

141592

T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ABD.

**AKUT LÖSEMİLİ HASTALARDA KEMOTERAPİ  
SONRASI GELİŞEN NÖTROPENİDE, ATEŞLİ VE  
ATEŞSİZ DÖNEMLERDE SERUM CRP, IL-6 VE IL-8  
DÜZEYLERİ**

(HEMATOLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ)

**TEZ YÖNETİCİSİ**  
**Doç. Dr. İsmet AYDOĞDU**

141597

**Dr. Emin KAYA**

**MALATYA, 2002**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ .....	1
GİRİŞ VE AMAÇ .....	2
GENEL BİLGİLER .....	4-15
SİTOKİNLER .....	4
C-REAKTİF PROTEİN .....	11
NÖTROFİL REGÜLASYONU .....	12-13
FEBRİL NÖTROPENİ .....	14-15
MATERYEL VE METOD .....	16-17
SONUÇLAR .....	18-28
TARTIŞMA .....	29-33
ÖZET .....	34
SUMMARY .....	35
KAYNAKLAR .....	36-39

**ÇC. YÜKSEK ÖĞRETİM ENSTİTÜSÜ**  
**ERZURUM İLİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

## ÖNSÖZ

Hematoloji eğitimime katkılarından dolayı hocam sayın Doç. Dr. İsmet AYDOĞDU'ya, rektörümüz ve bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. Fatih HİLMİOĞLU hocama, çalışma arkadaşım Dr. İrfan KUKU'ya, hematoloji servisinin tüm doktor ve hemşirelerine, serum örneklerini saklamada yardımcı olan Sağ. Tek. Ahmet SÖNMEZ'e ve sitokin analizinde katkılarından dolayı Bio. Fatma ÖZYALIN'a teşekkür ederim.

Dr. Emin KAYA

## GİRİŞ ve AMAÇ

Kanser hastalarında kemoterapi sonrası gelişen nütropeni sonucu ortaya çıkan enfeksiyonlar en önemli ölüm nedenidir. Enfeksiyon açısından yüksek riskli grup kabul edilen akut lösemili hastalarda morbidite ve mortalite daha yüksektir.

Nütropenik hastalarda belirgin bir enfeksiyon odağı olsun veya olmasın, hastaların hemen hemen yarısında ateş ortaya çıkar. Nütrofil sayıları  $1000/\text{mm}^3$ 'ün altındaki hastaların 1/5'inde bakteriyemi mevcuttur. Nütrofil sayısı  $100/\text{mm}^3$ 'ün altındaki hastaların hemen hepsinde ateş görülür. Nütropenik hastalarda aksi ispat edilene kadar ateş enfeksiyona bağlı olduğu edilir. Nütropenik hastalarda enfeksiyonun seyri hızlı ve mortalitesi yüksek olduğundan tüm hastalara ampirik geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi başlanılır. Ateşsiz ve nütropenik ancak enfeksiyona ait klinik semptomları olan hastalara da febril nütropenik hastalar gibi geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi başlanılmaktadır.

Febril nütropenik hastaların enfeksiyon tedavisi parenteral antibiyotiklerle ve hastanelerde yapılması gerekmektedir. Bununla birlikte geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve hastanede yatış süresinin uzaması bu hastalarda süper enfeksiyon (genellikle dirençli bakteriler) ve ölüm riskini artırmaktadır.

Son zamanlarda hastalar risk durumlarına göre iki gruba ayrılmaktadır. Yüksek riskli gruplar hastanelerde, düşük riskli gruplar ise oral antibiyotik tedavisi ile ayakta takip edilmektedir. Böylece hem süper enfeksiyon riski hem de maliyetler azaltılmaya çalışılmıştır.

Nütropenik hastalarda görülen ateşlerde enfeksiyon riski ve nedeni ile ampirik antibiyotik kullanılmasına rağmen, çoğu zaman kültürlerde bir mikrobiyolojik etken veya bir enfeksiyon odağı saptanamamaktadır. Ateşi olan ancak gerçekte enfeksiyonu olmayan bu hastalarda ampirik antibiyotik kullanımı dirençli suşların ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Nütropenik hastalarda ortaya çıkan ateşin enfeksiyona bağlı olup olmadığını ortaya koymak amacı ile birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda enfeksiyonun erken bir belirteci olarak çoğunlukla bir akut faz proteini olan C-reaktif protein (CRP) üzerinde çalışılmıştır. Ancak son zamanlarda interlökinler ( IL-6, IL-8, IL-2R, vb.), prokalsitonin, tümör nekrozis faktör (TNF), mannose-Binding protein ile ilgili bir çok çalışma mevcuttur. Yapılan bazı çalışmalarda nütropenik hastalarda ateşin ortaya çıkmasından sonra alınan serum CRP ve sitokin düzeylerinin artışının enfeksiyon ile aralarında ilişki olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmanın amacı; kemoterapi alan akut miyeloblastik ve lenfoblastik lösemili hastalarda gelişen nötropenide; ateş ortaya çıkmadan önce ve sonrası dönemde CRP, IL-6 ve IL-8 düzeylerini tespit etmek ve ateşin infeksiyonamı yoksa başka nedene mi bağlı olduğunu araştırmaktır. Nötropenik hastalarda görülen ateşin etiyolojisini aydınlatmaya ve uygun tedavisini bulmaya çalışmaktır.



## GENEL BİLGİLER

### SİTOKİNLER

İmmün sistemin uyarıcılara karşı oluşan cevabında bir çok farklı mediyatör sentezlenmekte ve aktive olmaktadır. Bu mediyatörlerin büyük bölümünü sitokinler oluşturur. Sitokinler; çeşitli hücrelerde sentezlenmekte, karmaşık bir ağ yapısı oluşturarak immün yanıtta, inflamasyonda, hematopoezde, sistemler ve hücreler arasındaki biyolojik ilişkilerde ve temelde konağın zararlıya karşı savunmasında çok önemli görevler üstlenmektedir(1).

Belirli bir hücre tipi, birbirine sinerjik veya antagonist davranabilen birçok sitokini sentezleyebilir. Bu sitokinler, hedef hücrelerin ve olayın gelişim evrelerine göre değişebilen etkiler gösterirler. Örneğin potent bir immünosupresif sitokin olarak bilinen TGF- $\beta$ , olgunlaşmamış hücrelerle, istirahat halindeki hücrelerin büyümesini stimüle ettiği halde, aynı hücre populasyonları aktive olduklarında onları inhibe etmektedir(1,2).

Sitokinler aynı hücre tipini farklı indükledikleri gibi, çeşitli hücre tiplerine göre de farklı etkiler gösterebilmektedirler. Örneğin IL-1 hepatositlerde akut faz proteinlerinin, endotelde adezyon moleküllerinin, makrofajlarda prostoglandinlerin ve nitrik oksidin sentezini indükler. TGF- $\beta$ , IL-6 yapımını monositlerde, fibroblastlarda ve sinovyal hücrelerde baskıladığı halde; intestinal epitel hücrelerinde ve keratinositlerde uyarılmaktadır. Böylece sitokinlerin çoğu karşılıklı etkileşimlerden doğan birçok değişik fonksiyona aracılık etmektedir(1).

Monosit/makrofajlar hücreler proinflamatuvar sitokinler olan IL-6, IL-8 ve TNF $\alpha$  gibi immünolojik uyarıcılar; bununla birlikte IL-10; ve TNF- $\beta$  gibi baskılayıcı sitokinlerde salgılanmaktadır(3)

T hücreleri çeşitli etkileri olan sitokinler üretirler. T helper hücreleri (CD4+) ürettikleri sitokinlere göre Th1, Th2 hücreleri olarak ayrılabilirler. Th1 hücreleri

proinflamatuar sitokinler olduğu düşünölen IL2, IL3, INF $\alpha$ , TNF $\alpha$ , TNF $\beta$  üretirler. Bu sitokinler gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarında önemlidir. Virüslerin ve makrofajların intrasellöler enfeksiyonlarına karşı etkileri vardır. Buna karşın Th2 hücreleri IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 üretirler. Bu sitokinler B hücrelerinde antikor yapımını uyarırlar. CD8+ sitotoksik T lenfositler virüsler tarafından enfekte olmuş hücreleri tahrip eder ve proinflamatuar, antiviral sitokinler (INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ ) üretirler. Sitokinler aynı zamanda immün hücre öncüllerinin proliferasyonunda ve farklılaşmasında aktif rol alırlar(1,2,3).

Öncelikle hemen hemen tüm sitokinler kemik iliğinde üretilirler. Bir çok sitokinin düşük konsantrasyonları stroma supernatantlarında bulunur. İn vitro ve stromal hücre yokluğunda nanogram konsantrasyonunda sitokinler progenitör hücre proliferasyonunu uyarırlar. Stroma kültürlerinde (ve in vivo serumda) picogram konsantrasyonlarında sitokinler progenitör büyümeyi nasıl etkiler? Olasılıkla farklı değışik konsantrasyonlarda bir çok büyüme faktörü progenitör hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını indükler. Ayrıca büyüme faktörleri glikozaminoglikanlar gibi ekstrasellöler matriks komponentlerine bağlanabilir ve konsantre edilebilirler. Sonuçta sitokinlerin lokal mikroçevredeki konsantrasyonları dolaşımdaki veya kültür supernatantlarındakinden daha yüksek olabilir. Sitokinlerin ekstrasellöler matriks komponentleri ile ilgili onları biyolojik olarak daha aktif hematopoetik progenitör hücre haline getirir. Salgılanan sitokinlerin dışında stromal hücrelerde membrana bağlı formda sitokinler üretilir. Onlar stromal supernatantlar içinde ölçülemez. Membrana bağlı sitokin isoformları solubl formlardan daha aktiftir. Sonuç olarak hematopoetik progenitör hücre ve stromal hücre veya ekstrasellöler matriks komponentleri arasındaki adhezif etkileşmeler düşük konsantrasyonlardaki sitokinlerin progenitör yanıtını artırır(4,5). Kırtan fazla progenitör, proliferasyon ve/veya farklılaşmayı sağlayan sitokin olduğu bilinmesine ve başka sitokinlerin bu yolu inkübe

ettiği bilinmesine rağmen normal hemopoetik yolun nasıl düzenlendiği halen bilinmemektedir. Örneğin eritroid hücreler dışında diğer kan komponentleri hemopoetik kök hücre(HCS) ve hemapoetik progenitör hücre(HPC) tarafından ihtiyaca göre arttırılmasını nasıl algıladığı bilinmemektedir(6). Ayrıca yeterli matür kan elemanın olduğu ve daha fazla proliferasyona ihtiyacın olmadığı HPC ve HSC tarafından nasıl öğrenildiği de bilinmemektedir. Tahmin edilen bir mekanizmaya göre, diğer biyolojik sistemlerde görülen kontakt inhibisyon gibi progenitör proliferasyonunun kontakt reaksiyonu olabilir(3).

Antijenik uyarının sitokin yapımını tetiklemesi ile birlikte, doğal olarak, spesifik sitokin reseptörlerinin ve antagonistlerinin ekspresyonu da uyarılır. Sitokin sinyalizasyonu hücrede reseptörler aracılığı ile gerçekleşir. Sitokin reseptör ligandına çok yüksek bir affinite ile bağlanır. Bu nedenle, mililitrede pikogramla ölçülen çok düşük sitokin miktarının bile, az sayıda reseptöre bağlanması biyolojik etkinin indüklenmesi için yeterli olabilir. Sitokin reseptörlerinin bir bölümü membrana bağlı olarak sitokin sinyalizasyonunda görev alırken (pozitif etki), ekstraselüler olarak bulunan büyük bir bölümü de solübl sitokin reseptörleri halinde serbest sitokin moleküllerini bağlayarak sinyalizasyonu bloke edebilir (negatif etki)(2,3).

