

İnflamatuvar Barsak Hastalıklarında Sitokinler Klinik Önemi

Dr. M. Enver DOLAR, Dr. Klara DALVA, Dr. Çağlar BAYSAL,
Dr. Uğur YILMAZ, Dr. Meral BEKSAC, Dr. Leziz ONARAN

Özet : Sitokinlerin immün inflamatuvar olaylarda önemli rolleri vardır. Bu çalışmada : aktif ülseratif kolit ve Crohn hastalarında serum interleukin - 1 β ve soluble interleukin - 2 reseptör düzeyleri araştırıldı. Aktif ülseratif kolit ve Crohn hastalarında serum interleukin - 1 β ve soluble interleukin - 2 reseptör düzeyleri kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Ayrıca serum interleukin - 1 β ve soluble interleukin - 2 reseptör düzeyleri ile ülseratif kolit aktivite indeksi ve Crohn hastalığı aktivite indeksleri arasında anlamlı korelasyon saptandı.

Sonuç olarak, IL-1 β ve sIL-2R düzeylerinin ölçülmesi ülseratif kolit ve Crohn hastalıklarında, hastalığın aktivitesinin saptanmasında, takibinde ve tedaviye alınan cevabın değerlendirilmesinde yararlı bir yöntem olarak görülmektedir.

Anahtar kelimeler : Interleukin - 1 β , soluble Interleukin - 2 reseptör, sitokinler, inflamatuvar barsak hastalığı.

İnflamatuvar barsak hastalıklarının (IBH) patogenezi ve etyolojisi hala yeterince açık değildir. Ancak genel kanı patogeneizde immün mekanizmaların rolü olduğu ve bu mekanizmalar içinde sitokinlerin önemli yer kapsadığıdır (1 - 5). Her ne kadar sitokinlerin IBH'nın patogenezinde rolleri olduğu bilinmekte ise de sitokinlerde meydana gelen değişikliklerin klinik bulgular ile olan ilişkileri yeterince net değildir.

Biz bu çalışmamızda aktif ülseratif kolit ve crohn hastalarında Interleukin - 1 β (IL - 1 β) ve soluble interleukin - 2 reseptör (sIL - 2R) gibi bazı sitokinlerde meydana gelen değişiklikleri ve

TYİH Gastroenteroloji Kliniği ve İmmünoloji Bölümü

Summary : CLINICAL VALUE OF THE CYTOKINES IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

Cytokines play important role in the immune inflammatory reaction. In this study, plasma interleukin - 1 β ve soluble interleukin - 2 receptor levels were investigated in patients with active ulcerative colitis and Crohn's disease. Plasma interleukin - 1 β ve soluble interleukin - 2 receptor levels was significantly increased in active ulcerative colitis and Crohn's disease, compared with values in controls. In additions in active ulcerative colitis and Crohn's disease, there were significant correlations between the interleukin - 1 β and soluble interleukin - 2 receptor levels and the ulcerative colitis activity index and Crohn's disease activity index. This study suggests that plasma interleukin - 1 β ve soluble interleukin - 2 receptor levels in active inflammatory bowel disease are indicators of the disease states of ulcerative colitis and Crohn's disease, or both.

Key words : Interleukin - 1 β , soluble interleukin - 2 receptor, cytokines, inflammatory bowel disease.

serum sitokin düzeyi ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

HASTALAR ve METOD

Çalışmaya klinik, radyolojik, endoskopik ve histopatolojik olarak ülseratif kolit ve Crohn hastalığı tanısı konan toplam 31 hasta ile 20 sağlıklı hastane çalışanı kontrol grubu olarak alındı. 23 ülseratif kolit hastasının 13'ü kadın, 10'u erkek olup ortalama yaş 39 \pm 18, 8 Crohn hastasının 4'ü kadın, 4'ü erkek olup ortalama yaş 34 \pm 9 idi.

Hastalık aktivitelerinin saptanmasında, ülseratif kolitli hastalarda; ülseratif kolit aktivite indeksi (UCAI) kullanıldı ve UCAI ; %20'nin üzerinde

Tablo I: Hasta gruplarının özellikleri

		Kontrol n: 20	Ülseratif Kolit n: 23	Crohn n: 8
Yaş	(yıl)	32 ± 7	39 ± 18	34 ± 9
Albumin	(g/dl)	4.1 ± 0.3	3.1 ± 0.7*	2.7 ± 0.6*
T. Lökosit	(/mm ³)	5820 ± 1531	8894 ± 4467	15550 ± 5410*
CRP	(mg/dl)	7.2 ± 2.5	137.2 ± 55.3*	111.0 ± 71.3*
ESR	(mm/h)	13.8 ± 5.1	71.0 ± 34.6*	51.3 ± 3.7*
Aktivite	İndeksi	-	46.7 ± 12.8	204.6 ± 38.2

*p<0.0001; Kontrol grubu ile ülseratif kolit ve Crohn grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

olanlar aktif olarak kabul edildi (maksimum %100) (2). Crohn hastalarında ise Crohn hastalığı aktivite indeksi (CDAI) kullanıldı ve CDAI; 150'nin üzerinde ise aktif olarak kabul edildi (6).

