

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ MERAM TIP FAKÜLTESİ İNFEKSİYON

HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Anabilim Dalı Başkanı

Prof.Dr.Mehmet BİTİRGEN

BRUSELLOZDA HÜCRESEL İMMUN YANITIN ARAŞTIRILMASI

Nazlım AKTUĞ DEMİR

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Prof.Dr. Onur URAL

KONYA 2009

1.İÇİNDEKİLER

1. İÇİNDEKİLER.....	ii
2. KISALTMALAR.....	iv
3. GİRİŞ.....	1
4. GENEL BİLGİLER.....	3
4.1. BRUSELLOZ.....	3
4.1.1. ETİYOLOJİ.....	4
4.1.2. EPİDEMİYOLOJİ.....	6
4.1.3. PATOGENEZ.....	7
4.1.4. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR.....	9
4.1.5. KOMPLİKASYONLAR.....	10
4.1.6. TANI.....	13
4.1.7. TEDAVİ.....	15
4.1.8. KORUNMA VE İMMÜNOLOJİ.....	19
4.2. İMMÜNOLOJİ.....	20
4.2.1. İMMÜNİTENİN SOLUBLE DÜZENLEYİCİLERİ.....	22
4.2.2. SİTOKİN RESEPTÖRLERİ VE SİNYAL İLETİMİ.....	26
4.2.3. İNTERFERONLAR.....	27
4.2.4. İNTERLÖKİNLER.....	29
4.2.5. KEMOKİNLER.....	34
4.2.6. TNF α	34
4.2.7. ENFEKSİYON İMMÜNİTESİ.....	36
4.2.8. BRUSELLOZDA İMMÜN YANIT.....	41
5. MATERYAL VE METOD.....	43

6. BULGULAR.....	45
7. TARTIŞMA.....	53
8. ÖZET.....	63
9. SUMMARY.....	64
10. KAYNAKLAR.....	65
11.TEŞEKKÜR.....	75

2. KISALTMALAR

LPS: Lipopolisakkrit

Omp: Outer Membrane Protein (Dış Membran Proteini)

S-LPS: Smooth Lipopolisakkarid

R: Rough

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

RES: Retikuloendotelial sistem

PrPc: Cellular Prion Protein Promotes (Hücrel prion proteini)

SR-A: A sınıfı çöpçü reseptörü

TNF α : Tümör Nekrozis Faktör Alfa

NK: Doğal Katil Hücre

MHC : Major Histocompatibility Complex

SOD: Superoksit Dismutaz

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

ARDS: Akut Respiratuar Distres Sendromu

EMB: Eozin Metilen Blue

STA: Standart Tüp Aglütinasyon

PCR: Polimerase Chain Reaction

PMNL: Polimorfonüveli lökosit

CTL: Cytotoxic T Lymphocyte

LGL: Large Granula Lymphocyte

CRP: C-Reaktif protein

CSF: Koloni Stimulant Faktör

MAK: Membran Atak Kompleksi

AFC: Antibody Forming Cell

Fab: Fragment Antigen Binding

Fc bölgesi: Fragment Crystallizable Region

IL:İnterlökin

Ig:İmmünglobulin

GM-CSF: Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor

G-CSF: Granulocyte Colony-Stimulating Factor

IFN: İnterferon

IFNAR: IFN α Reseptör

IFNGR: IFN γ Reseptörü

TGF: Tümör Growth Faktör

LTB4: Lökotrien B4

KDa: Kilo Dalton

AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome

PPD: Purified protein derivative (Tüberkülin Deri Testi)

3.GİRİŞ

Bruselloz, brusella cinsi bakteriler tarafından oluşturulan, ülkemizde sık görülen bir zoonozdur. Brusella 0.6-1.5 µm boyunda küçük, hareketsiz, sporsuz, gram negatif boyanan bir kokobasildir. Üç ana bulaş yolu; sindirim sistemi, infekte dokularla direkt temas ve inhalasyondur. Ülkemizde en sık çiğ süttten yapılmış peynir, krema ve yağ tüketimi ile bulaşır. Her yaş ve cinsiyette görülebilmekle beraber, en sık 15-35 yaş arasında karşımıza çıkmaktadır.

Brusella bakterisi konakta bir çok organı etkileyebilme yeteneğine sahip olduğu için hastalık oldukça geniş bir klinik spektruma sahiptir. İnkübasyon süresi 2-3 haftadır. Bu süreyi takiben ateş, üşüme, titreme, halsizlik, miyalji, artalji, baş ağrısı gibi özgül olmayan semptomlar ortaya çıkar. Aseptomatik infeksiyon, akut infeksiyon, subakut infeksiyon, kronik infeksiyon olmak üzere dört klinik formu vardır.

Bruselloz tanısı, kan, kemik iliği, karaciğer, lenf nodu, BOS, synovial sıvı, prostatik sıvı örneklerinden mikroorganizmanın izolasyonu ve/veya klinik bulgular varlığında seroloji pozitifliği ile konulur.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 1986 yılında bruselloz tedavisini doksisisiklin 200 mg/gün + rifampisin 600-900 mg/gün 6 hafta şeklinde düzenlemiştir. Doksisisiklin yerine streptomisin verilebileceği, özellikle spondiliti olan hastalarda streptomisinli kombinasyonun daha etkin olduğu belirtilmiştir.

İnsanlarda brusellozun önlenmesi evcil hayvanlarda brusellozun eradikasyonu ve kontrolüne bağlıdır. Bu açıdan veteriner hekimler ve doktorlar işbirliği içinde çalışmalıdır. En sık bulaş yolu olan çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketimi önlenmelidir.

Çoğaldığı dokularda oluşturduğu mikroapseler, granülom odakları hastalığın kronikleşmesinde ve relapsında önemli rol oynar.

İmmün sistemin işlevi mikrobiyal infeksiyonlara karşı konağın korunmasıdır. Doğal immünite mikroorganizmaya karşı erken savunmayı oluştururken, edinsel immünite sonraki basamağı oluşturur. Bruselloz gibi intrasellüler bakteri infeksiyonlarında humoral immüitenin yeri oldukça sınırlıdır. Buna karşın T lenfositlerin belirlediği hücrel immun yanıt korunmada önem taşır.

Benzer özelliklere sahip hastalara aynı tedavi protokolleri verilmesine rağmen hastaların büyük bir kısmı iyileşirken, daha az bir kısmı kronikleşmekte, nadiren de relapslar gözlenmektedir. Bu klinik farklılıkların nedeni bilinmemektedir. Sitokinler bu konuda üzerinde araştırma yapılan önemli medyatörlerdir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda sitokinlerle akut brusellozdaki klinik seyir ve relaps arasındaki bağlantı netleşmemiştir. Brusellozda uygulanan tedaviye rağmen, tam düzelmeyen hastalar nedeniyle önemli iş gücü kaybı oluşur. Bu nedenle bruselloz tedavisi öncesi veya uygun süre verilen klasik tedavi sonrası, relaps olgularını önceden belirleyecek laboratuvar parametreleri daima araştırma konusu olmuştur. Bu çalışmada, akut brusellozlu hastalarda hangi sitokinlerin yükseldiğini, sitokinlerin hastalığın seyrinde nasıl değişikliğe uğradığını ve relapsları belirlemede etkin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Bu çalışma (Proje no: 07102016) Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi(BAP) tarafından desteklenmiştir.

4.GENEL BİLGİLER

4.1. BRUSELLOZ

Bruselloz, brusella cinsi bakteriler tarafından oluşturulan, sistemik bir zoonozdur (1-6). Hastalık ‘Ondülan ateş’, ‘Akdeniz ateşi’, ‘Malta ateşi’, ‘Bang Hastalığı’, ‘Gibralter ateşi’ ya da ‘Mal Hastalığı’ olarak da bilinmektedir (6-8).

İnsan brusellozuna ait ilk tanımlama 1861 yılında Martson isimli bir cerrah tarafından yapılmıştır. Hastalık etkeni ilk kez 1885 yılında Malta Adası’nda David Bruce adlı bilim adamı tarafından ateş, terleme, splenomegali ile seyreden ve sık relaps yapma özelliği olan ‘Malta hastalığı’ şeklinde tanımlanmıştır. Hastalıktan ölen askerlerin dalak pulpalarından etken izole edilmiş ve *Micrococcus melitensis* olarak adlandırılmıştır (1-4,6). Zammit 1905 yılında Malta’da bruselloz rezervuarının keçiler olduğunu ve pastörize edilmemiş keçi sütü tüketiminin azaltılmasıyla hastalık insidansının azaldığını göstermiştir (6). Veteriner hekim Bang 1895’te sığırlardan *B.abortus*’u, 1914’te Traum domuzlarından *B.suis*’i, 1966’da Carmichael köpeklerinden *B.canis*’i izole etmiştir. Amerikan biyolog Evans bu üç mikroorganizmanın aynı cinse ait olduğunu belirtmiş ve *Brusella* cins ismi Bruce’a onur olarak verilmiştir (4,6,8).

B.ovis 1953’te koyunlardan, *B.neotoma* 1957’de çöl ratlarından, *B.rengiferi* ise Rusya ve Alaska’da ren geyiklerinden izole edilmiştir. Amerikan ve İngiliz bilim adamları deniz memelilerinde rastlanan ve daha önce tanımlanmamış olan brusella türünü *B.maris* olarak adlandırmıştır (4,6,8-10).

Ülkemizde brusella bakterisi ilk defa birinci dünya savaşı sırasında Abdülkadir Noyan tarafından izole edilmiştir (6,11).

4.1.1.Etiyoloji

Brusella 0.6-1.5 µm boyunda küçük, hareketsiz, sporsuz, gram negatif boyanan bir kokobasildir (4,6,12,13). Bu bakteri türünün üremesi yavaştır. Özellikle kan veya serumla zenginleştirilmiş et suyu, triptoz gibi peptonlu glukoz ve tuz içeren besiyerlerinde iyi ürerler. Bazı brusella türlerinin üremesi için besiyerine tiamin, niasin veya biotin eklenmesi gerekebilir. Optimum üreme ısısı 37 °C iken optimal pH 6.7-7.4 arasındadır (4,6,9). *B.abortus* dışındakiler aerop ortamda ürerken, bu bakteri mikroaerofildir ve üremesi için % 10 CO₂'li ortama ihtiyaç duyar (1,11,12).

Brusella bakterileri besiyerlerinde şeffaf, küçük, şebnem tanesi gibi S koloniler yaparlar. Kolonileri pigmentsiz ve hemolizsizdir. *B.ovis* ve *B.canis* R tipi koloni yapar (9,7,13). Brusella türlerinin hepsi katalaz pozitifdir. *B.ovis* ve *B.neotomae* hariç hepsi oksidaz pozitifdir. H₂S ve üreaz aktiviteleri değişkendir (4,7).

Brusellanın hücre duvarında pilus, fimbriya, kapsül gibi yapıları bulunmaz. Dış membranında lipopolisakkarit (LPS) ve dış membran proteini (Omp) içerirler. Brusellanın lipopolisakkarit tabakasında somatik M, A ve yüzeyel L antijenleri bulunur. *B.abortus* ve *B.suis*'te A antijeni fazla, M antijeni az bulunurken, *B.melitensis*'te M antijeni fazla, A antijeni azdır (9,10,13,14).

Brusella bakterisinin bir çok hücre içi sitoplazmik ve periplazmik membran antijenleri tanımlanmıştır. Omp25 (dış membran proteini) yapısal bir dış membran proteini olup tüm brusella türlerinde korunmuştur. Bu protein LPS ve peptidoglikanla ilişki içindedir (15-17).

Brusellaya karşı oluşan immün yanıtın hedefi olan ribozomal bir protein tanımlanmıştır. Aşı bileşeni olarak kullanımı planlanmaktadır (15-17).

Brusella bakterisinin asıl virülan ve immüdominant antijeni Smooth şuşlarının lipopolisakkarid (S-LPS) yapısıdır. Rough (R) tipi şuşlarda virülans azalmıştır. Doğal R formundaki türler (*B.canis* ve *B.ovis*) konak savunmaya karşı daha dirençsizdir (4,16). Bu fenomen O polisakkaritin ve yapısal olarak bununla ilişkili doğal haptenin brusella bakterisinin hücrelere invazyon ve virülansını belirlemede önemli yeri olduğunu gösterir. Kısa bir süre önce bu bakterinin virülans ilişkili düzenleyicisi (BvrR) veya sensör (BvrS) sistemi tanımlanmıştır (1,4,16,17).

Genomunun ortalama büyüklüğü 2.37×10^9 daltondur. DNA guanin+sitozin içeriği %58-59 mol'dür. Bütün brusella türleri %95 DNA homolojisi gösterir. Brusella genomu 2.1 ve 1.5 megabaz büyüklüğünde iki halksal kromozom içerir, fakat plazmid içermezler. Brusella türlerinde doğal plazmidler saptanmamıştır (15-17).

Tanımlanmış olan 8 brusella türü mevcuttur. Bunlar; *B. abortus*, *B. melitensis*, *B.suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B.neotoma*, *B.pinnipediae* ve *B. cetaceae*'dir (1,3). *B. ovis* ve *B.neotoma* insanda hastalık yapmazlar. *B. melitensis* esas olarak koyun ve keçilerde, *B. abortus* daha çok sığır ve mandalarda, *B.suis* domuzlarda, *B.canis* köpeklerde, *B.neotoma* ren geyiklerinde, *B.pinnipediae* ve *B. cetaceae* deniz canlılarında hastalık etkeni olarak saptanmaktadır. Dünyada en yaygın gözlenen ve en virülan tip *B. melitensis*'tir (1,3,6).

Bu mikroorganizmalar ısı ve pastörizasyona oldukça duyarlıdır, kaynama ısısında (100 °C) hemen, 60 °C'de 10 dakikada, % 0.1 fenolde 15 dakikada tahrip olurlar. Normal mide asidi brusella bakterilerini öldürmeye yeterlidir (6,18). Gübrede 2 yıl, 4-8 °C'de saklanan keçi peynirinde 6 ay, tuzsuz krema yağında buzdolabında 142 gün, düşük yapmış hayvan fetusunda 75 gün, toprakta ve suda 10 hafta, hayvanların barındığı ahır tozlarında 6 hafta, %10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, çiğ süttten yapılmış % 17 tuz içeren salamura peynirde ise 1 ay canlı kalabilmektedir. Tereyağında 4 ayda, oda ısısındaki peynirde 2 ayda dondurmada 30 günde ölmektedir (6,10,18).

4.1.2. Epidemiyoloji

Bruselloz dünyada oldukça yaygın görülen bir zoonozdur (19,20). Özellikle Akdeniz ülkeleri, Hindistan, Ortadoğu, Orta-Güney Amerika ve Arap ülkelerinde sık görülen bir infeksiyon hastalığıdır. *B.melitensis*; Akdeniz ülkeleri, Latin Amerika, Hint Yarımadası ve Asya’da yaygın görülürken, *B.abortus* özel bir coğrafi dağılım göstermez (7,21).

Bruselloz ülkemizde sık görülen morbiditesi yüksek ancak mortalitesi düşük bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) her yıl 500.000 yeni vaka rapor etmektedir (1,3). Ülkemizde her yıl binlerce insan bu hastalığa yakalanmaktadır. Bu hastalık sistemik etkilerine bağlı gelişen fiziki yetersizlik sonucu iş gücü kaybına neden olmaktadır. Sağlık Bakanlığı 1991-2000 yılları arasındaki insidansını 14/100000 olarak bildirmiştir, ancak yapılan serovalans çalışmaları bu oranın çok daha yüksek olduğunu düşündürmektedir (22). Özellikle Ankara ovasında, Konya yaylasında, Güneydoğu Anadolu’da, Diyarbakır ve Urfa yörelerinde yaygındır. *B.melitensis* kırsal kesimde daha sık görülürken, büyük şehirlerde *B.abortus* daha sık etkindir (6).