Sitokinlerin, normal veya orta şiddetteki immün ve inflamatuvar yanıtlarda lokal etkileri vardır. İmmün sistemin aktivasyonu, çoğunlukla lokal bir olay olarak ortaya çıkar. Örneğin çok defa bu belirli bir lenf nodunun drene olduğu infeksiyon yeridir. Düşük düzeyde antijenik stimülasyon sadece çok az sayıda T hücresinin antijenle reaksiyona girmesine ve sitokin salgılamasına neden olabilir. Ama bu gerekli immün yanıtın yetersizliği anlamına gelmez. Çünkü immün sistemin hücreleri kendi sitokinlerini oldukça büyük miktarlarda sekrete edebilirler. Bir T hücresinin 10 bine kadar varabilen sayıda hedef hücrenin proliferasyonuna yetecek miktarda IL-4 yapabileceği gösterilmiştir.



Böylece bir yerde yüksek düzeyde sitokin oluşturan bir hücre, yakın komşuluk gösteren bir çok hücreyi etkileyebilir (parakrin etki). Eğer bu etkiler pozitif bir amplifikasyon döngüsü oluşturmuşlarsa, tek bir hücrenin tetiklemesi belirgin bir immün reaksiyonun oluşmasına imkan verebilir. Nitekim, ölçülebilir düzeydeki geç tipte aşırı duyarlık reaksiyonunun tek bir T hücresi ile indüklenebileceği gösterilmiştir. Organizma, immün yanıtları sadece gerektiği yerde oluşturarak, sistemik yanıtlar sırasında aşırı düzeyde sentezlenen sitokinlerin potansiyel zararlı etkilerinden korunmuş olur(1,3).

Organizmada, immün savunma mekanizmalarının işlemedeki temel strateji etkenin (yani zararlıının) elimine edilmesini, konak-etken savaşının gelişigüzel biçimde alevlendirerek değil, oluşan immün reaksiyonların konağın kendisini hasarlamasına mümkün olduğunca meydan vermeyerek sağlamayı hedefler. Çünkü immün yanıtın aşırılığı homeostazı riske sokar. Bu nedenle sitokin havuzu içindeki çapraz inhibitör veya sinerjik-antagonistik veya pozitif-negatif “feed-back” etkilerin birlikte oluşturdukları dengeli fakat yeterli bir immün yanıtın elde edilmesi esastır(1).

Günümüzde sitokin seviyesi ölçümleri deneysel amaçlı yapılmaktadır. Bununla birlikte, hastalığın durumu ile artmış sitokin düzeyi arasındaki ilişkiden dolayı sitokin üretimini veya etkilerini azaltacak deneysel yaklaşımlar ve tedavi amaçlı sitokin uygulamaları mümkün olabilir(1).

Sitokinlerin yarılanma ömürleri farklıdır, hızla kullanılıp tüketilerek veya idrarla atılırlar. Bu yüzden proinflatuvar sitokinlerin ölçümlerinin zamanı çok önemlidir. Örneğin sepsiste, yarılanma ömrü kısa olan TNF- $\alpha$ 'nın, dolaşımında ilk saatler içinde bulunduğu ve hızla azalarak kaybolduğu bilinir(7). Buna karşılık yarılanma ömrü daha uzun olan IL-6, TNF- $\alpha$ 'ya yanıt olarak salınır ve TNF- $\alpha$  salınmasından saatler sonra, yani TNF- $\alpha$ 'nın normale dönmüş bulunduğu sırada pik yapar(8). Ölçüm sırasında sitokinin plazma düzeyi düşmüş olabilir. Sitokinlerin hücreden dış ortama salınımında farklılıklar

vardır. Ayrıca ölçülen aktif sitokin düzeyinin hangi hücre popülasyonundan meydana geldiğini ve o sırada hangi hücrelerdeki hangi fonksiyonlara yönelik olduğunu belirlemek pratik olarak mümkün değildir(1).

Günümüzde sitokinleri ölçen spesifik monoklonal, poliklonal antikorlar, enzimatik ve kolorimetrik veya radiometrik metodlara dayanan ticari kitler vardır. Bununla birlikte yaygın olarak çoğu sitokinler ELİSA teknolojisi ile ölçülmektedir(1,2,3).

Sitokinler plazmada, serumda, çeşitli vücut sıvılarında ve periferik kan mononükleer hücre kültürlerinin süpernatantlarında ölçülebilir. Örneklerin toplanmasında standart bir teknik mevcut olmadığı halde genellikle parçalanmadan korunmak için örnekler toplandıktan hemen sonra dondurulmalı veya sıvılar hücrelerden ayrılmalıdır. Serum düzeyi ölçümlerinde; pıhtılaşmaya bağlı sitokin salgılanması uyarılabildiği için zorluklar vardır. Bundan başka çoğu sitokin lokal etki gösterdiği ve çok kısa yarı ömre sahip olduğundan, sabit plazma ölçümleri lokal olayları yansıtmayabilir. Kan, diğer vücut sıvıları ve lenfoid dokulardan izole edilen hücrelerin kültürleri uyarılarak sitokin yanıt profili değerlendirilebilir(1,3).

### **Interlökin-6**

Interlökin-6 (IL-6) T ve B hücreleri, monosit/makrofaj, fibroblast, endotel hücreleri, keratinositler gibi çeşitli immün ve nonimmün bir çok hücre tarafından üretilebilirler. IL-1 ve TNF sitokinler gibi bir çok uyarıcı ajan IL-6 üretimini tetikler. Glukokortikoidler IL-6 üretimini baskılayabilir. IL-6 reseptörleri bir çok hücre tipinde gözlenebilir, bunların içinde T hücreleri, monosit/makrofajlar, aktive B hücreleri, nötrofiller, hematopoetik öncül hücreler ve hepatositler vardır. IL6 aktive B hücrelerinde farklılaşmayı ve immünglobin sekresyonunu başlatır(9).

IL-6 geni 7. kromozomun kısa kolunda yer alır ve 21-26 kDa protein olarak kodlanmıştır. Bu gen fibroblast, endotel hücreleri, T hücreleri, monosit/makrofaj gibi

değişik heterojen hücre gruplarında bulunmakta, IL-1, TNF- $\alpha$ , mitojenler ve endotoksin ile indüklenmektedir. IL-6 reseptörü 80 kDa- $\alpha$  ve 130 kDa- $\beta$  subüniti içeren bir heterodimerdir. Solubl IL-6 reseptörlerinin IL-6 aktivitesini etkileyebileceği gösterilmiştir. IL-6 solubl IL-6 reseptörüne bağlanmakta ve bu kompleks gp130'ı etkilemekte, böylece uyarıların iletilmesi sağlanmaktadır(10).

IL-6'nın biyolojik aktivitesi oldukça geniştir. IL-3 ile beraber, CFU-GEMM ve BFU-CSF'inin, IL-4 ve G-CSF ile beraber GM koloni gelişmesinde sinerjistik etki gösterir. Ayrıca IL-4 ile beraber T hücre proliferasyonuna, IL-2 ile immünglobulin sekresyonunu indükler. IL-6 hem in vivo ve hem de in vitro olarak potent bir megakaryopoetik faktördür. IL-6 deneysel olarak hayvanlara verildiğinde megakaryosit maturasyonunu hızlandırıp, trombosit sayısını artırmaktadır(11). Kronik inflamatuvar durumlara eşlik eden reaktif trombositozda IL-6 humoral bir mediatördür(10).

Rekombinant olarak üretilen human IL-6'nın insan hematopoetik progenitör hücreleri üzerine direkt proliferatif etkisi gösterilmemiştir. Malign lenfoid ve miyeloma hücresi için otokrin ve parakrin büyüme hormonudur. IL-6 in vitro nöral hücrelerin farklılaşmasını etkilerken, in vivo major pirojen olup, rekombinant insan IL-6R ile premedikasyon yapılanlarda bu etkisi bloke olmaktadır(10,12). IL-6 defekti hematopoetik stem koloni gelişimini etkiler. Farelerde yapılan çalışmalarda IL-6'nin IL-10 gibi esansiyel bir anti-inflamatuvar bir sitokin olduğu ve inflamatuvar yanıtı modüle ettiği gösterilmiştir(11).

T hücrelerini, IL-6 diğer ajanlarla birlikte aktifleme ve sitokin ekspresyonunu başlatmada sinerjistik etki gösterir. T hücreleri, mezenkimal hücreler ve keratinosit gibi hücre tiplerinde hücresel proliferasyon IL-6 tarafından tetiklenebilmektedir. Buna karşın IL-6 M1 miyeloid lösemik hücreler ve kronik lenfositik lösemi B hücrelerinin büyümesini inhibe edebilmektedir. Hepatositlerce oluşturulan akut faz yanıtı, IL-6 tarafından

tetiklenebilmektedir. Bunlara ilaveten menapozda östrojen azalmasından sonra oluşan IL-6 üretimindeki değişimler, osteoporoz gelişimi ile ilişkilendirilmektedir. Artmış IL-6 düzeyleri otoimmün hastalıklar, mezenkimal proliferatif glomerülonefritler ve plazmasitoma gibi çeşitli hastalık durumlarına eşlik etmektedir. Solubl IL-6 reseptörü normal insan serumunda bulunabilmektedir, IL-6 düzeyi arttıkça bunun konsantrasyonunda artmaktadır. IL-6 düzeyleri ELİSA yöntemi ile ölçülebilmektedir(10,13).

### **İnterlökin-8**

Kemotaktik sitokinlere kemokin denir. Kemokinlerin sitokinlerden farkı yedi transmembran G-proteini ile ilgili reseptörlere bağlanmasıdır. Sistin rezidü komponentlerinin içeriği ve lokalizasyonuna göre 3 aileyi ayrılırlar (  $\alpha$  veya CXC,  $\beta$  veya CC ve  $\gamma$  veya C ). Bu proteinler biyolojik olarak sitokin olarak tanımlanmalarına rağmen kemotaksis üzerine etkilidirler. Bazı istisnalar olmasına rağmen, genellikle kemokinlerin kemotaktik aktiviteleri alt tiplerine göre çeşitlilik gösterir. Başka bir deyişle  $\alpha$  ailesi granülositler (nötrofil, eozinofil ve bazofil),  $\beta$  ailesi mononükleer fagositler ve lenfositler için,  $\gamma$  ailesi de yalnızca lenfoid hücreler için kemotaktiktir. Ayrıca bu moleküllerin hücre adezyonu, anjiogenezis, inflamatuvar yanıtı ve hematopoezin feed-back kontrolünde de rol aldıkları gösterilmiştir(10,13).

İnterlökin-8 (IL-8) düşük molekül ağırlıklı, sitokinler tarafından uyarılan ve bir çok hücre tarafından üretilen bir 11 kDa  $\alpha$  kemokindir. Sekresyondan sonra matür IL-8 polipeptidinin N-terminal ucundan 69-79 amino asit uzunluğunda birkaç aktif ürüne bölünür. İki farklı IL-8 reseptörü vardır ve bunların yapısındaki amino asitlein %75'i benzerdir. TipI IL-8 reseptörleri IL-8 i daha yüksek affinite ile bağlarken TipII reseptörler hem IL-8 hemde growth related sitokini (GRO- $\alpha$ ) yüksek affinite ile bağlar ve MIP2 yi düşük affinite de bağlar(10,13).

Monosit, lenfosit, nötrofil, endotel ve fibroblast gibi çeşitli hücreler IL-8 üretir. IL-8 ekspresyonu virüsler ve bakteri gibi eksojen ajanlarla tetiklenebileceği gibi IL-1 ve TNF gibi endojen sitokinlerle de tetiklenebilir. Glukokortikoidler, IL-4, TGF- $\beta$  IL-8 supresyonunu sağlayabilirler(13).

