

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

84273

AKTİF AKCİĞER TÜBERKÜLOZUNUN TANISI
VE TEDAVİYE YANITIN İZLENMESİNDE
İL-2R, İL-6 VE İL-8 DÜZEYLERİNİN DEĞERİ

DOKTORA TEZİ

Dr. Aynur ŞAHİN
Biyokimya Anabilim Dalı

84273

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÇİĞLİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

MALATYA-1999

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. TÜBERKÜLOZ ETKENİ MİKOBAKTERİUM TÜBERKÜLOZİS..	3
2.1.1. MİKOBAKTERİLERİN BOYANMASI	3
2.1.2. MİKOBAKTERİLERİN DİRENCİ.....	3
2.1.3. MİKOBAKTERİLERİN YAPISI.....	4
2.1.4. MİKOBAKTERİYEL ANTİJENLER.....	6
2.2. TÜBERKÜLOZ PATOGENEZİ.....	7
2.3. TÜBERKÜLOZDA İMMÜNİTE.....	9
2.4. TÜBERKÜLOZ TANI YÖNTEMLERİ.....	11
2.5. SİTOKİNLER.....	16
2.5.1. İNTERLÖKİN-2 RESEPTÖRÜ.....	17
2.5.2. İNTERLÖKİN-6.....	18
2.5.3. İNTERLÖKİN-8.....	19
2.6. SİTOKİNLER VE TÜBERKÜLOZ.....	20
3. MATERYAL VE METOD.....	23
3.1. ÇALIŞMA GRUBUNUN OLUŞTURULMASI.....	23
3.2. NUMUNE ALINMASI.....	24
3.3. İL-2R, İL-6 VE İL-8 ANALİZLERİ.....	24
3.4. İSTATİSTİK.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA.....	30
6. SONUÇ.....	37
7. ÖZET (Türkçe).....	38
8. ÖZET (İngilizce).....	40
9. KAYNAKLAR.....	42

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tüberküloz, günümüzde tüm dünyada büyük bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir ve gelişmiş ülkelerde son yıllarda yeniden artış göstermektedir. Yaklaşık olarak aktif tüberkülozlu hasta sayısı 30 milyon, her yıl yeni vaka sayısı 10 milyon ve tüberkülozdan ölüm sayısı 3 milyondur(1). Tüberkülozun sebep olduğu işgücü ve ekonomik kayıplar, ölümler dikkate alındığında bu probleme daha ciddi yaklaşmak gerektiği anlaşılmaktadır. Tüberkülozun sorun olmaya devam etmesinde tanıya geç ulaşılması ve tedavinin düzenli izlenmemesinin önemli rolü vardır.

Tüberküloz enfeksiyonu vücutta tüm dokularda görülebilmekte, ancak akciğer tüberkülozunun epidemiyolojik açıdan önemli bir yeri bulunmaktadır. Hastalık damlacık enfeksiyonu ile bulaşmakta ve hastalar tedavi edilmediği zaman enfekte kişilerin sayısı artmaktadır. Enfekte kişilerden %10'unun hayatlarının bir döneminde aktif akciğer tüberkülozu geliştireceği düşünülürse, hastalığın kontrol altına alınmasında hastalara zamanında tanı konmasının önemi anlaşılır(2,3,4,5).

Tüberküloz tanısında anamnez, fizik muayene, akciğer grafileri ve tüberkülin deri testi yardımcıdır(2,6). Hastalığın kesin tanısı, tüberküloz etkeni Mikobakterium tüberkülozisin hastadan alınan balgam veya diğer materyallerde mikroskopik olarak gösterilmesi veya kültürlerde üretilmesi ile konur(2). Aktif akciğer tüberkülozu şüpheli hastalarda, balgamın direkt incelemesi

her zaman sonuç vermemekte, kültür sonuçlarının beklenmesi ise tanıda gecikmeye yol açmaktadır(6,7). Tüberkülozlu çocuklarda ve akciğer dışı organ tüberkülozlarında muayene için materyal elde edilmesi oldukça güçtür(2,8,9).

Günümüzde akciğer ve akciğer dışı organ tüberkülozunun tanısında ve tedavinin değerlendirilmesinde kullanılmak üzere yeni tanı yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla çeşitli antijenlerle yapılan serolojik testler, adenozin deaminaz düzeyi ölçümü, radyometrik kültür yöntemleri, tüberkülostearik asit düzeyi ölçümü, nükleik asit problemleri, polimeraz zincir reaksiyonu gibi yöntemler kullanılmaya başlanmıştır(6,10,11).

Tüberkülozun patogenezinde T lenfosit aktivasyonunun önemli rolü olduğu ve T lenfositlerin çeşitli sitokinleri sentezlediği ve bunları salgılayarak özellikle makrofajlar olmak üzere mononükleer fagositik hücreleri aktive ettikleri bilinmektedir. Literatürde tüberküloz hastalarında interlökinlerin (İL) rolünü değerlendiren çok sayıda in vivo ve in vitro çalışma mevcuttur(12). Bununla birlikte aktif akciğer tüberkülozlu hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası interlökin-2 reseptörü (İL-2R), interlökin-6 (İL-6) ve interlökin-8 (İL-8) düzeylerini birlikte karşılaştıran çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı aktif akciğer tüberkülozlu hastalarda tanı sırasında ve altı aylık tedavi sonrası serum İL-2R, İL-6 ve İL-8 düzeyleri ölçülerek tanıda ve tedaviye yanıtın izlenmesinde İL'lerin değerinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TÜBERKÜLOZ ETKENİ MİKOBAKTERİUM TÜBERKÜLOZİS:

Mikobakteriler, basit bitkilere yakın Actinomycetales soyundan gelmektedir(2). Mikobakterium adı altında başlıca üç grup mikroorganizma mevcuttur. Bunların ilki, lepra etkeni olan M. leprae'dir. İkinci grupta M. tüberkülozis bulunur ki, insan tipi ve sığır tipi olarak iki mikroorganizma içerir. İnsanda akciğer lezyonlarına neden olan daha çok M. tüberkülozis humanis olmakla birlikte, sığır tipi de insanda hastalık yapma özelliğine sahiptir(2,13).

2.1.1. MİKOBAKTERİLERİN BOYANMASI:

Mikobakteriler gram veya basit boya yöntemleri ile kolay boyanmazlar. Hücre duvarının yüksek lipid içeriği, boyanın penetrasyonuna direnç oluşturur. Normal koşullarda gram boyasında mikobakteriler, çok az mavi boya alır, alkol veya asetonla renk kaybolmaz ve bu özellikleri nedeniyle grampozitif olarak tarif edilmişlerdir. Ancak hücre duvarı lipid içeriği ve antibiyotik direnci bakımından gram negatif bakterilere benzetenler de vardır. Basilleri gram nötr olarak tanımlayanlar da mevcuttur(13).

2.1.2. MİKOBAKTERİLERİN DİRENCİ:

Tüberkülozun yaygınlaşmasında mikobakterilerin çevre şartlarına dayanıklı olması ve bu nedenle bulaşıcılığını uzun süre koruyabilmesi önemli rol oynar. Mikobakteriler

ısıya duyarlıdır. Pastörizasyonla 20 dakikada tahrip olurlar. Balgamın dekontaminasyonunda kullanılan asit, alkali ve kimyasal dezenfektanlara dirençlidir. Balgam %5 fenol ile 24 saatte dezenfekte edilir. Kuruluğa haftalarca dayanır. Kültür besi yerlerinde 2-8 ay canlı kalabilirler. Kültürler direkt güneş ışığına maruz bırakıldığı zaman 2 saatte ölürlür. Basil içeren balgamın 20-30 saat güneş ışığına maruz bırakılması gerekir. Mikobakteriler direkt güneş ışığından korunduğu zaman, pütrifiye balgamda birkaç hafta, kuru balgamda 6-8 ay canlı kalabilir. Kuru balgam, toz partiküllerinde havada 8-10 gün bulaşıcı olabilir(13).

2.1.3. MİKOBAKTERİLERİN YAPISI:

Mikobakterilerin dayanıklılığı yapısal özelliklerinden dolaydır. Mikobakteriler lipidden zengin bir hücre duvarına sahiptir. Sitoplazmada bir nükleer cisim içinde sıkıca katlanmış, nükleer bir membranla çevrili olmayan tek bir kromozom vardır. Bazı mikobakterilerin sitoplazmasında plazmid veya epizom olarak adlandırılan küçük DNA parçaları bulunur(14).

Mikobakteri hücre duvarı diğer bakterilerin hücre duvarı ile karşılaştırıldığında sadece daha kalın değil, aynı zamanda olağanüstü lipofilik özellik gösteren tek örnektir. Hücre duvarı, mikobakterilerin en karmaşık kısmını oluşturur. Lipidler hücre duvar kalınlığının %60'ını oluştururlar ve çok farklı bileşikleri içerirler. Bu bileşiklerin bir kısmı diğer mikroorganizmalarda da

bulunur, bir kısmı ise sadece mikobakterilere özgüdür. Tüberkülozlu hastalar ve diğer mikobakteri enfeksiyonlarında güçlü antikor cevabı, mikobakteri hücre duvarının kompleks kimyasal yapısı ile ilgilidir. Tüberküloz ile ilgili koruyucu immünite, immüniteye dahil olan bütün antijenler, kazeifikasyon ve kazeifikasyon nekrozuna neden olan faktörler, toksik ajanlar gibi birçok antijenler hücre duvarı içinde bulunurlar(2,14).

Hücre duvarında plazma membranının üstünde bulunan en iç tabaka peptidoglikandan oluşmuştur. Bu tabaka kısa peptid zincirleri ile çapraz bağlı, uzun polisakkarit zincirleri içerir. Polisakkarit zincirler, birbirini izleyen, N-asetil glukozamin ve N-asetil muramik asit, çapraz bağlı peptid zincirler ise dört amino asitten oluşmuştur(14,15). Peptidoglikanlara bitişik tabaka arabinogalaktan tabakasıdır, mikobakteri hücre duvar kitlesinin %35'ini oluşturur. Arabinogalaktan, arabinoz ve galaktozdan oluşan dallı bir polisakkarittir. Peptidoglikana fosfodiester köprüleri ile bağlıdır. Arabino-galaktanların yan zincirlerindeki uç arabinaz birimlerine, mikolik asit diye adlandırılan, bir grup uzun zincirli yağ asitleri kovalan bağlarla bağlanırlar. Bu asitler, hücre duvarının kalınlığından ve büyük oranda da hücrenin aside dirençli oluşundan sorumludurlar(13,14).

2.1.4. MİKOBAKTERİYEL ANTİJENLER:

Mikobakteriler antijenik özellikte pek çok proteinleri, lipidleri ve polisakkaritleri içerirler. Antijenik yapıların sayısı tam olarak bilinmemektedir. Antijenik yapılar sitoplazmada ve hücre duvarında lipidlere bağlı bulunurlar(14). Mikobakteriyel antijenik yapıların bazıları immün sisteme baskılayıcı işlev görürken, diğerleri granülom oluşumuna yol açma, makrofajları aktive etme, konakçı toksisitesi oluşturma ve adjuvan aktivite gösterme gibi işlevlerde bulunmaktadır.

