derecesi semikantitatif olarak skorlandı. Buna göre:

## Tübülüsler için:

*Evre 0:* Hasar yok, *Evre 1:* %10 hasar *Evre 2:* %10-25 hasar, *Evre 3:* %25-50 arasında hasar, *Evre 4:* %50'den fazla hasar.

## Medulla için:

*Evre 0:* Konjesyon yok,  
*Evre 1:* + (mikroskop sahasındaki medulla bölgesinin %10'u),  
*Evre 2:* ++ (medulla bölgesinin %10-25'i),  
*Evre 3:* +++ (medulla bölgesinin %25-50'si)  
*Evre 4:* ++++ (medulla bölgesinin %50'den fazlası).

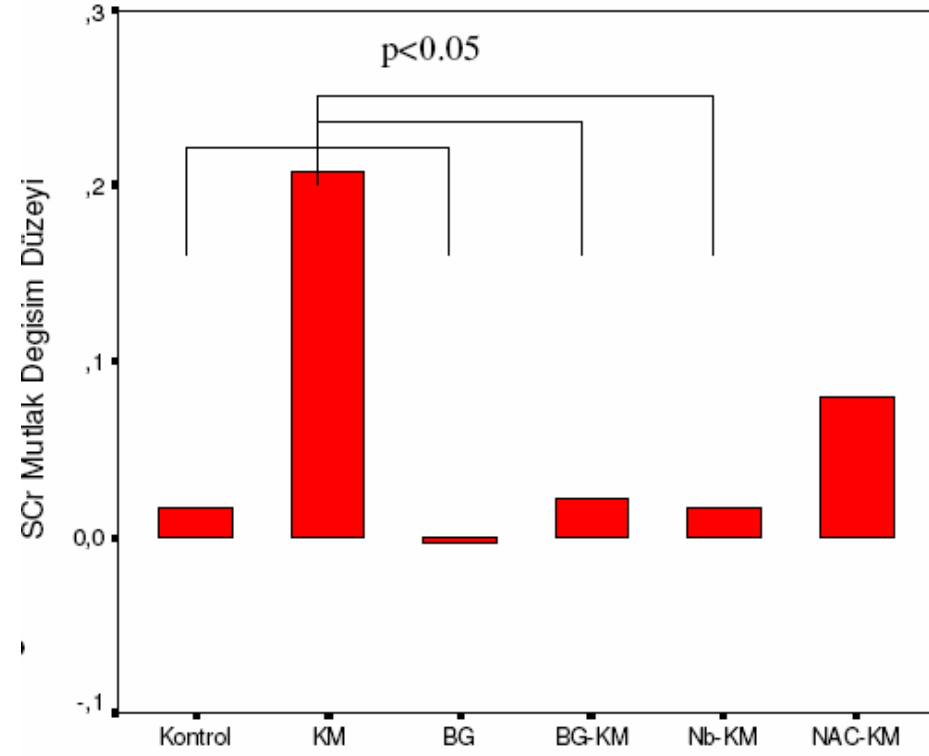
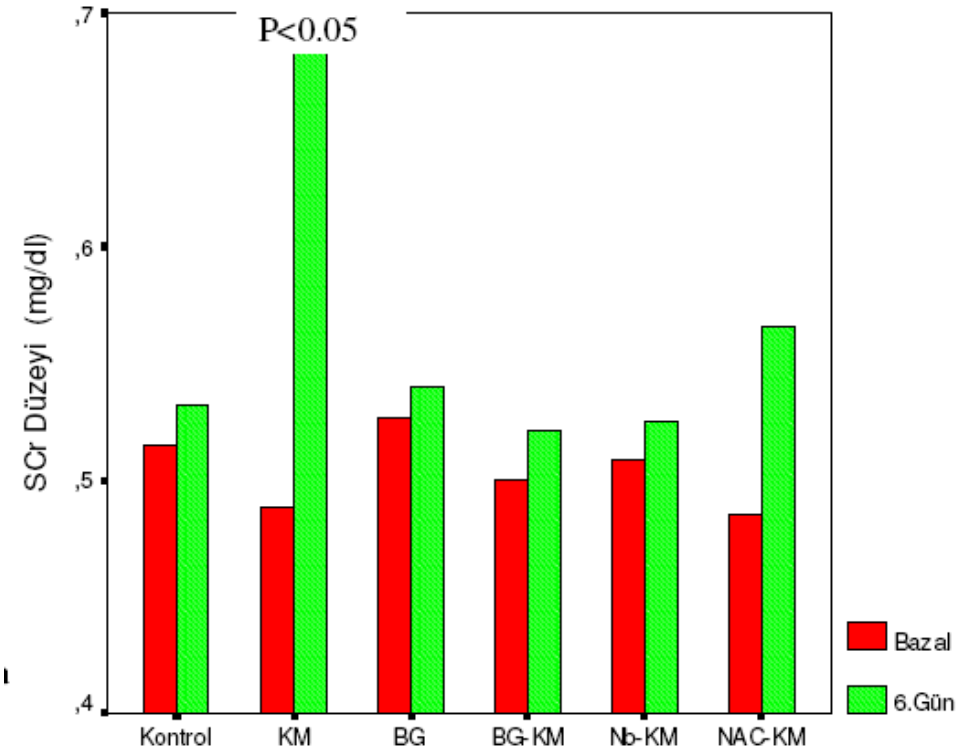
# BULGULAR