IL-8 ve diğer kemokinler kemotaktik ve hücre aktive edici proinflamatuvar moleküllerdir. IL-8 nötrofil için kemotaktiktir ve bunların degranülasyonunu tetiklerken oksidatif patlamayı uyarmaz. Bu hücrelerin adezyon molekül ekspresyonunu artırır. Diğer etkileri; bazofil kemotaksisini, melanom hücrelerinin büyümesini ve anjiogenezi sağlamaktır. IL-8'in psöriasis ve diğer deri hastalıkları gibi inflamatuvar durumlarda arttığı bilinmektedir(10).

IL-8 mononükleer fagositler, endotelial hücreler, fibroblastlar ve diğer bağ dokusu hücreleri tarafından salgılanır. Ayrıca IL-1, TNF ve diğer çeşitli inflamatuvar ve proinflamatuvar sitokinlerin uyarısına yanıt olarak ta nötrofiller tarafından üretilir. İnflamatuvar cevabı düzenlemek için IL-8; sitokinler tarafından da (örneğin IL-10) baskılanabilmektedir(10).

### **C-REAKTİF PROTEİN**

Normalde serumda çok düşük miktarlarda (<1 mg) bulunan C-reaktif protein (CRP) karaciğerde sentezlenir ve çok duyarlı bir iltihap göstergesidir. CRP sentezi esas olarak makrofajlardan salgılanan IL-6 ve IL-1 tarafından uyarılır. İlk olarak 1940'larda pnömokok C-polisakkaridine karşı antikor yapımı araştırılırken bulunup, CRP ismini almıştır. Daha sonraları CRP'nin pnömokok enfeksiyonları dışındaki diğer enfeksiyonlarda ve doku nekrozu gelişen durumlarda da arttığı tespit edilmiştir(14,15).

CRP'ye uzun yıllar aglütinasyon yöntemi ile semikantitatif olarak bakılmıştır. Son yıllarda kantitatif olarak; immünodiffüzyon, ELISA, nefilometrik olarak bakılmaktadır. Normal serum konsantrasyonu; doğumda 100 ng/ml, çocuklarda 170 ng/ml, erişkinlerde

470-1340 ng/ml dir. Bu düşük konsantrasyonlara rağmen CRP oldukça spesifik bir akut faz reaktandır. CRP'nin romatolojik hastalıkların tanısında ve takibinde önemli bir yeri vardır. CRP sıklıkla otoimmün hastalıkların remisyon ve progresyonunun takibinde kullanılır(14).

Bazı hastalıklarda belirgin olarak yükselir. Bu hastalıklar; akut romatizmal ateş, romatoid artrit, juvenil romatoid artrit, ailesel akdeniz ateşi, reaktif artritler, psöriatik artrit, ankilozan spondilit, vaskülitler, miyokard infarktüsü ve bakteriyel enfeksiyonlardır(14).

## **NÖTROFİL REGÜLASYONU**

Kemik iliği nötrofiller için mitoz, olgunlaşma ve depo yeridir. Kemik iliği dışında, nötrofiller dolaşımında vasküler endotel cidarında ve dokularda bulunur. Nötrofiller kemik iliğinden dolaşıma geçtikten 3-6 saat sonra dokulara göçerler(16). Granülosit üretimini, kemik iliğinden kana ve dokuya geçişini düzenleyen ve birbirleri ile kompleks etkileşimleri olan faktörler vardır. Granülositler, eritrosit, megakaryosit eozinofil, bazofil ve monositlerin de meydana geldiği ortak kök bir hücreden (progenitör) oluşur(16,17). Hematopoez biyolojisi kompleks bir sistem olup bir grup sitokin aktivitesi tarafından düzenlenir. Hematopoetik kök hücreler normalde kemik iliğinde istirahat fazında bulunur. Erken kök hücrelerin istirahat fazından çıkmalarını ve proliferasyonunu sağlayan sitokinler; stem cell faktör, trombopoietin, FLT3 ligand, IL-11. G-CSF ve IL-6'dan oluşur(43). Sırasıyla granülositik, monositik ve eritroid serinin farklılaşmasına neden olan G-CSF, M-CSF ve eritropoietinin etkileri esnasında IL-3 ve GM-CSF geç progenitör hücrelere etki ederler. Bu sitokinlerin bir kısmı kompleman komponentleri ile birlikte granülositlerin kemik iliğindeki depolarından salgılanmalarına neden olur. Sonuçta 4-5 saat içinde granülosit sayısında 2-3 kat artış olabilir. Bu süre zarfında periferik dolaşımdaki granülositlerin yarısından fazlası vasküler damar cidarına yapışır. Stres durumlarında damar cidarına yapışan granülositlerin hemen hepsi derhal dolaşıma salınır(16,17). Epinefrin bu etkiyi kısmen olarak uyarır. Marjinasyonun spesifik reseptörler tarafından

uyarıldığı açıktır. Nötrofil yüzeyinde yer alan L-selektin hücreyi damar cidarına bağlar. Ayrıca E-selektin ve P-selektin bu dönemde rol oynayabilir. Bazı deneysel çalışmalar nötrofil üretim düzenlenmesinde bir inhibitör feedbackin olduğunu göstermektedir. Nötrofil spesifik granüllerinde yer alan laktoferrin colony-stimulating faktörlerin üretimini baskılar. Böylece granülosit sayısı arttığında nötrofil üretimi kesintiye uğratılır. Asidik izoferritinlerde bu regülasyona katılabilir(16).

Kilogram başına düşen  $1.2 \times 10^9$  granülositin yaklaşık %20 si miyeloid prekürsör havuzda, %75'i kemik iliği depo havuzunda, %3'ü damar cidarında ve %2'si ise periferik dolaşımda yer alır. Normalde bir günde vücut kilogramı başına  $1.5 \times 10^9$  granülosit üretilir. İnflamatuvar uyaran varlığında bu yapım artar. Granülositler kemik iliğinde 9 gün, periferik dolaşımda 3-6 saat ve dokularda ise 1-4 gün kalır. Böylece periferik dolaşımda ölçülen granülosit sayısı bu havuzlarda yer alan total granülositlerin %5'ini yansıtır(16).

Nötrofili ve nötropeni değerlendirilmesinde üretim değişiklikleri yanında nötrofillerin bir kompartmandan diğer kompartmana geçişide dikkate alınmalıdır. Böylece nötrofili enfeksiyon veya miyeloproliferatif bir hastalıkta olduğu gibi üretim artışı sonucu olabilir veya kemotaktik bozukluklar ve steroid tedavisinde olduğu gibi dolaşımdan dokuya geçişinin inhibisyonu sonucu olabilir(16).

Nötropeni üretim azalması veya marjinyasyon, dokuya geçiş ( sistemik kompleman aktivasyonu veya yanıklar gibi) ve yıkım artışı (örneğin immün nötropeni) sonucu olabilir. Bu sürecin evaluasyonu periferik kan ve kemik iliği incelenmesi ile sınırlıdır. Her ne kadar ileri teknikler varsa da bunlar klinik kullanım için uygun değildir. Benzer olarak, salınabilir kemik iliği depo havuzu ve marjinal havuzu yansıtan hidrokortizon veya epinefrin stimülasyonu gibi klinik testlerin ayırt etme güçleri sınırlıdır(16).

## FEBRİL NÖTROPENİ

Klinik olarak nütropeni periferik kanda polimorfonükleer ve bant formu lökositlerin herhangi bir sayımda  $1 \text{ mm}^3$ 'te 500'ün altında veya 1000 altında olması ve 24 saat içinde 500'ün altına düşmesinin beklendiği durum olarak tanımlanmaktadır. Ateş ise tek bir oral ölçümün  $\geq 38.3^\circ\text{C}$  olması veya ateşin bir saat içinde  $\geq 38^\circ\text{C}$  devam etmesi olarak kabul edilmektedir(18).

Nütropenik hastaların belirgin bir enfeksiyon odağı olsun veya olmasın, hemen hemen yarısında ateş gelişir. Nütrofil sayıları  $1000/\text{mm}^3$ 'ün altındaki hastaların 1/5'inde bakteriyemi mevcuttur. Nütrofil sayısı  $100/\text{mm}^3$ 'ün altındaki hastaların hemen hepsinde ateş gelişir. Bir çok bakteri enfeksiyon etkeni olabilir. Enfeksiyon nedeni ile geniş spektrumlu antibiyotik alan hastalardaki sekonder enfeksiyon nedeni sıklıkla mantarlardır. Enfeksiyonlar için primer anatomik giriş yeri sıklıkla gastrointestinal sistemdir. Bununla beraber özellikle kateter uygulamaları gibi invazif girişimler enfeksiyon etkenleri için ikinci sıklıktaki giriş yerleridir(18).

Ciddi nütropenik hastalarda semptom ve bulgular minimal veya hiç olmayabilir. Cildin bakteriyel enfeksiyonlarında eritem, endürasyon ve püstülasyon yoktur veya minimaldir. Solunum sistemi enfeksiyonu olan hastaların radyografilerinde infiltrasyon izlenmeyebilir. İdrar yolu enfeksiyonu olanlarda da piyüri olmayabilir. Bununla beraber bu hastalarda dikkatli anamnez ve fizik muayene ile olası enfeksiyon odağı aranmalıdır. Özellikle periodontium, farenks, alt özefagus, akciğerler, gözler (fundus), cilt, kateter uygulanan bölge ve kemik iliği aspirasyonu yapılan bölge enfeksiyon odağı açısından değerlendirilmelidir. Enfeksiyon odağı olarak düşünülen bölgeden uygunsa kültür için materyal alınmalıdır. Herhangi bir enfeksiyon odağı saptanamamışsa periferik damardan, varsa kateterden de kan kültürü alınmalıdır(18).



Genel değerlendirme için hastaların fizik muayeneleri yapılmalı, tam kan sayımları, serum BUN, kreatinin, transaminaz düzeyleri, akciğer grafileri alınmalıdır. Nötropenik hastalarda enfeksiyonun seyri hızlı olduğu için ateşin saptanmasından sonra ampirik antibiyotik tedavisine başlanmalıdır. Afebril nötropenik hastalarda enfeksiyon ile uyumlu semptom veya bulgular varsa bu hastalarada ampirik antibiyotik tedavisine başlanmalıdır.



## MATERYAL VE METOD

Çalışma Kasım 2001-Şubat 2002 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Hematoloji Bilim Dalında yatan, akut lösemi (akut miyeloblastik ve lenfoblastik lösemi) tanısı ile izlenen ve kemoterapi verilen hastalarda prospektif olarak yapıldı. Çalışmaya 15 hasta alındı. Bunların 9'u akut miyeloblastik (AML), 6'sı akut lenfoblastik lösemi (ALL) idi. Hastaların 6'sı erkek, 9'u kadındı.

Çalışmaya alınan akut lösemili hastalara kemoterapileri verilmeden önce; olası bir infeksiyon yönünden fizik muayeneleri yapıldı, akciğer ve sinüs grafileri çekildi, kalıcı santral kateterleri olanlarda kateter giriş yeri veya tünel infeksiyonu açısından değerlendirildi. Ateşi olan veya infeksiyon düşündürecek tablosu olanlar çalışmaya alınmadı.

Hastalardan kemoterapi öncesi, sonrası nötropenik (PNL  $<500/\text{mm}^3$ ) afebril, febril nötropeni (PNL  $<500/\text{mm}^3$ ) ve tedavi sonrası nötrofil sayısı  $>500/\text{mm}^3$  olduğu dönemlerde CRP, interlökin-6 ve interlökin-8 düzeylerinin ölçümü için toplam dört defa kan örneği alındı. Ateşin tek bir ölçümde  $\geq 38.3^\circ\text{C}$  olması veya bir saat içinde  $\geq 38^\circ\text{C}$  devam etmesi durumunda hastalar febril kabul edildi.