Brusella cinsi bakteriler hayvanlarda kronik hastalığa neden olur. Çoğu hayvan kendiliğinden iyileşse de hastalık ömür boyu kalıcı olabilir. Bu bakteriler gebe hayvanların plesantalarına yerleşip abortusa neden olabilir. Uzun süre hayvanların genitoüriner çıktılarıyla bakteri dış ortama saçılır (7,21).

Brusella infeksiyonu insana çeşitli yollarla bulaşabilmektedir. Ülkemizde en sık bulaş yolu çiğ süttten yapılmış peynir, krema ve yağ tüketimidir. Yoğurt ile bulaş söz konusu değildir, çünkü yoğurt yapılırken süt kaynatılır ve ilave edilen maya sütü asidifiye eder. Kaynatılıp çöktürme işlemi uygulanmış kaşar ve tulum peyniri ile bulaş mümkün değildir (6).

Hayvanların genital akıntısı, düşük materyali ve idrarının hasarlı deri veya mukoza ile teması sonucu infeksiyon bulaşabilir. İnhalasyon ve cinsel temasla da bulaş bildirilmiştir (1,6,23).

Ülkemizde her yaş ve cinsiyette görülebilmekle beraber, en sık 15-35 yaş arasında karşımıza çıkmaktadır. Hayvan yetiştiricileri, veteriner hekimler, mezbaha çalışanları, sağlık memurları ve et sanayide çalışanlar risk altındadır. Bruselloz yaz aylarında 4 kat daha fazla görülür (6).

4.1.3. Patogenez

Brusella, invitro olarak kültürü yapılan ve hücre dışı ortamda kısa süre yaşayan fakültatif intrasellüler bir bakteridir. Memeli hücrelerinde intrasellüler yaşama yeteneği olan ve bu hücreleri rezervuar olarak kullanan bir mikroorganizmadır (24).

Brusella türleri insanlara ve hayvanlara patojenite gösteren, konağına oldukça iyi uyum sağlayabilen bir bakteridir (1-3,23). *B.melitensis* ve *B.suis*; *Babortus* ve *B.canis*'e göre daha virüladır (3). Retiküloendotelyal sistem (RES) içerisinde uzun süre yaşayabilme ve çoğalabilme yeteneğine sahiptir. Mikroorganizma sindirim yoluyla, inhalasyon yoluyla, hasarlı deriden veya konjunktival mukozadan vücuda girebilir (3,23). Midenin düşük asiditesi brusella infeksiyonuna karşı bir miktar koruyuculuk gösterir. Mide asiditesini azaltan ilaçlar bruselloza yatkınlık sağlar (1,23).

Diğer patojenik bakterilerden farklı olarak brusella suşlarında klasik virulans faktörü tanımlanmamıştır. Brusella türlerinin virulans elemanları bir takım moleküler belirleyicilerdir. Bakteri mukozayı aştıktan sonra submukozal dokularda bulunan fagositler tarafından fagosit edilir (1). Brusella, makrofajlara girerken özel reseptörlere bağlanır. Hücresel prion proteini (PrPc) ve A sınıfı çöpçü reseptörü (SR-A), brusella

antijenlerinin bağlandığı reseptörlerdir. (24). Makrofaj ve nötrofiller mikroorganizmayı fagositoz ile içine alırlar. Opsonize brusella, kompleman ve Fc reseptörleri aracılığı ile makrofaj veya monosit içerisine alınırken opsonize olmayan bakteriler, lipit kıvrımlar aracılığı ile hücre içine alınır (1,16,25,26).

Brusella, fagosit tarafından hücre içine alındıktan sonra, kendisinin çoğalabileceği özgül bölgeye ulaşır. Hücre içine alınan bakterilerin sadece %15-30'u lizozomla birleşmekten kurtulur ve çoğalabileceği endoplazmik retiküluma ulaşır. Bakteri endoplazmik retikulumda çoğalır (2). Brusella türleri fagosit içerisinde fagolizozom birleşmesini engelleyerek öldürülmekten korunur. Tam olarak bu korunmanın mekanizması bilinmemektedir. Enfekte makrofajlar TNF α salmasıyla otokrin ve parakrin olarak infeksiyonu sınırlandırmaya çalışırlar. Gerek uyarılmış T hücreleri gerekse NK hücrelerden salgılanan IFN γ makrofajların antibakteriyel etkinliğini daha da artırır (21). Makrofaj aktivasyonu reaktif oksijen ve nitrojen bileşenlerinin ortaya çıkmasına, protein sentezinin inhibisyonuna, MHC tip II ifadenmesinin artışına veya apoptoza neden olur. İstirahat halindeki makrofaj hücre içi patojenlerin eliminasyonu konusunda yetersizlik gösterirken, aktive olmuş makrofaj daha etkin bir şekilde patojenleri parçalayabilir (20,21,24).

Öldürülemeyen bakteriler hızla bölgesel lenf nodlarına ilerler ve burada çoğaldıktan sonra hematojen yolla RES organlarına yayılır. Başlıca yerleştiği organlar; karaciğer, dalak, kemik iliği, böbrek, santral sinir sistemi, endokart, testis ve overlerdir (6,10). Bu organlarda intrasellüler üremelerine devam ederler. Bakterilerin fagositik hücre içerisinde yaşamasında etkili olduğu düşünülen mekanizmalar; bakterilerin lizozomal enzimlere dirençli olması, fagolizozomu engellemesi, adenin ve 5'-guanozin monofosfat üreterek nötrofillerin H₂O₂ oluşturmalarının engellemesi ve sahip oldukları süperoksit dismutaz

(SOD) enzimi ile reaktif oksijen moleküllerini uzaklaştırarak oksidatif yıkıma karşı koymasındır (27,28).

Çoğaldığı dokularda oluşturduğu mikroapseler, granülom odakları hastalığın kronikleşmesinde ve relapsında önemli rol oynar (26-28).

4.1.4. Klinik Belirti ve Bulgular

Brusella bakterisi konakta bir çok organı etkileyebilme yeteneğine sahip olduğu için hastalık oldukça geniş bir klinik spektruma sahiptir. Hastalığın şiddeti; etken bakterinin türü, konağın duyarlılığı, immünitesi ve altta yatan hastalığının olup olmaması ile yakından ilişkilidir. *B.melitensis* ve *B.abortus* arasında klinik açıdan bir fark bildirilmemiştir (8).

İnkübasyon süresi 2-3 haftadır. Bu süreyi takiben ateş, üşüme, titreme, terleme, halsizlik, miyalji, artalji, baş ağrısı gibi özgül olmayan semptomlar ortaya çıkar (1,7,15,29-34). Asemptomatik infeksiyon, akut infeksiyon, subakut infeksiyon, kronik infeksiyon olmak üzere dört klinik formu vardır.

A-Asemptomatik infeksiyon: Yapılan serolojik taramalar sırasında ortaya çıkan ve herhangi bir semptom vermeyen tablodur. Daha çok çiftçi, veteriner gibi hayvanlarla sık teması olan gruplarda karşımıza çıkmaktadır. Semptom olmadığı için bu olgular tedavi edilmez (29,35).

B-Akut infeksiyon: Hastalığın tipik ve klasik formudur. Semptomlar 8 haftadan kısadır. Akut bruselloz halsizlik, iştahsızlık, baş ağrısı, artralji, miyalji gibi belirtilerle başlar. Ateş genellikle akşam saatlerinde üşüme-titreme ile yükselir (1,3). Hergün birkaç diziyem artarak 8-10 günde 39-40 °C'ye ulaşır. Daha sonra kademe kademe düşer ve 2 hafta sonunda normale iner (Ondülan ateş). Pratikte bu ateşe rastlanmamaktadır. Bu

hastalıkta ateş genellikle remittan ve intermittan olarak seyreder. Ateş bol terleme ile düşer ve ateşsiz dönemde hasta kendini iyi hisseder. Eğer tedaviye başlanmamışsa 8-10 gün sonra ateşli dönem tekrar ortaya çıkar (1,4). Hastalarda ateş dışında önemli bir semptom da gezici kas ve eklem ağrılarıdır. Olguların büyük bir kısmında tek eklem tutulur. En sık tutulan eklem sakroiliak eklemdir. Eklem tutulumu olanlarda tedavi sonrası relaps ve reinfeksiyon sıklığıdır. Orşit bazı vakalarda tek klinik bulgu olabilmektedir. Daha nadir olarak hastalar tipik menenjit tablosuyla hekime başvurabilmektedir (3,4,35).

Bu dönemde ateş yüksekliği dışında olguların %6-65'inde hepatomegali, %5-50'inde splenomegali tespit edilir. Ağrısız- mobil servikal ve axillar lenfadenopati de saptanabilir (1,3,4,35).

C-Subakut infeksiyon: Hekimlerin tanıda en çok zorlandığı klinik formdur. İştahsızlık, halsizlik, hafif ateş gibi nonspesifik yakınmalar nedeniyle viral infeksiyonlarla karışabilmektedir. Semptomlar 8-52 hafta arasında sürer. Artrit ve epididimoorşit gibi immünolojik komplikasyonların sık görüldüğü evredir (4,35).

D-Kronik infeksiyon: Semptomların 52 haftadan uzun sürmesidir. Bu vakalar genellikle uygun süre ve dozda tedavi almamış veya fokal süpüratif komplikasyonu olan hastalardır. Hastalar genellikle ara ara olan ateş, kronik yorgunluk, genel durum düşkünlüğü, psikolojik ve romatolojik semptomlardan yakınmaktadırlar. Olguların bir kısmında siklik episklerit ve üveit gelişebilmektedir. Kronik yorgunluk sendromuna neden olabilir (4,29,35).

4.1.5. Komplikasyonlar

Bazı kaynaklar komplikasyonları lokalize infeksiyonlar başlığı altında 5. klinik form olarak kabul eder. Beşyüzotuz olgunun ele alındığı prospektif bir çalışmada fokal

komplikasyon oranı %32 olarak tespit edilirken, 480 olgunun ele alındığı bir başka çalışmada bu oran %27.7 olarak bildirilmiştir (34,36).

1-Kas iskelet sistemi komplikasyonları: Brusellozda osteoartiküler tutulum en sık *B.melitensis* infeksiyonunda görülür. Görülme oranı %20-60'dır (4). Artralji, artrit, osteomiyelit, bursit, tenosinovit, spondilit brusellozda yaygın görülen osteoartiküler komplikasyonlardır. En sık osteoartiküler tutulum sakroileittir (% 45). Sakroileit genellikle tek taraflıdır. Bu hastalarda gece daha çok beliren ağrı ve Laseque pozitifliği tipiktir (4,7,37-40).

2-Sinir sistemi komplikasyonları: Brusellozda sinir sistemi komplikasyonu görülme oranı %2-6.5 civarındadır. Menenjit, ensefalit, meningeoensefalit, radikülit, miyelit, nörit, Gullian-Barre, depresyon, psikoz, parestezi brusellozda görülebilir (4). En yaygın sinir sistemi komplikasyonu menenjittir. Beyin Omurilik Sıvısında (BOS) lenfositik pleositoz, protein yüksekliği ve glukoz düşüklüğü ile karakterizedir. En önemli ölüm nedenlerinden birisidir (4,41,42).

3-Kardiyovasküler sistem komplikasyonları: Görülme oranı % 2'nin altındadır. En sık aort kapağını tutar. Bu hastalıkta en sık ölüm nedeni olan komplikasyon endokardittir. Genellikle medikal tedavi tek başına yetersiz kalır ve kapak replasmanı gerekir. Perikardit, miyokardit, septik embolizasyon ve aortik anevrizmalar diğer kardiyovasküler komplikasyonlardır (4,43,44,45).

4-Gastrointestinal sistem komplikasyonları: Hastaların büyük bir kısmında iştahsızlık, bulantı-kusma, ishal, kabızlık, kilo kaybı gibi gastrointestinal semptomlar bulunmaktadır (29,43,46). Olguların %30-50'sinde karaciğer enzim yüksekliği tespit edilir. *B.abortus* karaciğerde granülatöz hepatit yaparken, *B.melitensis* nongranülatöz hepatite neden olur. Karaciğer ve dalak abseleri, spontan bakteriyel

peritonit, pankreatit, kolesistit görülen diğer gastrointestinal komplikasyonlardır (4,47-49).

5-Hematolojik komplikasyonlar: Lenfositozla karakterize lökopeni, anemi, trombositopeni ve pansitopeni yaygın görülen hematolojik komplikasyonlardır. Pansitopeni brusellozun nadir bir komplikasyonudur, değişik serilerde görülme oranı %3-21 arasında bildirilmiştir (26,50). Pansitopeni etyopatogenezinde hipersplenizm, dissemine intravasküler koagülasyon, hemofagositoz, kemik iliği süpresyonu ve trombositlerdeki destrüksiyonlar sorumlu tutulmaktadır (4,26,50).

6-Cilt komplikasyonları: Olguların % 5'inde görülür. Çoğu geçici ve nonspesifik lezyonlardır. Eritema nodozum, papül, vezikül, ülser, peteşi, purpura, vaskülit, makülpapüler ve impetigo benzeri döküntüler görülebilir (4,51,52).

7-Pulmoner Sistem: Mikroorganizmanın inhalasyonla alındığı olgularda bronşit, bronkopnömoni, akciğerde soliter veya multiple nodül, akciğer absesi, hiler lenfadenopati, plevral efüzyon, Akut Respiratuar Distres Sendromu (ARDS) ve mediastinit gelişebilir (4,53).

8-Genitoüriner sistem komplikasyonları: %1-20 oranında görülür. İntertisiyel nefrit, pyelonefrit, eksüdatif glomerulonefrit, Ig A nefropatisi, orşit, salpenjit, servisit, pelvik apse, sistit ve prostatit brusellozda görülebilen komplikasyonlar arasındadır (4,54-56).

9-Göz komplikasyonları: Üveit, kronik iridosiklit, multifokal koroidit, optik nörit ve nümuler keratit bruselloza bağlı gelişebilen komplikasyonlardır. Üveit immun yanıtla bağlı geliştiği düşünülen ve steroid tedavisine yanıt veren bir tablodur (4,43).

4.1.6. Tanı

1- Bakteriyolojik tanı yöntemleri

2-Serolojik tanı yöntemleri

3-Moleküler tanı yöntemleri

1-Bakteriyolojik tanı: Bruselloz tanısı, kan, kemik iliği, karaciğer, lenf nodu, BOS, synovial sıvı, prostatik sıvı örneklerinden mikroorganizmanın izolasyonu ve/veya klinik bulgular varlığında seroloji pozitifliği ile konulur (29). Kandan mikroorganizmanın izole edilmesi % 15-80 arasında değişmektedir. Bu oran akut brusellozda diğer klinik formlara göre daha yüksektir. Bakterinin kemik iliği kültüründen izolasyon oranı % 90'nın üzerindedir (29,34,57). Özellikle kronik bruselloz vakalarında kan kültürü her zaman sonuç vermeyebilir onun için subakut ve kronik vakalarda etkenin üretilmesi için kemik iliği kültürü önemlidir (21,49,58). Bruselloz düşünülen vakadan çok sayıda kan kültürü alınmalıdır. Ateşli dönemde alınan kan iyi bir kültür materyali olsa da afebril dönemde de kan kültürü alınmalıdır. Önceleri bakterinin izolasyonu için materyalin sıvı ya da bifazik (castenada) besiyerlerinde uzun süre inkübasyon ve inkübasyon sonunda kör bir subkültüre ihtiyaç vardı. Günümüzde ise otomatize kan kültür sistemleri (BACTEC, Bact-Alert, Vital, ES) ile 7-10 günde etken izole edilebilmektedir (7).