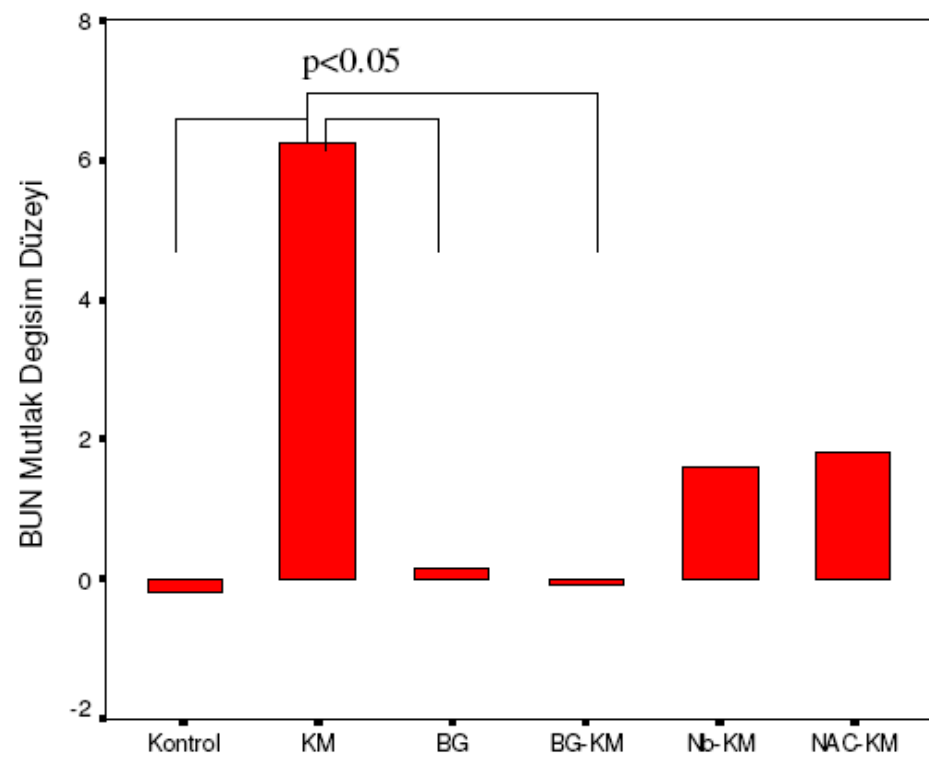
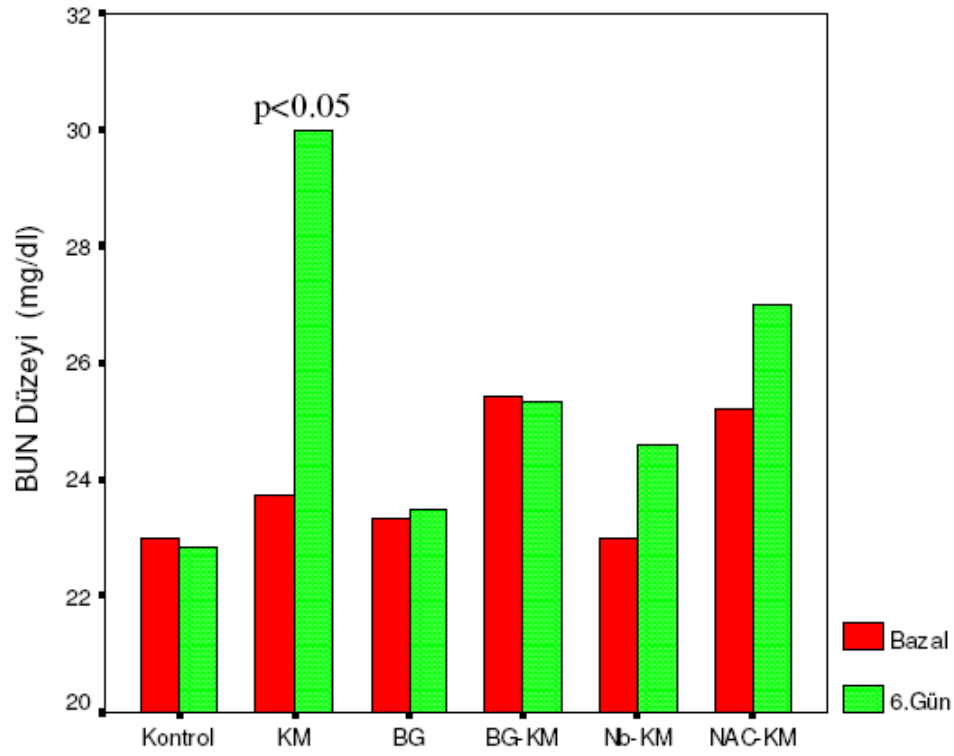
- Tüm gruplarda, dehidratasyon sonrasında vücut ağırlığı anlamlı olarak azaldı.
- Dehidratasyon sonrası 6.gün idrar volümleri KM ve NAC+KM grupları dışında anlamlı olarak azaldı.

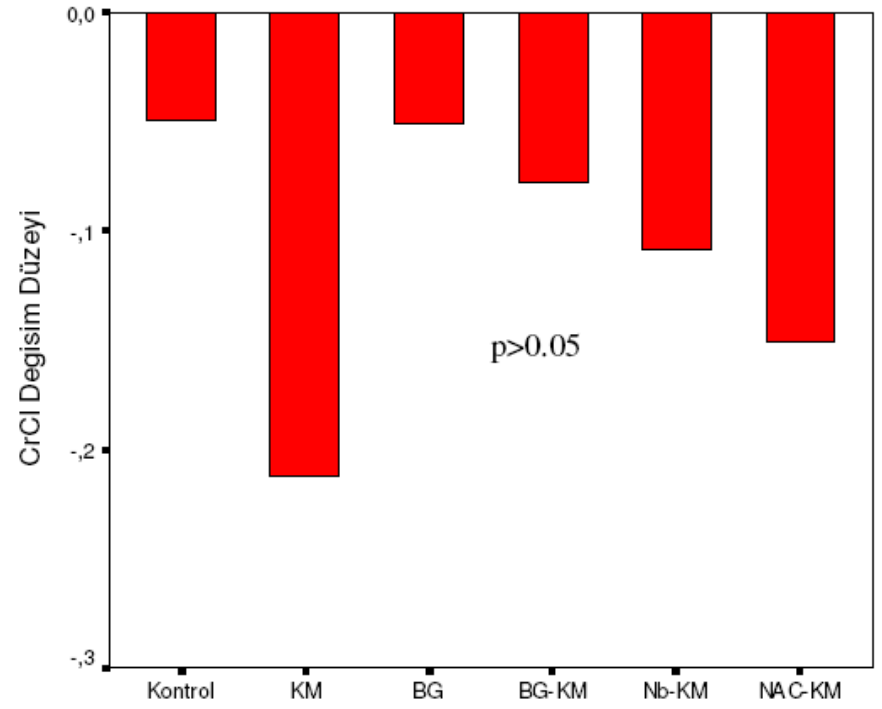
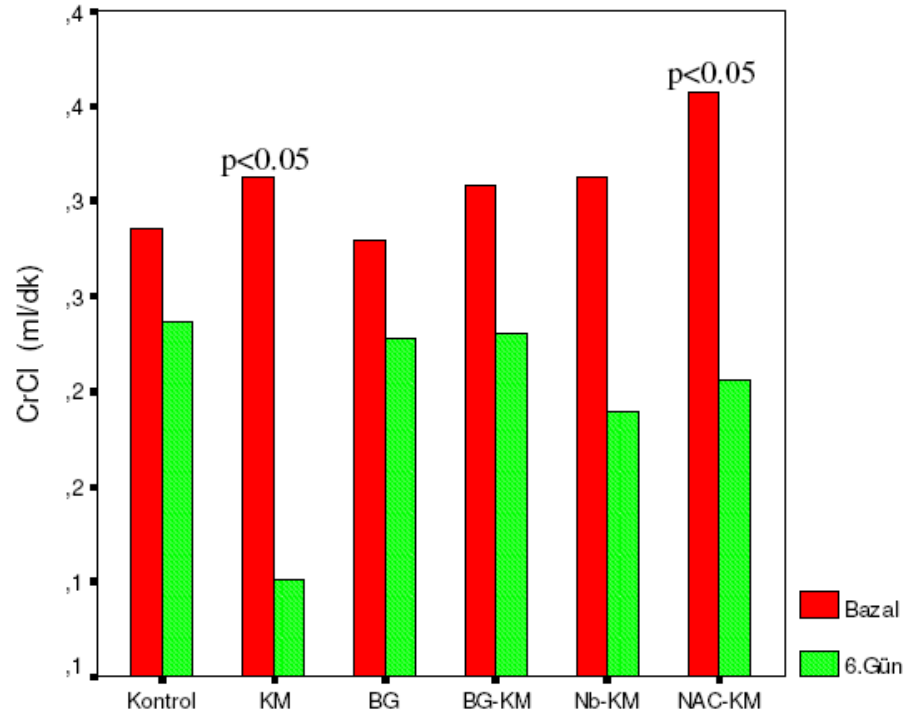
# BULGULAR

Bütün grupların, vücut ağırlığı ve böbrek fonksiyonlarına ait değerler.

