

Brusellozlu Hastalarda Serum Sitokin Düzeylerinin (Neopterin, interlökin-6, interlökin-12, ve interferon-gama) Tanısal Değeri

Hasan Karsen*, Hasan Irmak**, Mustafa Kasım Karahocagil***, Salih Cesur**, Yasemin Fidan****, Elmas Öğüş****, Mehmet Şeneş****, Doğan Yücel****

Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı, brusellozlu hastalarda tedavi öncesi, tedavi esnasında ve tedavi sonunda serum sitokin, (neopterin, interlökin -6 (IL-6), interlökin-12 (IL-12) ve interferon-gama (IFN- γ) düzeylerinin sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılarak tedavi izlemindeki tanısal değerinin belirlenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Brusellozlu hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda serum neopterin, IL-6, IL-12, ve IFN- γ düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlendi. İstatistiksel değerlendirmede SPSS programı kullanıldı. $P \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Çalışmaya brusellozlu 32 olgu (22 akut, 5 kronik, 5 subakut, 21 kadın, 11 erkek yaş ortalaması: 36.5) olgu ile 16 sağlıklı kontrol grubu (10 erkek, 6 kadın, yaş ortalaması:42.4) dahil edildi.

Brusellozlu hastalarda tedavi öncesi, tedavi ortası ve tedavi sonundaki serum neopterin, IL-12, IL-6 ve IFN- γ düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi. Serum neopterin düzeyleri hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi.

Sonuç: Serum sitokinlerinin tedavi izlemindeki ve prognozdeki önemini belirlenebilmesi için; serum sitokinlerinin yanısıra sitokin gen polimorfizminin de araştırıldığı, daha fazla sayıda olguyla yapılacak başka kontrollü çalışmalara gereksinim olduğu görüşüdeyiz.

Anahtar kelimeler: Bruselloz, sitokinler

Bruselloz ülkemizde endemik olarak görülen zoonotik enfeksiyonların başında gelmektedir. Bruselloz etkeni olan Brucella bakterisi intrasellüler yerleşimli, zoonotik bir enfeksiyon etkeni olup, multisistemik organ tutulumuna

neden olur (1). Hücre aracılıklı immün yanıt, intrasellüler yerleşim gösteren bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda önemli rol oynar. İntrasellüler patojenlere karşı koruyucu immünitede T hücresi alt grupları, makrofajlar ve bu hücrelerden salınan sitokinler ve sitokinlerle bu hücreler arasındaki etkileşim önemli rol oynar. Bruselloz enfeksiyonunda da hücrel immün yanıt, humoral immün yanıtın daha önemlidir (2). Neopterin aktif T lenfositlerden salınan interferon-gama (IFN- γ)'nin uyarımı sonucu monosit ve makrofajlardan sentezlenen bir sitokindir. Neopterin hücrel immünitenin duyarlı bir göstergesidir (3). İnterlökin-6 (IL-6), hem antiinflamatuvar hem de proinflamatuvar etkinliğe sahip bir sitokin olup, akut faz reaktanları (CRP, haptoglobulin vb.) sentezini artırır, B lenfosit farklılaşmasını uyarır, adezyon molekülleri sentezini uyarır. İnterlökin-12 (IL-12), proinflamatuvar bir sitokin olup,

(*) 14. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi (25-29 Mart 2009, Antalya)'nde poster olarak sunulmuştur.

*Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa.

**Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara.

*** Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Van.

****Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kliniği, Ankara.

Yazışma Adresi: Dr. Hasan KARSEN.

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji ABD. Şanlıurfa.

