

27400

T.C.

Marmara Üniversitesi

Tıp Fakültesi

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

HEMODİYALİZ HASTALARINDA
1-ALFA -HİDROKSİ VİTAMİN D3'ÜN
T LENFOSİT İNTERLÖKİN-2
RESEPTÖR EKSPRESYONUNA

İN - VİVO ETKİSİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. MeriİN TEZAL

İstanbul - 1993

T.C.

Marmara Üniversitesi

Tıp Fakültesi

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

HEMODİALİZ HASTALARINDA
1-ALFA -HİDROKSİ VİTAMİN D3'ÜN
T LENFOSİT İNTERLÖKİN-2
RESEPTÖR EKSPRESYONUNA
İN - VİVO ETKİSİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Meriç TEZAL

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İstanbul - 1993

*Bu çalışmanın planlanması ve gerçekleştirilmesinde katkılarında
dolayı İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı ve Nefroloji Bilim Dalı Başkanı
Prof. Dr. Emel AKOĞLU'na , Uzm. Dr. etin ÖZENER'e, çalışma
boyunca verdikleri destek ve yardımlardan dolayı
M.Ü.T.F. Hemodializ Ünitesinin tüm hemşirelerine, İstatistiksel
verilerin değerlendirilmesindeki katkılarında dolayı
Dr. Roger Lawrance'a teşekkürü bir borç bilirim.*

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
MATERYAL VE YÖNTEM	13
SONUÇLAR	16
TARTIŞMA	28
ÖZET	32
KAYNAKLAR	33

Bu çalışmanın planlanması ve gerçekleştirilmesinde katkılarından dolayı İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı ve Nefroloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emel AKOĞLU'na, Uzm. Dr. Çetin ÖZENER'e, çalışma boyunca verdikleri destek ve yardımlardan dolayı M.Ü.T.F. Hemodializ Ünitesinin tüm hemşirelerine, istatistiksel verilerin değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı Dr. Roger Lawrance'a teşekkürü bir borç bilirim.

GİRİŞ

Kronik böbrek yetmezliği ve hemodializdeki hastalarda serum 1.25 dihidroksikolekalsiferol (1.25 (OH)₂ D₃) düzeyleri düşüktür. Renal osteodistrofi, hemodializ komplikasyonlarından biridir; renal osteodistrofinin nedenlerinde parathormon ve D vitamininin rolleri vardır.

Vitamin D analogu olan 1 alfa OH D₃ karaciğerde bir hidroksil grubu alarak 1.25 (OH)₂ D₃'e çevrilir. 1 alfa OH D₃ normal ve anefrik sıçanlarda barsaktan kalsiyum transportuna ve kemikten kalsiyum mobilizasyonuna, kemik formasyonuna ve resorpsiyonuna etkisi açısından 1.25 (OH)₂ D₃ ile yaklaşık aynı biyolojik aktiviteye sahiptir.

1 alfa OH D₃, direkt olarak kolesterolden sentez edildiği için 1.25 (OH)₂ D₃'e göre hazırlanması daha kolay ve ucuz bir vitamindir. Bu nedenle renal osteodistrofi ve hipoparatiroidizm tedavisinde oldukça cazip bir ilaç olarak kabul edilmesine neden olmaktadır.

Son yıllarda, monosit, makrofaj, aktive T ve B lenfositleri üzerinde 1.25 (OH)₂ D₃ reseptörlernin varlığı saptanmıştır (5-6). Çeşitli çalışmalarda fizyolojik konsantrasyonlarda 1.25 (OH)₂ D₃'ün in-vitro mitojen ile uyarılmış lenfosit proliferasyonunu ve interleukin-2 salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (7-10). Bu bulgular, 1.25 (OH)₂ D₃'ün immün cevabın düzenlenmesinde rol alabileceğini düşündürmektedir.

Hemodializ hastalarında hücreyel bağışıklık sistemindeki bozukluğun tam olarak nedeni bilinmemektedir (11-15). Bu hastalarda, 1 alfa OH D3'ün kalsiyum metabolizması üzerine etkisi oldukça iyi bilinmektedir; fakat bu D vitamin analogunun hemodializ hastalarında immün sistem üzerine etkisinin olup olmadığı konusunda çalışmalar yetersizdir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar hemodializ hastalarında 1 alfa OH D3 uygulananının mitojenlere karşı lenfoproliferatif cevabı belirgin derecede artırdığını göstermiştir (16) Yine yeni yapılan bir çalışmada 1 alfa OH D3'ün periferik kandaki mononükleer hücreler tarafından salgılanan interleukin-2 üzerine in-vivo etkisi araştırılmış ve interleukin-2 salınımını artırdığı gözlenmiştir (17)

Bir başka çalışmada ise mitojen ile stimule edilmiş CD4+ T lenfositlerinin salgıladığı interleukin-2 üretiminin, ortama 1.25 (OH)₂ D3 eklendiğinde tamamen inhibe olduğu; buna karşılık interleukin-2 reseptör ekspresyonunda değişiklik olmadığı gözlenmiştir (18).

GENEL BİLGİLER

I- KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİNDE HÜCRESEL İMMÜNİTE

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda immün sistemde bazı bozukluklar olduğu ilk kez 1957 yılında G.J. Dammin ve arkadaşlarının bu hastalarda, cilt homograflarının uzun ömürlü olduğuna dikkat çekmeleri ile anlaşılmıştır (19). Kronik böbrek hastaları anerjiktir; özellikle başta mycobacteri ve virus enfeksiyonları olmak üzere çeşitli enfeksiyonlara oldukça duyarlıdırlar (20) ve influenza ya da hepatit B gibi timusa bağımlı antijenler ile olan aşılamalara yeterli yanıt vermezler (21,22).

Üremik hastalardaki hücresel immunité bozukluğunun, lenfositlerdeki sayısal azalma sonucu geliştiği düşünülebilir; nitekim üremik hastaların belirgin lenfopenileri olduğu saptanmıştır (23). Bununla birlikte üremik hasta lenfositlerinin çeşitli antijen ve mitojenlere in-vitro olarak daha düşük proliferatif cevap verdiği de gösterilmiştir (24,25). Hemodializin, lenfositlerdeki bu bozukluğu düzeltici etkisiyle ilgili değişik sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda, hemodialize giren hastalarda lenfosit proliferasyonunun düzeldiği, bazı araştırmalarda ise mitojenlere yanıtın hemodialize rağmen bozuk kaldığı gösterilmiştir (20). Bir başka çalışmada, hemodializin ilk iki saatinde bozukluk devam ederken hemodializden 4 saat sonra lenfosit cevabının hemodializ öncesi normal değerlere döndüğü bildirilmiştir (26).

Üremik hastalarda, periferik T lenfosit alt gruplarının dağılımında anormallik saptanmamış sadece mutlak lenfositopeni (alt gruplar dahil) olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, normal kontroller ile karşılaştırıldığında CD4+/CD8+ oranında değişiklik gözlenmemiştir.

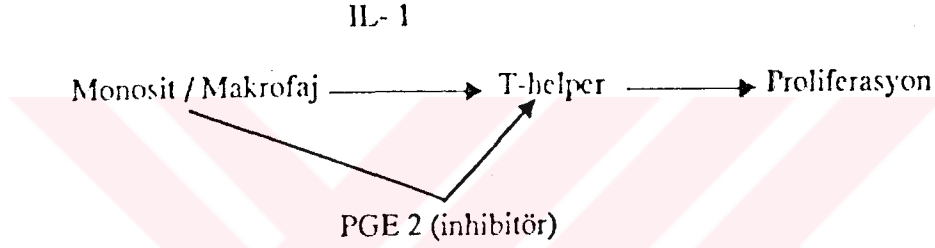
Kronik böbrek yetmezliği olan ve bir yıldan fazla hemodialize giren hastalarda, mutlak T lenfosit sayısının düştüğü, özellikle T4 alt grubunun azaldığı, bu azalmanın hasta yaşı ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir. Otuz yaşın altında olan hastalarda T4 (helper) lenfositleri azalırken, 30-60 yaş arası her iki lenfosit grubunun azaldığı, 60 yaş üzerinde ise sadece T4 lenfositlerinin azaldığı gösterilmiştir (27). Bu çalışmada ayrıca mixed lenfosit kültür ve fitohemaglutunine lenfosit transformasyon cevabının kontrollere göre düşük olduğu, fakat naturel killer (NK) hücre aktivitesinin etkilenmediği gösterilmiştir.

Kronik böbrek hastalarında hücrel immunitede önemli rol oynadığı bilinen lenfokin yapımı da bozuktur.

Interleukin-2 (IL-2, eskiden T hücresi büyüme faktörü olarak bilinirdi) antijenik veya mitojenik uyarı sonrası T lenfositleri tarafından üretilen glikolize bir proteindir (28). Üremik hastalardan elde edilen T lenfositleri, in-vitro olarak, çeşitli antijenik ve mitojenik uyarılara proliferasyon yanıtı vermez. Altta yatan mekanizma bilinmemekle beraber bu hastalarda lenfositlerin defektif proliferasyonunun ortamda düşük düzeyde IL-2 bulunması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (29). Kurz ve arkadaşları, kronik böbrek yetmezliği olan 24 hasta ile sağlıklı kişilerden oluşan aynı sayıda kontrol grubunu karşılaştırdılar ve hasta grubunda lenfopeni ile birlikte T4 ve T8 lenfositlerinde azalma, T4/T8 oranında ise değişiklik olmadığını bildirdiler; IL-2 salınımının kontrol grubuna göre çok düşük bulunduğunu gösterdiler (30). Hemodializ hastalarında, kültürlerle IL-2 eklendiğinde, T lenfositleri yenden proliferasyon yeteneği kazanmaktadır (25,29).

Hücresel immunitede, monosit/makrofaj sistemi tarafından salgılanan, lenfokin yapısındaki Interleukin-1 de önemli bir rol oynamaktadır. IL-1, sadece aktive olmuş monosit ve makrofajlar tarafından salgılanarak, IL-2 yapımını ve IL-2 reseptör ekspresyonunu sağlar (31).

Yine aynı monosit /makrofaj sistemi, çeşitli araşidonik asit derivelerinin ve özellikle prostaglandin E2 (PGE2) salgılanmasını sağlayarak, direkt ve indirekt olarak T-supressor lenfositleri uyarıp IL-2 yapımını inhibe ederler (32).



Şekil-1 T-helper lenfosit proliferasyonunun aktivasyonu ve inhibisyonu.

Hemodializ hastalarında yapılan çalışmalarda, monosit/makrofaj sistemi tarafından yüksek oranda PGE2 salgılandığı saptanmamıştır (32,33).