		<i>Kontrol</i>	<i>KM</i>	<i>BG</i>	<i>BG+KM</i>	<i>Nb+KM</i>	<i>NAC+KM</i>
Vücut Ağırlığı (g)	Bazal	276.8±46.1	273.5±35.8	241.8±29.8	226.2±14.4	231.0±16.6	243.0±27.8
	6.gün	244.0±38.5	232.3±33.8	207.0±26.6	190.7±7.3	205.3±15.6	212.0±22.6
	Mutlak değişim	-32.8±8.6	-41.2±4.6	-34.8±4.0	-35.5±8.7	-25.7±14.6	-31.0±13.3
	P değeri	0.028	0.027	0.028	0.028	0.027	0.027
İdrar Miktarı (ml/100gVA)	Bazal	3.60±0.65	3.56±0.74	3.81±0.67	3.18±1.28	3.52±0.70	3.62±1.02
	6.gün	1.61±0.43	2.54±1.35	1.80±1.03	1.92±0.66	2.51±0.80	2.74±1.37
	Mutlak değişim	-1.99±0.84	-1.03±1.46	-2.01±1.37	-1.25±1.04	-1.01±0.79	-0.88±1.92
	P değeri	0.028	AD	0.046	0.028	0.046	AD
Serum Cr (mg/dl)	Bazal	0.51±0.10	0.49±0.03	0.53±0.05	0.50±0.04	0.51±0.08	0.48±0.02
	6.gün	0.53±0.18	0.69±0.03	0.54±0.08	0.52±0.03	0.53±0.12	0.56±0.15
	Mutlak değişim	0.02±0.10 <sup>a</sup>	0.20±0.06 <sup>abcd</sup>	-0.01±0.07 <sup>b</sup>	0.02±0.02 <sup>c</sup>	0.02±0.15 <sup>d</sup>	0.08±0.13
	P değeri	AD	0.027	AD	AD	AD	AD
BUN (mg/dl)	Bazal	23.00±5.33	23.75±2.04	23.33±2.50	25.42±2.87	23.00±2.55	25.20±0.84
	6.gün	22.83±4.17	29.98±2.56	23.50±4.89	25.33±3.39	24.60±1.82	27.00±2.24
	Mutlak değişim	-0.17±3.37 <sup>a</sup>	6.23±1.43 <sup>abc</sup>	0.17±4.62 <sup>b</sup>	-0.08±2.18 <sup>c</sup>	1.60±1.94	1.80±3.03
	P değeri	AD	0.027	AD	AD	AD	AD
CrCl (ml/dk/100gVA)	Bazal	0.33±0.06	0.35±0.19	0.27±0.09	0.23±0.08	0.40±0.14	0.49±0.11
	6.gün	0.19±0.09	0.10±0.03	0.16±0.06	0.20±0.05	0.20±0.13	0.25±0.19
	Mutlak değişim	-0.12±0.06	-0.25±0.19	-0.12±0.09	-0.03±0.14	-0.19±0.21	-0.24±0.17
	P değeri	AD	0.028	AD	AD	AD	0.046
FENa (%)	Bazal	0.26±0.09	0.35±0.19	0.27±0.09	0.28±0.17	0.24±0.13	0.17±0.10
	6.gün	0.02±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01	0.03±0.03	0.02±0.02
	Mutlak değişim	-0.25±0.08	-0.32±0.19	-0.24±0.10	-0.26±0.16	-0.21±0.10	-0.15±0.11
	P değeri	0.043	0.043	AD	AD	0.043	0.028
Mikroproteinüri (mg/dl)	Bazal	9.61±2.34	10.55±4.98	8.87±5.81	10.05±1.70	7.91±2.36	6.64±2.60
	6.gün	8.06±0.74	9.38±2.75	10.11±0.59	10.05±3.87	6.87±2.00	6.70±4.59
	Mutlak değişim	-1.54±2.75	-1.17±5.49	1.24±6.15	0.00±4.87	-1.65±0.66	0.06±4.61
	P değeri	AD	AD	AD	AD	0.043	AD







# BULGULAR

## Oksidasyon ve İnflamatuvar Parametreler

- Serum AOPP düzeyleri BG, Nb ve NAC alan ratlarda KM grubuna göre daha düşük bulundu ( $p < 0.05$ ).
- Böbrek dokusundaki AOPP düzeyi KM grubunda en yüksek olmakla birlikte gruplar arasında fark saptanmadı.
- Serum MDA düzeyleri, BG ve NAC alanlarda KM grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktü ( $p < 0.05$ ). Ancak ilaç verilen rat grupları arasında fark yoktu.
- Böbrek dokusunda MDA düzeyleri açısından gruplar arasında fark bulunmadı.