Febril nötropeni gelişen hastalarda olası infeksiyon odağı arandı. Kan kültürleri; periferik damardan, varsa kateterlerinden alındı. Akciğer grafileri çekildi. Febril nötropeni kabul edilen hastalara geniş spektrumlu antibiyotik kombinasyon tedavisi (antipseudomonal penisilin+ aminoglikozit) başlandı. Kültürlerinde infeksiyon ajanı üreyen hastalara uygun antibiyotikle tedavileri devam edildi. Antibiyotik tedavisi sonrası infeksiyonları düzelen hastalardan PNL $>500/\text{mm}^3$  olduğu dönemlerde çalışma için kan örnekleri alındı.

CRP için alınan kan örneği aynı gün çalışıldı. İnterlökinler (IL-6, IL-8) için kan örnekleri kuru steril tüplere alındıktan hemen sonra 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Alınan serumlar analiz süresine kadar  $-40^\circ\text{C}$ 'de saklandı.

## **SİTOKİN ANALİZİ**

IL-6 ve IL-8 testleri için Diagnostik Products Corporatior (DPC)/Los Angeles firmasının ürettiği ticari kitler ve bu kitleri kemiluminisans yöntemle çalışan Immulite One model otoanalizör kullanıldı.

Immulate system testlerinin çalışma yöntemi, solid fazda çalışan iki basamaklı immünometrik yöntemlerdir. Immulate test ünitesinde, polistren boncuktan oluşan bu solid faz kitler bin antiligand ile kaplıdır. Serumlar direkt olarak numune şeklinde kullanılmaktadır. Bu numuneler alkalen fosfataz konjuge monoklonal antikor ve ligand-labeled antikor 37°C'de 30-60 dakika süreyle, aralıklı çalkalanarak inkübe edilirse numunedeki interlökinlerin herbirisi, sitokin molekülünün farklı epitoplarnı tanıyan bu iki antikor sandiviç kompleksi oluştururlar. Sandiviç, 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 ışık emisyonunu sürdürür ve multipl okumalar için pencere oluşmasını sağlar. Bağlı kompleks, böylece luminometre ile ölçülen foton salınması numunedeki sitokin konsantrasyonu ile orantılıdır.

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

Otoanalizöre düşük ve yüksek konsantrasyonlardaki kalibratörler verilerek kalibre edildi. Kontrol serumları kullanıldığında değerlerin olması gereken sınırlar içinde olduğu görüldü. Bu kalibrasyon 10 gün süreyle geçerli idi.

## **C-REAKTİF PROTEİN**

CRP ölçümleri için kan örnekleri, immünonefilometri metodu ile (Behring Nephelometer 100 Analyser) günlük çalışıldı.

## **İSTATİSTİK**

Hastaların verileri Wilcoxon testi kullanılarak SPSS (Statistical Program for Social Science, version 8.0 Chicago, USA) programı ile yapıldı.  $P < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## SONUÇLAR

Çalışmaya alınan hastaların ortalama yaşları  $33\pm 13.06$  idi. Hastaların %60 (n=9) AML, %40 (n=6) ALL, %40 (n=6) erkek ve %60 (n=9) ise kadındı (Tablo-1).

**Lökosit:** Hastaların tedavi öncesi lökosit sayısı;  $4128,57\pm 1910,47/\text{mm}^3$ , lökopenik ateşsiz dönemde;  $771,43\pm 610,71/\text{mm}^3$ , febril nötroopenik dönemde;  $421,43\pm 286,43/\text{mm}^3$  ve tedavi sonrası;  $2140\pm 1507,17/\text{mm}^3$  idi.

**Nötrofil:** Hastaların tedavi öncesi ortalama nötrofil sayısı;  $2006\pm 1376,32/\text{mm}^3$ , nötroopenik ateşsiz dönemde;  $246,43\pm 289,13/\text{mm}^3$ , febril nötroopenik dönemde;  $121,43\pm 80,18/\text{mm}^3$  ve tedavi sonrası;  $854,29\pm 379,99/\text{mm}^3$  idi. Febril ve afebril dönemlerdeki ortalama nötrofil sayıları tedavi öncesi ve tedavi sonrasına göre anlamlı derecede düşük bulundu ( $p=0.001$ ). Tedavi sonrası ortalama nötrofil sayısı da tedavi öncesine göre istatistiksel olarak düşük bulundu ( $p=0.011$ ).

**IL-6:** Hastaların tedavi öncesi ortalama serum IL-6 düzeyi;  $7,44\pm 7,92$  pg/ml, nötroopenik ateşsiz dönemde;  $26,61\pm 24,30$  pg/ml, febril nötroopenik dönemde;  $61,02\pm 82,33$  pg/ml ve tedavi sonrası;  $13,31\pm 8,07$  pg/ml idi. Febril ve afebril dönemlerdeki ortalama serum IL-6 düzeyleri tedavi öncesine göre anlamlı derecede düşük bulundu ( $p=0.001$ ). Tedavi sonrası ortalama serum IL-6 düzeyi tedavi öncesi değerine yaklaşmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0.033$ ). Ancak afebril nötroopenik dönem ile febril nötroopenik dönemde alınan serum IL-6 düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ( $p=0.057$ ).

**IL-8:** Hastaların tedavi öncesi ortalama serum IL-8 düzeyi;  $26,11\pm 23,23$  pg/ml, nötroopenik ateşsiz dönemde;  $454,89\pm 1580,06$  pg/ml, febril nötroopenik dönemde;  $194,68\pm 296,02$  pg/ml ve tedavi sonrası;  $28,05\pm 20,82$  pg/ml idi. Febril ve afebril dönemlerdeki ortalama serum IL-8 düzeyleri tedavi öncesine göre anlamlı derecede düşük bulundu ( $p=0.012$ ,  $p=0.020$ ). Ancak afebril nötroopenik dönem ile febril nötroopenik dönemde alınan serum IL-8 düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ( $p=0.427$ ). Tedavi sonrası ortalama serum IL-8 düzeyi tedavi öncesi değeri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark bulunmadı ( $p=0.394$ ).

**CRP:** Hastaların tedavi öncesi ortalama serum CRP düzeyi;  $18,88\pm 9,76$  pg/ml, nötroopenik ateşsiz dönemde;  $85,78\pm 79,77$  pg/ml, febril nötroopenik dönemde;  $155,96\pm 58,67$  pg/ml ve tedavi sonrası;  $76,49\pm 53,53$  pg/ml idi. Febril ve afebril dönemlerdeki ortalama serum CRP düzeyleri tedavi öncesine göre anlamlı derecede düşük bulundu ( $p=0.001$ ,  $p=0.004$ ). Afebril nötroopenik dönem ile febril nötroopenik dönemde alınan serum CRP

düzeyleri arasında istatistiksel olarak farklı bulundu ( $p=0.012$ ). Tedavi sonrası ortalama serum CRP düzeyi tedavi öncesi değeri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı bulundu( $p=0.001$ ).

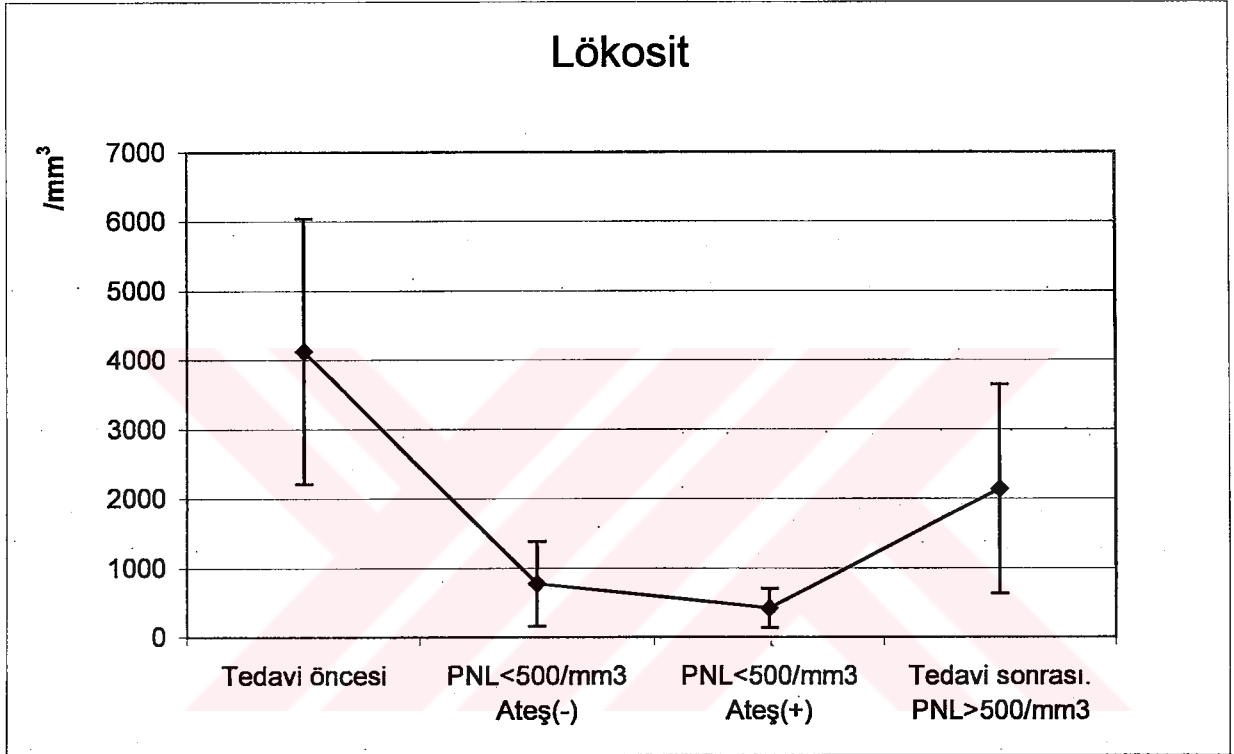
### **Kültür sonuçları**

Bütün hastalardan febril nütropenik dönemlerde kan, idrar, boğaz varsa kalıcı kateterlerinden kültürler alındı. Hastaların dördünün kan, birinde kalıcı kateterinden alınan kan kültürlerinde üreme oldu. Kateterden alınan hastanın kan kültüründe koagulaz negatif metisiline dirençli stafilokokus aureus (MRSA) üredi. Diğer kültürlerde koagulaz negatif MRSA, E.Coli, C.Jeilceum ve P.aureginosa izole edildi.