Seibert 1928'de hücre ekstraktlarında dört ayrı protein ve iki ayrı polisakkaridi tanımlamıştır(14,16). Daniel ve Afronti, mikobakteriyel kültür filtratlarında Seibert tarafından tanımlanan fraksiyonların antijenik içeriğini immünelektroforetik yöntemlerle araştırmışlardır(14). Janicki ve arkadaşları 1971'de M. tüberkülozis antijenleri için bir referans sistemi oluşturmuşlardır(17). Bu referans sisteminde antijen 1 ve 2, D-arabinomannan ve D-arabinogalaktandır. Bu antijenik polisakkaridler mikobakterilerin çoğunluğunda bulunurlar. Antijen 3'ün, ilk kez Seibert tarafından tanımlanan yüksek molekül ağırlıklı glukan olduğu bilinmektedir(18).

Antijen 5, ısıtılmamış kültür filtratlarından, immünoabsorban afinite kromatografi yöntemi ile elde edilmiş, 28000-35000 Dalton ağırlığında, antijenik bir proteindir. Aminoasit analizinde aspartik asitten zengin oluşu, sitoplazmik orijinli olduğunu düşündürmektedir(19).

Antijen 60 ise old tüberkulin veya purified protein derivatives'in (PPD) başlıca termostabil antijenidir(20,21). Majör termostabil antijenler ailesine ait olan antijen 60, yalnız mikobakterium cinsinden olan mikroorganizmalarda değil, bu cinsle ilişkili korinebakterium ve nokardia cinsinde de mevcuttur(20,21).

2.2. TÜBERKÜLOZUN PATOGENEZİ:

Tüberküloz, küçük kitle veya nodül anlamındaki tüberkül kelimesinden türetilmiş bir terimdir. Başlangıç enfeksiyonundan ilerlemiş hastalığa kadar belirgin akciğer hastalığı ve granülomatöz yanıt, uzun dönemi de içine alan doku inflamasyonu ve hasarı ile karakterizedir(2,22).

Tüberkülozun doğal gidişi ve klinik görünümü konağın savunması ile yakın ilişkilidir. M. tüberkülozis damlacık çekirdeği ile taşınır ve basil konağa hemen daima akciğer yoluyla ulaşmaktadır. Damlacık çekirdeği, akciğer tüberkülozlu hastaların konuşma, öksürme ve aksırmaları ile oluşur. Yine lezyonların manipülasyonu ve doku veya sekresyonların hastane veya laboratuarlarda işleme tabi tutulmaları sırasında da oluşabilir. Damlacık çekirdekleri 1-5 mikron çapındadır ve inhalasyondan sonra basiller bir respiratuar bronşiol veya alveol içinde yerleşirler(2). Burada makrofajlar tarafından fagosite edilen basilin akciğerlerde enfeksiyon oluşturması, bakterinin virulansına olduğu kadar, bakteriyi içine alan alveoler makrofajın mikrobisidal yeteneğine de bağlıdır. Eğer basil ilk

savunmaya rağmen canlı kalabilirse, alveoler makrofajlar içinde çoğalır. Daha sonra lenfatik kanallar aracılığıyla bölgesel lenf düğümlerine taşınır. Basiller bölgesel lenf düğümlerinden lenfohematojen yayılım ile sistemik dolaşıma karışarak vücudun bütün organ ve dokularına yayılırlar(2,22). Bazı organ ve dokular basilin çoğalmasına direnç gösterirken, akciğer apeksleri, böbrekler, kemik ve beyin basillerin üremesi için uygun ortam oluştururlar(3). Basillerin inhale edilişinden 4-6 hafta sonra gelişen hücresel immünite çoğu kez basilin daha fazla çoğalmasını önler. Hücresel immünite bir kez geliştikten sonra aktif T lenfositler ve makrofajlar, tüberküloz basilini çevreleyerek granülom oluşturacak şekilde toplanmaktadırlar. Granülomatöz inflamasyon, T lenfositlerin ve makrofajların değişik aktivasyon dönemlerinde toplanması ile oluşan gevşek, organize bir lezyonun meydana getirdiği nonspesifik konak yanıtıdır. Basiller granülom ortasına yerleşir ve nekrozlaşır. Monositlerin oluşturduğu doku makrofajları, daha sonra epiteloid hücreler ve çok nükleuslu dev hücrelere dönüşmektedir. Akciğerin içindeki ve drene olduğu lenf bezlerindeki granülom, primer kompleks veya Gohn kompleksi olarak bilinmektedir. Bu dönemde, konak asemptomatik olup, enfeksiyonun tek kanıtı, PPD deri testinin pozitifleşmesidir. Hücresel immüntenin tüberküloz enfeksiyonunu kontrol altında tutamadığı durumda enfeksiyonu alan şahısta aktif hastalık gelişebilir. Aktif

hastalığın ortaya çıkması konağın savunması ile bakteri virulansı arasındaki bir denge sonucudur ve hastalığın devamı ile ortaya çıkmaktadır. Bu devamlılık bir milier tüberküloz, başlangıç tüberkülozu, reaktivasyon tüberkülozu veya ekstrapulmoner tüberküloz olarak görülebilir(2,22).

2.3. TÜBERKÜLOZDA İMMÜNİTE:

Konağın tüberküloz enfeksiyonunu kontrol yeteneği etkin bir hücrel cevap oluşmasına bağlıdır. Hücrel immünite, T lenfositlerin spesifik antijeni tanıdıktan sonra duyarlaşması ve daha sonra makrofaj fonksiyonunu harekete geçirerek mediatörleri salgılaması ile gelişmektedir. Böylece, hücrel immünitenin özgüllüğü makrofajlara değil, öncelikle T lenfositlere bağlıdır(3).

Tüberküloz basili ile enfeksiyondan hemen sonra akciğerlerde vazodilatasyon, ödem, fibrinöz eksuda, polimorf nükleer hücreler, lenfosit ve monositlerin oluşturduğu lökositlerin sızması ile karakteristik inflamatuvar veya eksudatif yanıt oluşabilir. Bu devrede henüz hücrel immünite gelişmemiş olduğundan basiller üremeye devam ederler(23).

Etkin bir hücrel immünitenin gelişmesi için, T hücrelere sunulmak üzere antijenlerin işlenmesi makrofajların önemli bir fonksiyonudur. Bu işlem makrofajın endozomal kompartmanında gerçekleşir. Burada antijen, majör histokompatibilite (MHK) Klas II molekülleri ile birleştikten sonra makrofaj yüzeyinde ortaya çıkar ve

mikobakteriyel immünyetede dominant olan CD4 T lenfositlerin aktivasyonunu sağlar(23).

Deney hayvanlarında makrofajın sunduğu antijen ile aktive olan CD4 T lenfositler iki subgruba ayrılmıştır. T helper 1 sub grubunun interferon- γ , İL-2, tümör nekrozis faktör- β ürettiği, T helper 2 lenfositlerin ise İL-4, İL-5, ve İL-10'u salgıladığı gözlenmiştir(23,24). İnsanlarda da CD4 T lenfositlerin subgrupları tanımlanmıştır, ancak her sub grubun lenfokin repertuarı kesin olarak bilinmemektedir. T lenfositlerin değişik yeteneğe sahip subpopülasyonlarının bulunması, farklı bireylerde hücreyel immünyete ve gecikmiş tipte hipersensitivite arasındaki dengenin, T lenfosit subgruplarının farklı derecelerde aktivasyonu ile ilgili olabileceği ihtimalini akla getirmektedir (23).

Makrofaj stoplazmasına alınan antijenler MHK Klas I molekülleri ile de birleşebilirler ki, bu antijen kompleksi CD8 T lenfositleri uyarmaktadır. Aktif CD8 T lenfositlerin, fagosite ettikleri bakteriyi öldüremeyen makrofajlardan bakterinin salınımını kolaylaştırdıkları, böylece etkin olmayan makrofajlardan salınan bakterilerin daha etkin hücreler tarafından fagosite edilmelerine yardımcı oldukları düşünölmüştür(23).

Deneyyel çalışmalarda CD4 veya CD8 lenfositlerden yoksun bırakılan farelerin, enfeksiyonu kontrol yeteneklerini kaybettikleri ve basil sayılarının giderek arttığı gözlenmiştir(23,25). Sonuç olarak, hem CD4, hem de

CD8 T lenfosit subgruplarının tüberküloz basiline karşı savunmada önemli rol oynadıkları düşünülmektedir.

2.4. TÜBERKÜLOZ TANI YÖNTEMLERİ:

Tüberküloz tanısında en önemli adım **klirik** olarak hastalıktan kuşulanmaktır. Hastada öksürük, ateş, gece terlemesi, kilo kaybı, halsizlik ve hemoptizi gibi şikayetlerin olması, tüberkülozu düşündüren belirtiler olmakla beraber bunların hiçbiri tüberküloza özgü değildir (6).

Tüberkülozun kesin tanısı muayene materyallerinde tüberküloz basiline gösterilmesi veya **kültür**lerde üretilmesi ile konur(26). Ancak tanıya yardımcı başka testler de vardır.

Radyolojik inceleme olarak mikrofilm ve standart radyogram yaygın olarak kullanılmaktadır.

Mikrofilm: Tüberkülozun kitlesel taramaları için uygun bir radyolojik metoddur. Normal grafilere göre daha kontrastlı bir imaj verir, küçük dansitelerin gözden kaçabilmesi gibi bir dezavantajı vardır(4).

Standart radyogram: Akciğer tüberkülozundan kuşulanılan kişilerde standart PA ve lateral grafilere çekilir. Apikolordotik veya oblik grafilere de lezyonları gözlemede yardımcı olabilir(3). Mediastinal veya hiler lenfadenopati, apekslerde infiltrasyon ve kalsifikasyonlar akciğer tüberkülozu bulguları olarak değerlendirilir(22,27,28,29). Primer ve postprimer

tüberkülozlu hastaların radyolojileri oldukça farklı özellikler taşır(30). Ancak radyolojinin aktif akciğer tüberkülozu tanısında sensitivitesi yüksek, buna karşılık spesifitesi düşüktür, yani aslında tüberküloza ait olmayan lezyonlar tüberküloza aitmiş gibi yorumlanabilir. Tüberküloz hastalığı, pnömokonyoz, pnömoni, bronşektazi, sarkoidoz, akciğer absesi, akciğer kanserleri ve fungal enfeksiyonlar gibi pek çok hastalığı taklit edebilmektedir(3,31,32,33).