# BULGULAR

**Tablo 6:** Oksidasyon ve inflamatuvar parametrelere ilişkin değerler (6. gün)

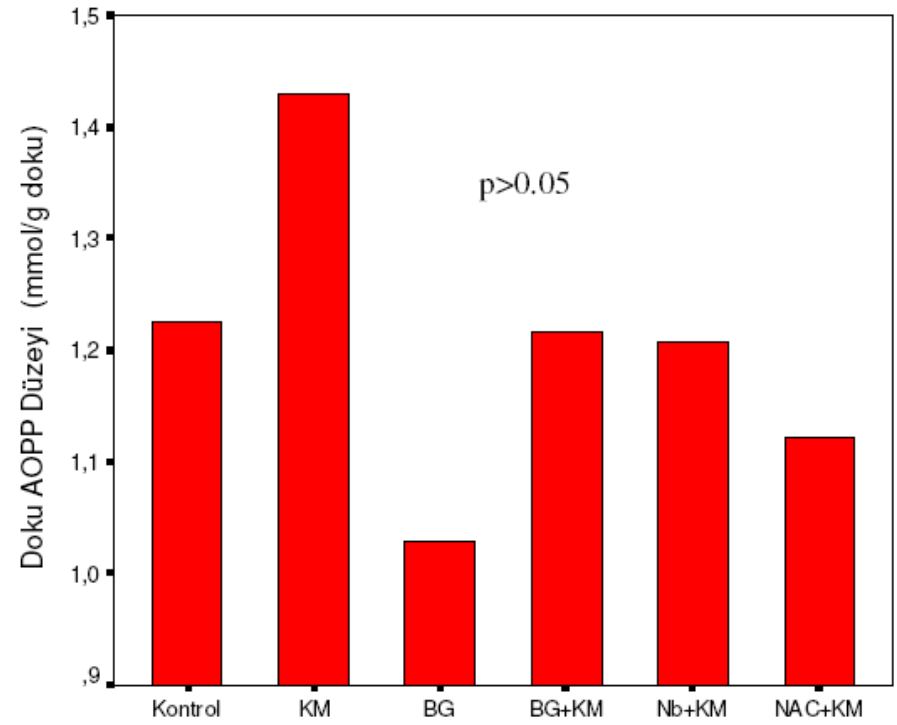
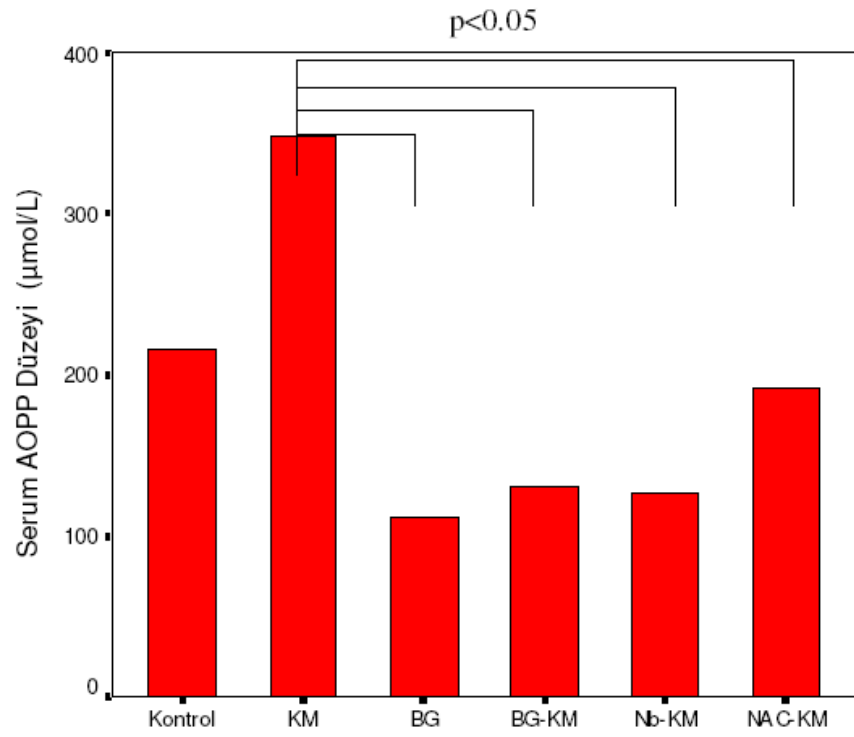
	<i>Kontrol</i>	<i>KM</i>	<i>BG</i>	<i>BG+KM</i>	<i>Nb+KM</i>	<i>NAC+KM</i>
s AOPP ( $\mu\text{mol/L}$ )	215.6 $\pm$ 60.9	348.3 $\pm$ 48.6 <sup>abcd</sup>	102.5 $\pm$ 72.1 <sup>a</sup>	131.0 $\pm$ 83.6 <sup>b</sup>	126.8 $\pm$ 38.7 <sup>c</sup>	191.4 $\pm$ 25.9 <sup>d</sup>
s MDA ( $\mu\text{mol/L}$ )	2.91 $\pm$ 0.94	4.321 $\pm$ 1.04 <sup>abc</sup>	2.28 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>	2.69 $\pm$ 1.01 <sup>b</sup>	2.91 $\pm$ 0.55	2.75 $\pm$ 0.34 <sup>c</sup>
s Total Thiol ( $\mu\text{mol/L}$ )	580.5 $\pm$ 100.3 <sup>a</sup>	573.1 $\pm$ 53.0 <sup>b</sup>	642.6 $\pm$ 93.1 <sup>c</sup>	702.8 $\pm$ 58.5 <sup>d</sup>	968.5 $\pm$ 77.8 <sup>abcde</sup>	717.4 $\pm$ 82.3 <sup>e</sup>
s NO ( $\mu\text{mol/L}$ )	28.00 $\pm$ 8.61 <sup>a</sup>	31.48 $\pm$ 15.72	33.70 $\pm$ 7.28	31.12 $\pm$ 8.43 <sup>b</sup>	44.50 $\pm$ 7.96 <sup>ab</sup>	35.98 $\pm$ 11.17
b AOPP (mmol/g)	1.22 $\pm$ 0.18	1.43 $\pm$ 0.29	1.03 $\pm$ 0.33	1.22 $\pm$ 0.14	1.21 $\pm$ 0.43	1.12 $\pm$ 0.44
b MDA (nmol/g)	68.3 $\pm$ 11.6	74.2 $\pm$ 6.9	61.8 $\pm$ 4.8	62.9 $\pm$ 7.9	69.1 $\pm$ 17.4	64.3 $\pm$ 5.5
b Total Thiol ( $\mu\text{mol/g}$ )	9.49 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>	9.31 $\pm$ 1.09 <sup>b</sup>	10.01 $\pm$ 0.76	10.40 $\pm$ 1.09	11.88 $\pm$ 1.77 <sup>ab</sup>	10.63 $\pm$ 1.93
İL-1 $\beta$ (pg/ml)	21.41 $\pm$ 11.47	28.48 $\pm$ 11.10	23.41 $\pm$ 5.80	20.25 $\pm$ 4.35	26.56 $\pm$ 9.40	23.90 $\pm$ 7.40
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	89.80 $\pm$ 49.96	128.57 $\pm$ 16.66	97.53 $\pm$ 43.56	81.76 $\pm$ 58.61	161.67 $\pm$ 56.04	136.83 $\pm$ 52.21

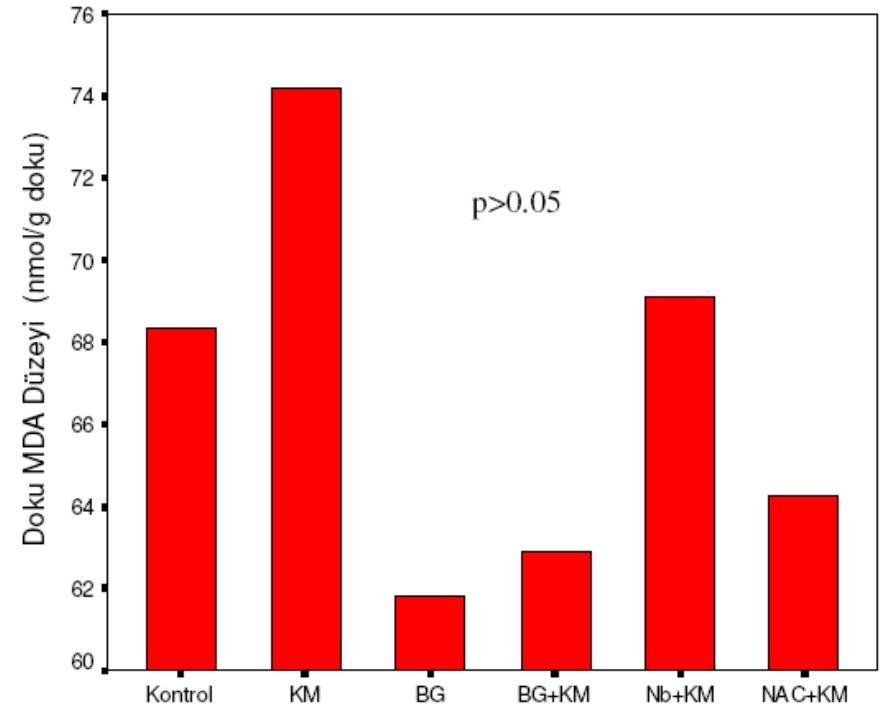
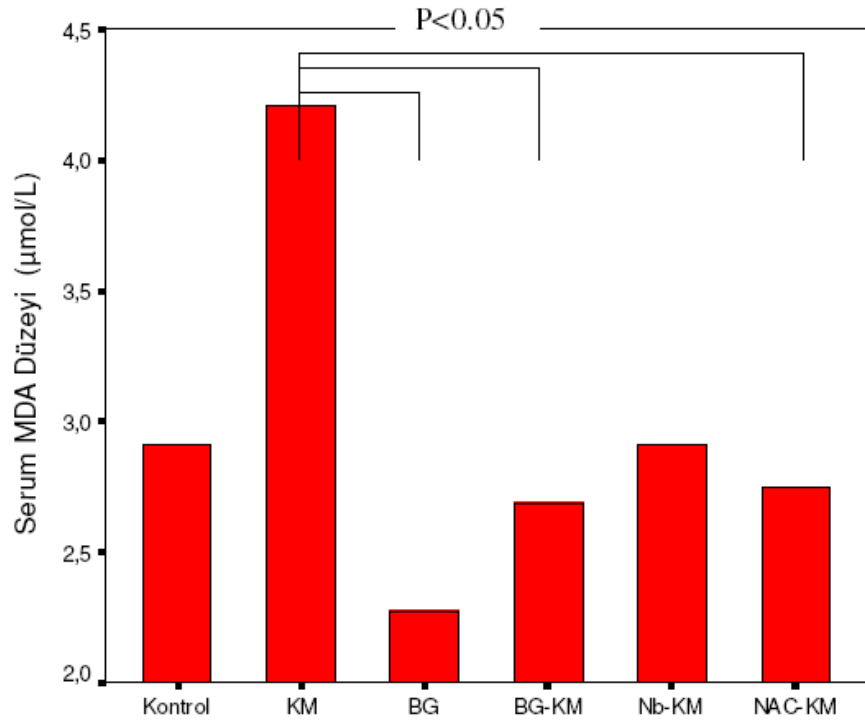
s/b AOPP: Serum/Böbrek dokusunda ileri oksitlenmiş protein rnleri,

