

KRONİK HEPATİTLİLERDE SERUM SİTOKİN DÜZEYLERİ

İclal MERAM¹, Mehmet TARAKÇIOĞLU¹, Fatma SIRMATEL², Esin KARA¹, Mustafa B. ÇEKMEN¹,
Ramazan KOCABAŞ¹

SERUM LEVEL OF CYTOKINES IN CHRONIC HEPATITIS

Summary: Chronic hepatitis is a systemic and complex pathology with high prevalence. The aim of this study was to determine the role of cytokines in the pathogenesis of chronic hepatitis. Thirty three patients suffering from chronic hepatitis participated in this study and were compared with a control group. The levels of serum cytokines were measured by a chemiluminescence method. In patients with chronic hepatitis, serum tumor necrosis factor- α , interleukin-6, interleukin-8, interleukin-2R, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase were found significantly high ($p < 0.05$). In conclusion, results of this study suggests that cytokines which are important for inflammation and immunity also play a role in the pathogenesis of chronic hepatitis.

Key Words: Chronic hepatitis, cytokines

Özet: Kronik hepatit, sistemik, kompleks ve oldukça sık rastlanan bir patolojidir. Bu çalışma, kronik hepatitli hastalarda serum sitokin düzeylerinin önemli bir kriter olup olmadığını saptamak amacıyla yapılmıştır. Çalışmaya kronik hepatit tanısı konan 33 hasta dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak 30 sağlıklı kişiden elde edilen serumlar kullanılmıştır. Serum sitokin düzeyleri, kemiluminesans yöntemiyle çalışılmıştır. Kronik hepatitli olgularda serum tümör nekrozis faktör- α , interlökin 6, interlökin 8, interlökin 2R, alanin aminotransferaz ve aspartat aminotransferaz düzeyleri önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Sonuç olarak inflamasyon ve immünitede yeri olan sitokinlerin kronik hepatitin patogenezinde önemli rol oynadığı kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kronik hepatit, sitokinler.

GİRİŞ

Sitokinler; hücre sel büyüme, inflamasyon, immünite, doku onarımı ve hematopoez, gibi önemli biyolojik olaylarda rol oynayan, düşük molekül ağırlıklı, glikoproteinlerdir (1-3). Kararlı bir yapıya sahip olan sitokinlerin çoğunda disülfit bağları ve karbonhidrat yan zinciri bu moleküllere stabil, parçalanmaya karşı dirençli olma özelliği verir (1). Değişik sınıflamalar altında toplanan sitokinler kısa süreli sentez edilip, depolanmazlar. Üretimleri bir antijene yönelik bir aktivasyon olarak kısa ömürlü mRNA aracılığıyla yapılır (1-3).

Aktive T lenfositleri tarafından sentezlenip salınan sitokinlere lenfokin, aktive monosit ve

makrofajlardan salınanlara monokin ve lökositler arasında etkileşim yapan sitokinlere interlökin adı verilmiştir. Daha sonraları lökosit dışı hücrelerde de interlökin yapıldığı anlaşılmıştır (2).

Kronik hepatitler, alevlenmelerle seyreden, hücre sel ve hü moral cevap ile yakından ilgili olan sistemik, kompleks enfeksiyonlardır (4). Düzenli aralıklarla kontrolü ve devamlı tedavi edilmeleri gerekir. Enflamasyonla doğrudan ilişkisi olan sitokinlerden tümör nekrozis faktör- α (TNF α), interlökin-1B (IL-1B), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8) ve interlökin-2R (IL-2R) düzeyleri hastalığın seyri ile birlikte değişebilmektedir (3,5).

Bu nedenle; kronik hepatitli olgularda,

¹ Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

² Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı



sitokinlerin rolünü gözlemek ve takip hastalarında, sitokin düzeylerinin önemli bir kriter olup olmadığını, saptamak amacı ile çalışma yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma grubu; Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları bölümüne tedavi amacı ile gelen, kronik hepatitli hastalardan oluşturulmuştur.