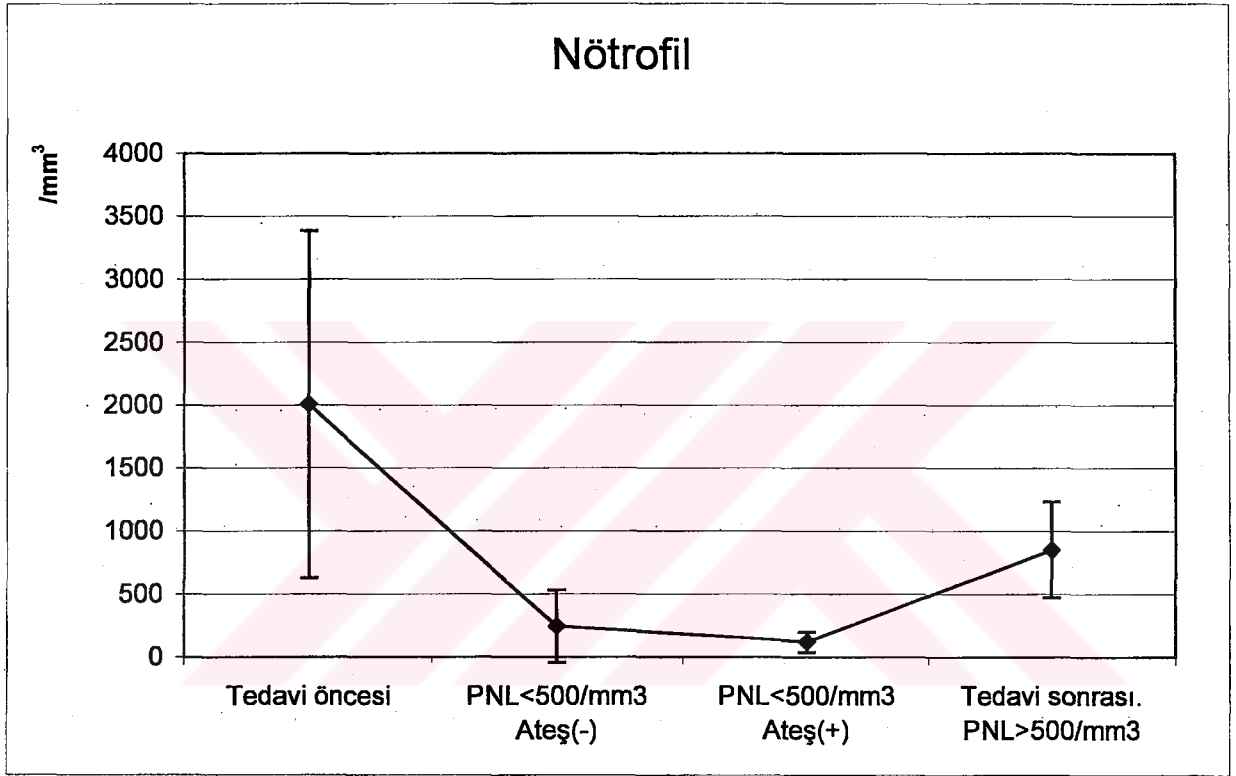


**Tablo 1: Hastaların ortalama serum IL-6, IL-8, CRP düzeyleri ve WBC, PNL sayıları**

	Tedavi öncesi	PNL<500/mm <sup>3</sup> Ateş (-)	PNL<500 mm <sup>3</sup> Ateş (+)	Tedavi sonrası
WBC/mm <sup>3</sup>	4128,57±1910,47	771,43±610,71	421,43±286,43	2140±1507,17
PNL/mm <sup>3</sup>	2006±1376,32	246,43±289,13	121,43±80,18	854,29±379,99
IL-6 pg/ml	7,44±7,92	26,61±24,30	61,02±82,33	13,31±8,07
IL-8 pg/ml	26,11±23,23	454,89±1580,06	194,68±296,02	28,05±20,82
CRP ml/dl	18,88±9,76	85,78±79,77	155,96±58,67	76,49±53,53