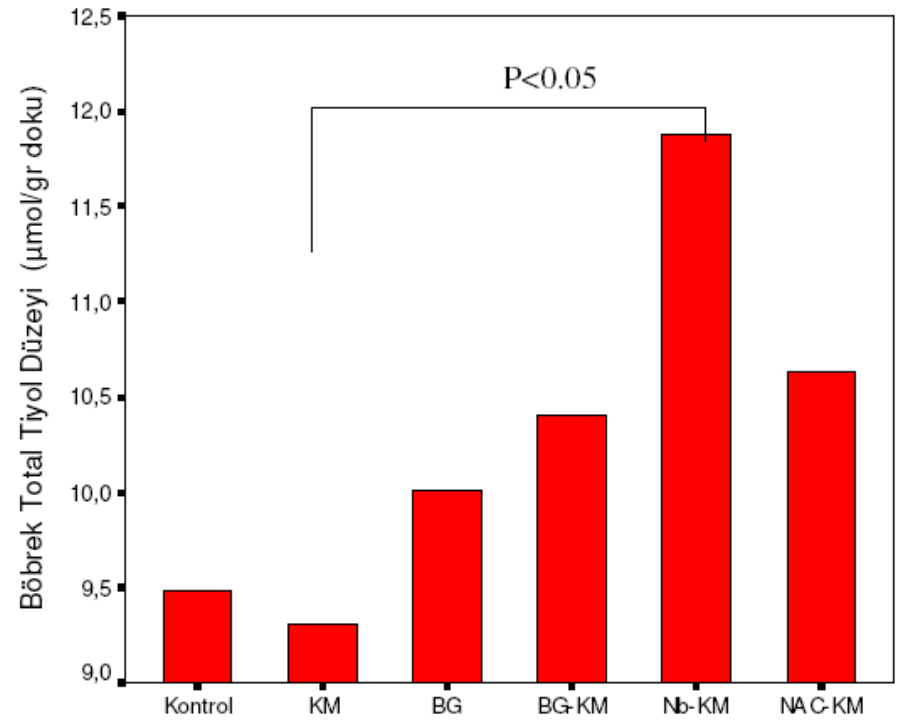
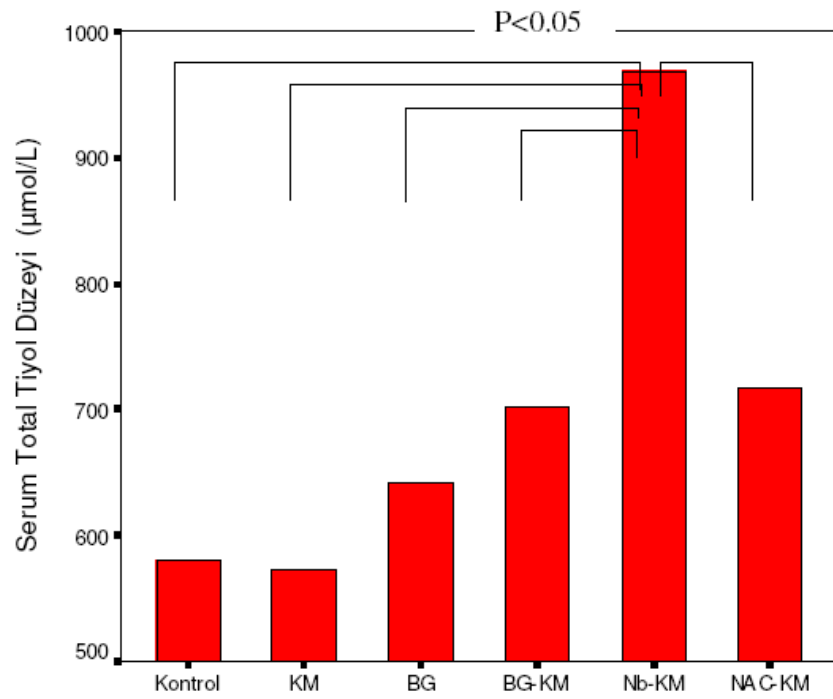
s/b MDA: Serum/Böbrek dokusunda malondialdehit,

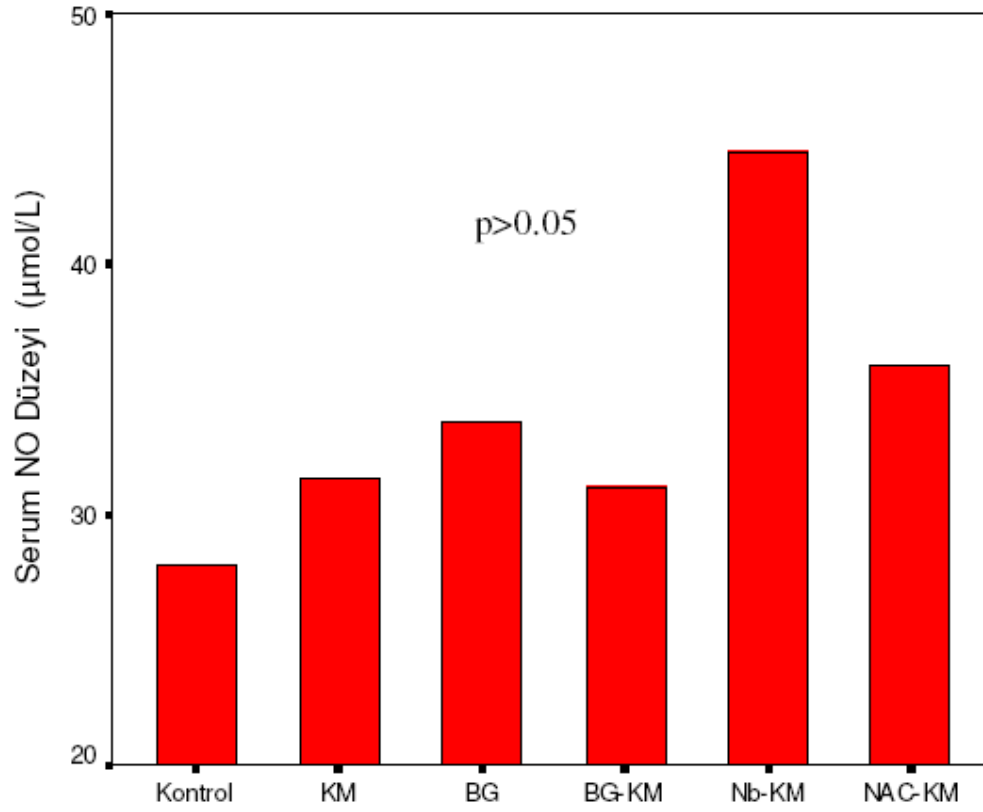
s/b NO: Serum/Böbrek dokusunda nitrik oksit