Serolojik olarak HBV-DNA, HCV-RNA ve Alaninaminotransferaz (ALT) enziminin yüksekliği ile, yapılan biyopsi sonucu siroz olmayıp orta ve hafif aktiviteli kronik aktif hepatit tanısı kesinleşen hastalarda interferon tedavisi yapılmadan önce alınan kanlar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma grupları 18-55 yaşları arasındaki kronik hepatitli 33 hasta ile sağlıklı hiçbir yakınması olmayan ve biyokimyasal parametreleri normal, 31-65 yaşları arasında, gönüllü 30 kişiden oluşturulmuştur. Çalışmada, her iki gruptan alınan kanlardan elde edilen serumlar çalışma gününe kadar -70°C de saklanmıştır. ALT, aspartataminotransferaz (AST) ve bilirubinler aynı gün, sitokinler (IL-1B, IL-6, IL-8, IL-2R ve TNFa) ise en geç bir ay içinde çalışılmıştır. ALT, AST enzimatik ve bilirubinler kolorimetrik yöntemlerle otoanalizörde (Technicon) ölçülmüştür. Sitokinlerin ölçümünde, kemilüninesans yöntemi (Immulate hormon cihazı) kullanılmıştır.

Sonuçlar istatistiksel olarak, 'student t' testi ve korelasyon analizi yapılarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Serum sitokin düzeyleri ve karaciğer enzimleri, kronik hepatit tanısı konmuş hastalar ve sağlıklı kişilerden alınan kanlarından elde edilen serumlarda çalışılmıştır. Hasta ve kontrol grubu sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Sonuçlara göre TNF a, IL-6, IL-8, IL-2R, düzeyi hasta grupta yüksek olup, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Beklendiği gibi ALT ve AST düzeyleri de sağlıklı kişilere göre yüksektir ($p=0.001$). Yapılan korelasyon analizlerinde, hasta grubun IL-1B ile IL-6 düzeyleri

arasında negatif ($r=-0.62$, $p<0.05$), IL-1B ile ALT düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ($r=0.54$, $p<0.05$). TNFa ile IL-8 düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon ($r=0.73$, $p<0.05$), TNFa ile AST ve diğer sitokin düzeyleri arasında ise korelasyon bulunamamıştır ($p>0.05$).

Tablo 1. Hasta ve Kontrol Grubunda Çalşılan Parametreler

Çalışılan Parametreler (X±SD)	Kontrol Grubu (n:30)	Hasta Grubu (n:33)
TNFα (pg/ml)	7.55 ± 0.2	15.7 ± 6.0*
IL-1B (pg/ml)	4.99 ± 0	5 ± 1.4
IL-6 (pg/ml)	4.99 ± 0	9.3 ± 5.3*
IL-8 (pg/ml)	8 ± 4.3	123 ± 53*
IL-2R (Ü/ml)	642 ± 65	3146 ± 1347*
ALT (Ü/L)	17.2±5.5	59±42**
AST (Ü/L)	20.2±4.4 Ü/L	41±36**
T.BİL (mg/dl)	1.05±0.4	1.18±1.01

* $p<0.005$, ** $p=0.001$

TARTIŞMA

Sitokinler üzerindeki bilgilerin giderek genişlemesi bu mediyatörlerin enfeksiyon hastalıklarının birçoğunun patogeneğinde önemli yeri olduğunu göstermiştir. Enfeksiyon, karmaşık ve zorlu sitokin deşarjlarının tetiklendiği bir zeminde gelişir. Enfeksiyon hastalıklarının çoğunun patolojisinde lokal veya sistemik enflamatuar cevap temel patolojiyi oluşturur. Halen günümüzde, doku invazyonuna ve enfeksiyona karşı oluşan, sistemik cevabın nasıl regüle edildiği iyi anlaşılammıştır (2).

Enflamatuar hastalıklar sırasında, enflamasyonun yaygınlığı ve şiddeti ile, çeşitli mediyatörlerin (sitokinler, kompleman sistemi, araşidonik asit türevleri, çeşitli reaktif moleküller vb.) konsantrasyonu arasında genellikle bir paralellik bulunduğu kabul edilir (1-3,6,7).