Ülseratif kolit saptanan hastaların 4'ünde distal tip, 10'unda sol tip ve 9'unda total tutulum, Crohn hastalarının 3'ünde kolonik ve 5'inde ileo - kolonik tutulum vardı.

Ülseratif kolitli hastaların 14'ü hiçbir ilaç almaz iken 1'i kortikosteroid, 2'si sulfalazin, 3'ü kortikosteroid + sulfasalazin, 2'si mesalamin ve 1'i kortikosteroid + mesalamin alıyordu. Crohn hastalarının 4'ü hiçbir ilaç almaz iken 3'ü kortikosteroid ve 1'i kortikosteroid + sulfasalazin alıyordu.

Serum sIL - 2R ve IL - 1β tayini : Hastalardan sabah 8⁰⁰ de 5cc venöz kan alınarak serumları ayrıldı ve -20°Cde saklandı. sIL - 2R tayini için Cellfree test kiti (Cellfree IL - 2R, T - cell Sciences, Cambridge, MA, USA), IL - 1β tayini için AMI test kiti (Advanced Magnetic Inc. Cambridge, MA, USA) kullanıldı. Üreticilerin önerdiği metod prensiplerine uygun olarak ELISA yöntemi kullanılarak sIL - 2R ve IL - 1β düzeyleri tayin edildi.

Serum albumin (ALB) düzeyi DACOS otoanalizör ile (Coulter Electronics Inc, USA), total lökosit sayımı, otomatik sayıcı ile (Automated coulter counter, Coulter Electronics, UK), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) Westergen metodu ile, CRP düzeyi single immunodiffusion yöntemi ile (LC - Partigen CRP, Behring, Germany) tayin edildi.

Tablo II: Çalışma gruplarında serum sIL-2R ve IL-1β düzeyleri.

	n	sIL-2R (U/ml) ortalama ± SD	IL-1β (pg/ml) ortalama ± SD
1. Kontrol	20	459 ± 168.8	1.02 ± 0.24
2. Ü. Kolit	23	1432.3 ± 504.6*	16.48 ± 5.71*
3. Crohn	8	1482.5 ± 438.0*	17.86 ± 6.76*

*1. grup ile 2. ve 3. gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.0001).

İstatistiksel analiz : Gruplar arası farkın önem tayini (ortalama ± standart sapma) Student's t testi ile, korelasyon analizi lineer regresyon yöntemi ile araştırıldı. p < 0.05 anlamlı olarak değerlendirildi.

SONUÇLAR

Çalışma gruplarına ait özellikler tablo I de görülmektedir. sIL - 2R düzeyi kontrol grubunda 459.3 ± 168.8 U / ml, ülseratif kolit grubunda 1432.3 ± 504.6 U / ml ve Crohn grubunda 1482.5 ± 438.7 U / ml olarak tesbit edildi. IL - 1β düzeyi ise kontrol grubunda 1.02 ± 0.24 pg / ml, ülseratif kolit grubunda 16.48 ± 5.71 pg / ml ve Crohn grubunda 17.86 ± 6.76 pg / ml olarak saptandı (Tablo II). Gerek sIL - 2R gerekse IL - 1β düzeyleri, ülseratif kolit ve Crohn gruplarında kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu (p < 0.0001). Ülseratif kolit ve Crohn grupları arasında sIL - 2R ve IL - 1β düzeyleri açısından anlamlı bir fark yoktu.

Tablo III: sIL-2R ve IL-1β ile diğer parametreler arasındaki ilişki.

	Ülseratif Kolit		Crohn	
	sIL-2R	IL-1β	sIL-2R	IL-1β
	r	r	r	r
Albumin	-0.4935*	-0.4263	0.4189	0.2943
T. Lökosit	0.2933	0.0532	0.4265	0.0774
CRP	0.8350*	0.4263*	0.3691	0.7793*
ESR	0.0972	-0.0971	-0.3271	-0.4020
A. İndeksi	0.8742*	0.5357*	0.5847*	0.6764*

* Anlamlı korelasyon mevcut (p<0.05).