<sup>abc,defg</sup>: Aynı harflerle işaretlenen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0.05$ ).









# BULGULAR

## Histopatolojik Bulgular

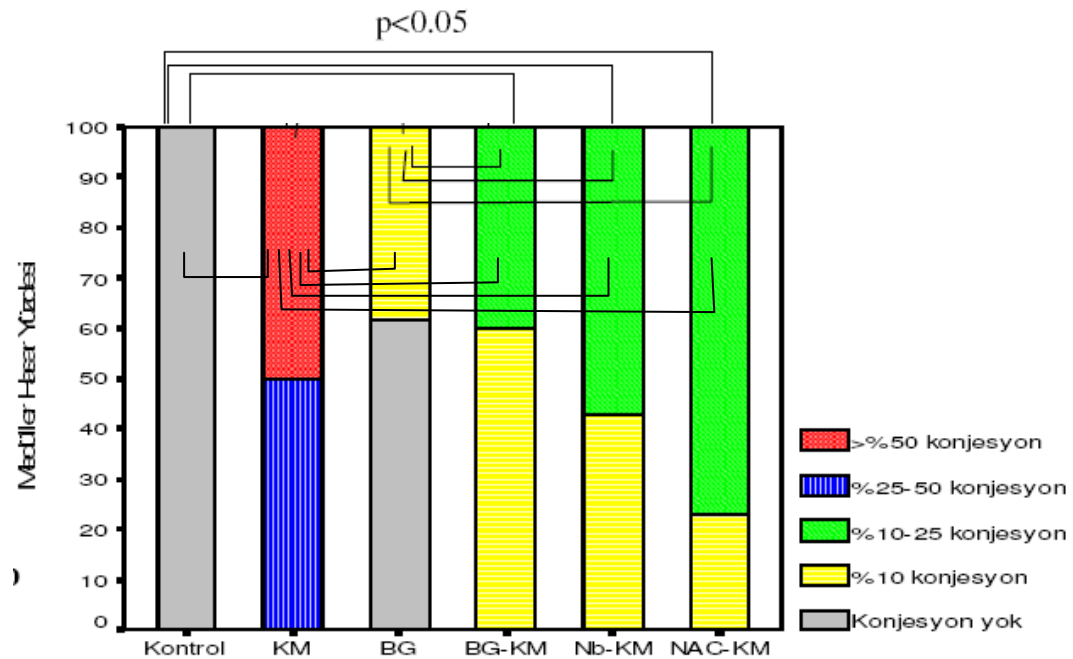
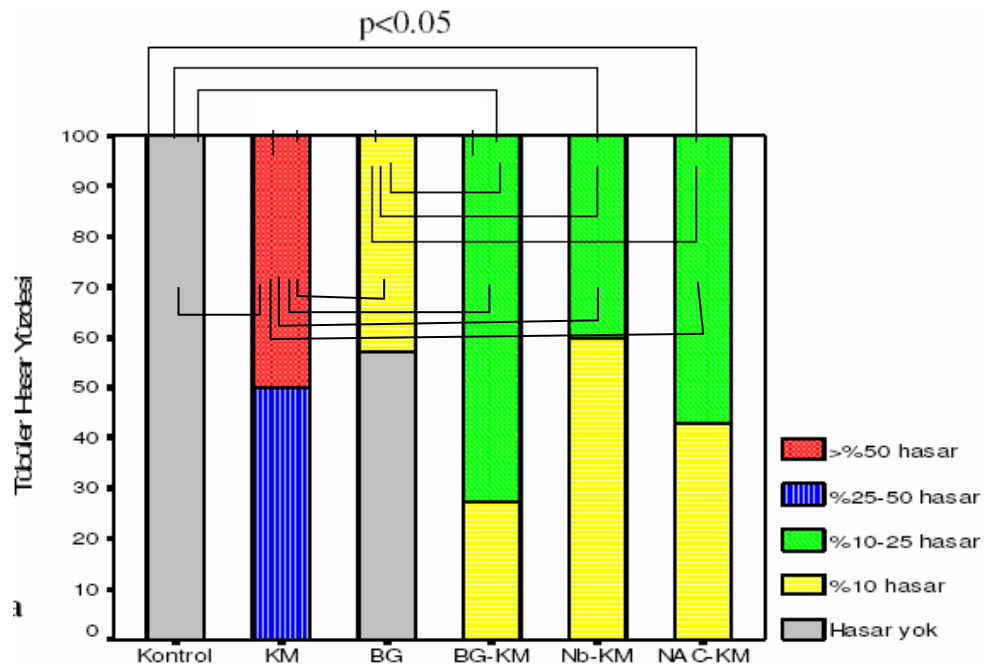
- Kontrol ve BG grubundaki histopatolojik değişiklikler diğer gruplardan anlamlı olarak farklı bulundu ( $p < 0.05$ ). Kontrol ve BG grubu arasında ise fark yoktu.
- KM grubundaki değişiklikler diğer tüm gruplardan anlamlı olarak farklıydı ( $p < 0.05$ ).