Brusella bakterisi kanlı ve çukolata agarda yavaş büyür. Mac Conkey ve EMB agarda üremez. Besiyerinde 48 saatte görünür hale gelir. Kolonileri küçük, beyaz renkli ve parlaktır (14). Alınan örnekler 2 ayrı besiyerine ekilir. Kültürlerin bir tanesi *B.abortus*'un üremesi için % 5-10 CO₂'li ortama ihtiyaç duyar (59).

2-Serolojik tanı: Serolojik testler bruselloz tanısında yardımcıdır. Bunlar; standart tüp aglütinasyon testi (STA), Rose Bengal, immuncapture aglütinasyon testi, indirekt

hemaglutinasyon testi, komplemen fiksasyon testi, indirek florasan antikor testi, radyoimmün ve enzimimmün assay testleridir (7).

Standart Tüp Aglutinasyon Testi: Wright testi olarak adlandırılır. Bruselloz tanısında en yaygın kullanılan testtir. Fenolle öldürülmüş *B.abortus* antijeni kullanılmaktadır. Bu test hem IgM hem Ig G antikorlarını ölçer. Hastalığın 2-3. haftasında pozitifleşir. Tanıda DSÖ'ne (Dünya Sağlık Örgütü) göre 1 > 160 veya 2-3 hafta aralıkla bakılan titrede 4 kat artış pozitif kabul edilir. *Y.enterocolitika* 0:9, *E.coli* 0157, 0116, *F. Tularensis*, *Salmonella urbana*, *V. Cholerae*, *Xanthomonas maltophilia* ve *Afipic clevelandensis* antijenlerine bağlı çapraz reaksiyon sonucu yalancı pozitiflik saptanabilir (7,60-62).

Kronik infeksiyonun alevlenmesinden şüphe ediliyorsa reaktivasyon markerı olarak kabul edilen IgG'nin aglutinasyon titresinin gösterilmesi gerekir. Bu amaçla serumun 2 merkaptotanol veya rivanol gibi kimyasallarla muamelesi sonucu IgM molekülü aglutinasyon özelliğini kaybeder, IgG ise etkilenmez. Böylece serumdaki IgG antikorları kantitatif olarak saptanabilir ve alevlenme tanısı konulabilir (7,14).

ELİSA, bruselloz için gittikçe artan popüleriteye sahip standardizasyonu iyi olan bir testtir. Sensitivitesi spesifik IgM ve IgG birlikte bakıldığında çok yüksek fakat özgüllüğü aglutinasyon testlerinden daha düşüktür. Brusella bakterisinin smoot LPS' e karşı oluşmuş antikorlar arandığı için endemik bölgelerde çalışılırken cut-off kesme noktaları ile ayırarak özgüllüğü etkileyebilir (20).

Coombs testi; bruselloz kliniği belirgin olduğu halde STA testinin negatif olduğu durumlara sık rastlanır (4). Bu durum antikorların antijenlere bağlandığı halde aglutinasyon reaksiyon oluşmasını engelleyen blokan antikor varlığından doğmaktadır. Bu durumda eklenen coombs serumu ile blokan antikorların etkisi ortadan kalkar ve aglutinasyon görünür hale gelir. Endemik bölgelerde tarama testi olarak Rose Bengal ve Spot testleri kullanılmaktadır (4,11).

3-Moleküler tanı yöntemleri: Cinse özgü 16s RNA'yı hedef olan primerler tanımlanmıştır. Her bir polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) sistemi farklı DNA ürünleri oluşturur. Bcsp31 genine yönelik primer kullanılarak yapılan çalışmalarda %100 duyarlılık, %98.3 özgüllük saptanmıştır (20,63). Farklı PCR sistemleri değişik primerler kullanılarak kıyaslandığında sonuçlar muhtemelen klinik örneğin yapısına, örnek hazırlama prosedürüne, hastalığın süre ve dönemine bağlı olarak değişmektedir (20).

Bruselloz tanısında son yıllarda PCR'dan geniş ölçüde yararlanılmaktadır. PCR çok az sayıda bulunan brucella bakterilerini bile tespit edebildiği için, özellikle nüks olguların değerlendirilmesi ve tedavi sonrası izlemde çok değerlidir (63,64).

4.1.7. Tedavi

Bruselloz ülkemizde yaygın görülen bir hastalık olmasına rağmen tedavi seçenekleri hala tartışmalıdır. Brucella türlerinin intrasellüler yaşaması, mikroabseler yapması ve granülomlar oluşturmaları tedavide problemin ana nedenleridir (4,65). Brucella bakterisi intrasellüler bir bakteri olduğu için, tedavide kullanılacak antibiyotiklerin makrofaj içerisine penetre olabilmesi, yeterli konsantrasyona ulaşabilmesi ve bakterisi etkili olmaları gerekir (1,66,67).

Bruselloz kombine antibiyotik kullanımının gerekli olduğu bir hastalıktır. Monoterapi bakterilerin direnç gelişimine ve tedavinin başarısız olmasına (relaps) neden olmaktadır (4,67). Brusellozda uygun dozda ve sürede antibiyotik kombinasyonu kullanımı hastalığın semptomlarını hafifletir, hastalık süresini kısaltır ve komplikasyonları azaltır (4).

Tetrasiklinlerin brucella bakterilerine karşı invitro etkisi çok iyidir, fakat monoterapide relaps riski yüksektir. Doksisiklin uzun etkili bir tetrasiklin türevidir,

lipofiliktir, doku ve vücut sıvılarına iyi penetre olur ve brüselloz tedavisinde önerilen ilaçların başında gelir (4).

Rifampisin invitro etkinliği, makrofaj ve lökositlerin içerisine iyi penetrasyonu ve dokulara iyi geçişi nedeni ile brüselloz tedavisindeki diğer bir seçenektir. Invitro olarak tetrasiklinlerle sinerjistik etkileşim gösterir (1,66).

DSÖ 1971 yılında tetrasiklin 4x500 mg/gün 3 hafta + streptomisin 1x1 gr/gün 14 gün kombinasyonunu önermiş (1,4,8). Bu rejimi yüksek relaps nedeniyle 1986 yılında doksisisiklin 200 mg/gün + rifampisin 600-900 mg/gün 6 hafta şeklinde düzenlemiştir. Rifampisin yerine streptomisinin 1gr/gün 14-21 gün verilebileceği, özellikle spondiliti olan hastalarda streptomisinli kombinasyonun daha etkin olduğu belirtilmiştir (1,3,4,8,67,68).

Aminoglikozitler brüsellozda orta derecede etkilidirler. Tetrasiklinlerle sinerjistik etki gösterirler. Brüsellozda en çok deneyim sahibi olunan aminoglikozit streptomisindir. Netilmisin, amikasin, gentamisin, spektinomisin brüselloza invitro etkilidir (1,4). Streptomisin yerine 7 gün süreyle gentamisin (5 mg/kg/gün) veya netilmisin (6 mg/kg/gün) kullanılabilir. Tobramisine invitro olarak direnç tespit edilmiştir (4).

Otuz randomize kontrollü çalışmanın göz önüne alındığı bir metaanalizde doksisisiklin+rifampisin kombinasyonunun doksisisiklin+streptomisine nazaran daha başarısız olduğu bildirilmiştir. Bu durum yüksek relapslarla ilişkilendirilmiştir. Doksisisiklin+streptomisin tedavisinde doksisisiklin+rifampisin+aminoglikozid tedavisine nazaran daha yüksek oranda tedavi başarısızlığı saptanmıştır. Gentamisinin streptomisine üstünlüğü gösterilememiştir. Rifampisin+kinolon kombinasyonunun doksisisiklin+rifampisin veya doksisisiklin+streptomisin tedavisinden çok daha az etkili olduğu belirtilmiştir. Benzer süreler kullanıldığında monoterapinin daha yüksek oranda

relapsa neden olduğu bildirilmiş ve tedavi sũresinin 6 hafta veya daha uzun olması önerilmiştir (69).

Trimetoprim-sũlfametaksazol brusellozda monoterapi olarak uygulandığında relaps oranları yũksek olduğu için terk edilmiştir Bu ilaç rifampisin veya aminoglikozitlerle kombine edilerek çocuklarda, gebelerde, yaşlılarda, emzirenlerde ve tetrasiklin tũrevi ilaçlara duyarlı olan hastalarda kullanılabilir (4).

Kinolonlar doku konsantrasyonları yũksek, intrasellũler penetrasyonları iyi, bakterisidal etkili antibiyotiklerdir. Siprofloksasin ve ofloksasin brusella tũrlerine en etkili kinolonlardır (70). Fluorokinolonlar brusella tũrlerine invitro oldukça etkilidirler, ancak monoterapisinde hayal kırıklığı yaşanmıştır. Altı hafta sũreyle ofloksasin 400 mg/gũn + rifampisin 600mg/gũn kombinasyonun etkinliğinin, doksisisiklin 200 mg/gũn + rifampisin 600 mg/gũn tedavisine eş değer olduğu belirtilmiştir (70-72).

Sefalosporinler brusella tũrlerine invitro olarak etkili olması ve BOS'a geçmesi nedeni ile brusellaya bağlı gelişen menenjit başta olmak ũzere çeşitli klinik formlarda kullanılmaktadır (72). Seftriakson brusella tũrlerine karşı invitro etkilidir, ancak yapılan çalışmaların sonuçları değişken olduğu için gũnũmũzde ilk tedavi seçeneği değildir (66,71).

Makrolitlerin kullanıldığı tedavi rejimleri başarısız bulunmuştur. Makrolitler içinde brusella bakterilerine karşı en etkili ilaç azitromisin'dir (66,72).

Lũkomotor sistem tutulumu olan hastalarda tedavi: Spondiliti olan vakalarda doksisisiklin +streptomisin kombinasyonun doksisisiklin + rifampisin kombinasyonundan daha etkili olduğu gũsterilmiřtir (4,21). Spondilitli olgularda tedavi sũresi farklı çalışmalarda 6-12 hafta arasında değişmektedir. Tedaviye eritrosit sedimentasyon hızı normale dũnene ve radyolojik iyileşme olana kadar devam edilmelidir. Abse varlığında tedavi sũresi en az 3-6 aydır (21,67).

Çocuklarda brucelloz tedavisi: Sekiz yaş altında diş minesine olumsuz etkileri nedeniyle ile tetrasiklin kullanılmamalıdır. Çocuklarda brucelloz tedavisinde 4 – 6 hafta süreyle rifampisin + trimetoprim-sülfametaksazol veya 4 – 6 hafta süreyle rifampisin + 5 – 10 gün süreyle gentamisin önerilir (35).

Nörobrucelloz: Nörobrucellozda kullanılan antibiyotikler BOS'a iyi geçmeli ve bakterisidal olmalıdır. Streptomisin BOS'ta yeterli konsantrasyona ulaşmadığı için nörobrucellozda kullanılmaz (4,6). Rifampisin BOS'a iyi geçtiği için nörobrucellozda kombinasyonlar içerisinde mutlaka yer almalıdır. Doksisiklinin BOS'a geçişi diğer tetrasiklinlerden daha iyidir. Nörobrucellozda mutlaka 3'lü kombinasyon önerilir. Doksisiklin + rifampisin + trimetoprim-sülfametaksazol veya doksisiklin + rifampisin + seftriakson kullanılabilir. Tedavi süresi en az 3 aydır, hastanın kliniği ve BOS bulguları düzelene kadar tedavi sürdürülmelidir (6,65).

Gebelerde brucelloz tedavisi: Gebelerde tetrasiklin ve kinolon kullanımından kaçınılmalıdır. Rifampisin + trimetoprim-sülfametaksazol, rifampisin + gentamisin veya seftriakson kullanılabilir (4,8,65).

Endokardit: Brucellozun en mortal komplikasyonudur (4,8). Çoğu zaman tek başına medikal tedavi yeterli değildir. Kapak replasmanı ve medikal tedavi önerilir. Medikal tedavide doksisiklin + rifampisin + trimetoprim-sülfametaksazol 3-12 ay süreyle önerilir (7,65).

4.1.8. Korunma ve immünoloji

İnsanlarda brucellozun önlenmesi evcil hayvanlarda brucellozun eradikasyonu ve kontrolüne bağlıdır. Bu açıdan veteriner hekimler ve doktorlar işbirliği içinde çalışmalıdır. *B.abortus* , *B.melitensis* için canlı etkin aşılar varken, *B.canis* ve *B.suis* için

etkin bir aşı yoktur. Enfekte olmamış süt kuzuları *B. melitensis* Rew 1, enfekte olmamış süt danaları *B.abortus* 19 ile aşılanır. Brusella aşları insan immünizasyonda yetersizdir (4,6).

Çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketimi önlenmelidir. Sütün pastörize edilerek tüketilmesi, peynirlerin salamura yapılarak üzerlerine yapılış tarihlerinin belirtilmesi ve hastalığın epidemik olduğu yerlerde tulum ve kaşar peynirin tüketilmesi önerilmektedir (4,7).

Hastalığın temas yoluyla bulaşını engellemek için veterinerlerin, mezbahane işçilerinin, kasapların, hayvan bakıcılarının, sağlık memurlarının, laboratuvar çalışanlarının hayvanın artıkları ile temas etmemeleri ve eldiven kullanmaları önerilmektedir (4).

Brusella bakterisi hem hücresel hemde humoral yanıtı neden olmaktadır. Hastalığın akut döneminde spesifik Ig M yanıtı gelişir. Ig M ilk haftada tespit edilebilir ve yaklaşık 3 hafta sonra düşmeye başlar (7,31). Ig G ise 3. haftadan itibaren ortaya çıkar, 2. ayda maksimum düzeye ulaşır, tedavi edilmemiş olgularda 1 yıl süre ile kanda saptanır. Uygun tedavi ile geriler en geç 6. ayda kaybolur veya çok düşük titrelerle düşer ve rektivasyonda tekrar artar. Ig G 'den sonra Ig A'da tespit edilebilir fakat tanısal bir değeri yoktur (11,14,31).

Brusella infeksiyonunda immün yanıt farklılığını etkileyen faktörler;

1-Konağa ait faktörler; yaş, cinsiyet, immün durum, gebelik, önceden antibiyotik kullanımı

2-Mikroorganizmaya ait faktörler; bakterinin tipi ve virülansı, inokulum büyüklüğü.

Brusella enfekte ettiği konakta hem hücresel hemde humoral immün yanıt meydana getirir. Hücresel immüniteye klasik patolojik yanıt brusella bakterisi epiteloit hücreler, PMNL, lenfositler ve dev hücrelerden oluşmuş granüloittir (4).

Granülamatoz yanıt *B.abortus* infeksiyonunun karakteristik bulgusudur (29). *B.melitensis* infeksiyonunda granülomlar son derece küçüktür fakat çoğu zaman toksemi vardır. *B.suis* infeksiyonunda ise eklemlerde ve dalakta kronik abse oluşumları dikkat çeker (29,30).