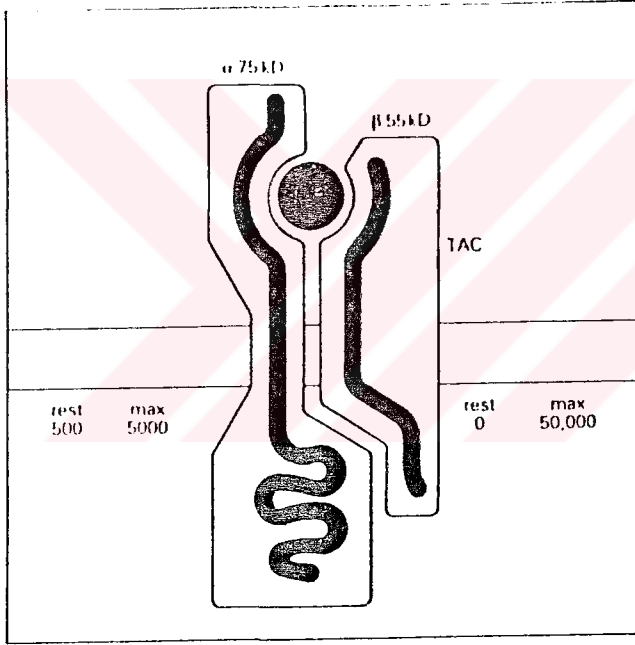
Meuer ve arkadaşları ise, hemodializdeki hastaların monositlerinin daha az IL-1 salgıladığı ve bunun düşük IL-2 düzeylerini açıklayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Fakat son zamanlarda yapılan bir başka çalışmada ise, hemodializ hastalarının monositlerinin fazla miktarda IL-1 salgıladığı gösterilmiştir (34).

Dializ membranlarından endotoksin ve fragmanları geçebilmekte ve mononükleer hücreleri aktive ederek IL-1 salımını arttırabilmektedir.

II. INTERLÖKİN -2 RESEPTÖRLERİ

Bir lenfokin olarak IL-2'nin hedef hücreleri genellikle aktive T ve B lenfositleridir ve bu hücreler IL-2 reseptörlerini eksprese ederler.

IL-2 reseptörlerinin yüksek ve düşük affiniteli olmak üzere iki tane bağlama bölgesi mevcuttur (35). IL-2 reseptörü alfa ve beta olmak üzere iki polipeptid zinciri içerir. Düşük affiniteli reseptörler yalnızca alfa zincirinden, yüksek affiniteliler ise alfa ve beta zincirlerinden oluşmuştur (36) (Şekil 2).



Şekil 2 - Yüksek affiniteli IL-2 reseptörünün yapısı

Düşük affiniteli reseptöre IL-2 bağlanması, IL-2+IL-2- reseptör kompleksinin endositozuna yol açmazken, yüksek affiniteli reseptöre bağlanma bu kompleksin endositozu aracılığıyla T lenfosit proliferasyonunu sağlar (36,37). Sadece alfa zinciri, Tac veya CD25 antijeni olarak bilinir ve monoklonal antikorlar tarafından tanınır (38).

Sonuç olarak, monoklonal antikolar, hem yüksek hemde düşük affiniteli IL-2 reseptörlerini tesbit etmektedir.

Üremik hastalarda, anti-Tac (CD25) monoklonal antikoları ile yapılan bir çalışmada, hemodializ hastalarında normal kontrollere göre CD25(+) T lenfositlerinin daha yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır. Ortama eksojen IL-2 ilave edildiğinde bu lenfositlerin proliferere oldukları gözlenmiştir (33).

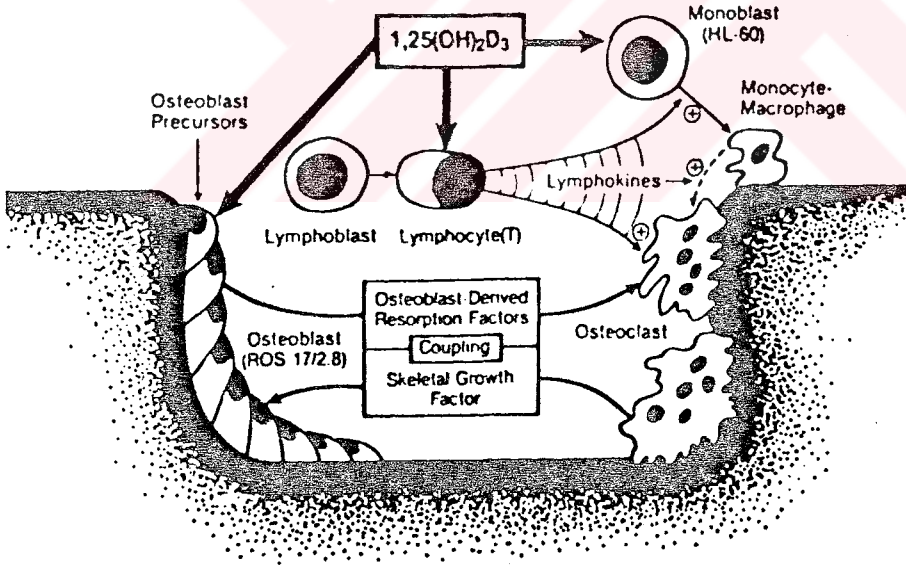
Bir başka çalışmada, in-vitro olarak 26 tane üremik hastadan elde edilen T lenfositlerinin IL-2 salgılaması, mitojene bağımlı immün cevap ve IL-2 reseptör ekspresyonu üzerine etkisi 24 tane sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmış sonuçta üremik hasta T lenfositlerinin IL-2 üretiminin ve mitojene bağımlı proliferasyonlarının kontrol grubuna göre oldukça düşük olduğu görülmüştür. Buna karşılık, IL-2 reseptör ekspresyonlarının anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (39).

Kontrol grubu da olan diğer bir çalışmada ise, IL-2 ile birlikte IL-2 reseptörleri ve aktiviteleri incelenmiş, hemodializ hastalarında, T lenfositlerinde yüksek affiniteli IL-2 reseptörü bulunduğu gösterilmiştir. Yine bu çalışmada, rekombinan IL-2 ortama ilave edildiğinde, hemodializ hastalarında T lenfosit proliferasyonunun ve soluble IL-2 reseptörünün serum düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Bu bulgulara ek olarak, hemodializ hastalarında stimule T lenfosit supernatanlarında IL-2 aktivitesinin belirgin olarak azaldığı, hemodializ öncesi ve sonrası bu değerlerde önemli bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (40,41).

III. D VİTAMİNİ VE İMMÜN SİSTEM

D vitamininin immünregülatör bir etkisi olduğunu gösteren bulgular, çeşitli çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır.

1983 yılında, Provvedini ve arkadaşları, lökositler üzerinde $1,25(OH)_2D_3$ vitaminine affinite gösteren bir makromolekülün varlığını saptadılar. Bu makromolekül, D_3 reseptörünün özellikleriyle aynı özellikleri göstermekteydi (42). Bu araştırmacılar, $1,25(OH)_2D_3$ reseptörlerinin istirahat halindeki T ve B lenfositlerinde bulunmadığını, fitohemaglutinin (PHA) veya concanavalin A (Con-A) gibi mitojenlerle aktive edilmiş T ve B lenfositlerinde ortaya çıktığını göstermişlerdir. Ayrıca monositlerden zengin fraksiyonlarda, malign insan B,T ve non B, non-T hücre dizilerinde ve mitotik olarak aktif sıçan timoblastlarında bu reseptörler saptanmıştır. $1,25(OH)_2D_3$ reseptörlerinin monositlerde bulunması, bu vitaminin monosit-osteoklast differansiasyonuna ve böylece iskelet sistemi hemeostazına etkisi olabileceğini akla getirmektedir (Şekil 3).



Şekil 3 - $1,25-(OH)_2D_3$ ve reseptörünün immunmodülasyonda ve kemiğin yeniden şekillenmesindeki rolü.

Provvedini ve ark. tarafından aktive olmuş lenfositler üzerine 1.25 (OH)₂ D₃'ün etkisi de incelenmiştir. PHA ile aktive edilmiş lenfositlerde 1,25 (OH)₂ D₃ vitaminin IL-2 aktivitesini inhibe ettiği ve bu etkinin özgül reseptörler üzerinden yapıldığı iddia edilmektedir. D vitaminin diğer metabolitlerinden olan 1,24, 25 (OH)₃ D₃ ancak 100 misli yüksek konsantrasyonlarda etki edebilmekte, 24,25 (OH)₂ D₃ ve D₃'ün etkisi ise yok denecek düzeydedir (43) (Tablo - 1).

Tablo 1 - Aktive lenfositler üzerine 1,25 (OH)₂ D₃ ve metabolitlerinin etkisi

Metabolit	% 50 İnhibisyon için gerekli konsantrasyon
1.25 (OH) ₂ D ₃	2×10^{-12}
1.24,25 (OH) ₃ D ₃	1.5×10^{-10}
25. OH. D ₃	1×10^{-9}
24,25 (OH) ₂ D ₃	$> 10^{-8}$
D ₃	$> 10^{-8}$

Bu çalışmada, mitojen ile aktive olmuş lenfosit proliferasyonu da 1.25 (OH)₂ D₃ tarafından inhibe edilmektedir.

IL-2 salınımının inhibisyonu için birçok olasılık öne sürülmektedir.

a) 1.25 (OH)₂ D₃, IL-2'nin yapımını ve sekresyonunu veya her ikisini birden inhibe edebilir.

b) IL-2 reseptörleri aracılığı ile IL-2'nin tüketimini arttırabilir.

1.25 (OH)₂ D₃, lektinler ile aktive edilmiş lenfositlerde IL-2 yapımı yanı sıra, interferon-gama (IFN-gama) yapımını da baskılar. Bu etkinin, hücre kültüründe 12 saatten daha geç meydana gelmesi ve her iki lenfokin üzerine etkinin aynı zaman-

da ortaya çıkması, IFN-gama yapımındaki azalmanın IL-2'ye bağlı olmadığı şeklinde değerlendirilmiştir (44).

Aktif D vitamininin monositlerden IL-1 salınımına etkisi de tartışmalıdır. Bhalla ve arkadaşları, 1.25 (OH)₂ D₃ vitamininin monosit/makrofaj sisteminde differansiasyonu sağlarken, IL-1 düzeyini yükselttiğini bildirdiler (45). Bir başka araştırmada aktif D vitamininin monosite bağımlı sistemde PHA ile uyarılmış T hücre aktivasyonunu inhibe ettiği ve IL-1 salınımını azalttığı gösterildi (46).