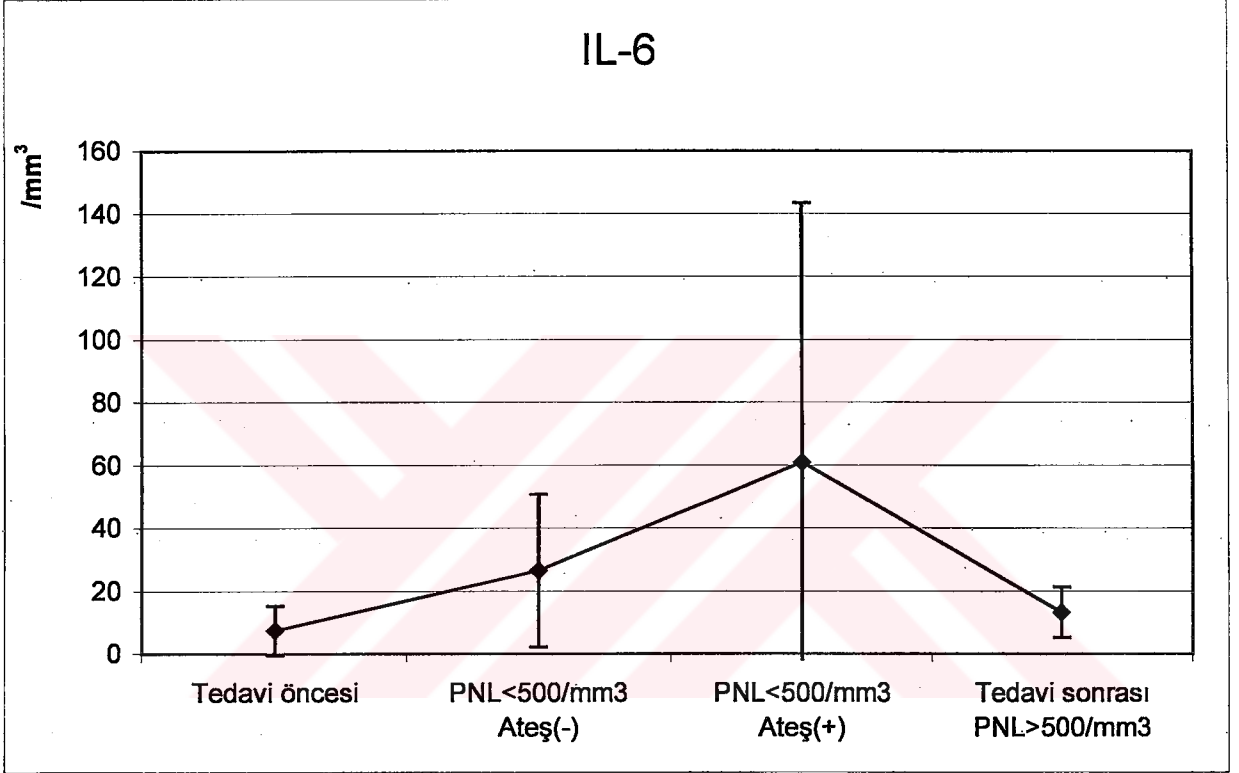


**Şekil 1:** Hastaların ortalama lökosit sayılarının tedavi öncesi, afebril, febril ve tedavi sonrasına göre değişimi.

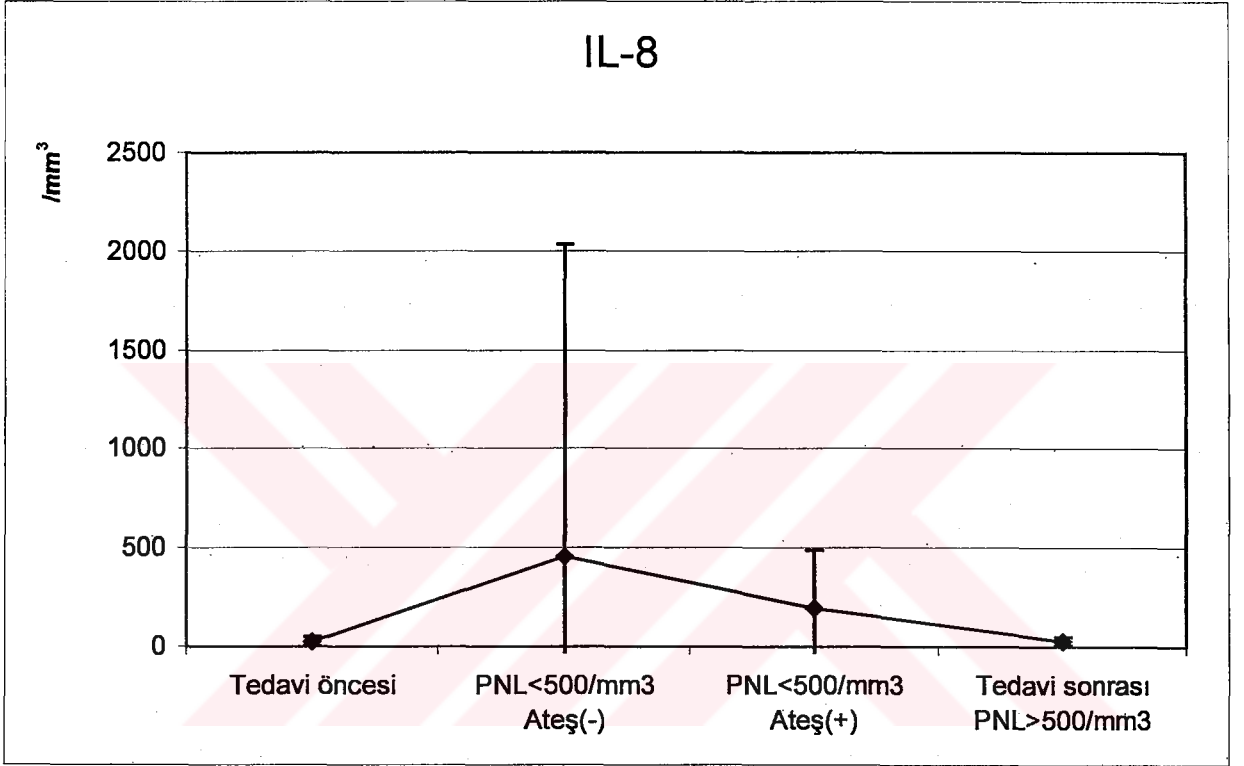


**Şekil 2:** Hastaların ortalama nötrofil sayılarının tedavi öncesi, afebril, febril ve tedavi sonrasına göre değişimi.

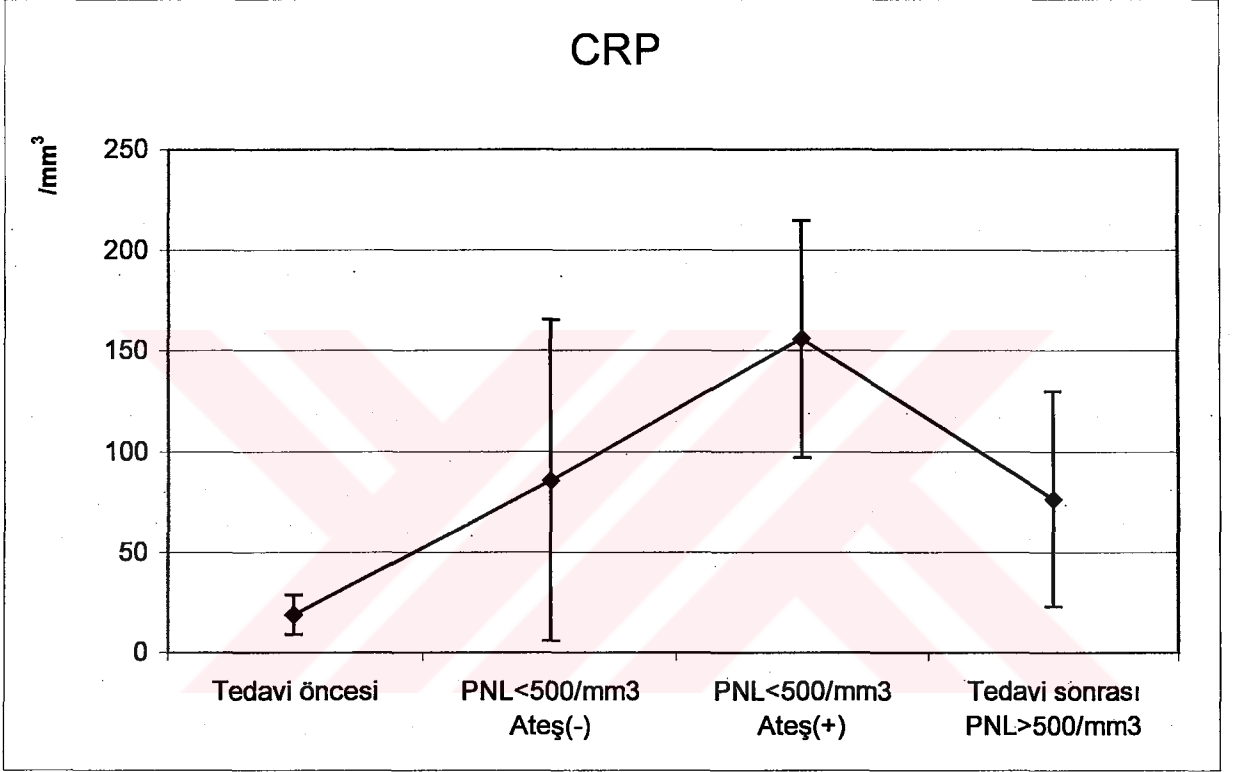




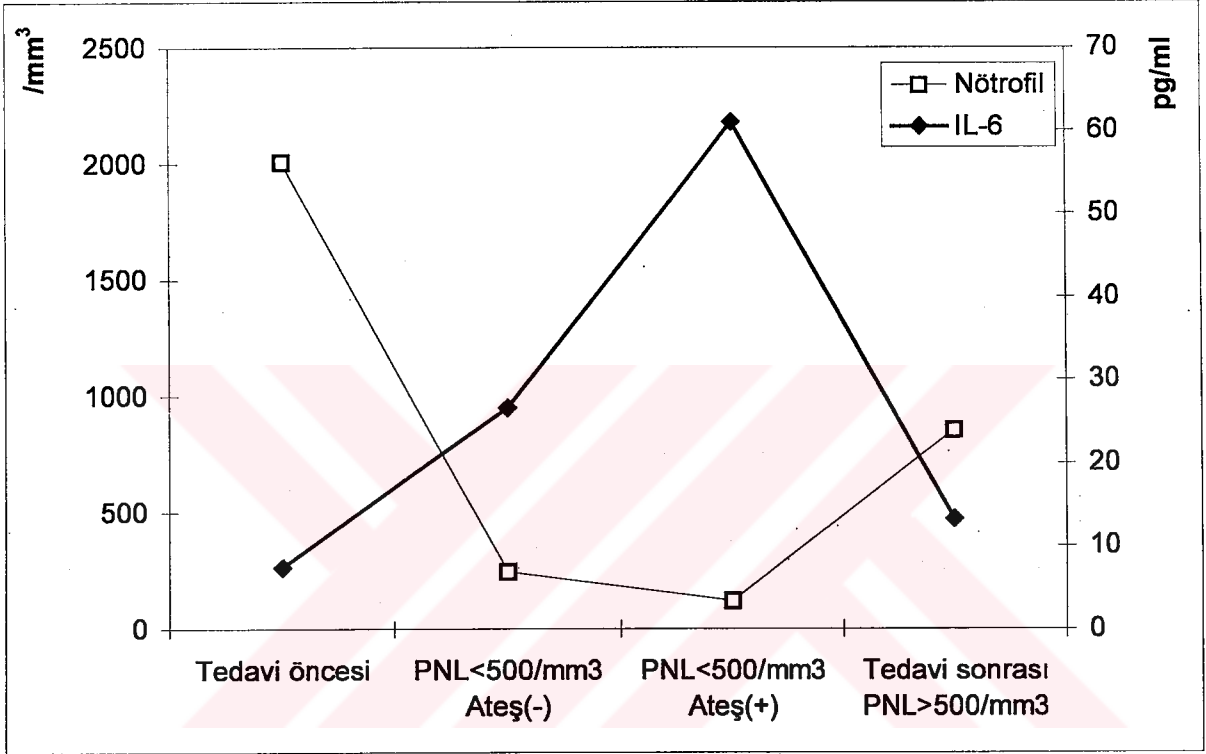
**Şekil 3:** Hastaların ortalama serum IL-6 düzeylerinin tedavi öncesi, afebril, febril ve tedavi sonrasına göre değişimi.



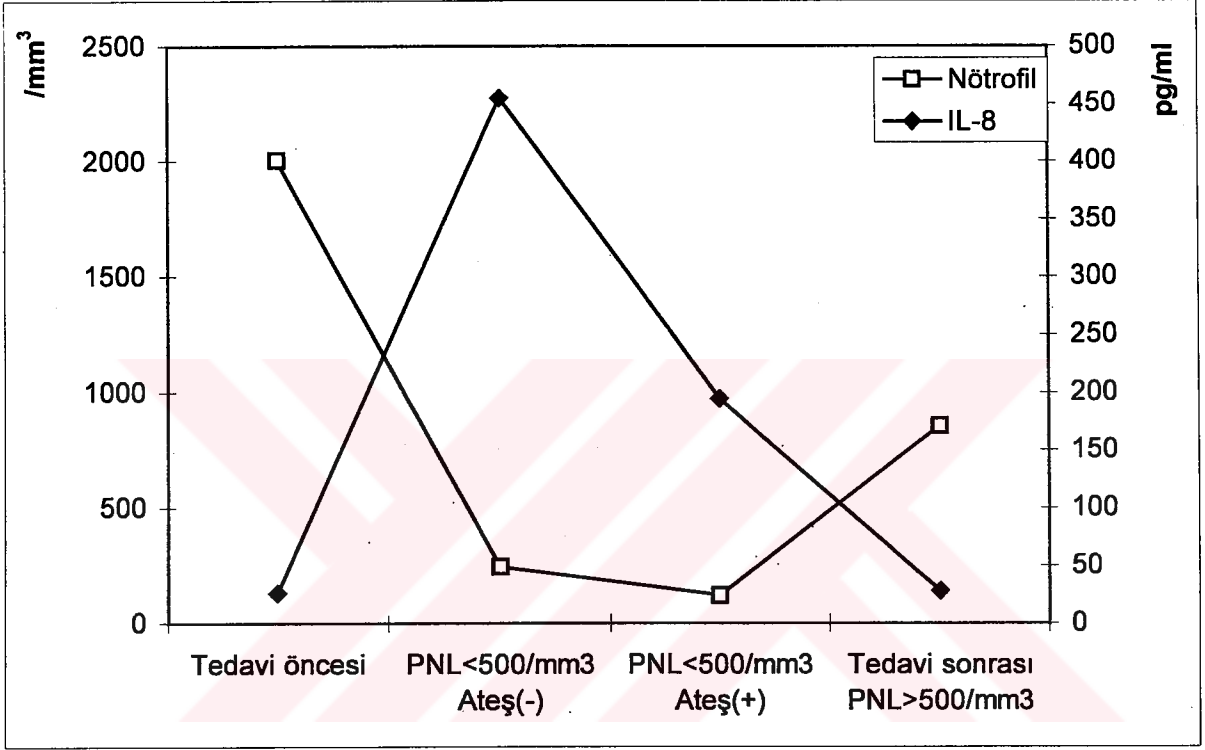
**Şekil 4:** Hastaların ortalama serum IL-8 düzeylerinin tedavi öncesi, afebril, febril ve tedavi sonrasına göre değişimi.



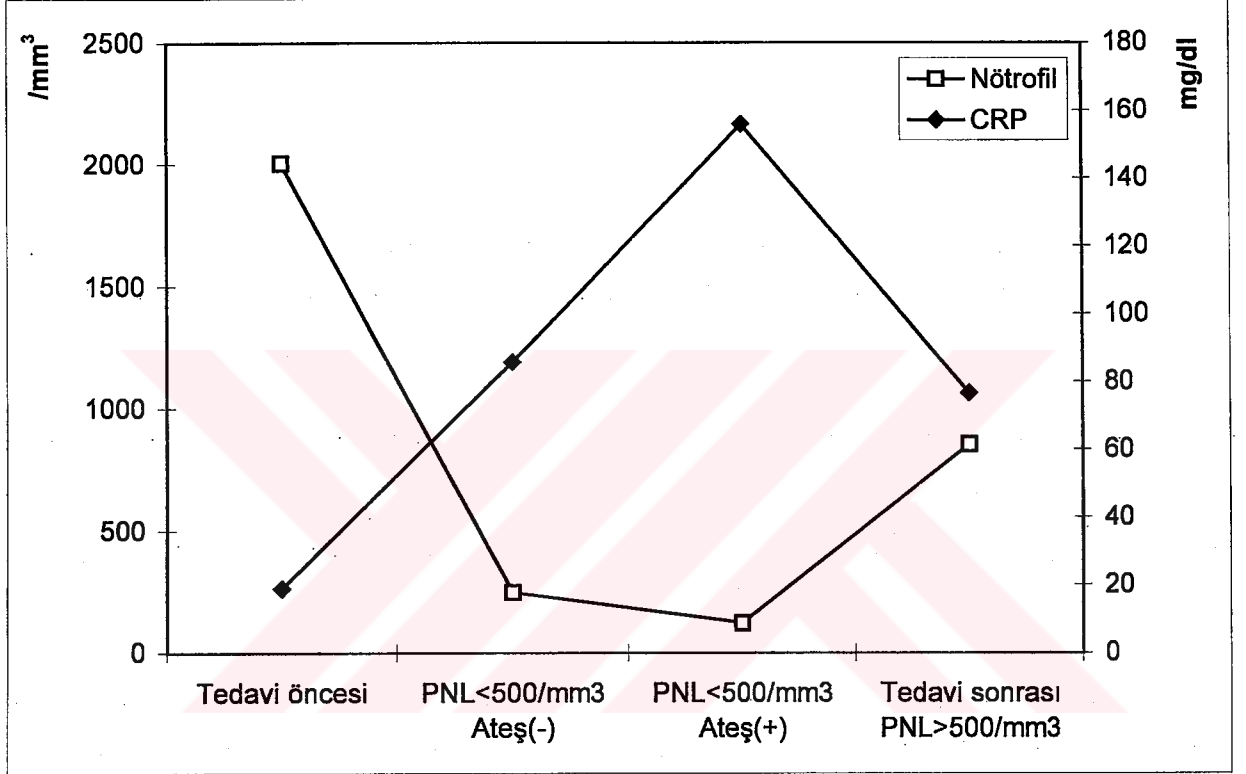
**Şekil 5:** Hastaların ortalama serum CRP düzeylerinin tedavi öncesi, afebril, febril ve tedavi sonrasına göre değişimi.



**Şekil 6:** Hastaların ortalama serum IL-6 düzeyleri ve nötrofil sayılarının tedavi öncesi, afebril, febril ve tedavi sonrasına göre değişimi.



**Şekil 7:** Hastaların ortalama serum IL-8 düzeyleri ve nötrofil sayılarının tedavi öncesi, afebril, febril ve tedavi sonrasına göre değişimi.



**Şekil 8:** Hastaların ortalama serum CRP düzeyleri ve nötrofil sayılarının tedavi öncesi, afebril, febril ve tedavi sonrasına göre değişimi.

## TARTIŞMA

Nötropenik kanser hastalarında ateş çeşitli nedenlerle meydana gelir. Ateş sıklıkla enfeksiyona bağlı olabileceği gibi, primer hastalığa veya kullanılan ilaçlara da bağlı olabilir. Ancak nötropenik hastalarda aksi ispat edilene kadar ateşin enfeksiyona bağlı olduğu kabul edilir. Nötropenik bakteriyemili hastalarda özellikle gram(-) bakteriyemi ve pulmoner infiltrasyonu olanlarda morbidite oranları oldukça önemlidir. Bu hastalarda septik şok ve erken ölüm gibi komplikasyon riski yüksektir. Tersine klinik veya mikrobiyolojik olarak enfeksiyon ajanı dökümanente edilemeyen hastalarda ateş süresi daha kısa ve komplikasyon riski daha azdır(18). Kanser hastalarında febril atakta ciddi enfeksiyonun erken tanısı ve uygun etkili tedavinin başlanması, enfeksiyona bağlı komplikasyonlar, özellikle septik şok ve mortalite açısından, önemlidir. Akut lösemili hastalarda enfeksiyon sıklıkla ortaya çıkan ciddi bir komplikasyondur. Malign hastalık ve/veya yoğun kemoterapi konağın enfeksiyon ajanlarına karşı savunma mekanizmalarının bozulmasına neden olabilir. Nötropenin süresi, granülosit fonksiyonlarında bozulma veya doğal bariyerlerin bozulması büyük ölçüde enfeksiyon riskini artırır. Akut lösemili hastalarda yoğun kemoterapi kemik iliğinde aplaziye neden olur ve yaklaşık 14 günde hastalarda ciddi nötropeni gelişir. Buna ek olarak lenfosit ve monosit sayılarında yaklaşık %5 oranında azalma olur. Bu dönem boyunca hastaların çoğunda bir veya daha fazla febril atak gelişir ve bu febril atakların %70'inin enfeksiyona bağlı olduğu bilinmektedir(19). Nötropenik hastalarda enfeksiyon tedavi edilmezse ölümle sonuçlanabileceğinden, bu hastalarda erken ampirik geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi endikasyonu vardır.