Brusella infeksiyonu hem hücresel hemde humoral immün yanıtı uyarsa da infeksiyonun kontrol altına alınması temel olarak hücresel immüniteye bağlıdır. Makrofajların bakterisidal mekanizmalarını aktive etmek için gereken lenfokinler T lenfositlerden salınır (7,11).

4.2. İMMÜNOLOJİ

İnfeksiyonlara karşı savunmayı sağlayan hücreler ve moleküllerin toplamına “immün sistem” adı verilir. Bu hücrelerin ve moleküllerin uyarıcı etmenlere karşı düzenli olarak verdikleri cevaba “immün yanıt” denir. İmmün sistemin sağlık için önemi, bu sistemi kusurlu bireylerin hayati tehlike oluşturan ciddi infeksiyonlara olan yatkınlıklarıyla bir kez daha kanıtlanır (73-77).

Konak savunma mekanizması; infeksiyonlara karşı ilk koruyucu bariyeri oluşturan “doğal immünite” ve daha yavaş olarak devreye giren, ancak infeksiyonlara karşı daha etkili ve özgün savunma sağlayan “edinsel immünite” ’den oluşur (73).

İmmün yanıt; aynı uyaranla tekrar karşılaşıldığında daha da gelişir. Edinsel immün yanıt enfeksiyöz ajanı yeniden tanıyarak tekrar karşılaşıldığında hastalığa neden olmasını engeller (73). Örneğin kabakulak ve difteri ömür boyu süren edinsel immün yanıt oluşturur. Dolayısıyla edinsel immüntenin en önemli iki özelliği “özüllük ve bellek” tir (75,76).

İmmün yanıt antijenin tanınması, lenfositlerin aktivasyonu, antijenin ortadan kaldırılması, immün cevabın sonlandırılması ve bellek olmak üzere birbirini izleyen 5

evreden oluşmaktadır. Bu evrelerin düzgün bir şekilde işletilmesi immün yanıtın etkinliğini, doğruluğunu ve özgüllüğünü belirler (73-77).

İmmün sistem içerisinde özelleşmiş görevleri olan çeşitli hücreler vardır:

1-Fagositler

2-Lenfositler

3-Sitotoksik hücreler

1- Fagositler: Uzun ömürlü fagositik hücrelerin en önemli grubu mononükleer fagositik seriye aittir. Bu hücreler kemik iliği kök hücrelerinden köken alır. İşlevleri partiküllerin içe alınması, parçalanması ve yok edilmesidir (73). Bu nedenle stratejik olarak bu tip partiküllerle karşılaşma olasılığının en yüksek olduğu yerlerde yerleşmişlerdir. Örnek olarak karaciğer sinüzoidlerindeki kupffer hücreleri, deri altındaki dentritik hücreler ve makrofajlar gösterilebilir. Kandaki monositler de bu hücre serisine aittirler ve zamanla dokulara göç ederek makrofajlara dönüşür. Bu hücreler T hücrelerine antijen sunmada son derece yetkindir (74). Fagositik hücrelerin diğer bir bölümü ise polimorf nüveli nötrofillerdir. Bunlar kandaki lökositlerin en önemli kısmını oluştururlar ve uyarı anında dokulara göç ederler. Mononükleer fagositik hücrelerden kısa yaşam süreleri ve düşük fagositik yetenekleriyle ayrılır (73,75).

2- Lenfositler: Lenfositler immün yanıtın özgüllüğünden sorumlu hücrelerdir. Tüm lenfositler kemik iliği kök hücrelerinden köken alır. T lenfositler gelişimlerini timusta tamamlarken B lenfositler gelişimlerini kemik iliğinde tamamlar (73,75).

B lenfositler spesifik bir antijeni tanıyarak bu antijene karşı antikor salgırlar. Bu antikor molekülleri büyük glikoproteinler olup kanda ve doku sıvılarında antijene bağlanabilme yeteneğine sahiptir (73,76).

T lenfositler, farklı işlevler gösteren değişik tiplerdeki hücrelerden oluşur. İlk iki grup hücreye “yardımcı T hücreleri” denir. Birinci grup T lenfosit, B lenfositlerle ilişkiye

girerek onların bölünmesi, farklılaşması ve antikor üretmesine yardım eder (73,74). İkinci grup mononükleer hücrelerle ilişkiye girerek onların patojenleri yok etmesine yardım eder. Üçüncü grup T hücreleri ise virüs veya diğer intrasellüler patojenlerle enfekte konak hücrelerin ortadan kaldırılmasından sorumludur. Bu işleme “sitotoksiste” denir, dolayısıyla bu görevi üstlenen T hücreleri de “sitotoksik T ” hücreleri (CTL) olarak adlandırılır (75). T hücreleri antijenleri özel yüzey reseptörleri aracılığıyla tanır. T hücre reseptörü adı verilen bu özgül yapı hem yapısal hem de işlevsel olarak B hücre reseptörüne benzer. T hücreleri etkilerini sitokin adı verilen diğer hücrelerde, hücre içi sinyal üretimine neden olan soluble proteinler salgılayarak gösterir (73,76).

3- Sitotoksik hücreler: Bazı hücrelerin diğer hücreleri öldürebilme yeteneği vardır. Yukarıda bahsedilen CTL bunlardan birisidir. İri granüllü lenfositlerin (LGL) ve doğal katil hücrelerin de (NK) sitotoksik özellikleri vardır (75). Eozinofilik polimorf hücreler ise büyük ekstrasellüler parazitlere dışarıdan yapışarak sitotoksiste gösterme yeteneğindedir. Tüm bu hücreler, hücre içerisinde bulunan farklı özellikli granülleri ortama salarak bu etkileri gösterir (73,74).

4-Diğer hücreler (yardımcı): İmmün yanıtın gelişmesinden sorumlu başka hücrelerde vardır. İnflamasyonu uyarma yeteneği olan granüller içeren mast hücreleri ve bazofiller bu grupta değerlendirilir. Trombositler de inflamatuvar düzenleyicileri salgılama yeteneğindedir (73,75,77).

4.2.1. İmmünitinin soluble düzenleyicileri:

İmmün yanıtın düzenlenmesinde pek çok molekül yer alır (antikorlar, sitokinler ve serumda normalde bulunan diğer moleküller). Bir dizi proteinin serum düzeyleri enfeksiyon sırasında anlamlı düzeyde yükselir. Bunlara “akut faz proteinleri” denir (73-

79). Bakteriye bağlandığında komplemanın opsonizasyon etkisini artıran C-Reaktif protein (CRP) bunlardan birisidir. İmmunitenin soluble düzenleyicilerini şu şekilde sıralayabiliriz:

1- Kompleman

2- Antikorlar

3-İmmün yanıt sırasında hücreler arası iletişimi sağlayan moleküller (Sitokin ailesi)

-İnterferonlar

-İnterlökinler

-Kemokinler

-Tümör nekrozis faktörler(TNF)

-Koloni stimulant faktörler (CSF)

-Growth faktörler

1- Kompleman: İnflamasyonun kontrolünde yer alan yaklaşık 20 proteinden oluşan bir gruptur. Bileşenlerin bir kaç tanesi akut faz proteinidir. Kompleman sisteminin bileşenleri birbirleriyle ve immün sistemin diğer elemanlarıyla etkileşim halindedir. Bir dizi bakteri kompleman sistemini “alternatif yoldan” aktive ederek “doğal bağışıklığı” uyarır (73,74). Bu mikroorganizmaların bazı proteinlerce kaplanarak fagositlerce etkin bir şekilde tanınmasına neden olur. Kompleman sistemi antikorlar tarafından da aktive edilebilir. Bu durumda “klasik yolağın” aktivasyonundan bahsedilir ve edinsel immün yanıt bileşenidir (73,79).

Kan pıhtılaşma sisteminde olduğu gibi bir dizi protein bir diğerini aktive ederek sonuçta, hedef mikroorganizmanın membranında membran atak kompleksinin (MAK) oluşumu sağlanır (73). Ayrıca fagositlerin ortama göçünü yönlendiren moleküller, kan akımı ve kapiller geçirgenliğin artmasına neden olan, mikroorganizmaların fagositlerce tanınmasını kolaylaştıran moleküller açığa çıkar (74,78).

2- Antikorlar: Aynı zamanda immünglobulinler olarak da adlandırılırlar. AFC (Antibody Forming Cell) veya plazma hücresi haline dönüşmüş B lenfositler tarafından üretilir. Aslında B hücre reseptörünün suda çözünür halleridir (73,74). Tüm antikorlar aynı temel yapıya sahip olmakla beraber antijene bağlanan bölgeleri farklılık gösterir. Genellikle her antikor özgül olarak tek bir antijene bağlanabilir. Antijene bağlanan antikor bölgesine 'Fab'(fragment antigen binding) bölgesi denir (79-82). Antijene bağlanan bölgesi haricinde kalan antikor parçaları immün sistemin farklı elemanlarıyla ilişkiye girerek fagosit - kompleman aktivasyonu ve opsonizasyona neden olur. Antikor molekülünün immün sistem bileşenleriyle ilişkiye giren kısmına "Fc bölgesi" (fragment crystallizable region fragman kristalize) denir (74,75). Nötrofiller, makrofajlar ve diğer fagositler yüzeylerinde Fc reseptörleri içerirler. Antikor moleküllerinin çoğunda Fab ve Fc bölgeleri arasında bir menteşe bölgesi vardır (73,81).

Ağır ve hafif zincir olarak adlandırılan iki farklı yapının birleşmesiyle antikor molekülü oluşur. Ağır zincir tiplerine göre antikorlar IgM, IgG, IgD, IgE ve IgA olarak adlandırılır (73-78). Antijenle karşılaşmamış B hücrelerinin yüzeyinde IgM ve IgG yapısında antikorlar bulunur. Antijen uyarısı sonucunda B lenfositlerde klonal çoğalma ve ağır zincir izotip dönüşümü meydana gelir (80,81).

Antikorlar antijenlere hidrojen bağları veya iyonik etkileşimler gibi kovalent olmayan gevşek bağlarla bağlanır ve etkileşimi başlatır. Antikor molekülünün antijenin bir epitopuna bağlanma kuvveti etkileşimin afinitesi olarak adlandırılır (76). Tekrarlayan antijenik uyarımlar sonrası, antijenik belirleyiciye daha yüksek afiniteyle bağlanan antikorların üretimine neden olur ki buna da "afinite olgunlaşması" denir (80). IgG, IgD, molekülleri iki antijen bağlama bölgesine sahipken, dimerik yapıdaki IgA dört antijeni, pentamerik yapıdaki IgM on antijeni bağlayabilir (76,81).

3- İmmün yanıt sırasında hücreler arası iletişimi sağlayan moleküller (Sitokin ailesi)

Sitokinler immün yanıt sırasında hücreler arası iletişimi sağlayan moleküllerdir. Protein veya peptid yapıda olup bazıları glikozillenmiştir. Lenfositlerin büyüme ve farklılaşmasında, antijenlerin eliminasyonunda, hematopoetik hücrelerin gelişiminde rol oynarlar. Genel anlamda biyolojik yanıt düzenleyicileridir (73-78). Sitokinlerin salgılanması kısa ve kendini sınırlayan bir olaydır. Sitokinler genellikle depolanmaz, hücresel aktivasyona bağlı yeni mRNA sentezi sonucunda geçici olarak üretilir (74,75). Üretilen mRNA düzeyi posttranskripsiyonel mekanizmalar aracılığıyla sıkıca kontrol edilir. Sitokinler sentezlendikten sonra hemen salınır. Her sitokinin birçok biyolojik etkisi mevcuttur (pleotropizm) (75). Ayrıca sitokinler aynı veya benzer birden fazla biyolojik etkileri paylaşır (redundancy). Uyarana yanıt olarak geçici şekilde üretilir. Sitokinler üretildikleri hücreye (otokrin) veya üreticinin hemen yakınındaki hücreye (parakrin) etki eder (73,75,80).

Sitokinler pleotrofik etkilerinden dolayı pek çok farklı biyolojik etkilere sahiptir. Bu onların tedavide kullanımlarını sınırlayan en önemli unsurdur. Redundancy özelliğinden dolayı tek bir sitokin geni çalışmayan canlılarda büyük bir işlev bozukluğu saptanmayabilir (75,80).

Sitokinler diğer sitokinlerin sentez ve etkilerini düzenler. Bir sitokin diğer sitokinin etkilerini düzenlemesi şelale benzeri aktivasyona neden olur. Aktive olan ikinci ve üçüncü sitokin ilk sitokin biyolojik etkilerini artırıp, azaltabilir (73,75).

Sitokinler kendi etkilerini, diğer polipeptid hormonlar gibi hedef hücre yüzeyindeki özgül reseptörlere bağlanarak başlatır (77-79). Sitokinler, reseptörlerine çok yüksek afinitelerle bağlanır, dolayısıyla bir görevi yerine getirmek için çok düşük miktarlardaki sitokin düzeyleri bile yeterli olabilir. Çoğu hücre çok az sayıda sitokin reseptörü

barındırır, yüksek afiniteli bağlanma nedeniyle biyolojik etkinliklerinin ortaya çıkması için bu yeterlidir (73,75,80).

Dış sinyaller sitokin reseptörlerinin ifadenmesini dolayısıyla da hücrelerin sitokinlere yanıtını etkilerler. T veya B lenfositlerin antijenlerle uyarımı sitokin reseptör ifadenmesini artırır (73,74). Bu nedenledir ki immün yanıt sırasında antijene yanıt veren lenfositlerin sayısı artar. Reseptör ifadenmesi sitokinlerin kendileri tarafından da düzenlenir. Çoğu sitokine karşı hücrel yanıt hedef hücredeki gen ifadenmesinin değişikliği, yeni işlevlerin ortaya çıkması ve hedef hücrelerin proliferasyonundan oluşur (73,80).

Kemokinlerin yeni protein sentezi olmadan hücre göçüne neden olması ve TNF'nin yeni protein sentezi olmadan hücrel ölümü indüklemesi bu kuralın istisnalarıdır (73,75).

4.2.2. Sitokin reseptörleri ve sinyal üretimi:

Tüm sitokin reseptörleri, hücre dışı bölgesi sitokin bağlanmasından sorumlu, hücre içi bölgesi sinyal iletimi ile görevli transmembran proteinleridir. Hücre içi sinyal iletimi genellikle ligand bağımlı reseptör polimerizasyonu ile başlatılır (73,75).

Sitokin reseptörlerinin sıklıkla kullanılan sınıflaması hücre dışı bölgesinin yapısal benzerlikleri baz alınarak yapılır.

1- Tip I sitokin reseptörleri: Hemopoetin reseptörü olarak da anılırlar. IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, GM-CSF, G-CSF, büyüme hormonu ve prolaktin reseptörleri bu gruptandır. Bu reseptörler alfa helikal kıvrımlara sahip sitokinleri bağlar. Hücre dışında membrana yakın bölgede triptofan-serin-x-triptofan-serin (WSXWS) aminoasit dizesi içerirler. Hücre dışı bölgelerde sistein kalıntıları mevcuttur (73,83).

2- Tip II sitokin reseptörleri: Tip I reseptörden farkı iki ekstrasellüler sistein bölgesi içermeleri ve tip I reseptördeki WSXWS bölgesi içermemeleridir. İnterferon reseptörleri ve IL-10 reseptörü bu gruptandır (73,75,80).

3- İmmünglobulin süper ailesi: Bu reseptörler hücre dışında immünglobulin bölgesi içerirler. IL-1 ve M-CSF reseptörleri bu gruptandır (73,80).