Tüberkülin deri testi (PPD testi) M. tüberkülozis enfeksiyonunu göstermeye yarayan bir methoddur. Standardize edilmiş bir tüberkülin solüsyonundan 0.1 ml'nin (5 tüberkülin ünitesi) ön kola intradermal olarak uygulanarak 48-72 saat sonra, lokal immünolojik reaksiyon neticesinde oluşan endurasyonun çapının ölçülmesidir. Beş milimetreden küçük çaplı endurasyon negatif, 5-10 mm'lik endurasyon şüpheli reaksiyon, 10 mm'den büyük çaptaki endurasyon ise pozitif reaksiyon olarak yorumlanır. Bazı olgularda endurasyon ve eritem karışabilir; 48 saat devam eden eritemin genellikle pozitif testi gösterdiği kabul edilir(2,4).

Tüberkülin testi enfekte olmayan kişileri sensitize etmez, fakat daha önceden oluşan ve sonradan azalan hipersensitiviteyi restimule edip artırabilir. Bu etki "Booster fenomeni" olarak tanımlanır(2,3). Palmer ve arkadaşları kuvvetli PPD pozitif reaksiyon gösteren popülasyonlarla zayıf PPD reaksiyonu gösteren

popülasyonların coğrafik dağılımlarının farklı olduğunu göstermişlerdir. Bu dağılımda tüberküloz dışı mikobakteriyel enfeksiyon endemilerinin önemli rol oynadığı kabul edilmektedir(34). PPD'ye karşı yalancı negatif reaksiyonlar PPD solüsyonu hazırlama, yapım ve okuma hatalarına, şiddetli tüberküloz enfeksiyonuna, tüberküloz plöreziye, birlikte olan viral ve bakteriyel hastalıklara, metabolik bozukluklara ve kullanılan ilaçlara bağlı olarak gözlenebilir. Yeni doğan ve yaşlılarda da yalancı negatif sonuçlar görülebilir(2,4,22).

Tüberkülin reaksiyonunun pozitif oluşu hastalık anlamına gelmemektedir. Vücutta canlı basil bulunduğu sürece, aktif hastalık olsun veya olmasın reaksiyon pozitif kalır. Kısaca PPD deri testi, aktif veya geçirilmiş enfeksiyon arasında ayırım yapamamaktadır(2,3,22).

Sıvı ve sekresyonların analizi de tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır. Tüberkülozun özellikle ekstrapulmoner formları, normal vücut sıvılarında değişikliklere ve efüzyon oluşumuna yol açabilir. Bu sıvıların analizi tanıda yol gösterici olabilir(11).

Bakteriyolojik inceleme olarak direkt mikroskopik incelemede aside dirençli bakteri (ARB) gösterilmesi en hızlı ve ucuz tanı yöntemleridir. Yapılan değişik çalışmalarda akciğer tüberküloz hastalarında ARB gösterilme oranı %50-80 arasında değişmektedir. Akciğer tüberkülozu ve akciğer dışı tüberküloz hastalığının kesin tanısı bakteriyolojik incelemelerle; M. tüberkülozisin muayene

materyallerinde gösterilmesi ile konur(22). Balgam, biyopsi doku örnekleri, idrar, BOS ve serozal sıvı örneklerinden hazırlanan yaymalarda ARB pozitif olması kısa sürede tanı koydurması yönünden önemlidir (7,22,26). **Mikobakteri kültürü** mikroskopiden daha duyarlıdır. Tam olarak tür tayini için kültür yapmak gereklidir. Tüberküloz için kültürler Löwenstein-Jensen veya Midlebrook 7H-11 vasatında 20-40 mmHg'lik CO₂ ile inkübe edilerek yapılır. Kültür sonucu için 3-6 hafta geçmesi gerekmektedir(2,3,22,26,29,35,36).

Biyopsi ise hem jeneralize, hem de organ tüberkülozu tanısında önemlidir. Tutulum olduğu düşünülen organdan alınan biyopsilerin histopatolojik incelenmesi ile tanıya varılabilir. Biyopsilerde kazeifiye granülomların varlığı endemik fungal enfeksiyonların çok nadir görüldüğü yerlerde tüberküloz için diagnostik olarak kabul edilir(28,29,35,37).

Nükleik asit probları kullanarak yapılan değişik rekombinant DNA teknikleri ve bunu izleyen ayrıntılı genomik incelemeler, ölçülebilir büyüklükte, saf DNA parçalarının veya bazı mikroorganizmalar için özgül olan nükleotid sıralarının elde edilebilmesine olanak sağlamıştır. M. tüberkülozis için de özgül olan nükleotid sıraları belirlenmiş ve bu mikroorganizmalardan elde edilmiştir. Elde edilen bu DNA parçası, tüberkülozlu bir hastadan alınan örnekteki hedef basil DNA'sını özgül olarak saptamada bir prob olarak kullanılabilir. DNA probu, hedef

DNA ile birleşir ve bu olaya hibridizasyon denir. Probonun belirlenmesine olanak sağlamak için ise, radyoaktif veya nonradyoaktif işaret eklenir. Probonun, klinik örnekteki DNA ile hibridize olursa, bağlı işaret ölçülerek, mikroorganizmanın bulunduğu sonucuna varılır. Bu problemlerle tanı konulabilmesi için, 10^5-10^8 basil gereklidir. Bu nedenle klinik örneklerde, yeterli sonuç alınamaz; çoğalmakta olan kültürlerde kullanımı anlamlıdır (1,11,22,38).

DNA problemlerine alternatif bir yaklaşım olan RNA problemleri, bir mikroorganizma için binlerce hedef bulabileceğinden, yöntemin sensitivitesi bu problemlerle daha yüksektir(11).

Gelişmekte olan ülkelerde, yöntemin pahalı oluşu nedeniyle kullanımı kısıtlıdır, ancak, radyoizotop yerine biyotinle işaretlenmiş problemlerin kullanımı ile yöntemin daha yaygın kullanımı mümkün olabilecektir(38).

Polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction-PCR) spesifik DNA dizilerinin, bir primer aracılığıyla yönlendirilen in vitro enzimatik amplifikasyonu yöntemidir(22). İlk kez, 1989 yılında tanımlanan bu teknikte, birkaç saat içinde, spesifik hedef DNA dizisinin bir milyondan fazla kopyası elde edilir(6,39).

Değişik klinik örneklerin kullanıldığı bir çok çalışmada PCR, tüberküloz tanısı için duyarlı ve özgül bir yöntem olarak bildirilmektedir(1,40). Ayrıca PCR'ın ilaç

direncini belirlemede kullanılabileceğini düşündüren çalışmalar da mevcuttur(11,41).

2.5. SİTOKİNLER:

İmmün sistem hücreleri arasındaki etkileşimlerin çoğu sitokin olarak adlandırılan solubıl mediatörler tarafından kontrol edilir. Sitokinler, hücreler arası etkileşim ile sadece lokal veya sistemik inflamatuvar cevabı regüle eden proteinler değil, aynı zamanda yara iyileşmesi, hematopoiez ve diğer birçok biyolojik olaylarda rol alırlar(42,43). Günümüze kadar yapısal olarak birbirinden farklı 100'ün üzerinde sitokin tanımlanmıştır. Bunların çoğu molekül ağırlığı 6000 ile 60000 arasında değişen peptid veya glikoproteinlerdir. Hedef hücrelerde spesifik yüzey reseptörlerine bağlanarak 10^{-9} - 10^{-15} konsantrasyonlarda etkili olabilen çok potent bileşiklerdir. Endokrin hormonların aksine özel bezlerde değil, birçok hücre ve dokularda üretilirler(43).

Lenfositlerde üretilen sitokinler lenfokin, monosit veya makrofajlarda üretilenler monokin olarak isimlendirilir. Normalde sadece birkaç sitokin, (transformig growth factor β , eritropoietin, stem cell factor, monocyte colony stimulating factor gibi) kanda tayin edilebilir düzeyde bulunur ve uzak hedef hücrelere etkili olurlar. Diğer sitokinlerin çoğu lokal, parakrin (komşu bitişik hücrelerde) veya otokrin (üretildiği hücrede) etki gösterirler(43).

Her bir sitokin değişik uyaranlara cevap olarak belirli hücrelerde salgılanır ve hedef hücrelerin büyüme, motilite, diferansiasyon veya fonksiyonlarında etkili olurlar. Bir sitokinin salgılanması, başka sitokin veya mediatörlerin salgılanmasını indükleyerek biyolojik etkilerini gösterebilir. Sitokinlerin nomenklaturünde bazıları yapısal benzerlikleri nedeniyle interlökin (İL) olarak isimlendirilir ve rakamlarla ifade edilir(42,43).

2.5.1. INTERLÖKİN-2 RESEPTÖRÜ (İL-2R) :

İL-2 biyolojik etkilerini spesifik membran reseptörleri aracılığı ile gösterir. İstirahat halindeki T hücreleri İL-2R bulundurmaz. Ancak antijen ya da mitojenlerle aktivasyonun hemen ardından T hücreleri üzerinde İL-2R ortaya çıkar. İL-2R immün cevabın regülasyonunda önemli rol oynar. İL-2'nin T lenfosit yüzeyindeki reseptörüne bağlanması istirahat halindeki hücrenin aktivasyonu ve sonuçta helper, supressor ve sitotoksik hücrelerin gelişeceği T hücre proliferasyonu ile sonuçlanan birçok intra-sellüler olayı başlatır(42,43,44,45,46).

İL-2 reseptörü en az üç farklı membran komponentinden oluşur. Bunlar alfa zincir, beta zincir ve gamma zincirdir. Bu üç komponentin değişik kombinasyonları İL-2'ye değişik bağlanma affinitesi gösteren farklı İL-2 reseptör formları oluşturur(42,43).

İstirahatteki T hücreler, B hücreler, büyük granüler lenfositler ve monositler yüzeylerinde anlamlı sayıda

reseptör eksprese etmezler. Aktive olduklarında hücre yüzeyinde reseptör molekülleri eksprese olur ve solubıl İL-2R salgılanır. Bu solubıl İL-2R'nin sağlıklı bireylerin serumunda düşük seviyede, neoplastik hastalıklar ve otoimmün bozuklukları da içine alan birçok hastalıkta belirgin düzeyde yüksek bulunduğu gösterilmiştir. Böylece İL-2R'nin immün aktivasyonu ilgilendiren birçok hastalıkta tanı ve tedavinin değerlendirilebilmesinde marker olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür(42,43).

2.5.2. İNTERLÖKİN-6 (İL-6):

İL-6 birçok biyolojik olaylarda etkili bir immün sistem mediatörüdür. Aynı zamanda B hücre stimulan faktör 2 (BSF-2), hibridoma growth faktör (HGF), hepatosit stimulator faktör (HSF) ve T lenfosit sitolitik diferansiasyon faktörü (CDF) olarak da bilinmektedir(44,45,46).