Kemoterapiye bağlı nötropeni gelişen hastalar genellikle hastanede ve empirik geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine ihtiyaç duyarlar. Hastaların afebril ve kan kültürleri negatif veya nötrofil sayıları  $>500/\text{mm}^3$  olana kadar hastanelerde yatmaları gerekir(20,21). Nötropenik hastalarda her febril atakta enfeksiyon riski nedeni ile ampirik antibiyotik kullanılmasına rağmen çoğu zaman kültürlerde bir ajan izole edilememekte veya bir enfeksiyon odağı saptanamamaktadır. Febril, ancak gerçekte enfeksiyonu olmayan bu hastalarda gereksiz ampirik antibiyotik kullanımını ve maliyetleri arttırmaktadır. Ayrıca bu hastaların hastanelerde kalış süreleri uzamakta ve dolayısı ile hem dirençli suşların ortaya çıkmasına neden olmakta hem de hastaların nazokomiyal patojenlerle karşılaşma riskini arttırmaktadır (21). Son yıllarda yapılan çalışmalarda düşük risk grubundaki hastaların intravenöz antibiyotik kullanımı için daha fazla hastanelerde kalmalarının gerekmediği ortaya konmuştur (21,22). Bu nedenle nötropenik hastalarda düşük risk

grubundaki hastaların ayırddilmesi ve febril atağın infeksiyona bağılı olup olmadığının ortaya konması önemlidir.

Nötropenik hastalarda ortaya çıkan ateşin infeksiyona bağılı olup olmadığını ortaya koymak amacı ile birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda infeksiyonun erken bir belirteci olarak çoğunlukla bir akut faz proteini olan C-reaktif protein (CRP) üzerinde durulmuştur. Ancak son zamanlarda interlökinler ( IL-6, IL-8, IL-2R, vb.), prokalsitonin, TNF, mannose-Binding protein ile ilgili bir çok çalışma mevcuttur(21-27).

İnflamatuvar uyarıya yanıt olarak monosit/makrofajlardan, akut faz reaksiyonu olarak bilinen, metabolik değişikliklere neden olan bir çok sitokin salgılanır. En önemli iki tanesi IL-6 ve IL-8 dir. Bu iki interlökin ve soluble IL-2 reseptör (sIL-2R), soluble tumor nekrozis faktör reseptör (sTNFR)I, sTNFRII'nin bakteriyel ve/veya viral infeksiyonlarda arttığı bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda; IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  ve sTNFR'lerinin hem nötropenik olmayan hemde immüsuprese kanser hastalarında ciddi infeksiyonun erken ve spesifik bir belirteci olduğunu göstermektedir (23,24).

Nötropenik olmayan kanser hastalarında infeksiyonun tanı ve değerlendirilmesinde inflamatuvar sitokinlerin (IL-6, IL-8) ve prokalsitoninin önemine dair bir çok çalışma vardır. Bu parametrelerde belirgin değişiklikler olmasına rağmen plazma düzeyleri infeksiyonun ciddiyeti ve başlangıcını yansıtır(25). Nötropenik olmayan hastalarda PCT ile IL-6, IL-8, sTNFRs ve CRP kıyaslandığında benzer etkinliği saptanmıştır (26)

IL-8 nötrofiller üzerinde güçlü kemotaktik aktivitesi olan bir sitokindir (27). In vitro monosit/makrofaj, endotelial hücreler ve aktive nötrofillerden salgılandığı gösterilmiştir. Gönüllü insanlara endotoksin infüzyonu yapılmış ve bunların serumunda IL-8 düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir(28). İnsanlarda ve baboonlarda intravenöz gram negatif bakteri infüzyonu takiben 1-1.5 saat sonra IL-8 düzeylerinin arttığı ve endotoksin infüzyonundan 2-8 saat sonra maksimum düzeye ulaştığı bulunmuştur(29,30). Doğal infeksiyonlarda, gram negatif veya gram pozitif bakteriyemili hastaların %89'nun serumunda IL-8 tespit edilmiştir(31). Bu çalışmalar IL-8'in insanlarda bakteriyel invazyona inflamatuvar bir cevap olarak arttığını göstermektedir.

Yapılan çalışmalar nötropenik hastalarda ateşin ortaya çıkmasından sonra alınan serum CRP ve sitokin düzeylerinin artışının infeksiyon ile aralarında korelasyon olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada akut lösemili hastalarda kemoterapi sonrası ortaya çıkan nötropenide afebril ve febril dönemlerdeki serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeylerine bakıldı.



Çalışmamıza alınan 15 akut lösemili hastada kemoterapi sonrası ortalama 9 (9.07±3.51) günde nötropeni (PNL<500/mm<sup>3</sup>) gelişti. Hastalar ortalama 15 (15±5.89) gün nötropenide kaldı. Hastaların tamamında febril atak ortaya çıktı. Hastalardan kemoterapi öncesi (PNL >500/mm<sup>3</sup>), sonrası nötropenik (PNL <500/mm<sup>3</sup>) afebril, febril nötropeni (PNL <500/mm<sup>3</sup>) ve tedavi sonrası nötrofil sayısı >500/mm<sup>3</sup> olduğu dönemlerde CRP, interlökin-6 ve interlökin-8 düzeyleri ölçüldü (Tablo 2).

Çalışmamızda kemoterapi sonrası nötropenik afebril ve febril nötropenik dönemlerde alınan serum IL-6, IL-8 ve CRP düzeylerinin tedavi öncesine göre arttığı saptandı ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı idi. IL-6, IL-8 ve CRP düzeylerindeki bu artış antibiyotik tedavisi sonrası ateşin düşmesine paralel olarak azaldığı görüldü. Literatürde yapılan çalışmalarda febril nötropenik ataklarda infeksiyonun erken tanısında veya takibinde sitokinlerin ve CRP düzeylerini araştıran yayınlar olmasına rağmen çalışmamız da olduğu gibi nötropenik afebril ve febril nötropeni ataklarında IL-6, IL-8 ve CRP düzeylerini araştıran yayına rastlanmamıştır.

IL-6 akut faz cevabını, B ve T hücre fonksiyonlarını düzenleyen multifonksiyonel bir sitokindir (21,32). Bazı çalışmalarda nötropenik hastalarda sepsis veya non-bakteriyel ateşin ayırımında serum IL-6 düzeylerinin ölçümünün yararlı olabileceğini göstermektedir (21,33). Ancak bunu doğrulamayan çalışmalarda vardır(21,34). Çalışmamızda nötropenik afebril dönemde serum IL-6 düzeyinde nötropeni öncesine göre anlamlı artış gözlenmiş ve ateşin ortaya çıkması ile maksimuma ulaşmıştır. Bir çalışmada nötropenin tersine ateş ile beraber IL-6'nın arttığını bildirmektedir(35). Serum IL-8 düzeyindeki maksimum artış nötropenik afebril dönemde olmuş febril nötropeni atağı esnasında artış gözlenmemiştir. Serum CRP düzeylerindeki artış IL-6'ya benzer şekilde olmuştur. Ancak nötrofil sayısı >500/mm<sup>3</sup> olduğu dönemde IL-6 ve IL-8 düzeylerinin normal değerlere yaklaşmasına rağmen CRP düzeyi normalin üstünde kalmıştır. Bir akut faz reaktanı olan CRP, kanser hastalarında bilinen en iyi biyokimyasal inflamatuvar göstergedir. Bununla beraber bazı dezavantajları vardır. Bunlar; inflamasyonun başlangıcından 24-48 saat sonra ve/veya altta yatan malign hastalığın aktivitesi ve doku hasarının derecesine göre de serum konsantrasyonu artar (23). Akut faz cevabını izleme ve değerlendirmede sıklıkla CRP ölçümü kullanılmaktadır(36). Seri CRP ölçümlerinin yüksek sensitivitesinin olmasına rağmen (22,37,38,39) spesifitesi yüksek değildir(22,39,40). CRP ölçümleri antibiyotik tedavisine cevabın izlenmesinde yararlı olabilir(37,40). IL-6 ve IL-8 düzeylerindeki artış infeksiyonun erken döneminde belirgindir(37). Waage ve arkadaşlarının 8 AML' li hastada

yaptığı bir çalışmada infeksiyonu olmayan nötropenik hastalarda IL-8 düzeyinin ciddi bakteriyel ve fungal infeksiyonu olan hastalar kadar artabileceğini bildirmişlerdir(24). İnfeksiyon odağı ve/veya etkeni saptanamayan febril atak geçiren çoğu hastada başlangıçta IL-6 ve IL-8 düzeylerinde minimal bir artış olabilir(23,33,37,41). Nötropenik hastalarda belirgin infeksiyon olmasa bile mukozitten dolayı kolonize gram negatif bakterilerden kaynaklanan düşük dereceli endotoksemi olabilir(37,42,43). Bu da klinik olarak infeksiyon olmasa bile IL-6 ve IL-8 düzeyinin artışını açıklayabilir.

Febril nötropeni atağı gelişen kanserli çocuklarda yapılan bir çalışmada serum IL-6, IL-8 ve CRP düzeylerinin dökümanente infeksiyonu ve bakteriyemisi olanların, herhangi bir infeksiyon odağı saptanamayanlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur(37). Bu hastalarda gram negatif bakteriyemisi olanların serum IL-6, IL-8 ve CRP düzeyleri gram pozitif bakteriyemisi olanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Benzer başka bir çalışma IL-8'in gram negatif bakteriyemilerde anlamlı derecede yükseldiğini bildirmektedir (44).

Günümüzde kullanılan laboratuvar teknikleri ve klinik bilgiler nötropenisi olan kanserli hastalardaki ateşin infeksiyöz nedeninin erken tespit edilmesinde yeterli derecede spesifik ve sensitif değildir(44). Nötropenik kanserli ve nötropenik olmayan hastalarda yapılan bir çok çalışmada, febril ataklar esnasında alınan serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Bu parametreler içerisinde infeksiyonun erken tanısında IL-6 ve IL-8'in CRP ye göre daha duyarlı olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda hastaların nötropenik ve febril oldukları dönemde, literatürde bildirilen bulgularla uyumlu olarak serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeyleri yüksek bulunmuştur. Ancak çalışmamızda; nötropenik ve afebril dönemde alınan serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeylerinin nötropenik olmayan döneme göre anlamlı şekilde artmış olduğu görüldü. Afebril dönemdeki serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeylerindeki artış febril dönem ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Çalışmaya alınan tüm hastalara febril nötropeni atağı geliştiğinde ampirik geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi verildi. Bu hastalardan alınan kültürlerden 5 tanesinde üreme saptandı. Hastaların tümü antibiyotik tedavisine cevap verdi ve tedavi sonrası serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeyleri düştü. Bu bulgular hastaların nötropenik dönemde ateşleri olmasa bile serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeylerindeki artışın infeksiyonun erken bir habercisi olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda da gösterilen CRP, IL-6 ve IL-8 düzeyleri nötropenik afebril dönemde de artmıştır. Bu hastaların hepsinde daha sonra febril nötropeni gelişmiştir. Bu hastalarda da serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeyleri yüksek seyretmiştir. Bu nedenle başlangıçta olan yükselme gerçekten febril nötropeni habercisi mi

olduğu kesin değildir. Bu konunun net aydınlanabilmesi için özellikle febril nötropeni ataklarının daha az, primer hastalığa bağlı ateşin daha sık görüldüğü solid tümörlü hastalarla karşılaştırmalı bir çalışma konunun aydınlanmasına yardımcı olabilir.

Çalışmamızdaki hasta sayısının az olması nedeni ile bulgularımızın doğrulanması için daha geniş hasta serilerine ihtiyaç vardır.