4- TNF reseptörleri: Bu reseptörler ligandla bağlandıktan sonra apoptozisi, gen ifadenmesini veya her ikisini birden uyarır (73,75,80).

5- Yedi - trans membran alfa helix yapısı gösteren reseptörler: Bu grup reseptörler yılan gibi kıvrımlara sahiptir. Kemokin reseptörleri bu gruptadır (73,75,80,83).

4.2.3. İnterferonlar

İnterferonlar indüklenebilen ve çok sayıda gen tarafından kontrol edilebilen sitokinlerdir. Bir takım viral infeksiyonların sınırlandırılmasında rol oynar. Gen olarak iki grupta incelenir. Tip I interferonlar; viral interferonlar olarak da adlandırılır. IFN α , IFN β ve IFN ω 'dan oluşur (73-75). İmmün interferon olarak da anılan tip II interferon ise IFN γ 'dır. Tip I interferonlar virüs infeksiyonu ile indüklenirken, tip II interferonlar mitojenik veya antijenik uyarı ile salınır. Virüs ile enfekte hücrelerin çoğu interferon α ve β 'yı sentezleme özelliğine sahipken, interferon γ CD4+ T lenfositleri, CD8+ T lenfositleri ve NK hücrelerden sentezlenir (73-78). İnterferonlar hücre yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanarak etki eder. IFN α , IFN β ve IFN ω hücre yüzeyinde IFN α reseptör (IFNAR) I ve II olarak adlandırılmış iki alt birimden oluşan bir reseptöre bağlanarak etkinlik gösterir (74,75). IFN γ ise IFN γ reseptörü (IFNGR)' ne bağlanarak etki eder. Bu reseptörde IFNGR I ve IFNGR II olmak üzere iki alt birimden oluşur. İnterferonlar reseptörlere bağlandıktan sonra reseptörde dimerizasyon meydana gelir. Bu dimerizasyon hücre içerisindeki bir dizi kinazı aktifleyerek interferon yanıtını oluşturur (73,75,78).

İnterferony: IFN γ makrofajların güçlü bir aktivatörüdür. Ayrıca mikroorganizmaların fagositozunu uyaran antikor izotiplerinin üretimini de uyarır. IFN γ antijen sunan hücreler üzerinde MHC sınıf II moleküllerinin ve B7 yardımcı uyarınlarnın ifadenmesini artırır. Patojen tanınmasını, antijenin işlenmesini ve sunumunu artırarak antiviral etkiye neden olur. IFN γ hücreseI proliferasyonu inhibe eder, apoptozisi indükler, mikrobisidal efektör işlevleri aktive eder, immünomodulasyonu ve lökosit işlevini düzenler (78,79,83).

IFN γ üretimi antijen sunan hücrelerden salınan sitokinlerce kontrol edilir. Makrofajların salgıladığı IL-12 ve kemokinler (örneğin makrofaj inflamatuvar protein 1 α) NK hücrelerini inflamasyon odağına çeker. IL-12, NK hücrelerde IFN γ üretimini artırır. Makrofajlar, NK hücreleri ve T hücrelerde interlökin 12 ve 18 sitokin kombinasyonu IFN γ üretimini daha da artırır. IL-4, IL-10, TGF β ve glukokortikoidler IFN γ üretimini baskılar (83).

IFN γ Th1 hücrelerinin en önemli ürünüdür ve immün yanıtı Th1 fenotipine doğru kaydırır. IFN γ ile indüklenen özgül sitotoksik immünite çeşitli mekanizmalarla gelişir. Bu mekanizmalar arasında TH2 hücre popülasyonunun inhibisyonu, antijen işlemenin ve sunumunun artırılması ve APC'lerde eş uyarıcı moleküllerin artışı sayılabilir (78,83).

IFN γ naif CD4 + lenfositlerin Th1 fenotipi yönünde farklılaşmasını sağlar. IFN γ ve IL-12 Th1 diferansiyasyonuna neden olan en önemli sitokinlerdir. IL-4 ise TH2 genotipinine farklılaşmayı uyarır (80,83).

IFN γ IL-2 üretimini artırırken IL-4 üretimini azaltır. IL-12 ve IFN γ pozitif gen bildirim yolağını oluşturarak Th1 yanıtını amplifiye eder. Farelerde, IFN γ B hücrelerine etki ederek Ig E ve IgG₁ salgılanmasını azaltırken, IgG₂A sentezini artırır. IFN γ makrofajlarda reaktif oksijen ara ürünlerini ve nitrik oksitin yapımını artırarak mikrobisidal aktiviteyi uyarır. IFN γ yoksunu fareler hücre içi mikroorganizmalarla olan enfeksiyonlara yatkınlık gösterir (79,83).

4.2.4.İnterlökinler

Temel olarak T lenfositler tarafından üretilen geniş bir sitokin grubunu oluşturur. Çok sayıda sitokin lökositler tarafından yapıp, lökositler üzerinde etkinliğe sahip oldukları için interlökin olarak anılmıştır. Mononükleer fagositlerden köken alan sitokinler “monokin” olarak adlandırılırken, lenfositlerden köken alan sitokinler “lenfokin” olarak adlandırılır (83,84). Moleküler klonlama teknolojisinin gelişmesi sonucunda, aynı proteinin lenfositler, monositler ve pek çok doku hücresi tarafından da salındığının belirlenmesiyle sitokin jenerik ismi bu tip mediatörler için tercih edilen isim haline gelmiştir (84).

İnterlökin 2 ve interlökin 2 reseptörü:

IL-2 antijenle stimüle edilmiş T lenfositler için büyüme faktörüdür ve antijen tanıma sonrası T lenfositlerin klonal genişlemesinden sorumludur. Dolayısıyla önceleri T hücre büyüme faktörü olarak adlandırılmıştır. IL-2 temelde kendini üreten hücre üzerine etki ederek otokrin bir büyüme faktörü olarak iş görür. Temel olarak CD4+ lenfositlerden salınsa da CD8+ lenfositlerde bir miktar IL-2 salgılar (73,82,83). T hücrelerinin antijenle ve eş uyarımlarla stimülasyonu IL-2 geninin transkripsiyonuna ve protein sentezlenip salgılanmasına neden olur. Tip I sitokin reseptörleriyle etkileşime girer. IL-2 reseptörü α , β , γ_c olmak üzere üç alt birimden oluşur. Alfa alt birimi farklılık gösterirken β ve γ_c alt birimleri sitokin reseptör süper ailesindendir. Bu üç reseptör alt birimi periferik kan ve mononükleer hücreler üzerinde eş zamanlı olarak bulunmaz (80,84). Reseptörün afinitesi, hücre yüzeyinde ifadelenen reseptör alt tipiyle belirlenir. T lenfosit aktivasyonu ile hücre yüzeyinde görülür. A zincirine bağlanan IL-2 biyolojik bir yanıtı neden olmaz. IL-2 reseptörü β istirahat halindeki T lenfositler ve NK hücrelerinde düşük oranda ifadelendir.

Bu β zinciri çoğunlukla γ zinciri ile ilişkilidir. IL-2, IL-2 reseptör β γ kompleksini barındıran hücreler üzerine etki eder. Reseptörün α zinciri de bulunursa IL-2'nin reseptöre bağlanma afinitesi daha da artar (83-85). Antijen reseptör aracılı T hücre aktivasyonunda, IL-2 reseptör α ifadelenmesi hızla artar; reseptörün IL-2'ye verdiği yanıt üst düzeye çıkar. IL-2 antijenle temas sonrası T lenfositlerce üretilir ve antijene özgü hücrelerin proliferasyonundan sorumludur. IL-2 NK hücrelerin proliferasyon ve diferansiasyonunu destekler, aktive olmuş T lenfositlerin apoptozise duyarlılığını artırır. IL-2'nin hücrel proliferasyonu düzenleme özelliğinin yanı sıra, immün hücrelerin ölümden kurtarılmasını da sağlayan rolü vardır (85).

İnterlökin 4

İnterlökin 4 IgE antikorlarının üretimi için gereken en önemli uyarandır. IL-4, TH2 hücrelerinin hem indükleyicisi hem de efektör sitokini olarak çalışır. Bu sitokinin temel hücrel kaynağı TH2 lenfositler, aktive mast hücreleri ve aktive bazofillerdir. IL-4 reseptörü tip I sitokin reseptör ailesinin üyesidir (79,83,86).

IL-4, B lenfositlerde Ig ağır zincirini, IgE tipi izotipine değiştiren temel uyarıcıdır. İnterlökin 4 yoksunu fareler, normal IgE seviyelerinin %10'una sahiptirler. Helminth veya artropod infeksiyonlarına karşı eozinofil aracılı savunmada IgE antikorları önemli rol oynar. IgE hiperakut aşırı duyarlılık reaksiyonunun temel düzenleyicisidir ve IL-4 üretimi alerjilerle ilişkilidir (82,86).

IL-4 naif CD4+ T lenfositlerden TH2 hücre gelişimini uyarır ve farklılaşmış TH2 lenfositler için otokrin büyüme faktör özelliği gösterir. Dolayısıyla IL-4 TH2 alt grubunun uyarılarak genişlemesinden sorumludur. Ayrıca IL-4 IFN γ 'nın makrofaj aktivasyon özelliğini antagonize ederek hücre aracılı immün yanıtı baskılar (79,82,86).

İnterlökin 6

İnterlökin 6 hem doğal hem de edinsel bağışıklık yanıtında rol oynayan bir çok hücre üzerine çok sayıda biyolojik aktivitesi olan bir sitokindir. Mononükleer fagositler, aktive lenfositler, vasküler endotel hücreler, keratinositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından mikroorganizmalara veya sitokine (IL-1, TNF) yanıt olarak salınır. İnterlökin 6 reseptörü tip I sitokin reseptör ailesi içerisinde yer alır. IL-1, IL-2, TNF, PAF IL-6 sentezini arttırırken, IL-4, IL-10, IL-13 inhibe eder. IL-1 ve TNF α ile birlikte sinerjistik etkiyle T hücre stimülasyonu yapar (79,82,87).

IL-6 doğal bağışıklıkta hepatositlerden akut faz proteinlerinin sentezlenmesini uyarak inflamasyonun sistemik etkilerine yol açar. T hücrelerinin, sitotoksik T hücrelerine farklılaşması dahil olmak üzere, diferansiasyon, aktivasyon ve büyümesinde görev alır. Doku hasar ve inflamasyon durumunda, hepatositleri aktive ederek amiloid gibi bazı akut faz proteinlerinin sentezini uyarır. Hematopoez ve trombopoezi uyarır. IL-1 gibi ateş cevabında rolü vardır ve antitümör etki gösterir (82,87).

IL-6'nın en önemli biyolojik etkinliği B lenfosit maturasyonunu uyarmasıdır. IL-6'nın etkisi ile B lenfositler, immunglobülin sentezleyebilen olgun plazma hücrelerine farklılaşır. Miyeloma hücreleri üzerine büyüme faktörü olarak etki eder ve pek çok miyeloma hücresi IL-6 salgılar. Ek olarak IL-6 monoklonal antikor üreten fibridizasyon üzerine de büyüme etkisi yapar (87).

İnterlökin 8

Son yıllarda lökositler ve fibroblastlar için kemotaktik aktivitesi olan yeni bir sitokin ailesi tanımlanmıştır. Bu kemotaktik sitokinler kemokinler olarak adlandırılmış olup moleküler ağırlıkları 8000 ile 16000 arasında değişir. % 20-50 aminoasit dizisi ile

birbirlerine benzerler. Özgül transmembran reseptörlerine bağlanarak, 10^{-8} - 10^{-11} M konsantrasyonda aktive olurlar. IL-8'de bu kemokin ailesinin bir üyesidir (60-62,88).

Kemokinler çeşitli hücreler tarafından üretilir. Bu hücreler aktive monosit-makrofaj ve endotel hücreleridir ve çeşitli hücre tipi kombinasyonları için kemotaktiktir. Miktar olarak oldukça fazla üretilir. Bu proteinler için henüz tek tip bir isimlendirme sistemi oluşturulamamıştır, yaptıkları işe yönelik isim alır.(61) IL-8'in kaynağı monositler, makrofajlar, fibroblastlar, keratinositler, hepatositler, kondrositler, epitel ve endotel hücreleridir. Kemokinler hedef hücrelerin dominant olarak büyümelerinden ziyade fonksiyonlarını etkiler. Doku yaralanması ve inflamasyonu olan yerlere spesifik tipte hücrelerin göçünde önemli rol oynar.(60,88) IL-8 'in hedef hücreleri ise nötrofiller T hücreleridir. Nötrofillerin mobilizasyonunu, aktivasyonunu ve degranulasyonunu sağlar, angiogenezde rolü vardır. Nötrofiller için en potent kemotaktiklerden birisidir (60-62).

IL-8, C-X-C kemokin ailesinin bir üyesi olup 7 transmembran bölgesi, helikal, G proteinle eşleşmiş reseptörler olan, CXCR1 ve CXCR2'ye bağlanarak etkisini gösterir (62).

Lökositlerin kemokin gradyanına hassasiyeti yüzeylerindeki kemokin reseptörleri sayesinde. IL-8 lökositlerin vasküler endotele stabil olarak bağlanması için adezyonunda rol oynar. İkincil olarak, infeksiyon alanında konsantrasyon artışı sayesinde nötrofillerin migrasyonuna olanak sağlar. Bu durum, enfekte bölgedeki ekstraselüller matriksin proteoglikan molekülleriyle ve endotel hücre yüzeyine kemokinlerin bağlanması ile oluşur. Kemokinler katı bir yüzey üzerinde immobilize olurlar ve lökositler buraya göç edebilir (61,88).

IL-8 sentezi lipopolisakkaritler, IL-1, TNF ve virüsler tarafından da aktiflenebilir. İnflamatuvar yanıtta diğer kemotaktiklerle karşılaştırıldığında IL-8 daha geç ortaya çıkar. Örneğin LTB4 hücre aktivasyonunda dakikalar içinde ortaya çıkıp, 3 saatte pik yaparken;

IL-8, LTB4 konsantrasyonu azalmaya başladığında yeni sentezlenerek sekrete edilir ve salgılanması 24 saat sürer (53,88).

IL-8 ve diğer alfa kemokinler inflammatuar reaksiyonu ve ağır travması olan hastaların kanında bulunmuş ve inflamasyon bölgesinde; romatoid artritte sinovyal sıvıda, psöriatik deride ve septik şoklu hastaların dolaşımında tespit edilmiştir. Bu yüzden pyojenik olmamaları ve akut faz reaktanlarını indüklememelerine rağmen alfa kemokinler akut inflammatuar reaksiyonlarda major rol oynayıcı olarak görülmektedir. Farelerde IL-8 reseptör homoloğu genler taşıyanların bakteriyel infeksiyonlara karşı daha duyarlı oldukları gösterilmiştir (60).

IL-8'in mRNA'sı aynı zamanda tip1 insan mast hücreleri aktive olduğunda üretilmeye başlar. İmmunelektron mikroskopunda IgE ile uyarılmış deri mast hücrelerinin sitoplazmik membranlarında ve intrasellüler granüllerinde IL-8 bulunduğu gösterilmiştir (82,88).

İntrasellüler IL-8'in atopik dermatitli ve astımlı hastalarda arttığı gösterilmiştir (82,88).