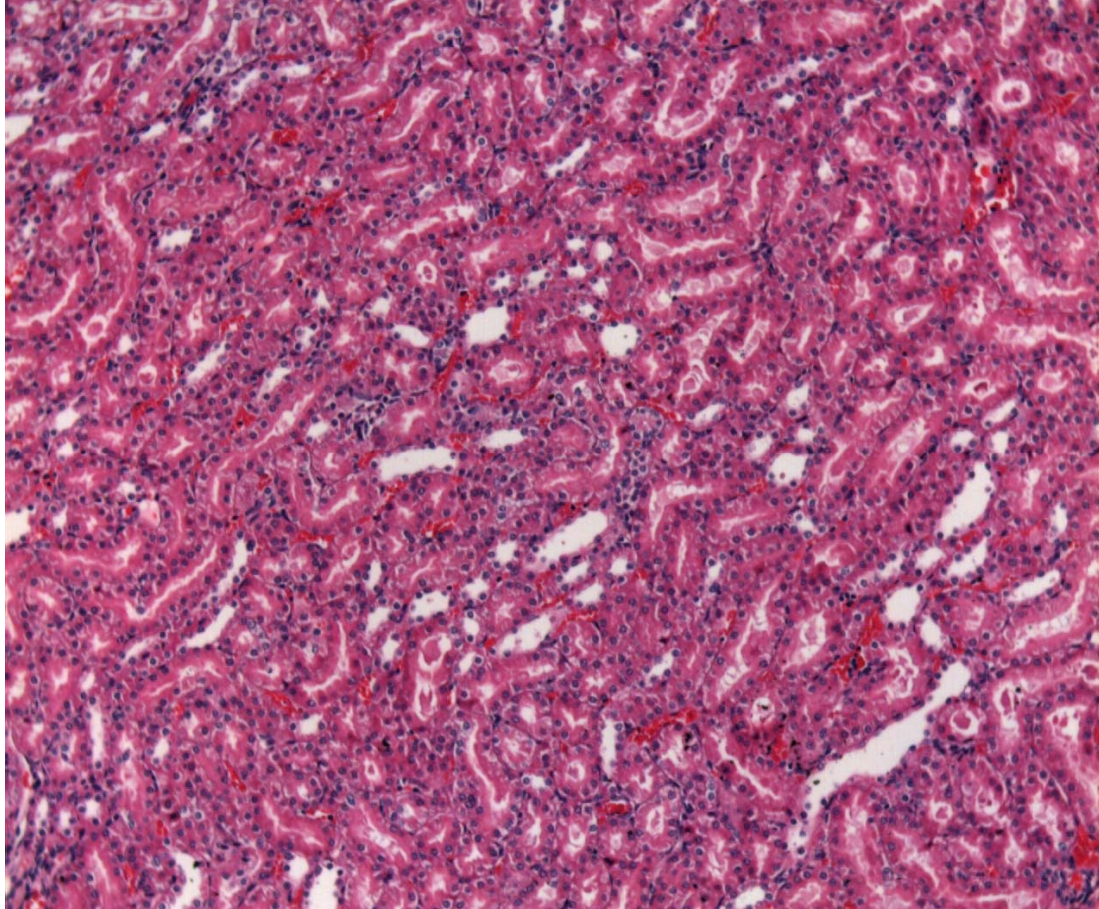
# BULGULAR

Tübüler ve medüller sistemdeki hasarlanma oranları

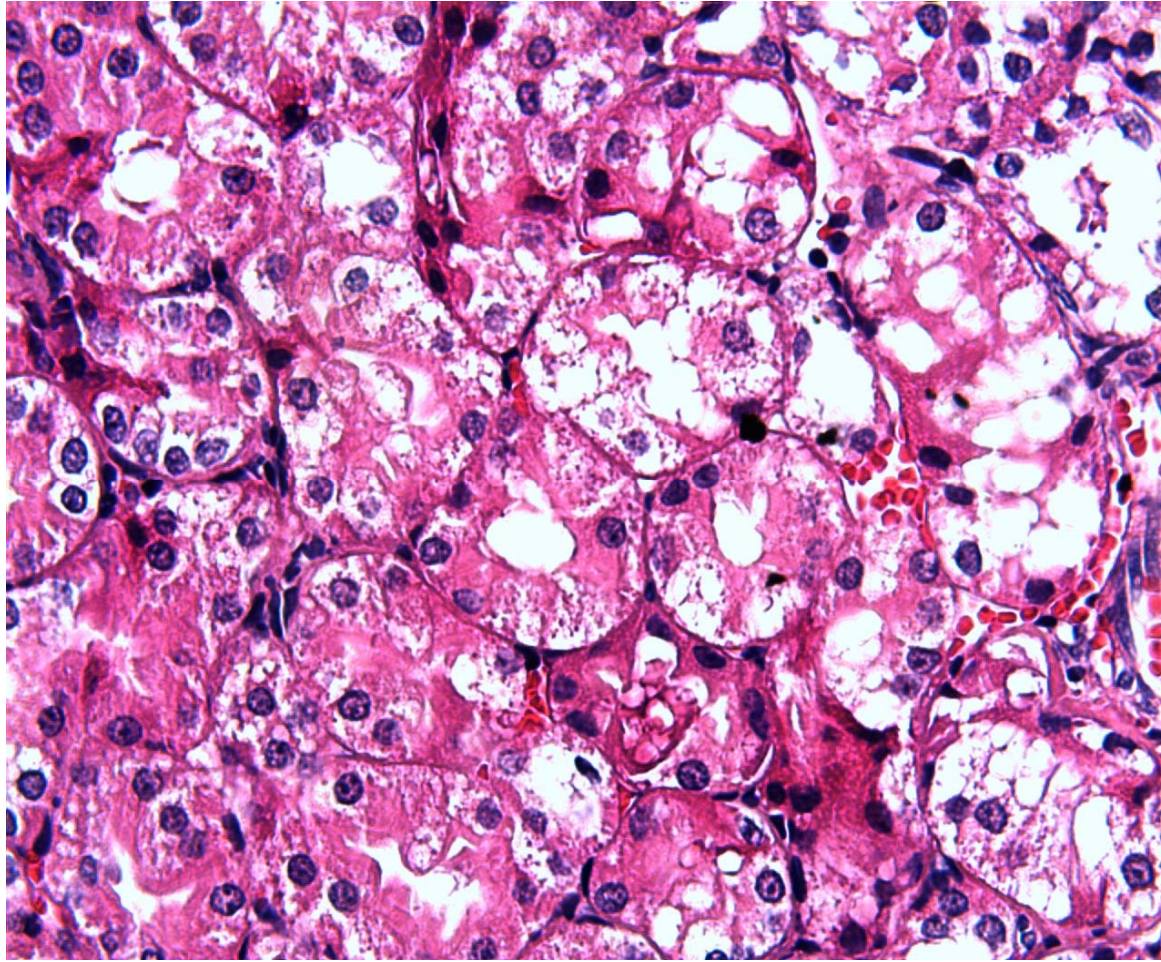
		<i>Kontrol</i> <sup>abcd</sup>	<i>KM</i> <sup>aefgh</sup>	<i>BG</i> <sup>eklm</sup>	<i>BG+KM</i> <sup>bfk</sup>	<i>Nb+KM</i> <sup>cgl</sup>	<i>NAC+KM</i> <sup>dhm</sup>
Tübüler sistem	Evre 0	%100		%50			
	Evre 1			%50	%33.3	%66.7	%50
	Evre 2				%66.7	%33.3	%50
	Evre 3		%66.7				
	Evre 4		%33.3				
Medüller sistem	Evre 0	%100		%66.7			
	Evre 1			%33.3	%50	%33.3	%16.7
	Evre 2				%50	%66.7	%83.3
	Evre 3		%66.7				
	Evre 4		%33.3				

<sup>a,b,c,d,e,f,g,h,k,l,m</sup>: Aynı harfle işaretlenen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