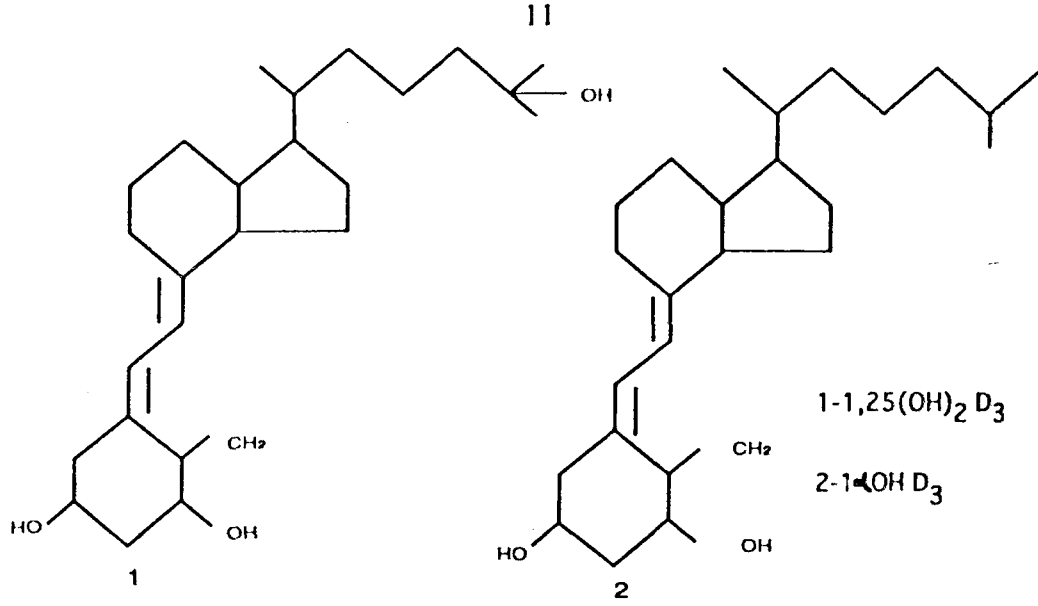
1.25 (OH)₂ D₃, T lenfositlerinden sadece IL-2 ve IFN-gama yapımını engellemekle kalmaz, GM-CSF (granülosit-makrofaj koloni stimüle eden faktör) yapımını da transkripsiyon sonrası engeller. Ortama 10⁻⁸ mg 1.25 (OH)₂ D₃ bulunduğu, T lenfositlerinde 6 ve 48 saat sonra GM-CSF mRNA düzeyi %50 ve %90 azalmıştır (47).

1.25 (OH)₂ D₃ tarafından aktive edilmiş T lenfositlerinde IL-2, IFN-gama ve GM-CSF üretimi inhibe edilirken, IL-2 reseptörü ekspresyonu ve mRNA'sı inhibe edilmemektedir. Yine aktive CD4 ve CD8 lenfositleri, 1,25 (OH)₂ D₃ ile enkübe edildiğinde IL-2 salınımı engellenirken, IL-2 reseptör ekspresyonunda değişiklik olmamıştır (48).

Öte yandan diğer bir çalışmada, T-helper ve T sitotoksik/supressor alt gruplarına etkisi araştırıldığında, mitojenle uyarılmış T4 hücrelerinin, aktif D₃ ilave edildiğinde proliferasyonlarının belirgin olarak azaldığı, B lenfositlerinin ve T8 alt grubunun ise etkilenmediği görülmüştür (49).

IL-2 ve PHA ilave edilen CD4+, CD8+ lenfosit kültürlerinde artmış olan transferrin reseptör düzeyi, aktif vitamin D₃ ile inhibe edilmekte, CD4+ hücrelerinin proliferasyonu baskılanmaktadır (50).

1.25 (OH)₂ D₃ vitamininin, B lenfositleri üzerine de etkisi vardır. Mitojenler ile uyarılmış B lenfositleri üzerinde 1.25 (OH)₂ D₃ reseptörleri vardır (42). Aktive B lenfositleri üzerine, 1,25(OH)₂ D₃ ilave edildiğinde immunglobulin yapımı en-



Şekil 4 - 1,25 (OH)₂ D₃ ve 1 alfa OH D₃'ün kimyasal yapıları.

gellenmektedir. Ortama 24,25 (OH)₂ D₃ ilave edildiğinde ise bu etki görülmez. Bu olayın, nükleer 1,25 (OH)₂ D₃ reseptörleri aracılığı ile meydana geldiği öne sürülmektedir (51).

Aktif D₃ vitamininin, lenfosit aktivasyonunu, lenfokin yapımını, T helper lenfosit alt grubunu baskılayarak immün cevabı kontrol ettiğini gösteren kanıtlar vardır. Ayrıca daha önce yapılan araştırmaların tersine, kronik böbrek hastalarında in-vivo ve in-vitro mitojene T lenfosit proliferasyon cevabını arttırdığını (52); bozulmuş nötrofil fonksiyonlarını örneğin kemotaksis, migrasyon ve fagositozu düzelttiğini (53), Natural Killer (NK) hücre aktivitesini arttırdığını gösteren çeşitli çalışmalar da vardır.(54).

IV. 1-ALFA-HYDROKSİ - D₃ VİTAMİNİ VE İMMÜN SİSTEM

1- alfa-OH-D₃ vitamini kolesterolden sentez edilen bir vitamin D₃ derivsidir. Karaciğerde hidroksillenerek 1,25(OH)₂ D₃ vitaminine dönüşür. İntestinal kal-

siyum transportunda ve kemik kalsiyum mobilizasyonunda 1,25(OH)₂ D₃ vitaminiyle aynı biyolojik aktiviteyi gösterir. Kolesterolden sentezlendiği için, 1,25(OH)₂ D₃'e göre hazırlanması daha kolay ve ucuz olan bir D₃ vitamin analogudur(55) (Şekil 4).

1- alfa-OH-D₃ vitamininin hemodializ hastalarında kalsiyum metabolizması üzerine etkisi iyi bilinmekle beraber immun sistem açısından etkilerini araştırmak amacıyla Tsutomu Tabata ve arkadaşları 4 hafta boyunca günde 0.5 mg 1-alfa-OH-D₃ verilen hemodializ hastalarında lenfoproliferatif cevabı araştırmışlardır. Sonuç olarak, 1-alfa - OH - D₃, lenfosit sayısında ve lenfosit alt grup oranlarında bir değişiklik yapmadan mitojenlere karşı proliferatif cevabı arttırdığı görülmüştür (52).

Bu bulgular, hemodializ hastalarında 1.25(OH)₂ D₃ eksikliğinin hücrel immunitedeki bozukluktan sorumlu olabileceğini ve 1-alfa-OH D₃ tedavisinin immunolojik bir yarar sağlayabileceğini düşündürmektedir. 1-alfa-OH D₃'ün mitojenlere karşı lenfoproliferatif cevabı arttırmasının nedeni bilinmemekle beraber immatur timik lenfositlerin differansiasyonunu ve maturasyonunu kolaylaştırdığı sanılmaktadır (56).

1-alfa- OH D₃ vitamininin, hemodializ hastalarında IL-2 salınımı üzerine etkisini araştıran bir diğer çalışmada, periferik mononükleer hücrelerin, normal kontrollere göre daha az IL-2 salgıladıkları görülmüştür. 4 hafta süre ile günde 0.5 mg 1 alfa-OH D₃ tedavisi sonrası bu hücrelerden IL-2 salınımı artmıştır. Yine aynı çalışmada, serum Ca, fosfor ve parathormon düzeylerinde 1- alfa- OH D₃ tedavisi sonrası değişiklik saptanmamıştır (57).

Daha önceden yapılan çalışmalarda, 1.25(OH)₂ D₃ vitaminin IL-2 salınımını inhibe ettiği gösterildiği için, bu çalışmanın sonuçları öncekiler ile çelişmektedir. IL-2 salınımının, 1-alfa-OH D₃ tarafından arttırılmasının mekanizması bilinmemekle beraber, çeşitli açıklamalar öne sürülmüştür. İlk olarak 1- alfa- OH D₃'ün metaboliti olan 1.25 (OH)₂ D₃, monosit/-makrofaj sisteminin antijen prezen-

tasyonundaki fonksiyonunu artırabilir. Amento ve arkadaşları ile Hodler ve arkadaşları, aktif D3'ün U-937 ve P388 D1 hücre kültürlerinde IL1 salınımını artırdığını bildirmişlerdir (58,59).

Yine bir başka araştırmada, $1.25 (OH)_2 D_3$ 'ün lenfositlere antijen prezentasyonunu sağlayan MHC-II ekspresyonunu IFN-gama aracılığı ile artırdığı gözlenmiştir (60).

Kronik böbrek yetmezliğinde, timik lenfositlerin olgunlaşmasında bozukluk ve timik atrofi bildirilmiştir (56,61).

Bu çalışmada, hemodializ hastalarında 1-alfa-OH D3 kullanımının hücre sel immüniteye ve serum kalsiyum, albümin, fosfor, alkalin fosfat ve parathormon düzeylerine etkisi araştırıldı.

MATERYAL

Çalışma Marmara Üniversitesi Hastanesi Hemodializ Ünitesinde yapıldı.

Hastalar: Çalışma grubuna 16 tane (7 erkek ve 9 kadın) hemodializ hastası alındı. Hastalar 24-69 yaşları arasında olup ortalama yaşları 47.7 idi. Altta yatan böbrek hastalığı olarak, 5 hastada kronik pyelonefrit, 3 hastada kronik glomerulonefrit, 2 hastada diabetik nefropati, 1 hastada polikistik böbrek, 1 hastada hipertansif nefroskleroz, 1 hastada transplant sonrası kronik rejeksiyon, 3 hastada ise etyolojisi bilinmeyen kronik böbrek yetmezliği mevcuttu. Hastaların dializ süreleri 4 ay ile 6 yıl arasında değişmekteydi. Haftada 2 veya 3 kez 4 saat süreyle hemodializ tedavisi almaktaydılar (Tablo 2).

Kontrol grubu ise yaşları 24-70 arası değişen, yaş ortalamaları 40 olan, 20 sağlıklı kişiden oluşuyordu.

Hasta grubuna 4 hafta süreyle oral olarak günde 0.5 mg 1-alfa OHD3 verildi.

Tüm hastaların çalışma öncesi almakta oldukları $CaCO_3$ kaşe, $Al(OH)_2$ ve

aktif 1.25 (OH)₂ D₃ gibi medikasyonları 1 ay önceden kesildi. Çalışma öncesi ve sonrası kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz, parathormon IL-2 reseptör düzeyi, CD4+ ve CD8+ düzeylerine bakıldı.

Tablo 2 - Çalışmaya alınan hastalar

HASTA	CİNS	YAŞ (YIL)	HEMODİALİZ SÜRESİ(AY)	ALTTA YATAN HASTALIK
1	E	27	24	Kronik pyelonefrit
2	K	52	28	Polikistik böbrek
3	K	67	12	Diabetik nefropati
4	E	69	44	Hipertansif nefroskleroz
5	E	29	32	Etyoloji bilinmiyor
6	K	52	30	Kronik pyelonefrit
7	K	46	26	Kronik glomerulonefrit
8	K	53	15	Kronik glomerulonefrit
9	K	59	18	Kronik pyelonefrit
10	K	32	15	Etyoloji bilinmiyor
11	E	57	36	Diabetik nefropati
12	E	26	6	Etiyoloji bilinmiyor
13	K	24	50	Kronik pyelonefrit
14	E	63	30	Kronik pyelonefrit
15	K	39	19	Kronik glomerulonefrit
16	E	34	70	Kronik rejeksiyon

Çalışmaya alınan 16 hastanın 15 tanesinde hipokalsemi, 2 tanesinde hiperfosfatemi mevcuttu.

(Ca üst hudut 10.5 mg/dl, alt hudut 5.5 mg/dl. Ortalama 7.4 mg/dl).

(P üst hudut 9 mg/dl, alt hudut 2 mg/dl. Ortalama 5.1 mg/dl).