İnterlökin 10

Aktive makrofajların inhibitörüdür. Dolayısıyla doğal bağışıklık reaksiyonunun ve hücrel immünitinin homeostatik kontrolünde görev alır. Tip II sitokin reseptörüne bağlanır. Temel olarak aktive makrofajlardan salınır. T lenfositler ve keratinositler gibi nonlenfoid hücreler de IL-10 üretir. IL-10 aktive makrofajlar üzerine etki ederek onların sitokin salmasını, eş uyarıcılarla ifadenmesini engeller. Aktive makrofajlardan IL-12 ve TNF üretimini inhibe eder (79,82,89). IL-10 insan B lenfositlerini kültür ortamında uyarak proliferasyonuna neden olur. Fakat bunun fizyolojik önemi bilinmemektedir. IL-10 yoksunu fareler kronik inflammatuar kolon hastalığı benzeri tablo gösterir. Ayrıca bu fareler kimyasal irritanlara karşı aşırı duyarlıdır. Bu uyarılara karşı inflammatuar yanıt ve

doku hasarı gösterir. EBV genomu insan IL-10 homologu bir gen içerir ve viral IL-10 doğal sitokin gibi işleve sahiptir. Bu da, virüsün evrimi sırasında IL-10 genini kazanarak bağışık yanıttan kurtulduğunu düşündürür (89).

4.2.5. Kemokinler

Kemokinler 8-12 KDa molekül ağırlığına sahip, çoklu bölgeleri bulunan protein yapısındaki moleküllerdir. Günümüzde elliden fazla kemokin molekülü ve yirmiden fazla kemokin reseptörü tanımlanmıştır (82,88).

Kemokinler, inflamasyon ve homeostazis sağlanması aşamasında hücre hareketleri düzenler. İnflamatuar süreçte kemokinlerin sentez ve salınımındaki belirgin artış, lökositlerin inflamasyonlu dokuya geçişlerinde önemli rol oynamaktadır. IL-1, LPS, TNF α , IFN γ ve IL-4 bilinen en önemli kemokin uyarıcılarıdır (76,82,88).

Aminoasit zincirindeki sistein kalıntıları baz alınarak CC chemokines, CXC chemokines, C chemokines, CX₃C chemokines şeklinde sınıflandırılırlar Hücre yüzeyinde transmembranik G proteinlerine bağlı reseptörlere bağlanarak etki gösterir. Farklı kemokinler birden fazla reseptöre bağlanabilir. Kemokinler, Th1, TH2 farklılaşmasında, lenfoid organ gelişiminde, yara iyileşmesinde, lökosit trafiğinde, inflamasyonda, hücre yığınağı oluşumunda, angiogeneze ve metastaz süreçlerinde rol oynar (73,82,88).

4.2.6. TNF α

Gram negatif bakteriler ve diğer enfeksiyöz etkenlere karşı akut inflammatuar yanıtın en önemli düzenleyicisidir ve ağır infeksiyonların pek çok sistemik komplikasyonundan sorumludur. Antijenle uyarılmış T lenfositler, NK hücreleri ve mast hücreleri tarafından sentezlenebilse de TNF α 'nın en önemli hücresel kaynağı aktive mononükleer fagositer

hücrelerdir. Makrofajlardan TNF α üretiminin en önemli uyarıcısı lipopolisakkaritlerdir. T hücre ve NK hücrelerince üretilen IFN γ , TNF α sentezini destekler (82,90).

TNF α mononükleer fagositer hücrelerde tip II membran proteini olarak sentezlenir. Membranla ilişkili metaloproteinaz tarafından kesilerek dolaşıma 51 kilodaltonluk homotrimer yapısında salınır. Tip I TNF α reseptörü ve tip II TNF α reseptörü olmak üzere iki farklı TNF α reseptörü vardır. Her iki TNF α reseptörü de pek çok hücre tipinde bulunmaktadır (80,90).

TNF α 'nın temel fizyolojik görevi nötrofillerin ve monositlerin infeksiyon odağında toplanmasını uyarması ve bu hücrelerin mikroorganizmayı yok etmek üzere aktive edilmesidir. TNF α vasküler endotel hücrelerde adezyon moleküllerinin ifadenmesini de artırır, ayrıca endotel hücreleri ve makrofajları kemokin salgılamak için uyarır. TNF α bazı hücre tiplerinde apoptozise neden olur. Bu etkinlikler mikroorganizmaların istilasının sınırlandırılması için son derece önemlidir (90).

Ciddi infeksiyonlarda yüksek düzeyde salgılanan TNF α sistemik, klinik ve patolojik rahatsızlıklara ve hipotalamusu uyarak ateş cevabına neden olur. Ayrıca hepatositlerden serum amiloid A ve fibrinojen gibi bir takım moleküllerin sentezini uyarak IL-1 ve IL-6 ile birlikte akut faz yanıtından sorumludur. Uzun süreli TNF α üretimi, kaşeksiye neden olur. Yüksek düzeyde TNF α varlığında miyokardial kontraktivite ve damar düz kas tonusu inhibe olur, ani hipotansiyon ve şok gelişir. TNF α intravenöz trombozise neden olur. Yine TNF α glukoz düzeylerini hayatla bağdaşmayacak kadar düşürebilir. TNF α septik şoka neden olan sitokinlerin başında gelir (80,82,90).

4.2.7. İnfeksiyon immünitisi

İmmün sistemin işlevi mikrobiyal infeksiyonlara karşı konağın korunmasıdır. İnfeksiyon hastalıklarının oluşması mikroorganizma ve konak arasındaki kompleks ilişkiye dayanır. İnfeksiyonun gelişmesi sırasındaki anahtar olaylar; mikroorganizmanın konak dokuya girişi, invazyonu, kolonizasyonu, immün yanıtın kaçışı, doku hasarı ve işlevsel kayıptır. Bu süreçte mikroorganizma ile beraber immünitinin de rolü vardır (73,91).

Doğal immünite mikroorganizmaya karşı erken savunmayı oluştururken, edinsel immünite sonraki basamağı oluşturur. Mikroorganizmalar konak invazyon ve kolonizasyon şekilleri açısından farklılıklar gösterir. Bu nedenle konakta mikroorganizmalara karşı farklı yanıtlar oluşur. Edinsel immünite ile her mikroorganizmaya karşı özgün yanıt oluşur. Mikroorganizmaların çoğu immün sisteme karşı sağ kalabilmek için özel mekanizmalar geliştirmiştir. İmmünitinin mikroorganizmalara karşı koruyucu özelliği vardır. Bununla birlikte infeksiyon geliştiğinde konakta oluşan hasara da katkı sağlar (73,81,91).

Mikroorganizmalarla immünite arasındaki ilişkiyi şu şekilde inceleyebiliriz.

1-Hücre dışı bakterilere karşı immünite

a-Hücre dışı bakterilere karşı doğal immünite

b- Hücre dışı bakterilere karşı edinsel immünite

c-Hücre dışı bakterilerin immün sistemden kaçış mekanizmaları

2-Hücre içi bakterilere karşı immünite

a-Hücre içi bakterilere karşı doğal immünite

b- Hücre içi bakterilere karşı edinsel immünite

c-Hücre içi bakterilerin immün sistemden kaçış mekanizmaları

3- Funguslara karşı immünite

4- Virüslere karşı immünite

5-Parazitlere karşı immünite

1-Hücre dışı bakterilere karşı immünite: Bu tip bakteriler kanda, bağ dokusunda veya doku aralıklarında çoğalabilme yeteneğindedir. İki temel yolla hastalık oluşturur. Bu tip mikroorganizmalar öncelikle konak dokuda inflamasyon oluşturur ve daha sonra infeksiyon alanında tahribat meydana gelir. İkinci olarak, bu mikroorganizmaların çoğu toksin üretir. Bu toksinler endotoksin veya ekzotoksin yapısındadır ve ekzotoksinlerin çoğu sitotoksik özelliğe sahiptir (73,81,91).

a-Hücre dışı bakterilere karşı doğal immünite: En önemli mekanizma kompleman aktivasyonu, fagositoz ve inflamatuvar yanıttır. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarında bulunan peptidoglikan ve gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit kompleman sistemini alternatif yoldan aktive eder. Yüzeylerinde mannoz barındıran bakteriler, mannoz bağlayan lektin aracılığıyla lektin yolağını ve sonunda da kompleman sistemini aktive eder (73,81,91). Kompleman sisteminin aktivasyonun için opsonizasyon gereklidir. Fagositler hücre dışındaki bakterilere mannoz bağlayan lektin, çöpçü reseptörler ve kompleman reseptörleri aracılığıyla bağlanırlar. LPS ve peptidoglikan gibi bakteriyel ürünler makrofajlardan TNF, IL-1 ve kemokinlerin salınmasına yol açarak, bölgeye lökosit göçünü sağlarlar. İnflamatuvar hücreler bakterileri yok ederken komşu dokulara da zarar verir. Aynı zamanda sitokinler infeksiyonun sistemik belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olur (91,92).

b- Hücre dışı bakterilere karşı edinsel immünite: Hücre dışı bakterilere karşı antikor yanıtı hücre duvar elemanlarına veya toksinlere karşı gelişir. Mikroorganizmaların nötralizasyonu yüksek afiniteli IgG ve IgA antikorları aracılığıyla, opsonizasyon IgG'nin

alt tipleri, kompleman aktivasyonu ise IgM ve IgG'nin alt tipleri tarafından yapılır (73,91).

Ekstrasellüler bakterilerin proteinleri CD4 + T hücrelerini aktive eder. Bu aktivasyon sonucu salınan sitokinlerle septik şoka kadar uzanan klinik tablolar ortaya çıkar (81,91,92).

Bazı bakteriyel toksinler bir anda V β T reseptörü içeren bütün T hücrelerini uyarak büyük miktarlarda sitokin salgılatma yeteneğine sahiptir. Bu tip antijenlere “süper antijenler” denir. Süper antijenlerin oluşturduğu klinik tablolar daha ciddi seyir gösterir (73,81,91).

c-Hücre dışı bakterilerin immün sistemden kaçış mekanizmaları: Kompleman sistemi inhibisyonu ve fagositozun engellenmesi önemli kaçış mekanizmaları arasındadır. Polisakkaritten zengin kapsülleri olan bakteriler fagositoza direnç gösterir. Çok sayıda gram pozitif ve gram negatif bakterinin kapsülünde kompleman sisteminin alternatif yoldan aktive olmasını engelleyen siyalik asit kalıntıları vardır. Bazı bakteriler hücre yüzeyinde immün sistem tarafından tanınan antijenlerini değiştirebilme yeteneğine sahiptir. Bu yolla immünsistemden kaçmaya çalışır (91,92).

2- Hücre içi bakterilere karşı immünite: Fakültatif intrasellüler bakterilerin karakteristik özelliği fagositler içerisinde yaşayıp çoğalabilme yetenekleridir. Bu mikroorganizmaların ortadan kaldırılabilmeleri hücre dışı bakterilerden farklı olarak hücresel immünitinin özel işlevlerini gerektirir (73,92).

a-Hücre içi bakterilere karşı doğal bağışıklık: Hücre içi bakterilere karşı doğal bağışıklık fagositler ve NK hücreleri tarafından oluşturulur. Öncelikle nötrofiller daha sonra makrofajlar bu mikroorganizmayı fagosit ederek yok etmeye çalışır. Buna karşın patojenik hücre içi bakteriler, fagositler içerisinde parçalanmaya dirençlidir. İntrasellüler bakteriler NK hücrelerini direkt veya makrofajlardan interlökin üretimini stimüle ederek

uyarır (73,92). NK hücreleri, IFN γ üreterek makrofajları aktive eder ve aktive olmuş makrofajların fagosite edilmiş bakteriyi öldürmelerini uyarır. Dolayısıyla NK hücreleri bu mikroorganizmalara karşı edinsel bağışıklık gelişmeden, erken dönemde oluşan savunmadan sorumludur. T ve B lenfositleri olmayan ağır kombine immün yetmezlikli farelerde *L. monositogenez* infeksiyonu NK hücrelerden köken alan IFN γ üretimi ile kontrol edilebilir. Doğal bağışıklık bakteriyel çoğalmayı bir süreliğine sınırlasa da infeksiyonun tam olarak eradikasyonu edinsel hücre aracılıklı immüniteyi gerektirir (73,81,91).

b-Hücre içi bakterilere karşı edinsel bağışıklık: Hücre içi bakterilere karşı en önemli koruyucu yanıt hücrel immünitedir. Hücrel immünitesi tahrip olmuş AIDS hastaları hücre içi bakteriler ve virüslerin neden olduğu infeksiyonlara karşı oldukça duyarlıdır (73, 91).

Hücrel immünite iki tip reaksiyondan oluşur. Bu reaksiyonlar T hücre kökenli CD 40 ligand ve IFN γ aracılı makrofaj aktivasyonu ve enfekte hücrelerin sitolitik T lenfositlerce parçalanmasıdır. Hem CD4+ hem de CD8+ T lenfositler, fagosite edilmiş mikroorganizmaların protein antijenlerine (MHC moleküllerine bağlı olarak sunulmak kaydıyla) yanıt verme yeteneğindedir (90,91). CD4+ T lenfositler makrofajlar tarafından üretilen IL-12 varlığında Th1 efektörlere dönüşür. T hücreleri tarafından CD 40 ligand ifadelenir ve IFN γ sentezlenir. İşte bu iki uyarıcı makrofajları aktive ederek reaktif oksijen radikalleri, nitrik oksit ve lizozomal enzim üretir (73,81,91).

IFN γ , aynı zamanda kompleman aktivasyonuna neden olan antikor izotipi üretimini ve fagositöz için bakteriyel opsonizasyonu sitümüle eder. Fagosite edilmiş bakteriler fagozomdan sitozole taşındığında veya bakteri fagozomdan kaçarak enfekte hücrenin sitoplazmasında kaldığında CD8 + T lenfosit yanıtını uyarır (73,81). Bu şekilde mikroorganizmalar fagositler içerisindeki mikrobisidal mekanizmalardan etkilenmez.

Mikroorganizmanın ortadan kaldırılması için enfekte hücrenin CTL hücreleri tarafından öldürülmesi gerekir. Dolayısıyla hücresel immünitenin efektörü olan CD4+ ve CD8+ T lenfositlerin intrasellüler bakterilere karşı immünitede birlikte çalışması gerekmektedir (73,91,92).

İntrasellüler mikroorganizmalara karşı oluşan makrofaj aktivasyonu doku hasarına neden olabilir (PPD'ye karşı gelişen gecikmiş aşırı duyarlılık yanıtında olduğu gibi) (73,81).

Hücre içi bakteriler fagositler içerisinde öldürmeye dirençli şekilde evrimleştikleri için, uzun süre vücutta kalarak kronik antijen uyarımı, T hücre ve makrofaj aktivasyonuna bağlı granülom oluşumuna neden olur. Bazı intrasellüler bakterilerin patolojik görüntüsü granülomatöz inflamasyondur. Bu tip inflamatuvar yanıt mikroorganizmaların lokalize edilerek yayılmasını engeller. Aynı zamanda doku nekrozu ve fibrozisine neden olarak işlevsel bozukluğa yol açar (73,91). Bazı intrasellüler bakterilerle oluşan doku hasarının temel nedeni immün yanıttır. Bireyler arasında T hücre yanıt farklılığı hastalık seyrinin ve klinik ilerleyişin belirleyicisidir. Lepra bu ilişkinin en güzel örneğidir. Aynı mikroorganizma tarafından oluşturulan iki farklı tip enfeksiyonun hastaların T hücrelerindeki farklılaşma ve sitokin üretimindeki değişikliklerle açıklanması mümkündür. Tüberküloid lepralı hastalarda Th1 yanıtı, IFN γ ve IL-2 üretimi ön plandayken, lepramatöz lepralı hastalarda TH2 yanıtı, IL-4 ve IL-10 üretimi ön plandadır (81,92).

c-Hücre içi bakterilerin immün sistemden kaçış mekanizmaları: Fagolizozom oluşumunun engellenmesi, reaktif oksijen ürünlerinin ortadan kaldırılması, fagozom membranının parçalanarak sitoplazma içerisine kaçabilme yeteneği hücre içi bakterilerin immün sistemden kaçış mekanizmalarıdır (73,81,91).