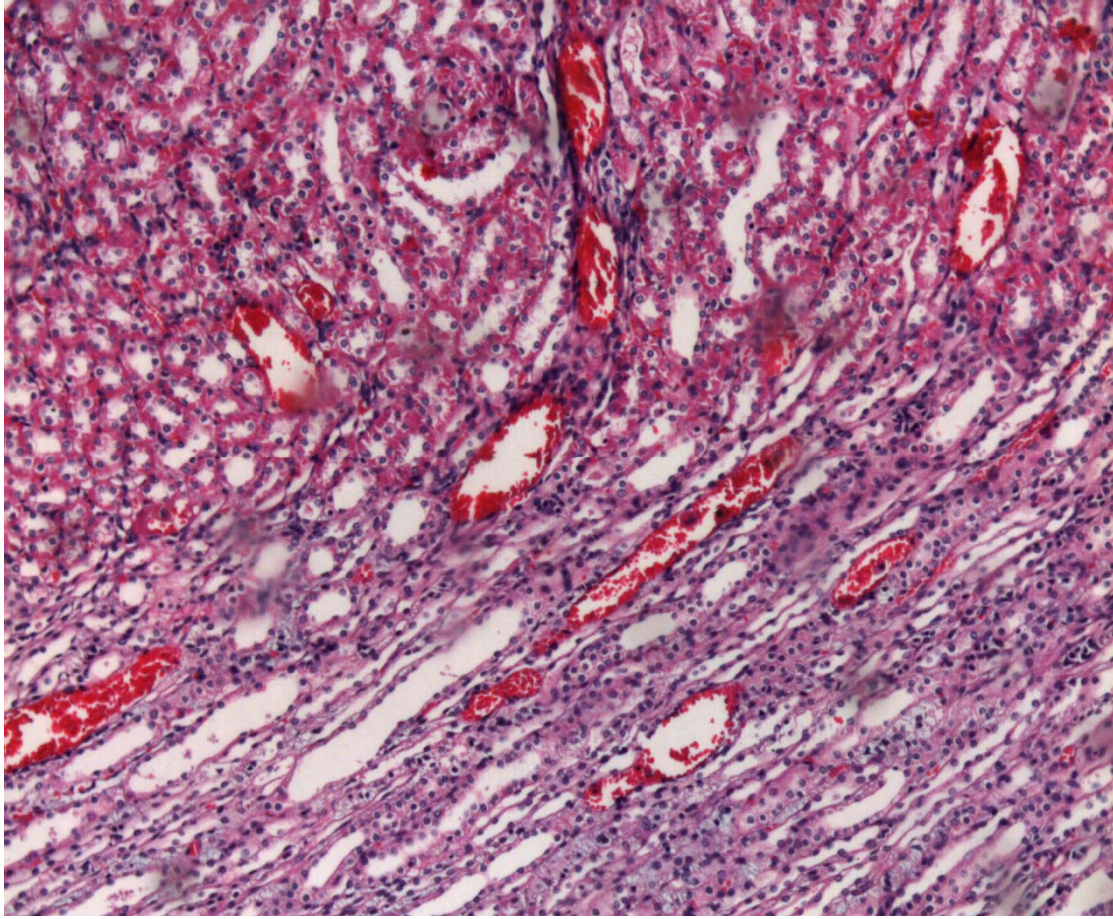




Kontrol grubuna ait normal böbrek dokusu. Proksimal ve distal tübülüsler normal yapıda görülmektedir (HE, x100).



- KM grubuna ait, proksimal ve distal tbls deyen epitel hücrelerinde ileri derecede vakuolizasyon, dejenerasyon ve nekrotik değişiklikler görülmektedir (HE, x400).



- KM grubuna ait, kortikomeduller bölgede tübüller arasında ileri derecede konjesyon izlenmekte (HE, x200).

# TARTIŞMA

- Sunulan bu çalışmada, oral BG verilmesi ile, KM uygulamasında görülen böbrek fonksiyon bozukluklarının, hem biyokimyasal olarak hem de histopatolojik olarak düzeldiği veya hafifletildiği gösterilmiştir.
- Bu alıŐma BG'lerin KM nefropatisinde etkinliğinin gösterildiği ilk deneysel incelemedir.

# TARTIŞMA

- Buna ilaveten;
  - KM nefropatisini önlediği daha önce gösterilen **nebivolol** ile ve
  - rutin uygulamada yer alan **NAC** ile karşılaştırılmış,
- BG'nin en az bu ilaçlar kadar KM nefropatisini önlemede etkili olduğu hem biyokimyasal olarak hem de histopatolojik olarak kanıtlanmıştır.

# TARTIŞMA

- Deneysel modellerde, KM'lerin antioksidan enzim aktivitesini azaltığı, SOR vasıtasıyla direk toksik etki gösterdiği bulunmuŐtur.<sup>[1,2]</sup>
- Yapılan alıŐmalarda; BG tedavisinin karaciğer, böbrek ve ileumu oksidatif hasara karşı koruduğu gösterilmiştir.<sup>[3]</sup>

[1] Itoh Y, et al. J Pharmacol Sci 2005;97(4):473-88

[2] Persson PB, et al. Kidney Int 2005;68(1):14-22

[3] Bayrak O, et al. Am J Nephrol 2008;28(2):190-6

# TARTIŞMA

- BG'lerin, böbrekte iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisinin gösterildiği çalışmada, bunun antioksidan etkilerine bağlı olabileceği rapor edilmiştir.<sup>[1]</sup>
- Sunduğumuz çalışmada, BG verilen grupta serum oksidasyon ürünlerinin KM grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı. KN'yi önleyici etkisinin de BG'lerin antioksidan özellikleri ile ilişkili olabileceği düşünülebilir.

<sup>[1]</sup> Bayrak O, et al. Am J Nephrol 2008;28(2):190-6

# TARTIŞMA

- BG'nin sistemik uygulanmasının ratlarda ve farelerde infeksiyon ve şoka karşı koruyuculuğu gösterilmiştir.<sup>[1]</sup>
- Klinik çalışmalar, travma ve cerrahi hastalarında BG'nin septik komplikasyonları azalttığını ve sağkalım oranını artırdığını göstermiştir. Bu durumun, BG'lerin travma hastalarında makrofajları stimüle etmesi ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir.<sup>[2]</sup>

[1] Engstad CS, et al. Int Immunopharmacol 2002;2(11):1585-97

[2] Browder W, et al. Ann Surg 1990;211(5):605-13

# TARTIŞMA

- İmmün sisteme olan yararlı etkileri ve toksik etkilerinin olmayıŐı nedeniyle BG'ler birçok çalışmada kullanılmıŐtır.<sup>[1]</sup>
- Ülkemiz ilaç pazarında reçetesiz olarak kolaylıkla bulunabilmektedir.

[1] Brown GD, et al. Immunity 2003;19(3):311-5

# SONUÇ

- Yoğun bir şekilde kullanılmaya devam edilen KM'lerin renal toksik etkilerinden kurtulunması tıp dünyasının önemli araştırma alanlarından biridir.
- BG'ler KM'lere bağlı nefropati gelişimini durdurabilir veya hafifletebilirler.
- Bu olumlu etki, nebivolol ve NAC kullanımıyla görülene benzer veya daha fazla düzeydedir.

# SONUÇ

- Doğal glukoz polimeri olan BG'ler,
  - toksisite göstermemesi,
  - nispeten ucuz olması,
  - kolay bulunması,
  - oral kullanılabilme kolaylığı nedenleri ileKN proflaksisinde bir seçenek olarak durmaktadır.