ÇALIŞMA DIŐI BIRAKILANLAR

- 1- immunolojik bozukluk yapabilen ek hastalığı olanlar (diabetes mellitus, SLE)
- 2- Son 3 hafta içinde viral veya bakterial enfeksiyon geçirmiş olanlar.
- 3- İmmun sisteme etkisi olabilecek ilaç kullananlar (örneğın: glukokortikoidler, siklosporin vs.)
- 4- Bilenen 1-alfa- OH D3 hassasiyeti olanlar

METOD

Hastalardan 2 ml, tok karnına heparinize venöz kan alındı. Heparinli 100'er µl (mikrolitre) kan 10 µl direkt phycoerythrin (PE) ile işaretli anti- IL-2 reseptör antikorunu (SEROTEC) ve 10 µl PE işaretli anti- CD4, Fluorescein isothiocyanate (FITC) işaretli anti-CD8 monoklonal antikorlarla (SEROTEC) 20 dakika oda sıcaklığında, karanlıkta enkübe edildi. 2'şer µL Eritrosit Lizis solusyonu ile 10 dakika muamelesinin ardından santrifüj edildi. Hücreler bir kez 4 ml PBS ile yıkandıktan sonra Becton Dickinson FACScan Flow Cytometry'de Facscan research programı ile değerlendirildi.

İstatiksel Analiz: Çalışmada gruplar arası farkları değerlendirmek amacıyla The Mann-Whitney-U testi kullanıldı. $P < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

SONUÇLAR

Hiç bir hastada 1- alfa -OH D3 vitaminine karşı bir reaksiyon gözlenmedi. Genel olarak hastaların toleransı iyi olarak saptandı.

1- alfa- OH D3 uygulanması öncesi, hemodializ hasta grubu ve kontrol grubu lenfositleri IL-2 reseptör (anti-Tac) ekspresyon oranları karşılaştırıldığında, hasta grubu IL-2 reseptör ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi. (hasta: 31.7 ± 8.3 , kontrol: 20.2 ± 6.7 , $P < 0.0001$) (Tablo-3) (Şekil-5).

Kontrol ve hasta grubu arasında CD4+, CD8+ gibi lenfosit alt grup oranları açısından fark saptanmadı (CD4+, hasta: 36.3 ± 9.8 ; kontrol : 38.9 ± 12.9 , $P > 0.05$) (CD8+, hasta: 23.7 ± 13 ; kontrol: 25 ± 6.2 , $P > 0.05$).

1- alfa- OH D3, uygulaması öncesi ve sonrası hemodializ hasta grubunun IL-2 reseptör ekspresyonları arasında bir artma olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tedavi öncesi IL-2 R: 31.7 ± 8.3 ; Tedavi sonrası IL-2R: 36.5 ± 13.8 ; $P > 0.05$) (Şekil-6) yine çalışma öncesi ve sonrasında CD4+ ve CD8+ lenfosit alt grup oranları arasında belirgin bir fark yoktu (Çalışma öncesi CD4: 36 ± 9.8 ; Çalışma sonrası CD4+: 33.0 ± 12.8 , $P > 0.05$) (Çalışma öncesi CD8+: 23.7 ± 13.0 , Çalışma sonrası CD8+: 19.6 ± 11.8 , $P > 0.05$) (Şekil-7,8).

Biyokimyasal parametreler açısından değerlendirildiğinde, 4 hafta günde 0.5 mg 1 -alfa- OH D3 tedavisi sonrası serum kalsiyum düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, fosfor düzeylerinde belirgin bir artış gözlemlendi.

(Tedavi öncesi Ca: 7.4 ± 1.0 mg/dl, tedavi sonrası Ca: 7.8 ± 0.6 mg/dl, $P > 0.05$) (Tedavi öncesi P: 5.1 ± 1.4 mg/dl, tedavi sonrası P: 7.5 ± 1.4 mg/d, $P < 0.0001$) (Şekil-9, 10).

1- alfa- OH D3 vitamini sonrası serum alkaleen fosfataz düzeylerinde artış gözlemlendi.

(Tedavi öncesi A.Fosfataz 142.5 ± 78.5 IU/L, tedavi sonrası A fosfataz $(234 \pm 125.9$ IU/L, $P < 0.05$) (Şekil-11). Tedavi sonrası serum parathormon düzeylerinde bir değişiklik saptanmadı.

(Tedavi öncesi PTH: 241.1 ± 127.6 ng/ml, tedavi sonrası PTH: 233.5 ± 151.9 ng/ml $P > 0.05$) (Şekil 12).

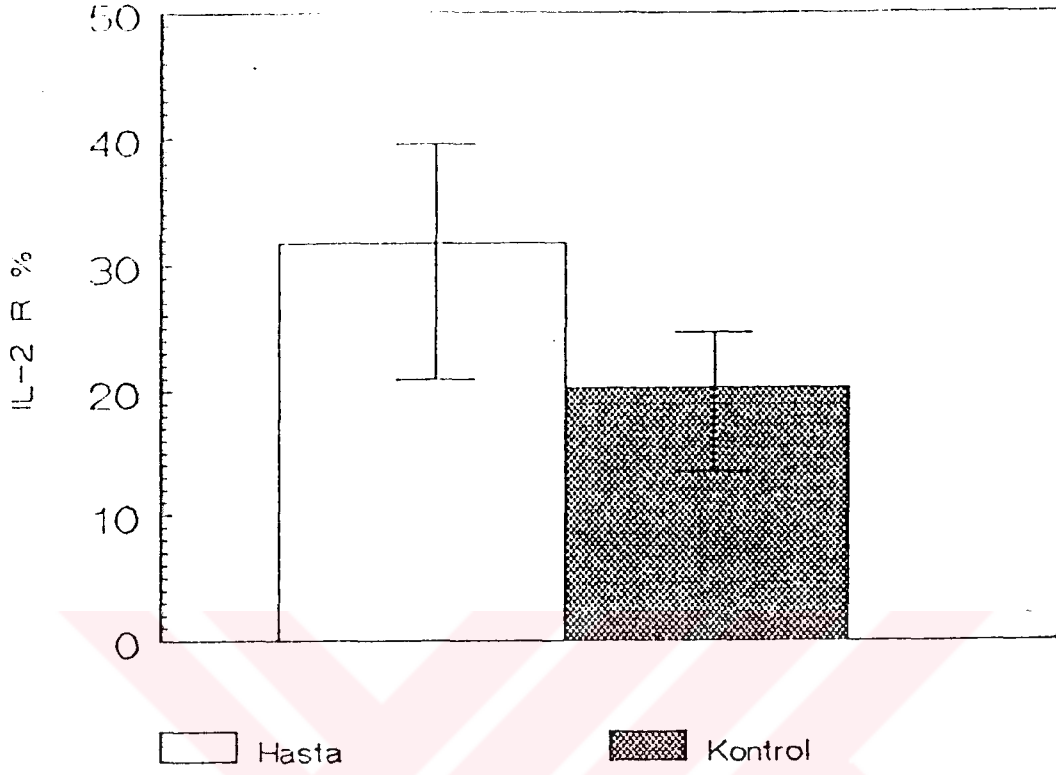


Tablo 3. 1-alfa-OH-D3 öncesi IL-2 reseptör oranları.

	Hastalarda IL-2 Reseptör oranı (%)	Kontrollarda, IL-2 Reseptör oranı (%)
1	26.95	16.32
2	31.24	18.3
3	40.86	18.68
4	29.27	1.8
5	36.47	15.36
6	27.72	21.52
7	42.1	17.32
8	35.64	18.22
9	46.12	32.16
10	27.12	15.92
11	23.23	30.61
12	23.13	25.64
13	33.76	23.76
14	38.35	17.08
15	30.87	17.88
16	13.58	28.54
17		21.2
18		15.62
19		25.38
20		22.38
Ortalama	31.7±8.3	20.2±6.7

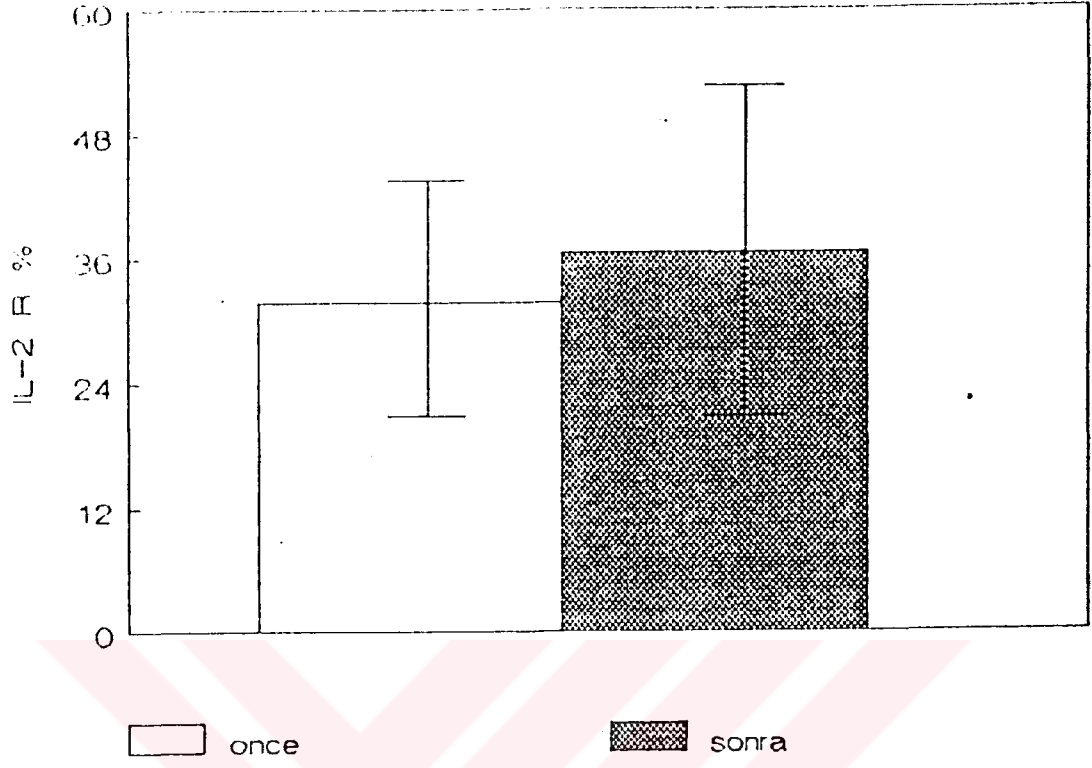
**Tablo 4-Hastaların Tedavi Öncesi ve Sonrası IL-2 R- CD8+, CD4+,
Ca, P, A.Fosfotaz ve PTH Değerleri**

	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	P Değeri
IL-2 R (%)	31.7 \pm 8.3	36.5 \pm 13.8	>0.05
CD4 (%)	36.0 \pm 9.8	33.0 \pm 12.8	>0.05
CD8 (%)	23.7 \pm 13	19.6 \pm 11.8	>0.05
Ca (mg/dl)	7.4 \pm 1	7.8 \pm 0.6	>0.05
P (mg/dl)	5.1 \pm 1.4	7.5 \pm 1.4	<0.0001
A.Fosfotaz (IU/L)	142.5 \pm 8.3	234 \pm 125.9	<0.05
PTH(ng/ml)	241 \pm 127.6	233.5 \pm 151.9	>0.05