Ülseratif kolit ve Crohn gruplarında serum sIL - 2R ve IL - 1 β düzeyleri ile diğer parametreler arasındaki ilişkiler incelendiğinde; ülseratif kolit grubunda, sIL - 2R ile albumin (r; - 0.4935), CRP (r; 0.8350) ve aktivite indeksi (UCAI) (r; 0.8742); IL - 1 β ile CRP (r; 0.4263) ve aktivite indeksi (UCAI) (r : 0.5357) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı.

Crohn grubunda, sIL - 2R ile aktivite indeksi (CDAI) (r; 0.5847), IL - 1 β ile CRP (r; 0.7793) ve aktivite indeksi (CDAI) (r; 0.6764) arasında anlamlı ilişki tesbit edildi (Tablo III).

TARTIŞMA

İnflamatuvar barsak hastalıklarının patogenezi ve etyolojisi hala yeterince açık değildir. Esas mekanizmanın immunolojik olduğu, bakteriyel, viral, çevresel ve diyet ile ilgili bazı faktörlerin tetikleyici olduğuna inanılmaktadır. Bu esas immunolojik mekanizma içinde sitokinlerin önemli rolleri vardır (1 - 5). Aktif ülseratif kolit veya Crohn hastalığında intestinal mukozada intestinal defansın regülasyonunda çok önemli rolleri olan nötrofil, makrofaj ve lenfosit sayısında artış vardır (1). Artan bu hücreler birtakım uyarılar ile pekçok fonksiyone sahip olan bazı medatör proteinler ve sitokinler sekrete ederler (1, 2). Sitokinlerin yapımındaki artışın primer bir anormalliğimi yoksa bilinmeyen bir tetikleyici sebebe sekondermi olduğu tam olarak belli değildir (7). Sitokinlerin gerek ülseratif kolit gerekse Crohn hastalığında inflamatuvar ve immunolojik olayların gelişmesinde önemli rolleri vardır ve yapımlarında, sekresyonlarında, ekspresyonlarında birtakım değişiklikler ve anormallikler meydana gelir. İmmün hücrelerin bu mediatörleri sentezleme yetenekleri ve mononükleer lenfositlerin indüklenme potansiyelleri henüz yeterince açık değildir (1, 2, 7). İnflamatuvar barsak hastalıklarında periferik ve mukozal lenfosit popülasyonunda, hem T lenfosit fonksiyonlarında hemde T lenfosit aktivasyonunun moleküler ekspresyonunda değişiklikler vardır ve T lenfositler aktive olmuştur (8). IBH da intestinal mukoza yanında periferik moleküler hücrelerde de IL - 1, IL - 2, IL - 6 ve TNF α gibi bazı sitokinleri üretimi artmıştır (1, 2, 7, 9). Sitokin kaskadının ilk basamağında yer alan IL - 1 β 'nin birçok biyolojik etkisi vardır. IL - 1 β , fibroblastların proliferasyonu,

nötrofillerden enzimlerin salgılanmasını ve degranülasyonunu, nötrofil, monosit ve lenfositlerin endotelial hücrelere adezyonunu ve mukoza içine migrasyonu artırır (10 - 13). Ayrıca T lenfositleri aktive eder ve B lenfositlerde antikor yapımını artırır (12). IL - 1 β 'nin gerek lokal gerekse sistemik biyolojik etkilerinden bazıları IBH'nın patogeneziinde rol oynar. Örneğin vasküler permeabiliteyi artırarak ödeme ve endotel - lökosit ve lenfosit adezyonunu artırarak lokal inflamasyona sebep olur ve karaciğerde akut faz proteinlerinin sentezini artırırken, hepatositlerde albumin sentezini deprese eder (10-13).

IL - 1 β yapımı aktif ülseratif kolit ve Crohn hastalarında artmıştır. IL - 1 β 'ın kaynağı intestinal mukozadaki makrofaj ve monositler ile periferik monositlerdir (1,2). Mukozal IL - 1 β , kolonik inflamasyonu göstermede myelopreksidaz aktivitesi ve mukozal eicosanoidlerden daha sensitif bulunmuştur (5). IL-1 β 'in yapımı ve plazma düzeyi, aktif ülseratif kolit ve Crohn hastalarında hastalığın aktivitesi ile çok yakın korelasyon gösterir ve inaktif dönemde azalır (1, 5).

Bizim çalışmamızda da plazma IL - 1 β düzeyinin aktif ülseratif kolit ve Crohn hastalarında artışı ve hastalık aktivite indeksleri ile anlamlı korelasyon gösterdiği saptandı.