E-mail: hasankarsen@hotmail.com

Tel: 00904143183000

aktive mononükleer fagositler ve dendritik hücrelerden salınır. İntrasellüler patojenlere karşı immün yanıtta etkilidir. NK sitolitik etkisini artırır. T lenfosit ve NK hücrelerden IFN- γ salınımını artırır. IFN- γ ise, en önemli makrofaj uyarıcı sitokindir. NK, Th, Ts hücrelerce sentezlenir. Makrofajların fagositozunu artırır, Th1 farklılaşmasını uyarırken, Th2 proliferasyonunu önler (4-6). Bu çalışmanın amacı, brusellozlu hastalarda tedavi öncesi, tedavi esnasında ve tedavi sonunda serum sitokin düzeylerinin (neopterin, IL-6, IL-12 ve IFN- γ) sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılarak, tedavi izlemindeki tanısal değerinin belirlenmesidir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya brusellozlu 32 hasta ile 16 sağlıklı kontrol grubu dahil edildi. Çalışma için Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesinden Etik Kurul onayı alındı. Çalışmada neopterin (Biosource, Belgium), IL-6 (Biosource, Belgium), IL-12 (Biosource, Belgium) ve IFN- γ (Biosource, Belgium) ELISA kitleri kullanıldı. Hasta ve kontrol grubunda serum neopterin, IL-6, IL-12, ve IFN- γ düzeyleri ELISA yöntemiyle üretici firmanın önerilerine göre belirlendi. Veriler SPSS programına kaydedildi. İstatistiksel değerlendirmede Ki-kare testi kullanıldı. $P \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya alınan 32 brusellozlu hastanın 22'si akut, 5'i kronik, 5'i subakut bruselloz olgusu idi. Hastaların 21'i kadın, 11'i erkekti. Hasta grubunun yaş ortalaması 36.5 idi. Çalışmaya dahil edilen 16 sağlıklı kontrol grubunun 10'u erkek, 6'sı kadındı. Kontrol grubunun yaş ortalaması 42.4 idi. Brusellozlu hastalarda tedavi öncesi, tedavi ortası (tedavinin 3. haftası) ve tedavi sonundaki (tedavinin 6. haftası) serum neopterin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($p \geq 0.05$). Serum neopterin düzeyleri hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi ($p \leq 0.005$). Hasta ve kontrol grubunda tedavi öncesi, tedavi ortası ve tedavi sonu neopterin düzeylerinin ortalaması Tablo'da gösterildi.

Hasta grubunda neopterin düzeyleri kontrol grubundan daha yüksekti. Brusellozlu hastalarda tedavi öncesi, tedavi ortası ve tedavi sonundaki serum IL-6 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi. Serum IL-6 düzeyleri hasta ve kontrol grubunda da istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($p = 0.433$). Brusellozlu hastalarda tedavi öncesi, ortası ve sonundaki serum IL-12 düzeyleri

istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ($p = 0.886$). Serum IL-12 düzeylerinde hastalar ile

Tablo. Kontrol ve hasta grubunda tedavi öncesi, ortası ve sonrası neopterin düzeyleri

Hasta	Neopterin düzeyi (ng/ml) (Ortalama \pm standart sapma) deęer
Tedavi öncesi	3.062 \pm 1.66
Tedavi ortası	1.96 \pm 0.99
Tedavi sonu	2.67 \pm 2.03
Kontrol grubu	1.84 \pm 0.68

kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Ancak; hasta grubunda kontrol grubundan biraz yüksekti ($p = 0.158$). Brusellozlu hastalarda tedavi öncesi, tedavi ortası ve tedavi sonundaki IFN- γ düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p = 0.394$). Hastalar ve kontrol grubunda serum IFN- γ düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p = 0.997$).

Tartışma

Bruselloz Türkiye'de ve dünyada belirli bölgelerde endemik olarak görülen zoonotik bir enfeksiyondur. Bruselloz hastalığı etkeni, intrasellüler bir bakteri olan Brucella cinsi bakterilerdir (1). Bruselloz patogenezinde hücrel immün sistem ve humoral immün sistem rol alır. Bruselloz patogenezi, tedavi sonrası yanıt ve komplikasyonların izleminde sitokinler ve sitokin genleri polimorfizminin rolüne ilişkin çeşitli çalışmalar mevcuttur (2, 7-14). Die Ruiz ve ark. (7) yaptıkları çalışmada brusellozlu hastalarda serum IFN- γ ve neopterin düzeylerini sağlıklı kontrol grubundan anlamlı oranda yüksek bildirmişlerdir.