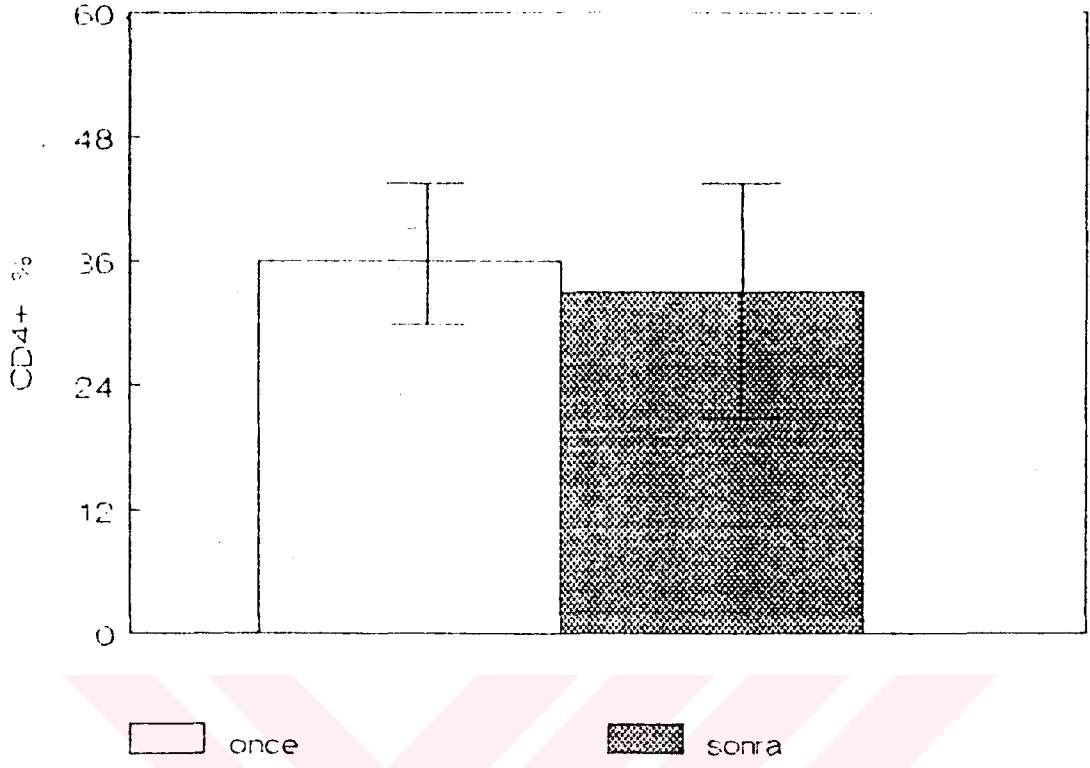
Şekil-5. Hasta ve kontrol gruplarında 1.alfa-OH-D3 tedavisi öncesi IL-2 reseptör oranları.

$P < 0.0001$



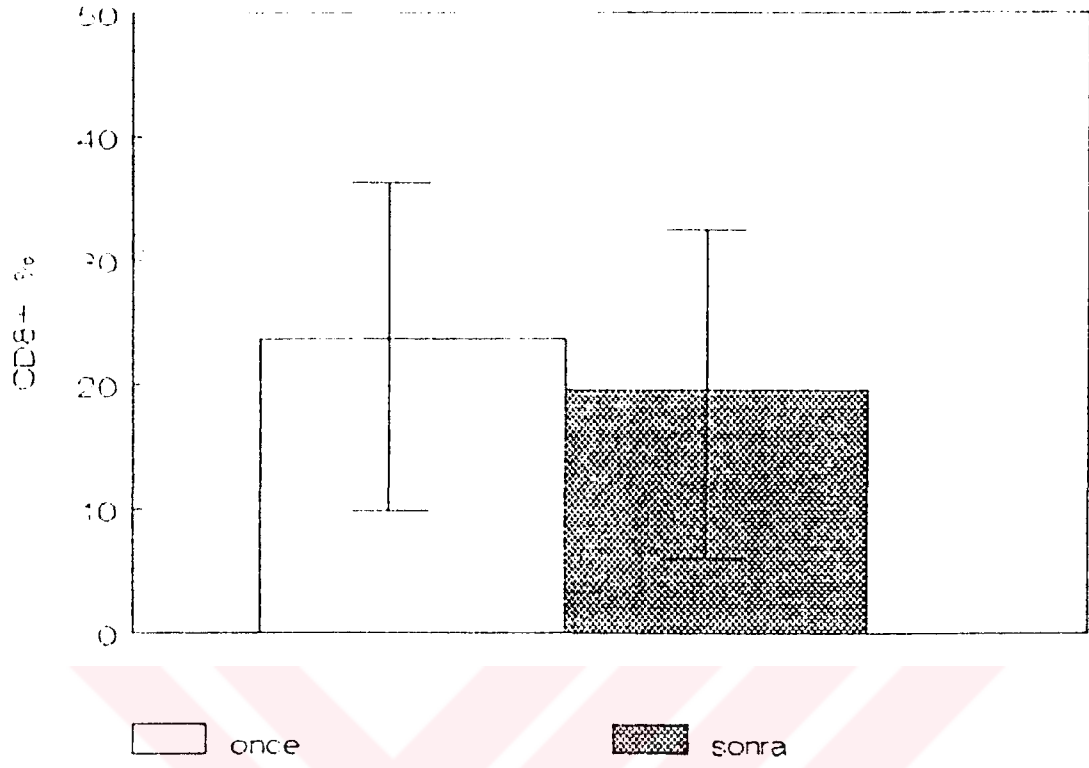
Şekil- 6 1 alfa-OH-D3 uygulaması öncesi ve sonrası IL-2 reseptör oranları.

P > 0.05



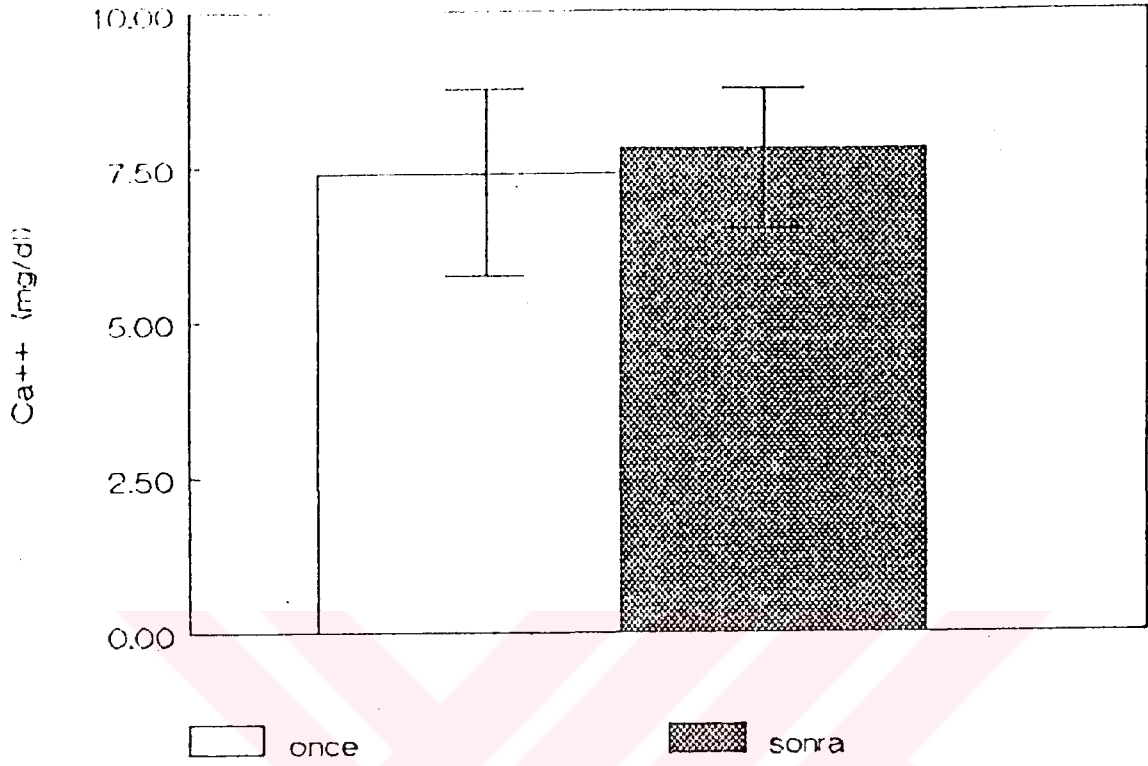
Şekil-7- 1 alfa-OH-D3 uygulaması öncesi ve sonrası CD4+ lenfosit oranları.

P > 0,05



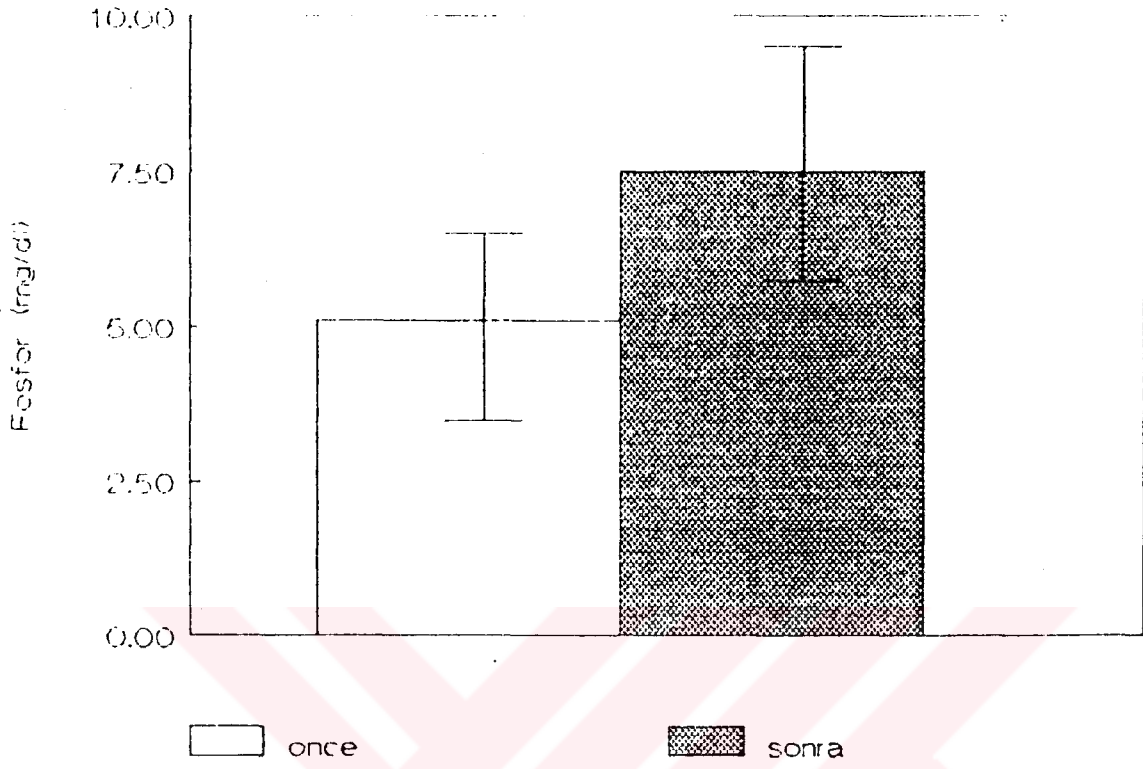
Şekil-8 1 alfa-OH-D3 öncesi ve sonrası CD 8+ lenfosit oranları.