Bazı virüslerin, konak hücrelerinin sentezlediği, immün regülasyonda önemli sitokin ve sitokin reseptörlerine ya yapısal ya da fonksiyonel benzerlik gösteren molekülleri sentezledikleri gösterilmiştir (2,3). Lenfotropik virüslerin sitokinlerin bir grubu

olan kemokinleri ve onların reseptörlerini kullanabildikleri gösterilmiştir. Hepatit B virüsü, karaciğerde akut faz cevabını tetikleyen önemli bir sitokin olan interlökin 6'ya yapısal olarak benzememesine rağmen spesifik olarak bağlamaktadır (2). Ayrıca IL-1 ve TNF ile IL-6 sinerjik etki göstermektedir (2). IL-1 ve TNFα birlikte enflamasyonun temel mediyatörü olarak kabul edilmektedir (2,8). IL-8 ise yalnızca nötrofiller için bir kemotaktik faktör olmayıp aynı zamanda enfeksiyon ve yaralanmalardaki enflamasyondan sorumlu bir mediyatördür (9).

Kronik hepatitli hastalarda yaptığımız çalışmada kontrol grubuna göre TNFα IL-6, IL-8 ve IL-2R serum düzeylerinde anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0.005$). Serum IL-1B düzeyi ise önemli değildir ($p>0.005$). IL-1B ile IL-6 düzeyleri arasındaki saptanan negatif korelasyonda IL-6 düzeyi artarken, IL-1B düzeyi azalmıştır. Sitokinler, hücre yüzeyinde yer alan spesifik reseptörlere yüksek affinite ile bağlanarak etki gösterirler (2). Bu bağlanma reseptör moleküllerde konformasyonel değişiklik yapar. Sitokin reseptörlerine bağlanarak sitokinlerin etkisini bloke eden reseptör antagonistleri vardır. IL-1 reseptör antagonisti (IL-1ra) bu tip moleküllerin en iyi bilinen örneğini oluşturur. Bu molekül IL-1 reseptörüne bağlanır. Böylece reseptör aracılığıyla sinyal transdüksiyonu önlediğinden IL-1 yapımı azalırken enflamasyona bağlı olarak diğer sitokin düzeylerinde (IL-4, IL-6, IL-10 ve IL-1ra) artış beklenir. Gelişen bu olayların sonucu olarak IL-6 düzeyi artarken IL-1B düzeyi azalmaktadır (2).

Fransa'da yapılan bir çalışmada IL-8 ve TNFα düzeyleri önemli bulunurken, İngiltere'deki bir çalışmada IL-6 ve TNFα düzeylerinde artış saptanmıştır(10,11). Taiwan'da yapılan bir çalışmada ise IL-1,IL-2R, IL-6 ve TNFα düzeyleri artmış olup önemli bulunmuştur (12). Hepatitli hastalar üzerinde yapılan çalışmalar bizim sonuçlarımızı desteklemektedir (10-15). Bilindiği gibi karaciğerin her türlü enflamasyonunda hastalığın

şiddeti ile ilgili olarak ALT ve AST düzeyi artmaktadır. Bu enzimlerle birlikte sitokinlerin büyük bir çoğunluğunun artışı muhtemelen karaciğerin enflamasyonuna bağlı olduğu düşünülebilir. Ayrıca IL-1in normal olup, ALT'nin yüksek oluşu kronik karaciğer hastalığı ile uyumludur. ALT düzeyi ile IL-6 düzeyi arasında, IL-8 ve TNFα düzeyleri arasında bulduğumuz pozitif korelasyon bunların doğrudan enflamasyonla bağlantılı olarak artmasını desteklemektedir.

Kronik viral hepatitli hastalardaki hepatik nekroza bağlı olarak T hücrelerinde hepatik infiltrasyon gözlenir (9). Karaciğerdeki akut faz proteinleri ve lökosit kemotaktik faktörlerin üretimi artan TNFα düzeyleri ile ilişkilidir. Kronik hepatitli hastalardaki TNFα düzeyindeki artış fulminan hepatik yetmezliğe gidişi düşündürmektedir (13). Bu süreci, TNFα'nın apoptozisi uyarması başlatabilir (2). Lökositler ve makrofajlar tarafından pekçok kronik hastalıkta doku infiltrasyonu oluşur (14,15).