Ülkemizden Akbulut ve ark. (6) 30 brusellozlu ve 30 sağlıklı kontrol grubunda serum neopterin düzeylerini araştırmışlardır. Serum neopterin düzeyleri brusellozlu hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek saptanmıştır. Ahmed ve ark. (2) brusellozlu hastalarda serum IFN- γ ve IL-12 düzeylerini kontrol grubuna oranla anlamlı oranda yüksek bildirmişlerdir. Türkiye'den Refik ve ark. (8) brusellozlu hastalarda IL-6, IL-8 ve IL-2 düzeylerinin yüksek olduğu ve yüksekliğin hastalığın şiddeti ve klinik şekli ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada akut brusellozda sitokin düzeyleri subakut brusellozdan yüksek saptanmıştır. Daha

önceden sunduğumuz bir çalışmada serum neopterin düzeyleri ortalaması brusellozlu hastalarda (16 akut bruselloz, 4 kronik bruselloz) kontrol grubuna (20 sağlıklı gönüllü) göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek saptanmıştır. Ayrıca, hastalığın tedavisi ile neopterin seviyelerinde azalma olduğu belirlenmiştir (9).

Bravo ve ark. (10) İspanya'da yaptıkları çalışmada, 84 brusellozisli hasta ve 102 sağlıklı kontrol grubunda transforming growth faktör – beta 1 (TGF-beta1) ve IL-6 gen polimorfizmini araştırmışlardır. Bu çalışmada IL-6 gen polimorfizminde hasta ve kontrol grubu arasında fark saptamazken, TGF-beta1 gen polimorfizminde farklılık saptamışlar ve bunun brusellozise duyarlılık ve fokal form hastalık gelişimiyle ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Rasouli M ve ark. (11) İran'da 190 brusellozisli hasta ile 81 sağlıklı kontrol grubunda IL-10 gen polimorfizmini araştırmışlardır. Bu çalışmada IL-10 sitokin gen polimorfizminin brusellozise duyarlılık açısından genetik bir faktör olarak düşünülebileceği bildirilmiştir. Akbulut ve ark. (12) 35 brusellozlu hasta (28 akut brusellozis, 7 subakut brusellozis) ve 20 kontrol grubunda serum sitokin düzeylerinin tedavi esnasındaki ve tedavi sonrasındaki düzeylerini karşılaştırmışlardır. Çalışmada serum IL-6, IFN-gamma ve TNF- α düzeylerinin ortalaması brusellozlu hastalarda kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubunda IL-1beta, TGF-beta 1, IL-2, IL-4 ve IL-8 seviyeleri yönünden farklılık saptanmamıştır. Çalışmada, serum CRP düzeyi ile IFN-gamma, TNF- α ve IL-6 düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Serum IL-6, IFN-gamma ve TNF- α düzeyleri tedavi öncesi düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük saptanmıştır. Akut ve subakut hastalar arasında serum sitokin düzeyleri arasında farklılık saptanmamıştır.

Akut ve subakut brusellozlu hastalarda serum IL-6, IFN-gamma ve TNF- α düzeyleri yüksek olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, sitokin düzeylerinin etkili ve yeterli tedaviyle anlamlı oranda azalmasına rağmen, bu değişikliklerin hastalığın aktivitesi veya yayılımıyla paralel olmadığı bildirilmiştir. Rasouli M ve ark. (13) İran'da yaptıkları başka bir çalışmada brusellozlu hastalarda IL-4 ve IFN-gamma gen polimorfizmini araştırmışlardır. Bu çalışmada farklı IL-4 ve IFN-gamma gen polimorfizmi taşıyanların bruselloz infeksiyonuna daha dirençli oldukları bildirilmiştir.

Budak ve ark.(14) IL-6 ve IL-10 gen polimorfizmini brusellozlu hastalar ve kontrol grubunda araştırmışlardır.

Çalışmada IL-6 ve IL-10 gen polimorfizminin bruselloza duyarlılığı etkileyebileceği ve hastalık gelişmesi açısından artmış risk taşıdığı bildirilmiştir. Elde edilen bulguların biyolojik yansımalarının doğrulanabilmesi için geniş hasta gruplarında çalışmanın gerçekleştirilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Sunduğumuz çalışmada, brusellozlu hastalarda serum sitokinlerinden neopterin ve kısmen IL-12 düzeylerinin kontrol grubundan farklılık göstermesi bu belirteçlerin tanıda yararlı olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, çalışmamızda bu belirteçlerin tedavi izleminde kullanımına dair istatistiksel olarak anlamlı veri elde edilememiştir.

Serum sitokinlerinin tedavi izlemindeki ve prognozdeki öneminin belirlenebilmesi için; serum sitokinlerinin yanısıra sitokin gen polimorfizminin de araştırıldığı, daha fazla sayıda olguyla yapılacak başka kontrollü çalışmalara gereksinim olduğu görüşüdeyiz.