P > 0.05



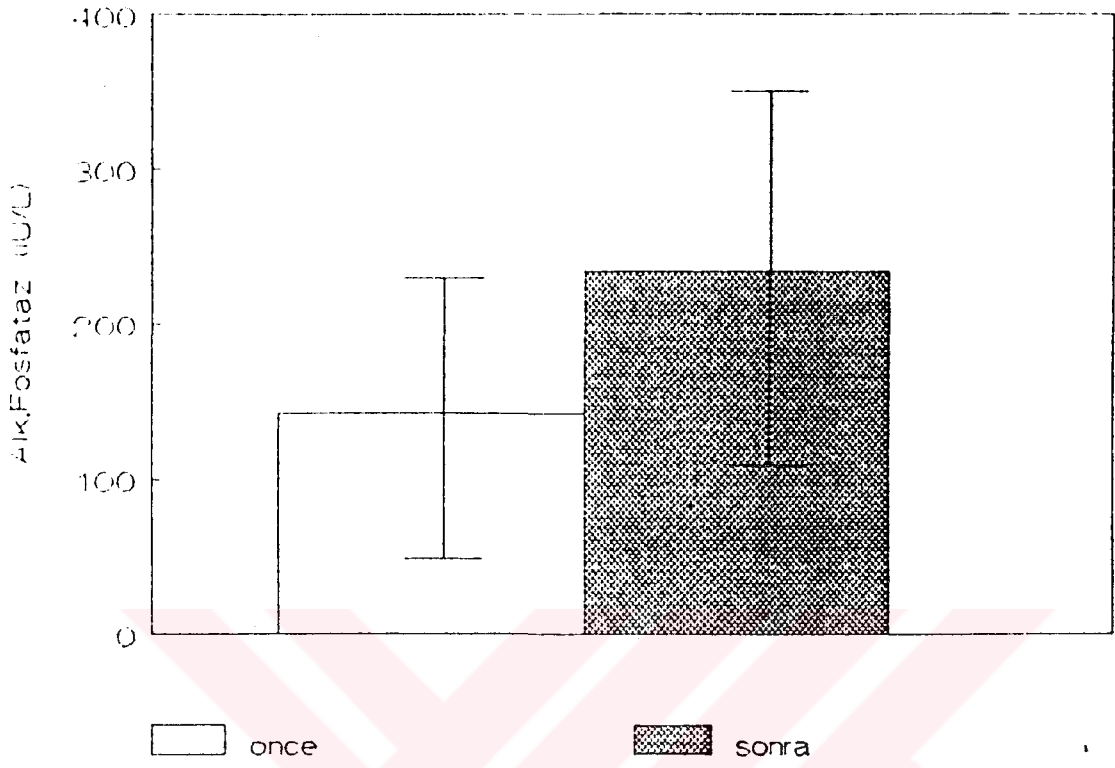
Şekil-9-1-alfa,0H-D3 uygulaması öncesi ve sonrası serum Ca++ değerleri.

P > 0.05



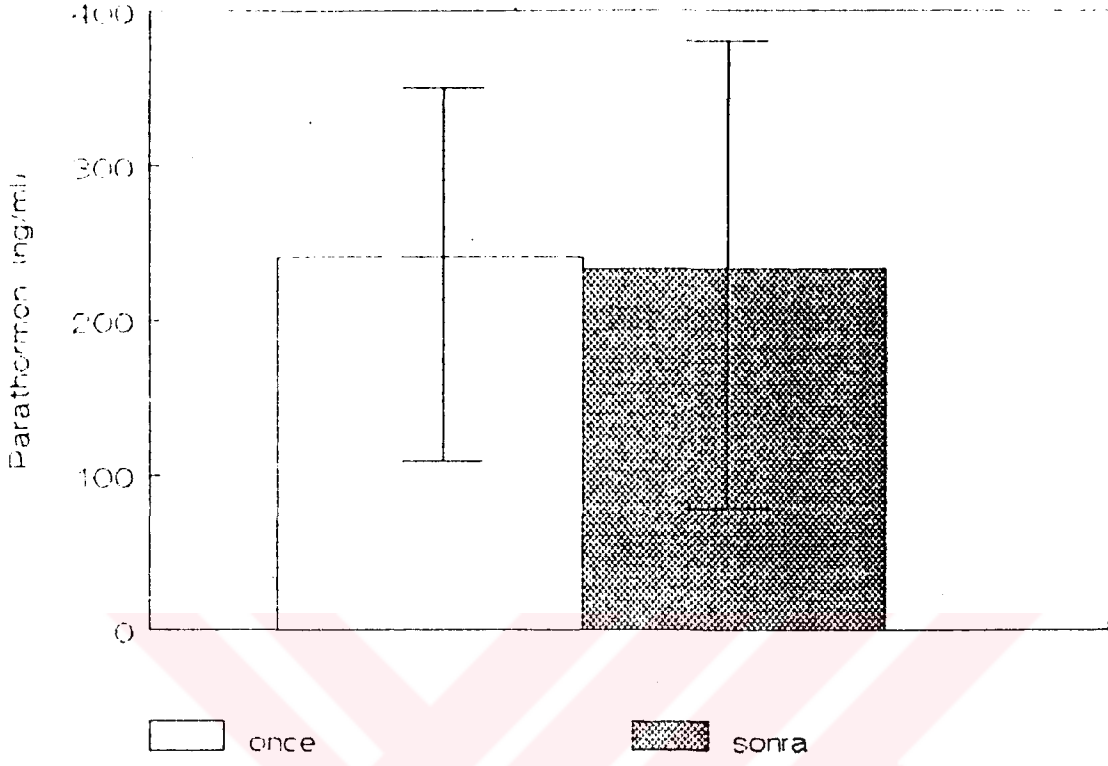
Şekil 10. 1-alfa-OH-D3 uygulaması öncesi ve sonrası serum fosfor değerleri.

$P < 0.0001$



Şekil - 11. 1 alfa-OH-D3 uygulaması öncesi ve sonrası serum alkaleen fosfataz değerleri.

P < 0.05



Şekil - 12 1.alfa-OH-D3 uygulaması öncesi ve sonrası serum parathormon değerleri.

$p > 0.05$

TARTIŞMA

Kronik böbrek yetmezliği olan veya hemodialize giren hastalarda, üremiye sekonder olarak bağışıklık sistemlerinde meydana gelen değişikliklerin patofizyolojisi oldukça karışiktır ve tam olarak bilinmemektedir.

Bizim çalışmamızda 1- alfa- OH D3 tedavisi öncesi, 16 hastadan oluşan hemodializ hasta grubu T lenfosit IL-2 reseptör ekspresyonunun, 20 sağlıklı kontrol grubu T lenfositleri ile kıyasladığında oldukça yüksek olduğu görüldü.

Üremik ve sağlıklı lenfositlerde IL-2 reseptör ekspresyon oranını araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. E. Langhoff ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada, mitojen uyarımı sonrası 26 üremik hasta ve 24 sağlıklı kontrol grubunda 48. ve 72.ci saatte IL-2 reseptör ekspresyonu incelendiğinde, üremik hastalarda daha yüksek oranda olduğu gözlenmiştir (39). Bu araştırma grubu, çalışma öncesi üremik hastalardaki düşük lenfosit proliferasyon cevabına azalmış T lenfosit IL-2 reseptör düzeyinin yol açabileceğini düşünmekte idiler; fakat üremik grupta IL-2 reseptörleri fazla bulununca bu hipotez yıkılmış oldu.

Yine bir başka çalışmada, hemodialize giren veya girmeyen üremik hastaların, T lenfosit IL-2 reseptör oranlarına ve eksojen IL-2 varlığında proliferasyon cevaplarına bakıldığında, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (33). Burada saptanan IL-2 reseptörleri büyük ihtimalle yüksek affiniteli reseptörlerdir; çünkü eksojen IL-2 verildiğinde lenfositlerde proliferasyon gözlenmiştir. Ve sadece yüksek affiniteli reseptöre bağlanma IL-2 + IL-2 reseptör kompleksinin endositozuna yol açar.

Biyolojik ve klinik olarak derin bir immun bozukluk bulunan üremik hastalarda, T lenfosit aktivasyonunun fenotipik ve fonksiyonel belirtilerinin olması paradoks olarak gözükebilir. Fakat T lenfosit hücre yüzeyindeki artmış IL-2 reseptör miktarı absorpsiyon yolu ile IL-2'nin fazla harcanarak tüketilmesine yol açabilir. Artmış IL-2 reseptör ekspresyonu olan T lenfositlerinin eksojen IL-2 verildiğinde anormal olarak çoğalması bu hipotezi desteklemektedir (25,33).

Hemodializ hastalarında gözlenen T lenfosit preaktivasyonunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Fakat dializ membranları ile sirküle eden hücrelerin fiziksel teması sonrası ortama çeşitli mediatörlerin salındığı gösterilmiştir. Monositler tarafından salgılanan IL-1 bu mediatörlerin en önemlilerinden biridir (63). IL-1, IL-2 salınımının düzenlenmesinde rol oynamasına rağmen, ek bir aktivasyon sinyali olmadan IL-2 reseptör ekspresyonuna yol açmaz.

Diğer bir hipotez ise yapılan kan transfüzyonlarının preaktivasyona yol açabileceğidir. Kan transfüzyonları, hastalarda dolaşımında anti-T lenfosit otoantikörlerinin oluşumunu sağlayarak veya latent viral enfeksiyonların (hepatit B, Epstein - Barr virus, AIDS gibi) aktive olmasına yol açarak T lenfositlerinin preaktivasyonuna neden olabilir. Preaktive lenfositler üzerinde IL-2 reseptör ekspresyonu, bu reseptörün sirkülasyona geçmesine yol açabilir. Rubin ve arkadaşları, stimule T lenfositlerinin kültür supernatalarında soluble IL-2 reseptörlerini saptamışlardır (64).

Yapılan çok sayıda çalışmada, kronik üremik hastalarda mutlak lenfositopeni (total T lenfosit ve alt gruplarında) tarif edilmiştir. Fakat periferik dağılımlarında major bir anormallik saptanmamıştır (24, 27, 33, 65). CD4+/CD8+ oranı, üremik hasta ve normal kontrol grubunda benzer düzeylerde bulunmuştur.

Stanley C.Jordan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 1.25(OH)₂ D3 vitamininin, periferik mononükleer hücrelerden ve CD4+, CD8+ lenfosit alt gruplarından IL-2 salınımını azalttığı, buna karşılık bu hücrelerin IL-2 reseptör ekspresyonlarında herhangi bir değişiklik yapmadığı gösterilmiştir (66). Böylece 1.25 (OH)₂ D3, T lenfosit proliferasyonunu primer olarak IL-2 salınımını inhibe ederek önlemektedir.

Bizim çalışmamızda da oral 1 alfa OH D3 tedavisi sonrası periferik mononükleer hücrelerin IL-2 reseptör ekspresyonlarında tedavi öncesine göre istatistik olarak anlamlı bir fark gözlenmedi; ayrıca tedavi sonrası CD4+ ve CD8+ lenfositlerinin periferik dağılımlarında major bir değişiklik saptanmadı.