Artan IL - 1 intestinal mononükleer hücreleri aktive ederek IL - 2 yapımını indükler ve artan IL - 2'de T lenfositleri stimüle ederek IL - 2R yapımını artırır (2,3,13). Aktif ülseratif kolit ve Crohn hastalarında dolaşımdaki sIL - 2R düzeyinde artmıştır ve plazma sIL - 2R düzeyi Crohn da hastalığın aktivitesi ile korelasyon gösterir (2, 3, 13 - 15). Ülseratif kolit de ise sIL - 2R düzeyi ile klinik aktivite arasında korelasyon olmadığını bildirenler vardır (3). Ancak biz çalışmamızda serum sIL - 2R düzeyinin hem aktif ülseratif kolit ve Crohn hastalarında arttığını hemde hastalık aktivite indeksleri ile anlamlı korelasyon gösterdiğini tesbit ettik. IBH da hastalığın aktivitesini değerlendirmede ve takipde birçok zorluk vardır. İnflamasyonun genel işaretlerinden olan akut faz proteinlerindeki artışı yansıtan CRP ve ESR ölçümü indirekt metodlar olup her zaman hastalığın yaygınlığı ve şiddeti ile korelasyon göstermez. Diğer taraftan intesti-

nal hastalığın aktivitesini değerlendirmek için kullanılan kolonoskopi, kontrast radyografi, I¹³³ işaretli granülosit sintigrafisi gibi yöntemler ise kompleks, özel ekipman ve deneyim gerektiren işlemlerdir (9).

Literatürde serum IL - 1 β düzeyinin Crohn ve ülseratif kolit, sIL - 2R düzeyinin Crohn hastalarının da hastalık aktivitesini değerlendirmede ve

takipde diğer parametrelerden daha güvenli olduğu bildirilmektedir (1, 2, 5, 14). Bizim sonuçlarımızda bu bilgileri doğrular niteliktedir.

Sonuç olarak IL - 1 β ve sIL - 2R gibi doğrudan T lenfosit aktivitesini gösteren sitokinlerin serum düzeylerinin ölçülmesi IBH'da hastalığın aktivitesinin saptanmasında, takibinde ve tedaviye alınan cevabın değerlendirilmesinde yararlı bir yöntem olarak gözükmektedir.

KAYNAKLAR

1. Mahida YR, Scott E, Kurlak L, et al. Interleukin 1 β , tumour necrosis factor α and interleukin 6 synthesis by circulating mononuclear cell isolated from patients with active ulcerative colitis and Crohn's disease. *European J Gastroenterology and Hepatology*, 1992; 4 : 501 - 7.
2. Nakamura M, Saito H, Tamura Y, et al. Cytokine production in patients with inflammatory bowel disease. *Gut*, 1992; 33 : 933 - 7.
3. Mahida YR, Gallagher A, Kurlak L, et al. Plasma and tissue interleukin - 2 receptor levels in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol*. 1990; 82 : 75 - 80.
4. Epstein FH. Interleukin - 1 and the pathogenesis of the acute - phase response. *N Eng J Med*, 1984; 311 : 1413 - 8.
5. Ligumsky M, Simon PL, Karmeli F, et al. Role of interleukin 1 in inflammatory bowel disease - enhanced production during active disease. *Gut*, 1990; 31 : 686 - 9.
6. Best WB, Bechtel JM, Singleton JW et al. Development of Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology*, 1976; 70 : 439 - 44.
7. Lobo AJ, Evans SW, Jones SC, et al. Plasma interleukin - 6 in inflammatory bowel disease. *European J Gastroenterology - Hepatology*, 1992; 4 : 367 - 72.
8. Pallone F, Fais F, Squarcia O, et al. Activation of peripheral blood and intestinal lamina propria lymphocytes in Crohn's disease. In vivo state of activation and in vitro response to stimulation as defined by the expressions of early activation antigens. *Gut*, 1987; 28 : 745 - 53.
9. Braegger CP, Nicholls S, Murch SH, et al. Tumour necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation. *Lancet*, 1992; 339 : 89 - 91.
10. O'Garra A. Interleukins and the immune system I. *Lancet* 1989; ii : 943 - 7.
11. Nathan CF. Secretory products of macrophages. *J Clin Invest*, 1987; 79 : 319 - 26.
12. Mizel SB. Interleukin 1 and T cell activations. *Immunol Rev*. 1982; 63 : 51 - 72.
13. Mantovani A, Dejana E. Cytokines as communications signals between leucocytes and endothelial cells. *Immunol Today*, 1989; 10 : 370 - 5.
14. Mueller Ch, Knoflach P, Zielinski CC : T - cell activation in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1990; 98 : 639 - 46.
15. Brynskov J, Tvede N. Plasma interleukin - 2 and a soluble / shed interleukin - 2 receptor in serum of patients with Crohn's disease effects of cyclosporin. *Gut*. 1990; 31 : 795 - 9.