3- Funguslara karşı immünite: Funguslar hem hücre içerisinde hem de hücre dışarısında yaşayabildikleri için infeksiyonun kontrolü için kombine bir immün yanıt gereklidir (90).

4- Virüslere karşı immünite: Virüsler çok geniş bir hücre popülasyonunu enfekte edebilme yeteneğine sahiptir. Enfekte hücreler tip 1 interferonları salgılar. Tip 1 interferonlar antiviral etkileriyle viral replikasyonu baskılar (84,91).

Virüslere karşı antikor yanıtı oluşur. Bu yanıt hücre dışındaki virüslere karşı etkilidir. Antiviral antikorlar virüsün hücreye yapışmasını ve konak hücreye girişini engeller. Nötralizan antikorlar genellikle zarf veya kapsid antijenlerine bağlanırlar. Salgısal IgA sınıfı antikorlar mukozalardan virüs girişine karşı koruyucu rol oynar. Çok sayıda virüse karşı aşılama ile gelişen antikorlar korunmada rol oynayabilir. Hücre içerisinde bulunan virüslerin yok edilmesi, enfekte hücrenin CTL aracılığıyla öldürülmesiyle olur (91).

Virüsler antijenik yapılarında gelişen nokta mutasyonları ve RNA'larında meydana gelen değişikliklerle immün yanıtı kaçar (91).

5- Parazitlere karşı immünite:

Genel olarak patojenik protozalara karşı edinilmiş immün yanıt intrasellüler bakteriler ve virüslere karşı olan yanıt gibidir. Zıt olarak hücre dışında yaşayabilme yeteneği olan helmintlere karşı antikorların immün yanıtta önemli bir rolü vardır (91).

4.2.8. Brusellozda İmmün Yanıt

Intrasellüler bakteri infeksiyonlarında humoral immünitinin yeri oldukça sınırlıdır. Buna karşın T lenfositlerin belirlediği hücresel immün yanıt korunmada önem taşır. T lenfositlerin başlıca görevi, etkin antibakteriyel fonksiyonları aktive etmektir, ancak genellikle beklenen bu olay gerçekleşmez ve intrasellüler bakteriler hücre içerisinde yaşamaya devam eder (21).

Brusella türleri ile gelişen bir infeksiyon humoral ve hücrel immüniteyi indükler. Her ne kadar hümmoral antikorlar infeksiyona karşı bir miktar dirençten sorumlu olsalar da brusellozda iyileşmek için temel mekanizma hücrel immünitedir (1,4,23,32). Brusella bakterilerinin eliminasyonu Th1 hücre aracılıklı immünitening gelişmesi yoluyla makrofaj aktivasyonuna dayanmaktadır. Anti-brusella aktivitesi gösteren makrofajlar, TNF α , INF γ , IL-1, gibi sitokinler salgılamaktadır (1).

Th1-TH2 dengesi hastalığa yatkınlığı belirleyen bir faktördür. Th1 lenfositlerin yanıtı intrasellüler patojenlere karşı dirençte rol alan önemli mediatörler olup, TH2 lenfositlerin yanıtı ise bu tip infeksiyonlarda ciddi sorunlara neden olur (73,75). Brusella bakterisi tarafından ortaya konulan primer infeksiyonun rezolusyonu Th1 yanıtı gerektirir. NK hücrelerinin brusellozdaki immün yanıtta rolü tartışmalıdır (90,92,93). Brusellozda yeterli CD4+ T hücre yanıtı olan bireylerde hastalığın kronikleşmediği vurgulanmıştır. Kronik brusellozlu olgularda, CD4+ T lenfosit yanıtının yetersizliği, artmış CD8+ T lenfosit yanıtı ile düzenlenmeye çalışılmaktadır (81,92,93).

Brusellozda hücrel immün yanıtın düzenlenmesinde hangi sitokinlerin rol aldığı, etkinlikleri, birbirine olan etkileri, tedaviye yanıtta, iyileşmede relapsta nasıl değişime uğradıkları araştırılmaktadır. Son yıllarda, bu alanda yapılan çalışmalarda artış olmasına rağmen, yanıt arıyan sorular araştırmacıların karşısında durmaktadır.

5. MATERİYAL – METOD

Bu çalışma Temmuz 2007-Aralık 2008 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları Anabilimdalı poliklinik ve servisinde akut bruselloz tanısı ile izlenen 42 hasta ve 43 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubu üzerinde yapılmıştır.

Hastaların yaşı, cinsiyeti, vücut kitle indeksi, sağlık güvencesi, adres ve telefonları, mesleği, eğitim düzeyleri, bulaş yolları, laboratuvar-kültür sonuçları ve tedavi protokolleri hasta izlem formuna kaydedildi. Akut bruselloz tanısı, klinik semptomlar varlığında STA testinde 1/160 ve/veya üzerinde titre artışı ya da 2 hafta ara ile tekrarlanan tetkiklerde STA testinde 4 kat titre artışının görülmesi ve/veya kan kültür pozitifliği ile konuldu. Akut bruselloz tanımlamasına uyan ve aşağıda belirtilen kriterleri sağlayan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya alınma kriterleri;

Hastaların; -18 yaş ve üzerinde olması

- Gebelik ve laktasyon döneminde olmaması
- Daha önce akut bruselloz tanı ve tedavisi almamış olması
- Bruselloza bağlı tanımlanmış komplikasyonu olmaması
- İmmünsüpresif durumu olmaması
- Tedavide kullanılacak ilaçlara karşı allerji öyküsü olmaması

Serum örnekleri çalışmaya dahil olan hastalardan 0. ve 45.günde, kontrol grubundaki sağlıklı bireylerden ise 0. günde alındı. Hastalar 3 aylık kontrollerle 1 yıl boyunca takip edildi. Takiplerinde tedavi sonrası bir yıl içerisinde klinik semptomları tekrarlayan ve infeksiyon parametreleri bruselloza uyan hastalar relaps olarak kabul edildi. Relaps tespit

edilen hastalardan relaps anında ve ikinci tedavileri sonrasında, relaps saptanmayan hastalardan ise 1.yıl sonunda kontrol serum örnekleri alındı. Alınan 10 ml kan örnekleri 5000 devirde 3 dakika çevrilerek serumları ayrıldı. Serum örnekleri -80°C’de dondurularak saklandı. Ayrıca bu hastalardan alınan kan örneklerinden CRP, sedimentasyon, üre, kreatinin, SGOT, SGPT ve tam kan sayımı Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında çalışıldı.

Alınan serum örneklerinden Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD laboratuvarında TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL-2R parametreleri çalışıldı. Çalışmada human TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL-2R Bender MedSystems GmbH, Austria kitleri kullanıldı.

Veriler SPSS 13.0 for Windows (Real State Corporation, England) programında değerlendirildi. Aynı programda istatistiksel analizler yapıldı. Çalışma ve kontrol grubunun verilerinin karşılaştırılmasında Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi, çalışma grubunun 0.gün, 45.gün, 1.yıl verilerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon İşaretli Sıra Testi kullanıldı.

6. BULGULAR

Bu çalışmada 42 hasta, 43 kontrol grubu olmak üzere 85 olgu değerlendirilmiştir. Kırk iki akut brucelloz olgusunun %66.7'si kadın, %33.3'ü erkek olup ortalama yaş 39.7 ± 14.9 (19-78) olarak saptanmıştır. Kontrol grubunun %66.7'u kadın, %33.3'i erkek olup ortalama yaşı 40.1 ± 13.2 'dir.

Olguların 41'inde (%97.6) infeksiyon için bulaş kaynağı saptanmıştır. Bulaş yolları arasında en sık neden çiğ süt ve süt ürünleri tüketimidir (%46.3).

Gözlenen en sık 3 semptom artralji (%88.1), gece terlemesi (%71.1) ve halsizlik (%66.7) olarak saptanmıştır.

Tanıda kullanılan STA değerleri 1/320 ile 1/5120 arasında tespit edilmiştir. En sık görülen titre 1/320 olarak saptanmıştır (%69). Olguların STA titreleri tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Olguların STA titreleri

	Sayı	Yüzde
1/320	29	69.0
1/640	10	23.3
1/1260	1	2.4
1/1280	1	2.4
1/5120	1	2.4
Toplam	42	100.0

Kırk iki hastanın 28'ne (%66.6) doksisiklin+ rifampisin, 14'ne (%33.3) doksisiklin + streptomisin tedavisi başlandı.

Akut brucelloz tanısı konulan 42 olgunun 0.gün TNF α , IFN γ , IL-2 ,IL-4,IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R ortalama değerleri ile 43 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunun TNF α , IFN γ , IL-2 ,IL-4,IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerleri tablo2’de verilmiştir.

Tablo2. Akut brucellozlu olguların 0.gün ve kontrol grubunun TNF α , IFN γ , IL-2 ,IL-4,IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması

	Olgu 0. gün (n=42)	Kontrol (n=43)	p değeri
TNF α	38.1 $\pm$ 62.5	12.0 $\pm$ 7.4	0.006
IFN γ	14.1 $\pm$ 11.5	3.3 $\pm$ 3.3	0.006
IL-2	21.2 $\pm$ 37.7	1.4 $\pm$ 8.1	0.001
IL-4	-13.1 $\pm$ 41.8	5.9 $\pm$ 7.2	0.025
IL-6	-3.2 $\pm$ 7.8	-1.1 $\pm$ 2.7	>0.05
IL-8	26.4 $\pm$ 33.3	-3.2 $\pm$ 18.7	0.005
IL-10	9.1 $\pm$ 6.5	10.2 $\pm$ 4.5	>0.05
sIL2R	2.9 $\pm$ 4.1	0.8 $\pm$ 0.3	0.001

Yapılan istatistiki değerlendirmede akut brucellozlu olguların 0.gün TNF α , IFN γ , IL-2 , IL-8, sIL2R ortalama değerleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek, IL-4’ün ortalama değeri ise anlamlı olarak düşük saptanmıştır. IL-6, IL-10 değerleri için iki grup arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0,05).

Akut brucelloz tanısı konan 42 hasta 1 yıl takip edildi. Yedi olguda relaps saptandı (%16.66). Kırk iki olgunun 0.gün, 45.gün ve 1. yıl TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R ortalama değerleri tablo3’te verilmiştir.

Tablo3: Kırk iki olgunun 0.gün, 45.gün ve 1. yıl TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R ortalama değerlerinin karşılaştırılması

	Olgu 0.gün (n=42)	Olgu 45.gün (n=42)	Olgu 1. yıl (n=35)	p değeri
TNF α	38.1 $\pm$ 62.5	30.0 $\pm$ 31.4	31.8 $\pm$ 40.6	>0.05
IFN γ	14.1 $\pm$ 11.6	11.1 $\pm$ 8.8	10.9 $\pm$ 9.2	>0.05
IL-2	21.2 $\pm$ 37.7	18.1 $\pm$ 35.1	10.3 $\pm$ 36.8	>0.05
IL-4	-13.1 $\pm$ 41.9	-11.7 $\pm$ 40.5	-17.8 $\pm$ 36.3	>0.05
IL-6	-3.2 $\pm$ 7.8	-3.6 $\pm$ 9.2	-4.4 $\pm$ 9.0	>0.05
IL-8	26.4 $\pm$ 33.3	29.6 $\pm$ 44.4	17.6 $\pm$ 31.9	>0.05
IL-10	9.2 $\pm$ 6.5	6.6 $\pm$ 11.7	8.6 $\pm$ 9.2	>0.05
sIL2R	2.9 $\pm$ 4.1	2.5 $\pm$ 2.9	1.4 $\pm$ 0.9	>0.05

Yapılan istatistiksel analizde 42 hastanın 0. gün, 45.gün ve 1.yıl TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerleri arasında bir fark tespit edilmedi. Relaps yapan olguların bu değerleri etkileme ihtimali düşünülerek, relaps yapan ve yapmayan hastalar ayrı ayrı irdelendi.

Relaps saptanmayan akut brücelozlu 35 olgunun 0. gün, 45.gün ve 1.yıl TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerleri tablo 4'te verilmiştir.

Tablo4. Relaps saptanmayan akut brucellozlu hastaların 0. gün, 45.gün ve 1.yıl TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması

	Olgu 0.gün (n=35)	Olgu 45.gün (n=35)	Olgu 1.yıl (n=35)	p değeri
TNF α	38.3 $\pm$ 67.0	29.7 $\pm$ 31.9	31.8 $\pm$ 40.6	>0.05
IFN γ	12.6 $\pm$ 9.7	11.0 $\pm$ 9.2	10.9 $\pm$ 9.2	0.001
IL-2	16.4 $\pm$ 38.5	14.7 $\pm$ 33.9	10.3 $\pm$ 36.8	0.001
IL-4	-16.1 $\pm$ 44.7	-15.4 $\pm$ 42.3	-17.8 $\pm$ 36.3	0.008
IL-6	-4.5 $\pm$ 7.7	-4.6 $\pm$ 9.6	-4.4 $\pm$ 9.0	>0.05
IL-8	21.3 $\pm$ 30.7	27.1 $\pm$ 47.7	17.6 $\pm$ 31.9	>0.05
IL-10	9.9 $\pm$ 3.0	7.6 $\pm$ 7.8	8.6 $\pm$ 9.2	>0.05
sIL2R	3.0 $\pm$ 4.5	2.7 $\pm$ 3.1	1.4 $\pm$ 0.9	0.048

Yapılan istatistiksel analizde IFN γ , IL-2, IL-4 ve sIL2R'nin 0. gün, 45.gün ve 1.yıl ortalamalarının anlamlı olarak farklı olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlerin 0.gün-45.gün, 0.gün- 1.yıl ve 45.gün-1.yıl karşılaştırması için Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi yapılmıştır. Relaps tespit edilmeyen akut brucellozlu olguların 0-45.gün IFN γ , IL-2, IL-4, sIL2R ortalama değerleri tablo 5'te verilmiştir.

Tablo5. Relaps saptanmayan akut brucellozlu olguların 0-45.gün IFN γ , IL-2, IL-4, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması

	Olgu 0. gün (n=35)	Olgu 45.gün (n=35)	p değeri
IFN γ	12.6 $\pm$ 9.7	11.0 $\pm$ 9.2	>0.05
IL-2	16.4 $\pm$ 38.5	14.7 $\pm$ 33.9	>0.05
IL-4	-16.1 $\pm$ 44.7	-15.4 $\pm$ 42.3	>0.05
sIL2R	3.0 $\pm$ 4.5	2.7 $\pm$ 3.1	>0.05

Yapılan istatistiki değerlendirmede akut brucellozlu olguların 0-45.gün IFN γ , IL-2, IL-4, sIL2R ortalama değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0.05).

Bir yıllık takipleri süresince relaps saptanmayan 35 akut brucelloz olgusunun 0.gün-1.yıl IFN γ , IL-2, IL-4, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması tablo 6’da verilmiştir.