İL-6 geni insan 7. kromozomundadır. İL-6 cDNA 212 amino asitten oluşan polipeptidi kodlar. Bu protein 184 amino asitten oluşan matür protein ayrılır. 73 ve 172 pozisyonlarındaki farklı derecede glikozilasyon ve fosforilasyona bağlı olarak İL-6 22000 ile 30000 kDa arasında değişen molekül ağırlığına sahiptir(43). Monosit-makrofajlar, fibroblastlar, endotelyal hücreler, keratinositler, mast hücreleri ve T hücreleri İL-6 salgılayabilir. İL-6, B hücreler için diferansiasyon faktörü, T hücreler için aktivasyon faktörü olarak hareket eder(44,45,46). İL-6, T lenfositler üzerine mitojenik

etkisini kısmen İL-2R ekspresyonunu artırarak göstermektedir(43). Sepsis, otoimmün hastalıklar, lenfoma, AIDS, alkolik karaciğer hastalığı ve enfeksiyon hastalıklarında İL-6'nın serum veya plazma düzeylerinin arttığı gösterilmiştir(42,43).

2.5.3. İNTERLÖKİN-8 (İL-8):

İL-8 molekül ağırlığı 8000, nonglikosile bir proteindir. Önemli biyokimyasal fonksiyonlarından biri nötrofiller için kemoatraktan olmasıdır. Bu özelliği nedeniyle daha önce nötrofil aktive edici protein (NAP-1), nötrofil aktive edici faktör (NAF) ve monosit derive nötrofil kemotaktik faktör (MDNCF) olarak da isimlendirilmiştir(47). İL-8 ilk olarak monositlerden pürifiye edilmiş ve proteinin majör kaynağı olarak bu hücreler olduğuna inanılmıştır(48,49). Daha sonra endotelial hücreler, epitelyal hücreler, hepatositler, fibroblastlar ve kondrositlerin de İL-8 ürettiği gösterilmiştir(50,51). Bu hücrelerin proteini salgılaması LPS, İL-1, TNF, viruslar ve urat kristalleri gibi birçok etken ile stimule edilebilir(52).

İL-8 proinflamatuvar sitokinler olarak isimlendirilen, molekül ağırlığı 8000-16000 arasında değişen küçük proteinlerden oluşan kemokin ailesinin üyesidir. Kemoatraktan fonksiyonları yanında bu proteinlerin üyeleri amino asit dizisi ve dört sistein motifi baz alınarak %20-50 benzerlik gösterirler(42,43).

Biyolojik özelliklerinden dolayı İL-8 birçok inflamatuvar olayda önemli rol oynar. Psöriasis, kistik fibrosis, idiopatik pulmoner fibrosis ve romatoid artrit gibi birçok hastalıkta İL-8 düzeyinin arttığı gösterilmiştir (42, 43, 44, 45, 46).

2.6. SİTOKİNLER VE TÜBERKÜLOZ:

Tüberküloz enfeksiyonu hemen daima 1-3 adet mikroorganizma içeren damlacık çekirdeğinin inhalasyonu ile başlar. Damlacık çekirdeğinin hava akımıyla terminal alveollere ulaşmasından sonra tüberküloz basilleri nonspesifik olarak alveoler makrofajlar tarafından fagosite edilir. Burada basiller çoğalmaya devam eder ve alveoler makrofaj parçalanarak ortaya çıkan basiller diğer makrofajlar tarafından fagosite edilir. Daha sonra T lenfositler tarafından salgılanan sitokinlerin etkisiyle makrofajlar aktive olarak mikobakterileri öldürebilir veya bölünmelerini inhibe edebilirler. Tüberküloz enfeksiyonunda hücre sel immünite, sitokin aktivitesi ve hastalığın şiddeti arasındaki ilişki iyi irdelenmiştir. Mikobakteri ve alveoler makrofajlar arasındaki enfeksiyona cevabı belirleyen kritik bir ilişki görülmektedir. Makrofaj kaynaklı lizozim, oksijen radikalleri ve reaktif nitrojen ara ürünlerinin etkisi ile olacak intrasellüler destrüksiyondan kurtulan bir bakteri çoğalabilir ve direnç kazanarak invaziv hale gelebilir (12, 53, 54, 55).

Makrofaj aktivasyonu büyük oranda T lenfositlerin Interferon gama (IFN- δ) salgılamasıyla kontrol edilir. Mikobakterinin başarılı bir kontrolü için bakteri-spesifik T lenfositlerin rol aldığı hücresel immünitinin gelişmesi gereklidir. Hücresel immünitinin aktivasyonu IFN- δ ve IFN- α üretilerek makrofajların antibakteriyel aktivite kazanmalarının yanısıra lenfositlerin sitotoksiste kazanmasına yol açar(56).

Tüberküloz enfeksiyonunun şiddeti, tüberküloz basili antijenlerine karşı spesifik hücresel immün cevabın gücüyle ilişkilidir. Tüberküloz plörezi, öksürük, ateş ve plevratik göğüs ağrısı ile karakterize akut enfeksiyon tablosudur. Genellikle PPD pozitifdir ve bakteriyel hasar, yıkım azdır. Progressif tüberkülozda (Milier tbc) hücresel immünite zayıftır, PPD negatiftir, granülom oluşmaz ve basil sayısı fazladır(56,57).

Bakteri ve konak arasındaki savaş sırasında salgılanan maddeler konakçı hücrelerinde de bazı hasarlar ortaya çıkarmaktadır. Hastalarda görülen klinik bulguların bir kısmı bu hasar sonucu ortaya çıkmaktadır. Sitokinlerin lokal olarak sentezinin önlenmesi, bu zararlı etkilerin baskılanması ve sonuçta hastalığın şiddetinde azalmayla sonuçlanmaktadır. Bazı hastalarda steroid tedavisi ile klinik bulguların baskılanması bu yolla açıklanmaktadır(58).

Aktif tüberkülozlu hastalarda T lenfositlerin aktivasyonu sonucunda, serum İL-2R düzeyinin sağlıklı

kontrol grubu ve daha önce tüberküloz tedavisi ile iyileşmiş tüberkülozlu hastalar ile karşılaştırıldığında, belirgin derecede yükseldiği gösterilmiştir(58,59,60,61).

Başlıca monosit ve makrofajlardan salgılanan İL-6 immün sistemin aktivasyonunda rol alan proinflamatuvar sitokindir. İL-6 immünolojik olgularda T lenfosit aktivasyonunda ve B lenfositlerin farklılaşmasında rol alır. Bu anlamda İL-6 muhtemelen intrasellüler mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonlara karşı immüniteden sorumlu hücrelerin oluşmasında rol alır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda İL-6 düzeyinin aktif akciğer ve plevra tüberkülozu olan hastalarda belirgin olarak yükseldiği gösterilmiştir(61,62,63,64).

İL-6 gibi İL-8 de M. tüberküloziste makrofajlardan salgılanır ve enfeksiyon bölgesine lenfosit göçü ve granülom oluşmasında rol almaktadır(43,65,66).

İnvivo ve invitro çalışmalarda aktif tüberkülozda T lenfosit ve makrofaj aktivasyonuna bağlı olarak birçok sitokin düzeyinin arttığı gösterilmiştir(12). Bununla birlikte, aktif akciğer tüberkülozlu hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası İL-2R, İL-6 ve İL-8 düzeylerini birlikte karşılaştıran ve kendi aralarındaki korelasyonu değerlendiren çalışma mevcut değildir.

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. ÇALIŞMA GRUBUNUN OLUŞTURULMASI:

Çalışma, Malatya 1 No'lu Verem Savaş Dispanseri'ne başvuran hastalardan seçildi. Hastalar fizik muayeneden geçirildi. Venöz kan alınarak tam kan sayımı, glukoz, üre, kreatinin, direk bilirubin, total bilirubin, AST, ALT, GGT düzeylerine bakıldı. Sitratlı tüpe kan alınarak tam kan sayımı ve sedimentasyon bakıldı. HIV testi yapıldı. Metabolik veya enfeksiyöz hastalık şüphesi olanlar, HIV testi pozitif olanlar, yaşı 60'dan yukarı olan hastalar, immün sistemi baskılanmış olabileceği göz önüne alınarak çalışmaya alınmadı. Önceden antitüberküloz tedavi başlanmış olan hastalar da çalışma dışı bırakıldı.

Bütün hastalara akciğer grafisi çekildi. Göğüs Hastalıkları uzmanı tarafından Amerikan tüberküloz ve solunum derneğinin kriterlerine göre radyolojik olarak derecelendirildi. Kavitesi olmayanlar hafif, kavitesi olan ve kavitelerin çapı 4 cm'den küçük olanlara orta ve ortadan daha yaygın olanlar ise ileri derecede yaygın lezyonlar olarak gruplandırıldı (3).

Akciğer tüberkülozu tanısı koyduğumuz hastalardan hiç tedavi görmemiş olanları belirlenerek çalışma grubu oluşturuldu. Klinik ve radyolojik olarak hastalıkla ilgili bulguları olmasının yanı sıra akciğer tüberkülozu olan 27 hastada tanı bakteriyolojik olarak, 3 hastada ise PCR pozitifliği ile doğrulandı. Standart antitüberküloz tedaviye cevap vermeyen hastalar da çalışmaya alınmadı.

Bütün hastalara PPD testi yapıldı ve sonuçlar değerlendirildi.

Çalışma grubuna yaşları 15-60 arasında (31 ± 13) 30 hasta aldık. Hastalardan 16'sı erkek 14'ü kadındı. Bütün hastalardan tedavinin başlangıcında ve tedavinin altıncı ayında venöz kan alınarak İL-2R, İL-6 ve İL-8 analizi yapıldı. Hastalara verilen tüberküloz tedavi rejimi Sağlık Bakanlığı'nın önerdiği, izoniazid, rifampisin, prazinamid ve streptomisinden oluşan dört ilaçtan oluşuyordu.

3.2. NUMUNE ALINMASI (İL-2R, İL-6 VE İL-8 İÇİN):

Numune almadan önce aç kalma veya özel hazırlığa gerek yoktu. Hastalara antitüberküloz tedavi başlamadan önce antekubital venden 10 mL venöz kan hemoliz olmadan steril şartlarda düz tüpe (antikoagulan konulmadan) alındı. Yarım saat kadar oda ısısında pıhtılaşması için bekletildi. Daha sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Test için 2 ml serum (her test için en az 100 µL serum gerekli idi) derin dondurucuda analiz yapılacağı güne kadar bekletildi.

3.3. İL-2R, İL-6, İL-8 ANALİZLERİ:

Test için Immulite, Diagnostic Products Corporation (DPC) Los Angeles, CA, İL-2R, İL-6 ve İL-8 kitleri kullanıldı. Immulite İL-2R, İL-6 ve İL-8, solid faz, iki basamaklı kemiluminisan immünonetrik yöntemlerdir. Immulite test ünitesinde, polistiren boncuktan oluşan bu solid faz

bir anti-ligand ile kaplıdır. Hasta nümunesi, alkalen fosfataz konjuge monoklonal antikor ve ligand-labeled antikor 37°C ta 30-60 dakika, aralıklı çalkalanarak inkübe edilirse numunedeki interlökinlerin herbiri, İL molekülünün farklı epitoplarnını tanıyan bu iki antikor ile sandviç kompleksi oluşturur. Sandviç, ligand-anti-ligand köprü ile solid faza bağlıdır. Bağlanmamış konjugat santrifüj ve yıkama ile ayrılır ve substrat eklenerek test ünitesi 10 dakika daha inkübe edilir.