Teşekkür

Bu çalışmada kullanılan malzemeler TC Sağlık Bakanlığı Strateji Geliştirme Başkanlığınca proje desteği kapsamında temin edilmiştir.

Diagnostic Value of serum Cytokine levels (Neopterin, interleukin-6, interleukin-12 and interferon-gamma) in Treatment Follow Up Patients with Brucellosis

Abstract

Aim: The aim of this study was to establish the diagnostic value of serum cytokine levels (neopterin, interleukin-6 (IL-6), interleukin-12 (IL-12) and interferon-gamma (IFN- γ)) in treatment follow up patients with brucellosis by comparing pre-treatment, mid-treatment and post-treatment values with healthy control group.

Material and methods: Serum neopterin, IL-6, IL-12 and IFN- γ were measured by ELISA method. In statistical evaluation, SPSS program was used. $P \leq 0.05$ was accepted as statistically significant.

Results: Thirty-two cases with brucellosis (22 acute, 5 chronic, 5 subacute brucellosis cases, 21 female, 11 male, mean age: 36.5 years) and a control group of 16 healthy persons (10 male, 6 female, mean age: 42.4 years) were included in the study. There was no statistical significance between pre-treatment, mid-treatment and post-treatment values of serum neopterin, IL-6, IL-12 and IFN- γ in brucellosis

patients. Serum neopterin values showed statistically significance between patient and control group.

Conclusion: In order to establish the importance of serum cytokines in treatment follow up and prognosis in brucellosis, we are in the opinion that in addition to serum cytokine levels, other controlled studies with more subjects and investigation of cytokine gene polymorphism are needed to be accomplished.

Key words: *Brucellosis, cytokines*

Kaynaklar

1. Sözen TH. Bruselloz. In: Willke A, Doęanay M, Söyletir G (edi). İnfeksiyon Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002; s: 636-640.
2. Ahmed K, Al-Matrouk KA, Martinez G, et al Increased serum levels of interferon-gamma and interleukin-12 during human brucellosis. Am J Trop Med Hyg 1999; 61: 425-427.
3. Cesur S. Neopterin: a marker used for monitoring infections. Mikrobiyol Bul. 2005 ; 39 : 251-60.
4. Çelebi H, Özcan M, Arat M, et al Allojeneik kök hücre transplantasyonu sonrası Th1/ Th2 sitokinler ve solubl adezyon kuvvet molekülleri: kök hücre kaynağı ve dalteparin kullanımının etkileri. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2001; 54: 307-320.
5. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. Chest 2000; 118: 503-508.
6. Dinarello CA. Anti-cytokine therapies in response to systemic infection. J Investig Dermatol Symp Proc 200; 6: 244-250.
7. DieZ-Ruiz A, al-Amrani M, Weis G, et al. Increased interferon-gamma and neopterin concentrations in patients with acute brucellosis. J Infect Dis 1993; 167: 504-505.
8. Refik M, Mehmet N, Durmaz R, et al Cytokine profile and nitric oxide levels in sera from patients with brucellosis. Braz J Med Biol Res. 2004; 37: 1659-1663.
9. Irmak H, Cesur S, Bulut C, Akut ve kronik brusellozda serum neopterin düzeyleri. Serum neopterin levels in acute and chronic brucellosis. 12 th International Congress on Infectious Diseases, Lisbon, Portugal 2006; 57: 15-18.
10. Bravo MJ, Colmenero JD, Quepo-Ortuno MI, et al TGF-beta1 and IL-6 gene polymorphism in Spanish brucellosis patients. Cytokine 2008; 44:18-21.
11. Rasouli M, Kiany S, Behbin M. Interleukin-10 gene polymorphisms and susceptibility to brucellosis in Iranian patients. Iran J Immunol. 2008 ; 5 : 131-135.
12. Akbulut H, Celik İ, Akbulut A. Cytokine levels in patients with brucellosis and their relations with the treatment. Indian J Med Microbiol. 2007; 25: 387-390.
13. Rasouli M, Kiany S. Association of interferon-gamma and interleukin-4 gene polymorphisms with susceptibility to brucellosis in Iranian patients. Cytokine. 2007 ; 38: 49-53.
14. Budak F, Göral G, Heper Y, et al. IL-10 and IL gene polymorphisms as potential host susceptibility factors in brucellosis. Cytokine 2007; 38: 32-36.