## ÖZET

Akut lösemilerde, kemoterapi sonrası gelişen nötropeni sonucu ortaya çıkan infeksiyonlar en önemli ölüm nedenidir. Febril nötropeni atakları esnasında ölçülen serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeylerinin yüksek bulunması infeksiyonun erken bir göstergesi olabileceği bir çok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı; kemoterapi alan akut lösemili hastalarda gelişen nötropenide ateş ortaya çıkmadan önce ve sonrası dönemde serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeylerini tespit ederek ateşin infeksiyona mı yoksa başka bir nedene mi bağlı olduğunu araştırmaktır.

Çalışmamızda, nötropenik febril ve afebril dönemlerde alınan serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeyleri nötropeni öncesine göre yüksek bulunmuştur. Ancak afebril dönemdeki serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeylerindeki artış febril dönem ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü. Çalışmaya alınan tüm hastalarda febril nötropeni atağı gelişti ve bu hastaların hepsi antibiyotik tedavisine iyi cevap verdi. Antibiyotik tedavisi sonrası ölçülen serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeylerinin başlangıç değerlerine döndüğü görüldü.

Bu bulgular hastaların nötropenik dönemde, ateşleri olmasa bile serum CRP, IL-6 ve IL-8 düzeylerindeki artışın infeksiyonun erken bir habercisi olabileceğini göstermektedir.

## SUMMARY

In acute leukemia, febrile neutropenia following chemotherapy is the most important reason for mortality. It has been demonstrated in many studies that serum CRP, IL-6 and IL-8 levels measured during febrile neutropenic episodes might be an early marker for infection. The objective of this study is to investigate whether the fever is due to infection or another reason by measuring serum CRP, IL-6 and IL-8 levels before and after the development of fever in patients with acute leukemia on chemotherapy.

In our study serum CRP, IL-6 and IL-8 levels during febrile and afebrile periods were found higher than prior to neutropenic period. However, increases in serum CRP, IL-6 and IL-8 levels during afebrile period were not statistically significant when compared with the febrile period. All patients included in the study developed febrile neutropenic episode and responded well to antibiotic therapy. Serum levels of CRP, IL-6 and IL-8 following antibiotic therapy returned to initial levels.

In conclusion; increases in serum CRP, IL-6 and IL-8 levels might be an early marker for infection even though there is no fever during neutropenic episodes.

## KAYNAKLAR

- 1- Kılıçturgay K. Sitokin Kavramına Analitik Yaklaşım. İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitapevleri İstanbul. 2000;329-334.
- 2- Bottomly K. A functional dichotomy in CD4+ T lymphocytes. Immunol Today 1988;9:268-273.
- 3- Verfaillie CM. Anatomy and Physiology of Hematopoiesis. Hematology Basic Principles and Practice 3th edition Churchill Livingstone 2000;139-154.
- 4- Kittler EL, McGraht H, Temeles D. et al. Biologic significance of constitutive and subliminal growth factor production by bone marrow stroma. Blood 1992;79:3168.
- 5- Lowry AP, Deacon D, Whitefield P. et al. Stem cell factor induction of in vitro murine hematopoietic colony formation by "subliminal" cytokin combination: the role of "anchor" factors. Blood 1992;80:663.
- 6- Eckardt KU. Biology of erythropoetin production. Nephrol Dialysis Transplant 1995;10:1572.
- 7- Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factors: on updated review of its biology. Crit. Care Med. 1993;10:5415-21.
- 8- Carlstedt F, Lind L, Lindal B. Proinflammatory cytokines, measured in a mixed population on arrival in the emergency department, are related to mortality and severity of disease. J intern Med. 1997;242:361-5.
- 9- Carlstedt F, Lind L, Lindal B. Proinflammatory cytokines, measured in a mixed population on arrival in the emergency department, are related to mortality and severity of disease. J intern Med. 1997;242:361-5.
- 10- Bagby GC, Heinrich MC. Growth factors, cytokines, and the control of hematopoiesis. Hoffman R. Hematology Basic Principles and Practice 3<sup>rd</sup> edi. Churchill-Livingstone 2000;154-202.
- 11- Ishibashi T, Kimura H, Shikama Y. et al. Interleukin-6 is a potent thrombopoetic factor in vivo in mice. Blood 1989;74:1241.
- 12- Caracciolo D, Clarc SC, Rovera G. Human interleukin-6 supports granulocytic differantiation of hematopoetic progenitor cells and acts synergistically with GM-CSF. Blood 1989;73:666.
- 13- Fox HS. Cytokines and cell adhesion molecules. Clinical diagnosis and management by laboratory methods 19<sup>th</sup> ed. Henry JB. W.B. Saunders Co. Philadelphia 1996;947-57.

- 14-Mc Pherson RA. Specific proteins. Clinical diagnosis and management by laboratory methods 19<sup>th</sup> ed. Henry JB. W.B. Saunders Co. Philadelphia 1996;248.
- 15- Yazıcı H. Laboratuvar yöntemleri. Molvalılar S. Ed. İç Hastalıkları (Semiyojji) 2.Baskı Alfa Basım Yayım Dağıtım İstanbul. 1997:600.
- 16- Curnutte JT, Coates TD. Disorders of Phagocyte Function and Number. Hoffman R. Eds. Hematology Basic Principles and Practice 3<sup>rd</sup> ed. Churchill Livingstone 2000:739-40.
- 17-Jagels MA, Hugli TE. Mechanisms and mediators of neutrophilic leukocytosis. Immunopharmacology 1994;1:28.
- 18-Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP. Et al. 2002 Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. Clin Infect Dis 2002;34:730-51.
- 19-Pizzo PA. Evaluation of fever in the patient with cancer. Eur J Clin Oncol 1989;25:9-16.
- 20-Lee JW, Pizzo PA. Management of the cancer patient with fever and prolonged neutropenia. Hematol Oncol Clin North America 1993;7:937-960.
- 21-De Bont ES, Vellenga E, Swaanenburg JC, Fidler V, visser van Brummen PJ, Kamps WA. Plasma IL-8 and IL-6 levels can be used to define a group with low risk of septicaemia among cancer patients with fever and neutropenia. Br J Haematol 1999 Nov;107(2):375-80.
- 22-Katz JA, Mustafa MM, Bash RO, Cash JV, Buchanan GR. Value of C-reactive protein determination in the diagnostic evaluation of the febrile, neutropenic child with cancer. Pediatr Infect Dis. 1992;11:708-712
- 23-Heney D, Levis IJ, Evans SW, Banks R, Bailey CC, Whicher JT. Interleukin-6 and its relationship to C-reactive protein and fever in children with febrile neutropenia. J Infect Dis. 1992 ;165 :886-890
- 24- Waage A, Remick D, Steinshamn S, Deforge L, Lamvik J. Interleukin 8 in serum granulocytopenic patients with infections. Br J Heamatol. 1994;86:36-40.
- 25-Hack CE, Hart M, Strack van Schijndel RJM, Eerenberg-Belmer AJM, Nuyens JF, Thijs LG, Aarder LA. Interluekin-8 in sepsis : relation to shock and inflammatory mediators. Infect and Immun 1992;60:2835-2842.
- 26-De Vera I, Jaccard C, Corradin SB, Chiolero R, Yersin B, Gallati H, Assicot M, Bohuon C, Baumgartner JD, Glauser M, Heumann D. Cytokines, nitrite/nitrate,

- soluble tumor necrosis factor receptors, and procalcitonin concentrations: comparisons in patients with septic shock, cardiogenic shock, and bacterial pneumonia. *Crit Care Med* 1997;25:607-612.
- 27- Yoshimura T, Matsushima K, Tanaka S, Robinson EA, Appella E, Oppenheim JJ, Leonard EJ. Purification of human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similar to other host defence cytokines. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*. 1978;84:9233-7.
- 28- Van Zee KJ, DeForge LA, Fischer E, Marano MA, Kenney JS, Remick DG, Lowry SF, Moldawer LL. IL-8 in septic shock, endotoxemia, and after IL-1 administration. *J Immunol* 1991;146:3478-3482.
- 29- Martich GD, Danner RL, Ceska M, Suffredini AF. Detection of interleukin 8 and tumor necrosis factor in normal humans after intravenous endotoxin : the effect of anti-inflammatory agents. *J Exper Med* 1991;73:1021-24.
- 30- Redl H, Schlag G, Bahrami S, Schade U, Ceska M, Stütz P. Plasma neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8 and neutrophil elastase in a primate bacteremia model. *J Infect Dis* 1991;164:383-8.
- 31- Hack CE, Hart M, Strack van Schijndel RJM, Eerenberg-Belmer AJM, Nuyens JF, Thijs LG, Aarder LA. Interleukin-8 in sepsis : relation to shock and inflammatory mediators. *Infect and Immun* 1992;60:2835-2842.
- 32- Rennick D, Hudak S, Yang G, Jackson J. Regulation of hemopoietic cell development by interleukins 4, 5 and 6. *Immunol Research* 1989;8:215-225.
- 33- Engel A, Kern WV, Mürdter D, Kern P. Kinetics and correlation with body temperature of circulation interleukin-6, interleukin-8, tumor necrosis factor alpha and interleukin-1 beta in patients with fever and neutropenia. *Infection* 1994;22:160-4.
- 34- Osterman H, Rothenburger M, Mesters RM, van de Loo J, Kienast J. Cytokines response to infection in patients with acute myelogenous leukemia following intensive chemotherapy. *Br J Haematol* 1994;88:332-37.
- 35- Cebon J, Layton JE, Maher D, Morstyn G. Endogenous haemopoietic growth factors in neutropenia and infection. *Br J Haematol* 1994 Feb;86(2):265-74.
- 36- Waage A, Steinshamm S. Cytokine mediators of septic infections in the normal and granulocytopenic host. *Eur J Haematol* 1993;50:243-9.



- 37-Lehrnbecher T, Venzon D, de Haas M, Chanock SJ, Kühl J. Assessment of measuring circulating levels of interleukin-6, interleukin-8, C-reactive protein, soluble Fcγ receptor type III, and mannose-binding protein in febrile children with cancer neutropenia. *Clin Infect Dis* 1999;29:414-9.
- 38-Peltola H, Jaakkola M. C-reactive protein in early detection of bacteremic versus viral infections in immunocompetent and compromised children. *J Pediatr* 1988;113:641-6.
- 39-Santolaya ME, Cofre J, Beresi V. C-reactive protein: a valuable aid for the management of febrile children with cancer and neutropenia. *Clin Infect Dis* 1994;18:589-95.
- 40-Guenther G, Gardlund B, Hast R et al. Endotoxaemia and inflammatory mediators in febrile patients with haematological disease. *J Intern Med* 1995;237:27-33.
- 41-Abrahamson J, Pahlman M, Mellander L. Interleukin 6, but not tumor necrosis factor-alpha, is a good predictor of severe infection in febrile neutropenic and non-neutropenic children with malignancy. *Acta Pediatr* 1997;86:1059-64.
- 42-Hynninen M, Valtonen M, Vaara M, et al. Plasma interleukin-8, interleukin-10, and E-selectin levels in neutropenic and non-neutropenic bacteremic patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:587-91.
- 43-Rintala E, Pulkki K, Mertsola J, Nevalainen T, Nikoskelainen J. Endotoxin, interleukin-6 and phospholipase-A2 as markers of sepsis in patients with hematological malignancies. *Scand J Infect Dis* 1995;27 :39-43.
- 44-Kern WV, Heis M, Steinbach G. Prediction of Gram-Negative Bacteremia in Patients with Cancer and Febrile Neutropenia by Means of Interleukin-8 Levels in Serum: Targeting Empirical Monotherapy versus Combination Therapy. *Clin Infect Dis*. 2001;32:832-5.

LC YTHS KUN OSAKUNTA HUOLTO  
 POLIISIIRTOKUNTO HUOLTO