Sonuç olarak; sitokinlerin çoğu lökositlerin hareketlerini açıkça kontrol edebilme kapasitesine sahiptir. Bu nedenle enflamasyonla doğrudan ilişkileri bulunan bu moleküllerin serum düzeyleri ölçülerek kronik hastalıkların pek çoğunun seyri ve tedavisine ışık tutulabilir.

KAYNAKLAR

1. Rosa, M.S., Bienvenu, J., Whichen, J. (1999) Cytokines, Ch 21. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry (3th ed). Burtis, C.A., Ashwood, E.D. (eds), p. 541-564, W.B. Saunders Co., Philadelphia.
2. Kılıçturgay, K. (1997) Immunoloji, s. 147-176, Nobel Tıp Kitapevleri, Bursa.
3. Roitt, I., Brostoff, J., Male, D. (1996) Cell Mediated Immune Reactions, 9. Chapter, Immunology, 4. th ed, p. 1-14, Mosby, London.
4. Lee, W.M. (1997) Hepatitis B Virus Infection. N Eng. J. Med. 337(24), 1734-1745.
5. Murphy, P.M. (1994) The molecular biology of leukocyte chemoattractant receptors. Annu. Rev. Immunol. 12, 593-633.
6. Altıntaş, A., Kantarcı, O., Siva, A. (1995) Multipl Sklerozda Sitokinlerin Rolü. Türk Nöroloji



- Dergisi. 4, 167-171.
7. Gerszden, E.R., Mach, F., Saulhy, A., Rosenzweig, A., Luster, A.D. (2000) Chemokines, Leukocytes and Atherosclerosis. *J. Lab. Clin. Med.* 136, 87-92.
 8. Beutler, B., Munford, R.S. (1996) Tumor necrosis factor and the Jarisch- Herxheimer reaction. *N. Engl. J. Med.* 335, 347-348.
 9. Masumatu, T., Ohkuba, K., Yamamoto, K., Ninomiya, T., Abe, M., Akbar, S.M.F., Michitaka, K., Horiike, N., Onji, M. (1998) Serum IL-8 Levels and Localization of IL-8 in Liver from Patients with Chronic Viral Hepatitis. *Hepatogastroenterology.* 45, 1630-1634.
 10. Neuman, G.M., Benhamou, J.P., Martinot, M., Boyer, N., Shear, N.H., Malkiewicz, I., Katz, G.G., Suneja, A., Singh, S., Marcellin, P. (1999) Predictors of Sustained Response to Alpha Interferon Therapy in Chronic Hepatitis C. *Clini Biochemi.* 32, 537-545.
 11. Marinos, G., Naoumov, N.V., Rossol, S., Torre, F., Wong, P.Y., Portmann, B., Williams, R., (1995) Tumor Necrosis Factor Receptors in Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection, Liver Pancreas and Biliary Tract. *Gastroenterology.* 108, 1453-1463.
 12. Huang, Y.S., Hwang, S.J., Chan, C.Y., Wu, J.C., Chao, Y., Chang, F.Y. (1999) Serum levels of cytokines in hepatitis C related liver disease: a longitudinal study. *Chung. Hua. Hsueh. Tsa. Chih. (Taipei)* Jun, 62 (6), 327-333.
 13. Andrew, D., Luster, M.D., Epstein, F.H. (1998) Chemokines-Chemotactic Cytokines that Mediate Inflammation. *N Eng. J. Med.* Feb, 12, 436-445.
 14. Luster, A.D., Rothenberg, M.E. (1997) Role of the monocyte chemoattractant protein and eotaxin subfamily of chemokines in allergic inflammation. *J. Leukoc. Biol.* 62, 620-633.
 15. Zylberberg, H.R., Pol, S., Masson, A. (1999) Soluble tumor necrosis factors in chronic hepatitis C: a correlation with histological fibrosis and activity. *J. Hepatol.* 30, 185-191.