Kemiluminisan substrat, adamantil dioksitan'ın fosfat esteridir ve alkalen fosfataz ile hidrolize olarak unstabil intermediate oluşur. Bu intermediate'in devamlı üretimi ışık emisyonunu sürdürür ve multipl okumalar için pencere oluşmasını sağlar. Bağlı kompleks, ve böylece luminometre ile ölçülen foton salınması numunedeki İL konsantrasyonu ile orantılıdır.

Immulate sistem numuneyi alma, kitleri pipetleme, inkübasyon ve ayırmayı, ve sıcaklık kontrollü foton salınmasının ölçümünü otomatik olarak yapar. Test sonuçlarını kontrol ve numuneye göre okur ve hastaya ait yüklenmiş bilgilerle birlikte basılı olarak verir.

Test yapılacağı gün serum oda ısısına gelinceye kadar bekletildi. Düşük ve yüksek konsantrasyonlar için kontrol numune çalışılarak çalışmadan önce cihaz test edildi. Hasta serumları serum numune kabına aktarıldı ve numune kabı tutucusuna yerleştirildi. Hasta isimleri numune kabı tutucusu numarasına göre kodlandı. Numune kabı tutucusu

yükleme platformuna sürüldü ve test başlatıldı ve basılı olarak sonuçlar alındı.

Immulate İL-2R referans değerleri erişkinler için 200 ile 1000 U/mL arasında ve sensitivitesi 10 U/mL dir. Immulate İL-6 referans değerleri erişkinler için 0 ile 11.3 pg/mL arasında ve sensitivitesi 1 pg/mL'dir. Immulate İL-8 referans değerleri erişkinler için 0 ile 70 pg/mL arasında ve sensitivitesi 2 pg/mL dir.

3.3. İSTATİSTİK:

Aritmetik ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Tedavi başlangıcında ve tedavinin 6. ayında ölçülen İL düzeyleri farkları paired-t testi ile karşılaştırıldı. İL düzeylerinin radyolojik olarak sınıflandırılan lezyonların yaygınlığıyla ilişkili olup olmadıkları tek yönlü varyans analizi ve Mann-Whitney U testi ile araştırıldı. İL düzeyleri ile PPD'nin çapı ve sedimentasyon arasında korelasyonu araştırmak için Pearson korelasyon analizi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ düzey kabul edildi. İstatistik analizinde SPSS paket istatistik programı kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 30 hastanın yaş, cinsiyet, sedimentasyon, PPD, lezyon, İL-2R, İL-6 ve İL-8 düzeyleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

TABLO 1– Hastaların yaş, cins, sedimentasyon, PPD, lezyon yaygınlığı, İL-2R, İL-6, İL-8 sonuçları

No	Yaş	Cins	Sed mm/s	PPD mm	AGLY	İL-2R U/mL		İL-6 pg/mL		İL-8 pg/mL	
						TÖ	TS	TÖ	TS	TÖ	TS
1	16	K	40	23	1	582	548	3,70	3,40	18,00	7,00
2	28	K	50	25	1	761	447	12,00	3,00	17,00	13,00
3	60	K	50	30	1	1695	420	45,30	5,40	19,50	8,50
4	27	E	45	28	3	712	369	13,10	6,30	15,20	5,30
5	15	E	20	20	1	1396	783	22,50	13,70	10,90	8,20
6	23	K	40	20	2	649	337	4,70	4,10	16,50	5,40
7	23	E	60	28	2	684	294	10,90	8,10	19,90	5,90
8	29	K	30	30	1	1097	619	12,00	5,00	12,70	4,90
9	17	E	20	23	3	881	644	29,50	11,00	57,60	9,50
10	29	K	50	33	1	1700	653	29,00	14,00	15,30	10,20
11	27	K	90	36	1	1351	629	18,10	2,00	15,40	7,40
12	18	K	25	22	3	1900	503	19,70	3,40	13,80	8,90
13	26	E	20	24	3	1640	700	34,20	11,17	14,60	5,90
14	23	K	40	30	1	896	650	4,30	2,00	19,20	8,40
15	36	E	90	18	1	998	808	4,90	4,30	14,10	8,30
16	44	K	50	25	3	756	464	16,90	6,40	9,80	8,50
17	49	K	60	30	1	598	350	14,60	6,90	17,50	7,60
18	40	E	30	28	1	934	413	16,90	7,90	14,50	10,00
19	24	K	70	33	2	480	311	11,60	4,20	19,50	10,40
20	38	E	40	20	1	485	448	6,70	2,00	17,60	8,90
21	48	E	40	31	3	336	265	10,90	7,70	18,00	9,01
22	25	E	90	25	2	1166	796	35,32	5,40	6,90	5,30
23	30	E	20	33	2	1145	500	31,00	19,00	41,40	21,30
24	46	E	70	26	2	1376	997	46,30	16,10	20,00	16,30
25	30	E	60	20	1	1408	378	14,30	3,70	24,30	24,40
26	28	E	60	35	2	1773	790	20,50	8,60	11,20	13,90
27	55	E	10	20	2	428	476	3,70	2,50	10,00	15,60
28	20	K	100	33	3	1653	415	24,70	3,40	20,00	23,10
29	25	K	60	20	1	881	526	9,30	6,90	20,00	10,00
30	42	E	80	27	2	1727	658	16,00	8,80	20,00	16,50

E: Erkek K: Kadın TÖ: Tedavi Öncesi TS: Tedavi Sonrası Sed: Sedimentasyon

AGLY: Akciğer Grafisinde Lezyonun Yaygınlığı; 1: Hafif derecede, 2: Orta derecede, 3: İleri derecede lezyon

Klinik ve laboratuvar bulgularına göre hastaların hiç birinde karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğu yoktu.

Hastaların tamamında PPD pozitif olarak bulundu. PPD'nin çapı en az 18 mm, en fazla ise 36 mm idi (26 ± 5). Hastaların 14'ünde hafif lezyonlar, 9'ında orta derecede lezyonlar ve 7 hastada ilerlemiş lezyonlar vardı. Lezyonların akciğer grafilerindeki yaygınlığı ile İL-2R, İL-6 ve İL-8 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki yoktu ($p>0.05$) (Tablo 2).

TABLO 2: Akciğer grafilerinde lezyonların yaygınlığı ile İL-2R, İL-6 ve İL-8 düzeyleri arasındaki ilişki.

L e z y o n

	Hafif, n = 14	Orta, n = 9	İlerlemiş, n = 7	p değeri
İL-2R (U/mL)	1055.9 ± 399.4	1047.6 ± 514.3	1125.4 ± 596.3	>0.05
İL-6 (pg/mL)	15.3 ± 11.3	20.0 ± 14.6	21.3 ± 8.6	>0.05
İL-8 (pg/mL)	16.9 ± 3.4	18.4 ± 10.0	21.3 ± 16.3	>0.05

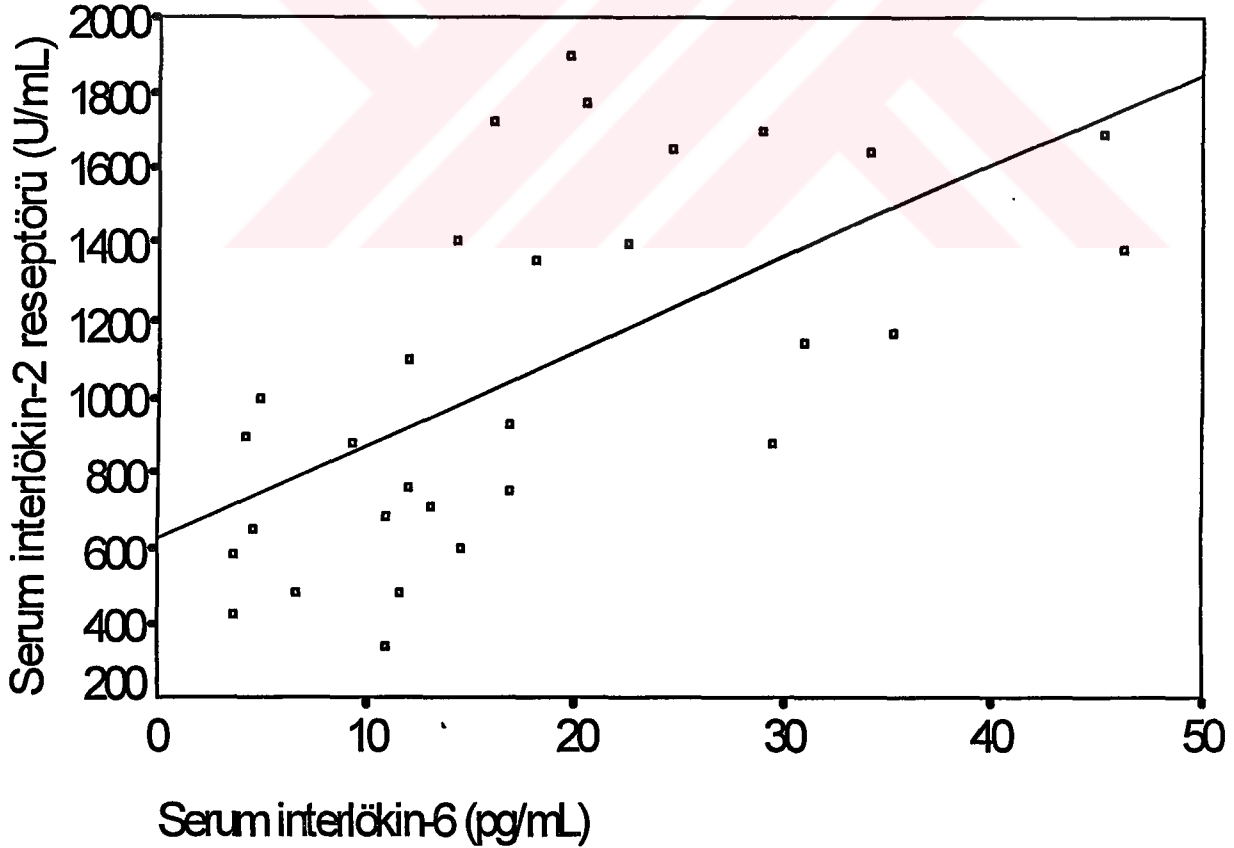
Tedaviye başlamadan önce ölçülen İL-2R ve İL-6 düzeyleri laboratuvarımızda kabul edilen normal değerlerden yüksek bulundu. Altı aylık antitüberküloz tedaviden sonra İL-2R ve İL-6 düzeyleri normal sınırlara düştü. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.001$) İL-8 düzeyi ise tedaviye başlamadan önce ve tedavi sonrasında normal sınırlar arasında bulunmakla birlikte tedavi sonrası ortalama değerinin anlamlı olarak azaldığı bulundu ($p<0.05$) (Tablo 3).