Tsutomu Tabata ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada, 1-alfa-OH D3 vitamininin, hemodializ hasta lenfosit sayısında ve alt grup oranlarında değişiklik yapmadan, mitojenlerle uyarı sonrası lenfoproliferatif cevabı arttırdığı ortaya çıkarılmıştır (52). Bu in-vivo çalışmada, 1-alfa-OH D3 vitamininin, periferik mononükleer hücrelerden IL-2 salınımını artırarak proliferasyona yol açabileceği sonucuna varılmıştır. Halbuki daha önceden yapılan birçok araştırmada, 1.25 (OH)₂ D3 vitamininin IL-2 salınımını azalttığı bildirilmiştir (49,67). Bu gözlemler arasında fark çalışmalarının in-vivo veya in-vitro olarak farklı ortamlarda yapılmasından kaynaklanabilir.

1- alfa - OH D3'ün inmatür timik lenfositlerin diferansiasyonunu ve maturasyonunu kolaylaştırdığı sanılmaktadır (56). Fakat yine de, 1- alfa- OH D3'ün karaciğerde hidrosillenerek 1.25 (OH)₂ D3 vitaminine dönüştüğü göz önüne alınırsa, aynı etkinin 1.25 (OH)₂ D3 ile de meydana gelmesi beklenir.

Bizim çalışmamızda, üremik hastalarda, mononükleer hücrelerden IL-2 salınımına bakılmamıştır. Sadece 1 - alfa - OH D3 tedavi öncesi ve sonrası IL-2 reseptör ekspresyonları tesbit edilerek, bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Halbuki 1-alfa- OH D3 IL-2 salınımı üzerine olumlu bir etki yapsaydı, en azından IL-2 reseptör ekspresyonunda artma veya azalma beklenebilirdi.

Biyokimyasal parametreler üzerine, 1-alfa-OH D3 vitaminin etkisini inceleyen birçok çalışma yapılmıştır.

Tsutomu Tabata ve arkadaşları 4 hafta günde 0.5 mg 1-alfa- OH D3 uygulanması sonrası serum Ca, P ve PTH konsantrasyonlarında değişiklik gözlememişlerdir (52,57). Çalışmalarının tartışma bölümünde, mononükleer hücrelerden IL-2 salınımının biyokimyasal parametrelerden bağımsız olarak arttığını savunmuşlardır.

T.M.Chalmers ve arkadaşları, kronik böbrek yetmezliği olan hastalara 1-alfa-OH D3 verdiklerinde, serum kalsiyum düzeyinin arttığını, fakat serum fosfor

ve idrar fosfor konsantrasyonlarının düştüğünü saptamışlardır. Ayrıca serum A.fosfatazında da düşme gözlenmiştir. Sonuç olarak, bu bulgularla kemikte Ca ve P retansiyonunun meydana geldiği ve 1-alfa-OH D3 ün renal osteodistrofide uygun bir seçenek sunabileceği kanısına varılmıştır (68).

Brickman ve arkadaşları, 1.25 (OH)₂ D₃ ile serum fosfor düzeylerinin yükseldiğini göstermişlerdir (69).

Paratiroidektomize sıçanlarda yaptıkları bir araştırmada Maurice ve arkadaşları, 1.25 (OH)₂ D ile karşılaştırıldığında 1- alfa - OH D₃ vitaminin serum Ca konsantrasyonunu daha fazla arttırdığını, ayrıca etkisinde daha kısa sürede başlayıp daha kısa sürede sona erdiğini gözlemlemişlerdir. Bu nedenle 1- alfa - OH D₃ vitamininin daha az toksisiteye yol açabileceği sonucuna varılmıştır (70). Bu çalışmada her iki D vitamini analogu, PTH'nun fosfatürik etkisine antagonistik davranarak, fosforun renal tubuler absorpsiyonunu artırmışlardır.

Bizim çalışmamızda da serum Ca düzeylerinde değişiklik olmazken, P düzeylerinde anlamlı bir artış saptandı. Serum PTH konsantrasyonlarında değişiklik gözlenmedi. Alkalen fosfatazda görülen yükselmenin muhtemel olarak biyokimyasal teknik hatalardan kaynakladığı düşünüldü. Vitamin D eksikliğine sekonder gelişen raşitizmi olan çocukların, sık tekrarlayan enfeksiyonlara açık olduklarının bilinmesine rağmen, bu bulguların hipofosfatemi ve hipokalseminin direkt olarak immün sisteme olan olumsuz etkilerine mi, yoksa 1.25 (OH)₂ D₃ vitamininin immün sistem üzerine uyarıcı etkisine mi bağlı olduğu bilinmemektedir.

1.25 (OH)₂ D₃'e karşı end-organ rezistansı olan çocukların periferik lenfositleri, mitojen ile uyarılma sonrası 1.25 (OH)₂ D₃ reseptörlerini eksprese etmezler ve sonuçta bu hormon tarafından inhibisyona uğramazlar. Bu hastalarda immün sistem bütün olarak korunmuştur. Bu bulgular, tek başına 1.25 (OH)₂ D₃ ve 1-alfa- OH D₃ eksikliğinin kronik böbrek yetmezliğinde gözlenen immün sistemdeki bozukluktan sorumlu tutulamayacağını göstermektedir.

ÖZET

Bu çalışmada, hemodializ hastalarında 1-alfa-OH D3 kullanımının hücreyel immüniteye ve serum kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz ve parathormon düzeylerine olan etkisi araştırılmıştır.

Bu amaçla 16 hemodializ hastası ve 20 kişiden oluşan sağlıklı kontrol grubu kullanılmıştır. Hasta grubuna 4 hafta süreyle günde 0.5 mg 1-alfa-OH D3 vitamini oral olarak verildi.

1-alfa-OH D3 tedavisi öncesi, hemodializ hasta grubunun sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında T lenfosit IL-2 reseptör ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Diğer taraftan, tedavi sonrası diğer çalışmaları destekler şekilde hemodializ hasta T lenfosit IL-2 reseptör ekspresyonlarında ve CD4+, CD8+ lenfositlerinin periferik dağılımlarında tedavi öncesi belirgin bir fark saptanmamıştır.

Biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde, tedavi sonrası serum Ca, PTH değerlerinde değişiklik gözlenmesken fosfor, alkalen fosfotaz düzeylerinde yükselme saptanmıştır.

Sonuç olarak bu bulgular tek başına 1.25 (OH)₂ D3 vitamini eksikliğinin kronik böbrek yetmezliğinde görülen hücreyel immünite bozukluğundan sorumlu tutulamayacağını göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Lund, B.; Clausen E.; Friedberg, M.; Lund, B.; Moszkowicz. M. Nielsen, S.P.; Sorenson, O.H.: Serum 1.25-dihydroxychole calci-ferol in anephric, hemodialyzed and kidney-transplanted pati-ents: effect of vitamin D3 supplement Nephron 25:30-33 (1980)
2. Juttmann, J.R.; Buurman, C.J.; Kan, E.D.; Visser, T.J. Birkenha-yer, J.C.: Serum concentrations of metabolites of vitamin D inpatients with chronic renal failure: consequences for the treat-ment with 1alpha hydroxy- derivatives. Clin. Endocrinol. 14:225-236 (1981)
3. Christiansen, C.; Christensen. M.S.; Melsen, F.; Rodbro. P.; Deluca, H.F.: Mineral metabolism in chronic renal failure with special reference to serum concentrations of 1.25 (OH)₂ D₃ and 24.25(OH)₂ D₃ Clin. Nephrol, 15: 18-22 (1981)
4. Rickers, H.; Christianse C.; Christense. P.; Christensen. M.; Rodbro. P.: Serum concentrations of vitamin D metabolites in different degrees of impaired renal function. Nephron 39: 267-27 (1985)
5. Provvedini D.M; Tsoukas C.D.; Deftos. L.J.; Manolagas S.C.: 1.25 Dihydroxyvitamin D₃ receptors in human leukocytes. Science 221: 1181-1183 (1983)

6. Bhalia, A.K.; Amento E.P.; Clemens, T.L.; Holick, M.F.; Krane S.M. specific high-affinity receptors for 1.25-dihydroxyvitamin D3 in human peripheral blood mononuclear cells: presence in monocyte and induced in T lymphocytes following activation *J.clin. Endocr. Metab* 57: 1308-1310 (1983)
7. Tsoukas. C.D.; Provvedini D. M; Manolagas, S.C: 1.25- Dihydroxyvitamin D3: a novel immunoregulatory hormone. *Science* 224: 1438-1440 (1984)
8. Rigby, W.F.C.; Stacy. T.; Fanger M. W. Inhibition of Tlymphocytemitogenesis by 1.25-dihydroxyvitamin D3 (calcitriol). *J.clin. Invest.*74:1451-1455 (1984)
9. Bhalla A.K.; Amento. E.P.; Serog.B.; Glimcher L.H.; 1.25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits antigen-induced T cell activation *J.Immun* 133: 1748-1754 (1984)
10. Lemire, T.M.; Adams, J.S; Kermani-Arab, V.; Bakke, A.C.; Sakai, R.; Jordan, S.C.;1.25-Dihydroxyvitamin D3 suppresses human T helper inducer lymphocyte activity in vitro *J.Immun* 134: 3032-3035 (1985)
11. Selroos, O.; Pasternack, A.; Virolainen, M.: Skin test sensitiv and antigen-induced lymphocyte transformation in uraemia. *Clin n Immunol* 14: 365-370 (1973)
12. Nakhla, L.S.; Goggin, M.J.: Lymphocyte transformation in chronic renal failure *Immunology* 24: 229-235 (1973)
13. Kauffman, C.A.; Manzler, A.D.; Phair, J.P.: Cell mediated immunity in patients on long-term haemodialysis *Clin exp.Immunol* 22:54-61 (1975)

14. Touraine J.L.; Touraine, F.; Reuillard, J.P.; Brocicher J.; Traeger J.: T-lymphocytes and serum inhibitors of cell mediated immunity in renal insufficiency *Nephron* 14:195-208 (1975)
15. Harwick H.J.; Kalmansun, G.M.; Guze, L.B.; Effect of renal physiocochemical milieu on stimulation of human lymphocytes by phytohemagglutinin. *Nephron* 23:293-296 (1978)
16. Tabata, T.; Suzuki, R.; Kikunami, K.; Matsushita, Y.; Inoue, T.; Inoue, T.; Okamoto, T.; Miki, T.; Nishizawa Y.; Morii, H.: The effect of 1 alpha -hydroxyvitamin D3 on cell-mediated immunity in hemodialyzed patients. *J.clin. Endocr. Metab*, 63:1218-1221 (1986)
17. Tsutomu Tabata, Tetsuo Shoji, Kiichiro Kikunami, Yoshiki Matsushita, Takashi Inoue, Shingo Tanata, Hirotohi Morii. : In vivo effect of 1 Hydroxyvitamin D3 on interleukin-2 production in Hemodialysis Patients *Nephron*: 50 : 295-29 (1988)
18. Stanley C.Jordan, Mieko Toyoda, John Prehn, Jacques M.lemire, Rebecca Sakai and John Adams,: 1,25 Dihydroxyvitamin D3 regulation of interleukin - 2 and interleukin-2 receptor levels and gene expression in human T cells. *Molecular Immunology*, Vol. 26, No.10 pp 979-984 (1989)
19. Dammin G.J, Couch NP, Murray JE : Prolonged survival of skin homografts in Uremic patients *Ann NY Acad. Sci* 1957; 64 : 967
20. Goldblum E.Reed Wp: Host defenses and immunologic alterations associated with chronic hemodialysis. *Ann Intern Med* 1980 ; 93 : 597