TABLO 3: Tedavi öncesi ve tedavi sonrası serum İL-2R, İL-6, İL-8 düzeylerinin karşılaştırılması.

	Normal	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	p değeri
İL-2R (U/mL)	200-1000	1069,8 ± 468,3	539,7 ± 181,5	<0.001
İL-6 (pg/mL)	0-11,3	18,1 ± 11,8	6,9 ± 4,4	<0.001
İL-8 (pg/mL)	0-70	18,3 ± 9,5	10,8 ± 5,2	<0.05

İL-2R ve İL-6 arasında pozitif korelasyon izlendi ($r = 0.62$, $p = 0.001$) (Şekil 1). İL-2R, İL-6 ve İL-8 düzeyleri ile PPD ve sedimentasyon yüksekliği arasında korelasyon yoktu.

ŞEKİL 1: Serum İL-2R ve İL-6 arasında pozitif korelasyon.



5. TARTIŞMA

Çalışmamızda aktif akciğer tüberkülozlu hastaların tedavi öncesinde İL-2R ve İL-6 düzeylerinin belirgin derecede yüksek olduğunu ve bunun antitüberküloz tedavi ile azaldığı gösterilmiştir. İL-8 düzeyi tedavi öncesi ve sonrası normal sınırlar arasında bulunmakla beraber tedavi sonrası anlamlı olarak azalmıştır.

Mikobakteriyel enfeksiyonlarda hücre sel immünite, sitokin aktivitesi ve hastalığın şiddeti arasındaki ilişki çok iyi gösterilmiştir (12). Bu hastalıkta enfeksiyona cevabı belirleyen konağın makrofajları ve mikobakteri arasındaki kritik bir etkileşimdir. Lizozim, oksijen radikalleri ve reaktif nitrojen radikalleri tarafından intrasellüler destrüksiyona uğratılan bakteriler bazen çoğalmaya devam ederek direnç kazanabilir. Basille makrofajların etkili bir şekilde mücadele edebilmesi için makrofajın aktivasyonuna ihtiyaç vardır. Makrofajların aktivasyonu büyük oranda T lenfositler tarafından kontrol edilmektedir. Mikobakterilerle başarılı bir mücadele yapılabilmesi için tüberküloz antijenine duyarlılık kazanmış T lenfositlerle ortaya çıkan hücre sel immün cevabın gelişmesi zorunludur. Hücre sel immünitenin gelişmesi de bir yandan T lenfositlerin salgıladığı İL etkisiyle makrofajların aktivasyonuna, diğer yandan da T lenfositlerin sitotoksik özellik kazanmasına neden olur. Tüberküloz enfeksiyonunun şiddeti de mikobakteriyel antijenlere karşı oluşan spesifik immün cevabın gücü ile

ilişkilidir. İmmün cevap ne kadar güçlü ise, bir başka deyişle T lenfosit ve makrofajlardan ne kadar çok İL salgılanırsa hastalığın klinik bulguları da o kadar şiddetlidir. (12,56).

Yukarıda bahsedilen hücresele immün cevabın ortaya çıkmasında hücreler arasındaki etkileşimden İL'ler sorumludur. Özellikle İL-2 ilk bulunan İL'lerden birisidir ve hücresele immün cevabın oluşmasında önemli rolü vardır.

Çalışmamızda hastalığın aktif döneminde basil yükünün fazla olması ve basillerle mücadele için lenfosit ve basil arasındaki etkileşimin en yoğun olduğu dönemde İL düzeyinin yükselmesi, immün sistemin bu dönemde aktif olarak çalıştığını göstermektedir. Tedavi ile basillerin ortadan kalkması, immünolojik olayların baskılanması ve İL düzeylerinin azalması ile sonuçlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda İL-2R'nin başlıca T lenfositlerden salgılandığı gösterilmiştir (58,67). Bizim çalışmamızda görülen İL-2R düzeyindeki artışın da kaynağının aktive olmuş T lenfositler olduğunu düşünüyoruz.

Tüberkülozda klinik ve radyolojik bulgular tipik olduğu zaman tanı ve tedaviye cevabın izlenmesinde önemli sorunlar ortaya çıkmaz. Klinik olarak akciğer tüberkülozunun çok çeşitli formlarda olabileceği, özellikle radyolojik olarak akciğer kanserini taklit edebileceği bildirilmektedir (31,32,33). Bu tür atipik klinik seyir gösteren hastalık söz konusu olduğu zaman tüberküloz tanı ve tedavisinin izlenmesinde ciddi sorunlar olabilir.

Özellikle son yıllarda Amerika Birleşik Devletleri ve birçok gelişmiş batı ülkelerinde HIV enfeksiyonunun yaygınlaşması ile birlikte tüberkülozun atipik formları daha da yaygınlaşmaktadır. Rutin uygulamalarda çoğu zaman tüberküloz tanısında bakteriyolojik yöntemler yeterli olmaktadır. Hastadan balgam elde etmenin mümkün olmadığı durumlarda noninvaziv olarak bakteriyolojik tanı koyma şansı ortadan kalkmaktadır. Bu durumlarda İL düzeyi tayini hastalığın aktivitesini göstermesi bakımından klinik uygulamalarda yol gösterici olabilir.

Klinik uygulamalarda önemli bir sorun da hastalarda tedaviye yanıtının izlenmesidir. Özellikle önceden tüberküloz geçirmiş ve fibrotik sekelleri olan hastalarda radyolojik takipte güçlükler yaşanabilmektedir. Çalışmamızda da gösterildiği gibi özellikle İL-2R ve İL-6 düzeyleri, hem hastalığın aktivitesini göstermede, hem de tedaviye yanıtın izlenmesinde önemli bir araç olarak değerlendirilebilir.

Mikobakteriyel antijenlere karşı immün cevabın ortaya çıkmasında T lenfositlerin önemli görevi üstlendiği bilinmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda aktif akciğer tüberkülozlu hastaların T helper 1 cevabında belirgin azalma gösterilmiştir. Fakat bu çalışmada hastaların immün durumu konusunda yeterli bilgi mevcut değildir (68). Skvor ve arkadaşları tüberkülozlu hastaların periferik kanlarında T lenfositlerin azaldığını göstermişlerdir (69). Diğer in vitro çalışmalarda ise, aktif tüberkülozlu hastalardan elde

edilen T lenfositlerde İL-2 ve İL-2R ekspresyonunda bozukluk olduğu görülmüştür (68). Bu T hücre supresyonunun dolaşımdaki monositlerde artmış İL-1 aktivitesi ile ilgili olabileceği öne sürülmektedir (70). Bu paradoks ilişkinin nedeni açık olmamakla beraber, bu supresor monositlerin mikobakteri antijenlerinin stimülasyonu sonucunda kemik iliğinden dolaşıma geçen ve İL 1 salgılayan immatür monositler olduğu iddia edilmektedir (71). Bir başka in vitro çalışmada ve mononükleer hücreler ortamdan uzaklaştırıldığında , T lenfosit kültür ortamına PPD ilave edilerek T hücrelerin aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir (72). Bazı çalışmalarda aktif akciğer tüberkülozlu hastalarda T helper 1 cevabının azalması muhtemelen bu kişilerin immün sisteminin baskı altında olması (HIV enfeksiyonu gibi) ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Zhang ve arkadaşlarının çalışmasında aktif tüberkülozlu hastaların T helper 1 cevabında belirgin azalma gösterilmiştir (73). Bu çalışmada hastaların immün durumu konusunda yeterli bilgi mevcut değildir. Bizim çalışmamızda hastaların hiçbirinde HIV enfeksiyonu şüphesi ya da kanıtı söz konusu değildi. Ayrıca hiçbir hastamızda diabetes mellitus, silikozis ya da diğer immün supresyona yol açabilecek durumlar söz konusu değildi. Bütün hastalarımızda antitüberküloz tedavi ile iyileşme sağlanmıştır.

Chan ve arkadaşlarının çalışmalarında akciğer ve plevra tüberkülozu olan hastalarda hastalığın aktif döneminde İL-

2R düzeyinin inaktif hastalar ve kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek olduğunu gösterilmiştir (58). Bu çalışmada aynı zamanda hastalığın radyolojik olarak yaygınlığı ile İL-2R düzeyleri arasında da pozitif korelasyon bulunmuştur. Aynı araştırmacıların son zamanlarda yayınlanan diğer bir çalışmasında ise; aktif akciğer tüberkülozlu hastaların periferik kanlarındaki CD4 T hücrelerinin sitokin profili normal sağlıklı PPD (+) kişilerin sitokin profili ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada İL-2 gen ekspresyonunun tüberkülozlu hastaların CD4⁺ T lenfositlerinde kontrol grubuna göre belirgin arttığı, İL-5'in ise azaldığı, İL-4 düzeyinin ise sağlıklı kişilerinki gibi olduğunu göstermişlerdir (53). Mevcut bilgiler, tüberküloz hastalığını kontrol altına alabilmek için uygun T helper 1 cevabının (İL-2 ve IFN- δ sekresyonunda artma) gerekli olduğunu, T helper 2 cevabının ise (İL-4 ve İL-5'te artma) progressif hastalıkta ortaya çıktığını göstermektedir (56).

Diğer bir araştırmada, yeni tanı konmuş ve poliklinikten tüberküloz tedavisi alan hastalarda, tedavi başlamadan önce ölçülen İL-2R düzeyinin 6 aylık tedavi sonunda başlangıç değerlerine göre azalmakla beraber normal kişilerin İL-2R düzeyinden hala yüksek seyrettiği gösterilmiştir (59). Bu bulgular bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

İL-2R'ünün tüberküloz immünesindeki rolü çok iyi bilinmemektedir. Bununla birlikte bu moleküllerin İL-2'nin

hücrelere bağlanmasında aktif rol aldığı bilinmektedir (74). Bu molekülün tüberküloz immünitesindeki rolü ne olursa olsun çalışmamızda da gösterildiği gibi tüberkülozun aktivitesini ve tedaviye cevabı belirlemede bir marker olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (58).

Literatürde akciğer tüberküloz lezyonlarının yaygınlığı ile İL-2R'ü düzeyinin artması arasında pozitif korelasyon bildirilmesine rağmen bizim çalışmamızda benzer ya da tersi bir ilişki gözlenmemiştir. Ancak bizim hastalarımızın çoğu minimal lezyonlu hastalardı ve orta yada ileri derecede lezyonu olan hasta sayımız daha yeterli olmadığı için bu konuda daha ileri çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmüştür.

İL-6'nın akciğer tüberkülozundaki aktivasyonu ve tedaviye yanıtın izlenmesi ile ilgili yeterli çalışma mevcut değildir. Çalışmamızda İL-6 düzeyi de aktif akciğer tüberkülozlu hastaların serumlarında yüksek bulunmuş ve tedavinin altıncı ayında aktivitelerinde belirgin azalma görülmüştür. İL-6 da lenfosit ve monositlerden salgılanan sitokinlerden biridir ve T lenfositler üzerindeki mitojenik etkisinde İL-2R ekspresyonunu artırıcı etkisi önemli olmaktadır. Bizim çalışmamızda hem İL-2R, hem de İL-6'nın yüksek ve aralarında pozitif korelasyon bulunması da (Şekil 1) bunu desteklemektedir. Bu bulgular serum İL-6 seviyesinin ölçülmesinin tüberkülozlu hastalarda hastalığın aktivitesini gösteren bir marker olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Benzer şekilde

çalışmamızda görüldüğü gibi tedaviye yanıtın izlenmesinde İL-6 düzeyinin tayini de faydalı olabilir.

Mikobakterium aviumla enfekte murine modellerinde yapılan bir çalışmada enfeksiyonun birinci haftasında İL-6 düzeyinin yükselmeye başladığı ve beşinci haftaya kadar yüksek kaldığı gösterilmiştir (60). El- Ahmedi ve arkadaşları ve Yokoyama ve arkadaşları da İL-6 ile ilgili olarak bizim sonuçlarımıza benzer sonuçlar bildirmektedir (61,62). Ogawa ve Tsukayuchi de çalışmalarında akciğer tüberkülozlu hastaların periferik kanlarından elde edilen monositlerin sağlıklı kişilerin monositlerinden belirgin şekilde fazla miktarda İL-6 ürettiklerini göstermişlerdir (63,64). Evans ve arkadaşları da tüberküloz osteomyeliti olan hastalardan alınan periferik kan lökositlerinde İL-6 sekresyonunun kontrol grubundan belirgin olarak yüksek olduğunu bildirmektedirler. (75). Diğer başka deneysel çalışmada İL-6 eksikliği olan sıçanlarda M. tüberkülozis enfeksiyonunun ölümcül seyrettiği görülmüştür (76).

İL-8'in T lenfositler için kemotaksiye neden olduğu in vitro ve in vivo çalışmalarda gösterilmiştir (47). İL-6 ve İL-8'in tüberküloz lezyonlarında T lenfositlerin granülomların içinde birikmesi ve aktivite göstermesinde önemli rolü vardır. İL-8'in in vitro çalışmalarda tüberküloz enfeksiyonlarında çok yüksek konsantrasyonlara ulaştığı gösterilmiştir (65,77,78,79). Bizim çalışmamızda hastaların serum İL-8 düzeyleri tedavi öncesinde tedavinin

altıncı ayında referans değerler içinde olmakla beraber tedavi sonrası anlamlı olarak azalmıştır.

Öte yandan Friedland ve arkadaşlarının çalışmasında da İL-6 ve İL-8 aktivitelerinin tüberkülozdan ölen hastalarda yaşayanlardan daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada tüberkülozlu hastalardan elde edilen lökositler ex vivo olarak lipopolisakkarit (LPS) ile stimule edildiğinde TNF, İL-6 ve İL-8 aktivitelerinde düşme olduğu gösterilmiştir (66). Bu azalmanın sebebi, henüz tam tanımlanmayan bir inhibitör sitokin yahut faktör olabileceğini düşündürmektedir.

SONUÇ

Çalışmamız sonuçları tüberkülozda hızlı tanı koyma ve tedaviye cevabın izlenmesinde yeni markerların araştırıldığı günümüzde, İL-2R, İL-6 ve İL-8 aktivitesinin serumda bakılmasının hastalığın aktivitesini göstermede ve tedaviye cevabın izlenmesinde kullanılabilir bir yöntem olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca akciğer dışı diğer organ tüberkülozlarının tanısı genellikle doku biyopsisi gibi invaziv yöntemlerle konulmaktadır. Bu olgularda serum İL-2R, İL-6 ve İL-8 düzeyi tayininin hastalığın aktivitesinin belirlenmesi ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesine katkıda bulunabileceği kanaatine varılmıştır.

ÖZET

Mikobakteriyel enfeksiyonlara karşı oluşan immünyetede, T lenfosit ve makrofajlar birçok sitokin salgılayarak önemli görev almaktadır. Bazı çalışmalarda aktif akciğer tüberkülozlu hastalarda serum İL-2R, İL-6 ve İL-8'in yükseldiği gösterilmiştir. Bununla birlikte aktif akciğer tüberkülozunda aktif hastalıkta ve tedaviye yanıtın izlenmesinde İL-2R, İL-6 ve İL-8'in değerinin araştırıldığı çalışma sınırlıdır.

Bu çalışmada 30 aktif akciğer tüberkülozlu hastada tedavi öncesi ve tedaviden sonra serum İL-2R, İL-6 ve İL-8 düzeyleri araştırıldı. Serum İL-2R, İL-6 ve İL-8 düzeyleri solid faz, iki basamaklı kemiluminesan enzim immünometrik metod ile ölçüldü. Tedaviden önce İL-2R ve İL-6 değerleri normal değerlerden yüksek bulundu ve 6 aylık antitüberküloz tedaviden sonra normal düzeylere düştü (İL-2R $1069,8 \pm 468,3$ ve $539,7 \pm 181,5$ U/mL, İL-6 $18,1 \pm 11,8$ ve $6,9 \pm 4,4$ pg/mL). Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$). İL-8 düzeyi tedaviden önce tedavi sonrasına göre daha yüksek ($18,3 \pm 9,5$ ve $10,8 \pm 5,2$ pg/mL), aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$), ancak her iki değer de normal sınırlar arasında idi. Akciğer grafilerinde lezyonun yaygınlığı ile bu serum değerleri arasında ilişki bulunmadı. Serum İL-2R ve İL-6 düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulundu ($r = 0.62$, $p = 0.001$).

Sonuç olarak aktif akciğer tüberkülozlu hastalarda serum İL-2R, İL-6 ve İL-8 düzeylerinin aktif hastalığın tanısı ve tedaviye yanıtın izlenmesinde kullanılabilecek parametreler olduğu kanaatine varıldı.



SUMMARY

It has been recognized that T lymphocyte and macrophages are central to the immunity against mycobacterial infection by producing many kinds of cytokines. Some previous preliminary studies showed elevated amounts of serum IL-2R, IL-6 and IL-8 in patients with pulmonary tuberculosis. However, reports regarding the value of IL-2R, IL-6 and IL-8 measurements in the determination of activity and response to the treatment of patients with pulmonary tuberculosis is limited.

In this study, we evaluated the serum levels of IL-2R, IL-6 and IL-8 before and after antituberculosis treatment in 30 patients with active pulmonary tuberculosis. The amounts of IL-2R, IL-6 and IL-8 were measured by a solid phase, two-site chemiluminescent enzyme immunometric method. The levels of IL-2R ($1069,8 \pm 468,3$ versus $539,7 \pm 181,5$ U/mL) and IL-6 ($18,1 \pm 11,8$ versus $6,9 \pm 4,4$ pg/mL) were significantly increased before treatment and returned to normal levels after 6 months of antituberculosis treatment ($p < 0.001$). Although IL-8 levels before treatment were high in comparison to the levels after antituberculosis treatment ($18,3 \pm 9,5$ versus $10,8 \pm 5,2$ pg/mL) ($p < 0.05$), both were within normal limits. No difference was observed between the measured parameters in

serum and extent of the disease on chest X-rays. There was a high positive correlation between the levels of IL-2R and IL-6 ($r = 0.62$, $p = 0.001$).

In conclusion, the serum levels of IL-2R, IL-6 and IL-8 may be useful markers in determining activity of the disease and response to the treatment in patients with active pulmonary tuberculosis.



KAYNAKLAR

1. Barnes FP, Barrows SA. Tuberculosis in the 1990s. Ann Intern Med 1993; 119: 400-10.
2. Akkaynak S. Tüberküloz. Ayyıldız Matbaası, Ankara, 1986.
3. American Thoracic Society, Medical Section of the American Lung Association. Diagnostic standards and classification of tuberculosis. Am Rev Respir Dis 142: 725-35, 1990.
4. Çelenk M. Tüberküloz epidemiyolojisi. T Klin Tıp Bilimleri 14: 391-403, 1994.
5. Hopewell PC. A clinical view of tuberculosis. Radiol Clin North Am 33: 641-53, 1995.
6. Schluger NW, Rom WN. Current approaches to the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 149: 264-7, 1994.
7. Çobanlı B, Acıcan T, Ayas G, Çakır M, Zeydan E. Akciğer tüberkülozlu 1026 olgunun klinik, bakteriyolojik, radyolojik ve tedavi yaklaşımları açısından değerlendirilmesi. Tüberküloz ve Toraks 42: 252-6, 1994.
8. Daniel TM, Debanne SM. The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by enzyme-linked immunosorbent assay. Am Rev Respir Dis 135: 1137-51, 1987.
9. Doğan S. Tüberküloz tanısında ELISA. Uzmanlık Tezi. İstanbul, 1991.

10. Maes R. Clinical usefulness of serological measurements obtained by antigen 60 in mycobacterial infections: development of a new concept. *Klin Wochenschr* 69: 696-709, 1991.
11. Özdemir Ö. Tüberkülozda tanı yöntemleri. *T Klin Tıp bilimleri* 14: 420-4, 1994.
12. Munk ME, Emoto M. Functions of T-cell subsets and cytokines in mycobacterial infections. *Eur Respir J* 8: 668s-675s, 1995.
13. Saygun N. Mikobakteriler. Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü (Ed Kocabaş A), Emel Matbaası, Adana, 1991, pp:41-45.
14. Kocabaş A. Mikobakterilerin yapısal ve antiijenik özellikleri. Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü (Ed Kocabaş A), Emel Matbaası, Adana, 1991, pp:47-55.
15. Yanez MA, Coppola MP, Russo DE, Deleha E, Chaparas SD, Yeager H. Determination of mycobacterial antigens in sputum by enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 23: 822-5, 1986.
16. Edwards D, Kirkpatrick CH. The immunology of mycobacterial diseases. *Am Rev Respir Dis* 134: 1062-71, 1986.
17. Janicki BW, Chaparas SD, Daniel TM, Kubica GP, Wright GL, Yee GS. A reference system for antigens of mycobacterium tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 104: 602-6, 1971.