21. Cappel R, Van Beers D, Liesnard C, et al: Impaired humoral and cell-mediated immun responses in dialyzed patients after influenz vaccination. *Nephron* 1983;33:21
22. Stevens CE, Alter MD, Taylor PE, et al: Hepatitis B vaccine in patients receiving hemodialysis: Immunogenicity and efficacy, *N Engl J Med* 1984; 311:496
23. Revillard J.P: Immunological alterations in chronic renal insufficiency. *Adv Nephrol* 1979; 8:365
24. Raskova J, Ghobrial J, Shea SM, et al: Tcells in patients undergoing chronic hemodialysis; Mitogenic response, suppressor activity, and interleukin- 2 production and receptor generation *Diagn Immunol.* 1986: 4: 209
25. Meuer SC, Hauer M, Kurz P, et al : Selective blockade of the antigen receptor mediated pathway of T cell activation in patients with impaired primary immune responses. *J Clin Invest* 1987;80:743
26. De Gast G.C., Ponds E., Arisz L., The T.H., Van Der Hem G.K. Impaired Lymphocyte function and neutrophil damage during the first hours of hemodialysis. *Clin Nephrol* 1977; 8:514-9
27. Raska K, Raskova J, Shea SM, et al: T cell subsets and cellular immunity in end-stage renal disease. *Am J Med* 1983;75:734.
28. Watson J, Mochizuki D: Interleukin 2: A class of T cell growth factors. *Immunol Rev* 1980: 51: 257
29. Langhoff E, Hofmann B, Odum N, et al: Kinetic analysis of interleukin- 2 (IL-2) production and expression of IL-2 receptors by uremic and normal lymphocytes. *Scand T Immunol* 1987;

25:29

30. Kurz P., Kohler H., Meuer S., Hutteroth T.; Impaired cellular immun responses in chronic renal failure: evidence for a T cell defect *Kidney Int* 1986;29:1209-14
31. Chouaib S, Fradelizi D; The mechanism of inhibition of human IL-2 production. *J Immunol* 1982 129:2463.
32. Chouaib S, Bertoglio JH: Prostaglandins E as modulators of the immune response. *Lymphokine Res* 1988;7:237
33. Chatenoud L, Dugas B, Beaurain G, et al: Presence of preactivated T cells in hemodialyzed patients: Their possible role in altered immunity *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83:7457
34. Descamps-Latscha B, Herbelin A, Nguyen AT et al : Haemodialysis membrane-induced phagocyte oxidative metabolism activation and interleukin -1 production. *Life support Systems* 1986;4:349
35. Robb RJ, Green WC, Rusk CM: Low and high affinity cellular receptors for interleukin 2: Implications for the level of Tac antigen. *J Exp Med.* 1984; 160:1126
36. Kukovich M, Wano y, Le Thi Bich T. et al : A second human IL-2 binding protein that may be a component of high affinity IL-2 receptors. *Nature* 1987; 327:518
37. Tsudo M, Kozak RW, Goldman CK, et al: Demonstration of a non-Tac peptide that binds interleukin 2: A potential participant in multichain IL-2 receptor complex *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 9464
38. Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME, et al: A monoclonal

- antibody, 767/B6, that binds to an epitope on the human IL-2 receptor distinct from that recognized by IL-2 or anti-Tac. *Hybridoma* 1985;4:91
39. E. Langhoff, B.Hofmann, N. ODUM, J.Ladefoged, P. platz, L.P. Ryder and A. Svejgaard: Kinetic analysis of IL-2 receptors by Uraemic and normal Lymphocytes.
 40. Beurain G., Naret C., Marcon L., et al: In vivo T cell preactivation in chronic uremic hemodialysed and non-hemodialysed patients *Kidney Int* 1989;36:636-44
 41. Tchorzewski H., Luciak M., Trznadel K., Majewska E., Pokaca I Effect of hemodialysis on T lymphocyte subsets, on A activate supressor cell activity and interleukin-2 receptor expression on lymphocytes in chronic uremic patients. *Artif organs* 1989;13:185-9
 42. Provvedini D.M., Tsoukas C.D., Deftos L.J., Manolagas S.C: 1.25 Dihydroxyvitamin D₃ receptors in human leucocytes. *Science* 1983; 221:1181-3
 43. Tsoukas C.D., Provve D.M., Manolagas S.C.; 1,25 Dihydroxyvitamin D₃ A Novel Immunoregulatory hormone. *Science* 1984;224:1438-40
 44. Rigby W.F.C., Denome, Fanger M.W.; Regulation Iymphokine production and human T Iymphocyte activation by 1,25 (OH)₂ D₃ Specific inhibition at the level of messenger RNA. *J.clin Invest* 1987;79:1659-64
 45. Bhalla A.K., Amento E.P., Krane S.M.; Differential effects of

- 1,25 dihydroxyvitamin D3 on human lymphocytes and monocytes and macrophages cell Immunol 1986;98:311-20
46. Tsoukas C.D., Watry D., Escobar S.S., Provvedini D.M., Dinarello C.A., Hurtinger F.G., Manolagas S.C.; Inhibition of interleukin-1 production by 1,25 dihydroxyvitamin D3, J Clin Endocrinol Metab 1989; 69: 127-33
 47. Tobler A, Miller C.W., Norman A.W., Koeffler H.P.; 1,25 dihydroxyvitamin D3 modulates the expression of a lymphokine (granulocyte-macrophage Colony stimulating factor) posttranscriptionally, J clin Invest 1988; 81:1819-23
 48. Jordan S.C., Toyoda M., Prehn J., Lemire J.M., Sakai R., Adams J.S.; 1,25 dihydroxyvitamin D3 regulation of interleukin-2 receptor levels and gene expression in human T cells Mol Immunol 1989; 26:979-84
 49. Lemire J.M., Adams J.S., Kermani-Arab V., Bakke A.C., Sakai R., Jordan S.C.; 1,25 Dihydroxyvitamin D3 suppresses human T helper inducer lymphocyte activity in vitro J Immunology 1985; 134:3032-5
 50. Vanham G., Ceuppens J.L., Boullio R.; T lymphocytes and their CD4 subset are direct targets for the inhibitory effect of calcitriol cell Immunol 1989; 124:320-33
 51. Provvedini D.M., Tsoukas C.D., Deftos L.J., Manolagas S.C.; 1,25 Dihydroxyvitamin D3 Binding macromolecules in Human B lymphocytes effects on immunoglobulin production J Immunol 1986;136: 2734-40
 52. Tabata T, Suzuki R., Kikunami K., et al: The effect of 1 alpha

- hydroxyvitamin D3 on cell mediated immunity in hemodialysed patients *J.Clin Endocrinol Metab* 1986; 63: 1218-20
53. Venezio F.R., Kazeny G.A., D.Vincenzo C.A., Hano J.E., ;Effects of 1,25 dihydroxyvitamin D3 on leucocyte function in patient receiving chronic hemodialysis, *J Infect Dis* 1988; 158:1102-5
 54. Quesada J.M., Solana R., Serano I, et al; Immunologic effect of vitamin D. *N Eng J Med* 1989; 321:833
 55. M.F.Holick, E.J.Semmler, H.K.Schnoes, H.F. De Luca: 1 alpha -Hydroxy Derivative of vitamin D3: A Highly Potent Analog of 1 ,25- Dihydroxyvitamin D3 *Science*, 1973; 18:190-91
 56. Wilson WEC, Kirkpatrick CH, Talmage DW: Suppression of immunologic responsiveness in uremia *Ann Intern Med.* 62:1. 1965
 57. Tsutomu Tabata, Tetsuo Shoj, Kiichiro Kikunami, Yoshiki Matsushita et al: In vivo effect of 1 alpha -hydroxyvitamin D3 on Interleukin-2 production in hemodialysis patients-*Nephron* 1988;50:295-298
 58. Amento, E.P.; Bhalla, A.K.; Kurnick, J.T.; Kradin R.L.; Clements, T.L.; Holick, S.A.; Holick, M.F.; Krane, S.M.; 1,25-Dihydroxyvitamin D3 induces maturation of the human monocyte cell line U937 and in association with a factor from human T lymphocytes, augments production of the monokine, mononuclear cell factor *J.clin. Invest* 73;731-739 (1984)
 59. Hodler, B.; Eveguoz, V.; Trechsel, U.; Fleisch, H.Stadler, B.; Influence of vitamin D3 metabolism on the production of inter-

- leukin -1,2 and 3. *Immunology* 170:256-269 (1985)
60. Morel, P.A.; Wegmann, D.R.; Provvedini, D.M.; Manolagas, S.C.; Chiller, J.M.: *Proc. Symp on leukemia* 1985.
61. Harri, J.; Senger, D.; Rashid, A.; Hyslup, D.; Green, L.; Goldstein, A.L.; *Immunodeficiency in chronic uremia: preliminary evidence for thymosin deficiency Transplantation* 20: 176-178(1975)
62. Cantrell, D and Smith, K.A (1983), *J.Exp. Med.* 158, 1895-1911
63. Dinarello, C.A.(1983) *Blood Purification* 1,197-224
64. Rubin, L.A., Kurman, C., Frytz, M.E., Biddisou, W.E., Boutin, B., yarchoan, R.and Nelson, D.L. (1985) *J. Immunol.* 135, 3172-3177
65. Lortan JE, Klepiela P, Coovadia M, et al: Suppressor cells assayed by numerical and functional tests in chronic renal failure. *Kidney Int* 1982; 22:192
66. Stanley C. Jordan, Mieko Toyoda, John Prehn, Jacques M.Lemire, Rebecca Sakai, John S.Adams: 1,25-Dihydroxyvitamin-D3 regulation of interleukin -2 and interleukin-2 receptor levels and gene expression in human Tcells (1989); *Mol Immunol* 26;10:979-984
67. Rigby, W.F.C; Stacy, T.; Fanger M.W.: Inhibition of T lymphocyte mitogenesis by 1.25-dihydroxyvitamin D3 (calcitriol), *J.clin Inuest* 74; 1451-1455 (1984)
68. T.M. Chalmers, J.O.Hunter, H.W.Davie, K.F. Szaz: 1-alpha-hydroxycholecalciferol as a substitute fur the kidney hormone 1.25-dihydroxycholecalciferol in chronic renal failure. *The*

Lancet, September 29, 696-699 (1973)

69. Brickman, A.S., Coburn, J.W. Norman, A.W. New Engl. J.Med.
1972, 278, 891
70. Maurice M.Pechet, M.D., Ph. D.Robert H.Hesse, Ph. D.: The
American Journal of Medicine, 57; 13-20 (1974) 8, 891



**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU,
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**