18. Daniel TM. Tuberculin antigens: The need for purification. Am Rev Respir Dis 115: 717-9, 1976.
19. Daniel TM, Anderson PA. The isolation of immunoabsorbent affinity chromatography and physicochemical characterization of mycobacterium tuberculosis antigen 5. Am Rev Respir Dis 117: 533-9, 1978.
20. Cocito C, Vanlinden F. Preparation and properties of Antigen 60 from Mycobacterium Bovis BCG. Clin Exp Immunol 66: 262-72, 1986.
21. Cocito C. Properties of the mycobacterial antigen complex A 60 and its application to the diagnosis of tuberculosis. Chest 100: 1687-93, 1991.
22. Hopewell PC, Bloom BR. Tuberculosis and other mycobacterial diseases. Textbook of Respiratory Medicine (Eds Murray JF, Nadel JA), Volume I, WB Saunders Company, Philadelphia, 1994, pp:1094-1151.
23. Dunlap NE, Briles DE. Immunology of tuberculosis. Med Clin North Am 77: 1235-51, 1993.
24. Flesch IE, Kaufmann SH. Role of cytokines in tuberculosis. Immunobiology 189: 316-39, 1993.
25. Kaufmann SH. In vitro analysis of the cellular mechanisms involved in immunity to tuberculosis. Rev Infect Dis 11: S448-54, 1989.
26. Özşahin SL. Tüberküloz bakteriyolojisi. T Klin Tıp Bilimleri 14: 404-8, 1994.

27. Scadding JG. Tuberculin sensitivity in tuberculosis. Postgrad Med J 47: 694-7, 1971.
28. Weir MR, Thornton GF. Extrapulmoner tuberculosis. Experience of a community hospital and review of the literature. Am J Med 79: 467-78, 1985.
29. Alvarez S, McCabe WR. Extrapulmoner tuberculosis revisited: A review of experience at Boston City and other hospitals. Medicine 63: 25-54, 1984.
30. McAdams HP, Erasmus J, Winter JA. Radiologic manifestations of pulmonary tuberculosis. Rad Clin North Am 33: 655-78, 1995.
31. Keyf İA, Turay ÜY, Biber Ç, Hıznel SB, Haznedaroğlu D, Yıldırım Z, Erdoğan Y. Akciğer kanserini taklit eden tüberküloz: üç olgu nedeniyle. XXI. Ulusal Türk Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Kongresi, 17-19 Ekim 1996, Mares Oteli, Marmaris, Bildiri Özetleri, p:73.
32. Astoul P, Seitz B, Fico JL, Boutin C. Endobronchial tuberculosis simulating cancer. Rev Mal Respir 7: 163-5, 1990.
33. Matheus JI, Mataresa SL, Carpenter JL. Endobronchial tuberculosis simulating lung cancer. Chest 4: 642-4, 1984.
34. Snider DE. The tuberculin skin test. Am Rev Resp Dis 125: 108-18, 1982.
35. Snider DE. Extrapulmoner tuberculosis in Oklahoma. 1965 to 1975. Am Rev Resp Dis 111: 641-6, 1975.

36. Slavin RE, Walsh TJ, Pollack AD. Late generalized tuberculosis: A clinical pathologic analysis and comparison of 100 cases in the preantibiotic and antibiotic eras. *Medicine* 59: 352-66, 1980.
37. Livengood JR, Sigler TG, Foster LR, Bobst JG, Snider DE. Isoniazid-resistant tuberculosis. A community outbreak and report of a rifampin prophylaxis failure. *JAMA* 253: 2847-9, 1985.
38. Daniel TM. Rapid diagnosis of tuberculosis: Laboratory techniques applicable in developing countries. *Rev Infect Dis* 11: 471-8, 1989.
39. Brisson-Noel A, Gicquel B, Lecossier D, Levy-Frebault V, Nassif X, Hance AJ. Rapid diagnosis of tuberculosis by amplification of mycobacterial DNA in clinical samples. *Lancet* 2(8671): 1069-71, 1989.
40. Godfrey-Faussett P. Molecular diagnosis of tuberculosis: the need for new diagnostic tools. *Thorax* 50: 709-11, 1995.
41. Kocabaş A. Günümüzde ve gelecekte tüberküloz tanısı. *Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü* (Ed Kocabaş A), Emel Matbaası, Adana, 1991, pp:243-262.
42. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Second edition. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994.
43. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. *Medical Immunology* (Eds Stites DP, Parslow IG), Appleton & Lange, Connecticut, 1997, pp:146-168.

44. Balkwill FR, Burke F. The cytokine network. *Immunol Today* 10: 299-304, 1989.
45. Thomson AW: *The Cytokine Handbook*, 2nd Ed. Academic Press, San Diego, 1994.
46. Callard RE, Gearing AJH: *The Cytokine Factsbook*, Academic Press, San Diego, 1994.
47. Larsen CG, Anderson AO, Appella E, Oppenheim JJ, Matsushima K. The neutrophil-activating protein (NAP-1) is also chemotactic for lymphocytes. *Science* 243: 1464-6, 1989.
48. Yoshimura TK, Matsushima K, Tanaka S, Robinson EA, Appella E, Oppenheim JJ, Leonard EJ. Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 9233-7, 1987.
49. Peveri P, Walz A, Dewald B, Baggiolini M. A novel neutrophil-activating factor produced by human mononuclear phagocytes. *J Exp Med* 167: 1547-59, 1988.
50. Schroeder JM, Christophers E. Secretion of novel and homologous neutrophil-activating peptides by LPS-stimulated human endothelial cells. *J Immunol* 142: 244-51, 1989.
51. Strieter RM, Phan SH, Showell HJ, Remick DG, Lynch JP, Genord M, Raiford C, Eskandari M, Marks RM, Kunkel SL. Monokine-induced neutrophil chemotactic factor gene

- expression in human fibroblasts. *J Biol Chem* 264: 10621-6, 1989.
52. Baggiolini M, Walz A, Kunkel SL. Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J Clin Invest* 84: 1045-9, 1989.
53. Lai CK, Ho S, Chan CH, Chan J, Choy D, Leung R, Lai KN. Cytokine gene expression profile of circulating CD4+ T cells in active pulmonary tuberculosis. *Chest* 111: 606-11, 1997.
54. Barnes PF, Abrams JS, Lu S, Sieling PA, Rea TH, Modlin RL. Patterns of cytokine production by mycobacterium-reactive human T-cell clones. *Infect Immun* 61: 197-203, 1993.
55. Orme IM, Andersen P, Boom WH. T cell response to *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis* 167: 1481-97, 1993.
56. DiPiro JT. Cytokine networks with infection: Mycobacterial infections, leishmaniasis, human immunodeficiency virus infection, and sepsis. *Pharmacotherapy* 17: 205-23, 1997.
57. Shan SA, Neff TA. Miliary tuberculosis. *Am J Med* 56: 494-505, 1974.
58. Chan CH, Lai KN, Leung JC, Lai CK. T lymphocyte activation in patients with active tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 144: 458-60, 1991.
59. Chan CH, Lai CK, Leung JC, Ho AS, Lai KN. Elevated interleukin-2 receptor level in patients with active

- pulmonary tuberculosis and the changes following anti-tuberculosis chemotherapy. *Eur Respir J* 8: 70-3, 1995.
60. Champsi J, Young LS, Bermudez LE. Production of TNF- α , IL-6 and TGF- β , and expression of receptors for TNF- α and IL-6, during murine *Mycobacterium avium* infection. *Immunology* 84: 549-54, 1995.
61. El-Ahmady O, Mansour M, Zoeir H, Mansour O. Elevated concentrations of interleukins and leukotriene in response to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Ann Clin Biochem* 34: 160-4, 1997.
62. Yokoyama A, Maruyama M, Ito M, Kohno N, Hiwada K, Yano S. Interleukin-6 activity in pleural effusion. Its diagnostic value and thrombopoietic activity. *Chest* 102: 1055-9, 1992.
63. Ogawa T, Uchida H, Kusumoto Y, Mori Y, Yamamura Y, Hamada S. Increase in tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 secreting cell in peripheral blood mononuclear cells from subjects infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 59: 3021-5, 1991.
64. Tsukaguchi K, Yoneda T, Yoshikawa M, Tokuyama T, Fu A, Tomoda K, Narita N, Enoki Y, Tsukaguchi M, Shirai F. Case study of interleukin-1 beta, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 production peripheral blood monocytes in patients with diabetes mellitus complicated by pulmonary tuberculosis. *Kekkaku* 67: 755-60, 1992.

65. Friedland JS, Remick DG, Shattock R, Griffin GE. Secretion of interleukin-8 following phagocytosis of Mycobacterium tuberculosis by human monocyte cell lines. Eur J Immunol 22: 1373-8, 1992.
66. Friedland JS, Hartley JC, Hartley JGC, Shattock RJ, Griffin GE. Inhibition of ex vivo proinflammatory cytokine secretion in fatal mycobacterium tuberculosis infection. Clin Exp Immunol 100: 233-8, 1995.
67. Nelson DL, Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME, Boutin B. An analysis of the cellular requirements for the production of soluble interleukin-2 receptor in vitro. J Clin Immunol 6: 114-20, 1986.
68. Toossi Z, Kleinhenz ME, Ellner JJ. Defective interleukin-2 production and responsiveness in human pulmonary tuberculosis. J Exp Med 163: 1162-72, 1986.
69. Skvor J, Trnka L. Immunoprofile studies in patients with pulmonary tuberculosis. I. Correlation of pretherapy cellular tests with characteristics of the disease. Scand J Respir Dis 60: 161-7, 1979.
70. Fujiwara H, Kleinhenz ME, Wallis Rs, Ellner JJ. Increased interleukin-1 production and monocyte suppressor cell activity associated with human tuberculosis. Am Rev Respir Dis 133: 73-7, 1986.
71. Wallis RS, Fujiwara H, Ellner JJ. Direct stimulation of monocyte release of interleukin 1 by mycobacterial protein antigens. J Immunol 136:193-6, 1986.

72. Ellner JJ, Pleural fluid and peripheral blood lymphocyte function in tuberculosis . Ann Intern Med 89: 932-3, 1978.
73. Zhang M, Lin Y, Iyer DV, Jones BE, Modlin RL, Barnes PF. T-cell cytokine responses in persons with tuberculosis and human immunodeficiency virus infection. J Clin Invest 94: 2435-42, 1994.
74. Rubin LA, Jay G, Nelson DL. The released interleukin 2 receptor binds interleukin 2 efficiently. J Immunol 137: 3841-4, 1986.
75. Evans CA, Jellis J, Hughes SP, Remick DG, Friedland JS. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and interleukin-8 secretion and the acute phase response in patients with bacterial and tuberculous osteomyelitis. J Infect Dis 177: 1582-7, 1998.
76. Ladel CH, Blum C, Dreher A, Reifenberg K, Kopf M, Kaufmann SH. Lethal tuberculosis in interleukin-6-deficient mutant mice. Infect Immun 65: 4843-9, 1997.
77. Friedland JS, Weatherall DJ, Ledingham JGG. A chronic granulomatous syndrome of unknown origin. Medicine 69: 325-31, 1990.
78. Friedland JS. Phagocytosis, cytokines and Mycobacterium tuberculosis. Lymphokine Cytokine Res 12: 127-33, 1993.
79. Rook GAW, Taverne J, Leverton C, Steele J. The role of gamma-interferon, vitamin D3, metabolites and tumor necrosis factor in the pathogenesis of tuberculosis. Immunology 62: 229-34, 1987.