Tablo6. Relaps saptanmayan akut brucellozlu olguların 0.gün-1.yıl IFN γ , IL-2, IL-4, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması

	Olgu 0. gün (n=35)	Olgu 1 yıl (n=35)	p değeri
IFN γ	12.6 $\pm$ 9.7	10.9 $\pm$ 9.2	>0.05
IL-2	16.4 $\pm$ 38.5	10.3 $\pm$ 36.8	>0.05
IL-4	-16.1 $\pm$ 44.7	-17.8 $\pm$ 36.3	>0.05
sIL2R	3.0 $\pm$ 4.5	1.4 $\pm$ 0.9	0.024

Yapılan istatistiki değerlendirmede akut brucellozlu olguların 0.gün sIL2R ortalama değeri 1. yıl ortalama değerinden yüksek bulunmuştur (p=0,024). IFN γ , IL-2, IL-4 ortalama değerleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0.05).

Relaps saptanmamış 35 akut brucelloz olgusunun 45.gün-1.yıl IFN γ , IL-2, IL-4, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması tablo 7’de verilmiştir.

Tablo7. Relaps saptanmayan akut brucellozlu olguların 45.gün-1.yıl IFN γ ,IL-2, IL-4, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması

	Olgu 45. gün (n=35)	Olgu 1 yıl (n=35)	p değeri
IFN γ	11.0 $\pm$ 9.2	10.9 $\pm$ 9.2	>0.05
IL-2	14.7 $\pm$ 33.9	10.3 $\pm$ 36.8	>0.05
IL-4	-15.4 $\pm$ 42.3	-17.8 $\pm$ 36.3	>0.05
sIL2R	2.7 $\pm$ 3.1	1.4 $\pm$ 0.9	0.021

Yapılan istatistiki değerlendirmede akut brusellozlu olguların 45. gün sIL2R ortalama değeri 1.yıl ortalama değerinden yüksek saptanmıştır (p=0,021). IFN γ , IL-2, IL-4'n ortalama değerleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0.05).

Akut brusellozlu olguların 1 yıllık takipleri sırasında relaps saptanan yedi ile relaps görülmeyen 35 olgunun 0.gün TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, değerlerinin karşılaştırılması tablo 8'de verilmiştir.

Tablo8. Relaps saptanan 7 olgu ile saptanmayan 35 olgunun 0.gün TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması

	Relapslı olgu (n=7)	Relapssız olgu (n=35)	p değeri
TNF α	37.4 $\pm$ 36.0	38.3 $\pm$ 67.0	>0.05
IFN γ	21.9 $\pm$ 17.0	12.6 $\pm$ 9.7	>0.05
IL-2	44.5 $\pm$ 23.7	16.6 $\pm$ 38.5	0.045
IL-4	2.2 $\pm$ 18.1	16.1 $\pm$ 44.7	>0.05
IL-6	3.0 $\pm$ 5.4	-4.5 $\pm$ 7.7	0.027
IL-8	48.1 $\pm$ 37.9	21.3 $\pm$ 30.7	>0.05
IL-10	5.1 $\pm$ 3.7	9.9 $\pm$ 6.6	>0.05
sIL2R	2.8 $\pm$ 0.8	3.0 $\pm$ 4.5	0.045

Yapılan istatistiki değerlendirmede relaps saptanan akut brusellozlu olguların 0.gün IL-2, IL-6 ortalama değerleri relaps saptanmayan gruptan daha yüksek (p=0,027) , sIL2R ortalama değeri ise daha düşük saptanmıştır (p=0,045).

Relaps saptanan 7 olgu ile saptanmayan 35 olgunun 45.gün TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması tablo 9'da verilmiştir.

Tablo9. Relaps saptanan 7 olgu ile saptanmayan 35 olgunun 45.gün TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması

	Relapslı olgu (n=7)	Relapssız olgu (n=35)	p değeri
TNF α	31.6 $\pm$ 31.2	29.7 $\pm$ 31.9	>0.05
IFN γ	11.3 $\pm$ 7.0	11.0 $\pm$ 9.2	>0.05
IL-2	34.8 $\pm$ 39.1	14.7 $\pm$ 33.9	>0.05
IL-4	6.9 $\pm$ 23.2	15.4 $\pm$ 42.3	>0.05
IL-6	1.4 $\pm$ 4.1	-4.6 $\pm$ 9.6	0.041
IL-8	39.1 $\pm$ 29.1	27.1 $\pm$ 47.7	>0.05
IL-10	1.9 $\pm$ 23.7	7.6 $\pm$ 7.8	>0.05
sIL2R	1.9 $\pm$ 1.3	2.7 $\pm$ 3.1	>0.05

Yapılan istatistiki değerlendirmede relaps tespit edilen akut brusellozlu olguların 45.gün IL-6 ortalama değeri daha yüksek tespit edilmiştir (p=0,041).

Relaps saptanan 7 olgunun ilk tedavi öncesi ve sonrası TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması tablo 10’da verilmiştir.

Tablo10. Relaps saptanan 7 olgunun 0-45.gün TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerlerinin karşılaştırılması

	Olgu 0.gün (n=7)	Olgu 45.gün (n=7)	p değeri
TNF α	37.4 $\pm$ 36.0	31.6 $\pm$ 31.2	>0.05
IFN γ	21.9 $\pm$ 17.0	11.3 $\pm$ 7.0	0.028
IL-2	44.5 $\pm$ 23.7	34.8 $\pm$ 39.1	>0.05
IL-4	2.2 $\pm$ 18.1	6.9 $\pm$ 23.2	>0.05
IL-6	3.0 $\pm$ 5.4	1.4 $\pm$ 4.1	>0.05
IL-8	48.1 $\pm$ 37.9	39.1 $\pm$ 29.1	>0.05
IL-10	5.1 $\pm$ 3.7	1.9 $\pm$ 23.7	>0.05
sIL2R	2.8 $\pm$ 0.8	1.9 $\pm$ 1.3	>0.05

Yapılan istatistiki değerlendirmede relaps saptanan 7 hastanın 0. gün IFN  ortalama değeri daha yüksek bulunmuŗtur($p=0,028$).

7.TARTIŞMA

Bruselloz ülkemizde sık görülen, mortalitesi düşük fakat morbiditesi yüksek bir hastalıktır. Brusella bakterisi hem humoral hem de hücrel immüniteyi uyarır. Her ne kadar humoral antikorlar enfeksiyona karşı bir miktar dirençten sorumlu olsa da iyileşmede temel mekanizma hücrel immünitedir (1,4,23,32). Brusella bakterisinin eliminasyonu, Th1 hücre aracılıklı immünitenin uyarısı sonucu makrofaj aktivasyonu ile olur. Bu uyarı sırasında salgılanan sitokinlerin, brusella patogeneğinde son derece önemli rolleri vardır (1,73,74,91).

Benzer özelliklere sahip hastalara aynı tedavi protokolleri verilmesine rağmen hastaların büyük bir kısmı iyileşirken, daha az bir kısmı kronikleşmekte, nadiren de relapslar gözlenmektedir. Bu klinik farklılıkların nedeni bilinmemektedir. Sitokinler bu konuda üzerinde araştırma yapılan önemli medyatörlerdir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda sitokinlerle akut brusellozdaki klinik seyir ve relaps arasındaki bağlantı netleşmemiştir. Brusellozda uygulanan tedaviye rağmen, tam düzelmeyen hastalar nedeniyle önemli iş gücü kaybı oluşur. Bu nedenle bruselloz tedavisi öncesi veya uygun süre verilen klasik tedavi sonrası, relaps olgularını önceden belirleyecek laboratuvar parametreleri daima araştırma konusu olmuştur. Bu çalışmada, akut brusellozlu hastalarda hangi sitokinlerin yükseldiğini, sitokinlerin hastalığın seyrinde nasıl değişikliğe uğradığını ve relapsları belirlemede etkin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda IFN γ , TNF α , IL-2, IL-8, sIL 2R düzeyleri hastalarda kontrol grubundan yüksekti. Bu yükseklik istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0.05$). IL-4 düzeyi ise hastalarda istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0.05$). IL-10, IL-6 düzeyi hastalarda kontrol grubundan düşüktü fakat bu değerler istatistiki açıdan anlamlı değildi ($p>0.05$).

IFN γ brusella bakterisinin eliminasyonu ve bu mikroorganizma ile karşılaşan konağın sağ kalımı için gereklidir (94). IFN γ Th1 hücrelerinin en önemli ürünüdür ve immun yanıtı Th1 genotipine kaydırır. Bu sitokinin etkisi ile gerçekleşen makrofaj aktivasyonu brusella eliminasyonun da temel mekanizmadır (83,94). Akbulut ve arkadaşları (94), çalışmalarında, 28 akut ve subakut brusellozlu olguda ve 20 kişiden oluşan sağlıklı kontrol grubunda IFN γ düzeylerini ELISA ile araştırmış. IFN γ düzeylerini hem akut hem subakut brusellozlu olgularda kontrol grubuna göre yüksek tespit etmişler ($p < 0.05$). Bu çalışmada hasta grubunda tedavi öncesi ve sonrası IFN γ düzeyleri irdelendiğinde, tedavi ile IFN γ düşüşünün istatistiki olarak anlamlı olduğu ($p < 0.001$) vurgulanmıştır.

Demirdağ ve arkadaşları (95), 27 akut brusellozlu ve 20 sağlıklı erişkinde IFN γ düzeylerini araştırmış. Çalışmada tedavi öncesi IFN γ düzeyleri, tedavi sonrası ve kontrol grubunda ölçülen değerlere göre istatistiki olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$).

Ahmed ve arkadaşları (96), 27 akut brusellozlu olgu ve 15 sağlıklı erişkinde IFN γ düzeylerine bakmış. Brusellozlu grupta IFN γ düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı yüksek saptamıştır ($p < 0.05$). Bu çalışmada tedavi sonu IFN γ düzeylerine bakılmamıştır.

Rafiei ve arkadaşları (97), 15 akut brusellozlu ve 8 sağlıklı erişkinde IFN γ düzeylerini, Brusella antijeni ile uyarılmış hücre kültür ortamında Flow sitometri ile ölçmüşler. Semptomları 3 aydır devam eden 7 brusellozlu olguda IFN γ düzeyini, semptomları 3 aydan uzun süredir devam eden 8 subakut brusellozlu olgu ve kontrol grubundaki 8 olgudan istatistiki olarak anlamlı yüksek saptamışlardır ($p < 0.05$). Buna karşın aynı çalışmada semptomları 3 aydan uzun süredir devam eden subakut brusellozlu olgularla kontrol grubu arasında IFN γ düzeyleri açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir.

Giambartolomei ve arkadaşları (98), 25 akut brucellozlu ve 20 sağlıklı erişkinin periferik mononükleer kan hücrelerinde brucellanın sitoplazmik proteinine karşı gelişen hücresel immün yanıtın bir ölçümü olarak IFN γ düzeylerini sandwich ELISA yöntemi ile araştırmış. Brucella sitoplazma proteini ile uyarılan 14 brucellozlu olguda IFN γ artışı, 11 cevapsız brucellozlu olgu ve 20 kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$). Brucellozda, sitoplazmik antijen gibi antijenlere bazen IFN γ yanıtının gelişmemesi nonspesifiktir. Çünkü aynı hücreler genel mitojen PHA (Fitohemagglütinin) ile uyarılırsa IFN γ yanıtı olduğu görülür.

Akbulut ve arkadaşları başka bir çalışmada (99), 25 akut brucellozlu hasta grubunda, 11 sağlıklı kontrol grubuna göre CD3+ T lenfosit ve CD4 + T lenfosit seviyesini istatistiki olarak anlamlı düşük saptamıştır ($p < 0.05$). Bu çalışmada CD3 + CD8 + T lenfositleri ve CD3 + IFN γ düzeyi brucellozlu hastalarda istatistiki olarak anlamlı yüksek bulunurken, CD4 + IFN γ düzeylerinde hasta ve kontrol grubu arasında fark saptanmamıştır. Tedaviye cevap veren hastalarda CD3 + IFN γ düzeyi azalırken, tedaviye yanıt vermeyen grupta anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Bu çalışmada tedaviye yanıt vermeyen ve kronikleşme eğilimi olan olgularda tedaviye IFN γ eklenmesi ile IFN γ düzeyinin arttırılması faydalı bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi **akut brucellozda, IFN γ düzeylerinin** tedavi sonunda yapılan kontrollere ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı yüksek olduğunu, çalışmamızda da tespit ettik. Özellikle tedavi ile IFN γ düzeylerinin düşmesi anlamlıdır (Akbulut ve arkadaşları (94), Demirdağ ve arkadaşları (95) ve çalışmamız). Bu sitokinin etkileşimi ile gelişen makrofaj aktivasyonu, brucella infeksiyonunun eliminasyonuna katkı sağlamaktadır.

Brucellozlu olgularda **TNF α seviyesi** de araştırılmıştır. Refik ve arkadaşları (100), 37 brucellozlu ve 30 sağlıklı bireyde TNF α düzeylerini araştırmış. Akut brucellozlu 9 olgu,

subakut brusellozlu 28 olgu ve 30 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu arasında TNF α düzeyleri yönünden istatistiki olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p >0.05). Aynı alışmada TNF α ile beraber IL-1 β seviyelerinde de hasta gubu ile kontrol grubu arasında fark bulunmamıştır. Bir başka çalışmada da hayvanların *B.abortus* RB51 suşu ile aşılanması TNF α seviyesinde artışa neden olmamıştır (101).

Ahmed ve arkadaşları (96) alışmalarında, 27 akut brusellozlu olgu ile 15 sağlıklı erişkinde TNF α düzeyleri açısından iki grup arasında anlamlı fark bulamamıştır. Bu çalışmada akut brusellozlu olgularda TNF α ’nın tespit edilmemesi, TNF α ’nın yarılanma ömrünün kısa olmasına bağlanmıştır.

Palmer (102) 10 hamile sığırı intravenöz *B abortus* RB51 , 5 hamile sığırı subkutan *B abortus* RB51, 5 hamile sığırı subkutan *B abortus* 19 ile aşılamış, kontrol grubunda iki sığıra subkutan pirojen olmayan solüsyon enjekte etmiş. İntravenöz aşılanan sığırılarda 8-12 hafta sonra plasentatitıs olmuş ve TNF α düzeylerinde artış gözlenmiş. Bu çalışmada subkutan aşılanan grupla kontrol grubu arasında fark saptanmamış.

Buna karşın Akbulut ve arkadaşları (94), 28 brusellozlu olgu ve 20 sağlıklı bireyde TNF α alıştıklarında, TNF α düzeyini hasta grubunda, kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek bildirmişlerdir (p<0.05). Ayrıca aynı çalışmada tedavi verildikten sonra bakılan TNF α düzeylerinin, tedavi öncesi değerlere göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde düştüğünü saptamışdır (p<0.005). TNF α düzeylerindeki artışın IFN γ ‘daki artışla ilişkili olduğu, çalışmalarında bu ilişkinin izlendiği vurgulamıştır.

Demirdağ ve arkadaşları (95) 27 akut brusellozlu ve 20 sağlıklı erişkinde TNF α düzeylerini arştırdıklarında, TNF α düzeylerinin akut brusellozlu olgularda kontrol grubuna göre yüksek olduğunu belirtmiştir (p<0.05). Invitro olarak *B.abortus* etkisi ile insan ve murine monositlerinden, proinflamatuvar TNF α ve IL-1 β salındığı, TNF α salınımının IFN γ salınımına eşlik ettiği belirtilmiştir (101,103). Bu alışmada TNF α ’nın

hastalığın akut fazında yüksek seviyelere ulaştığı ve IFN γ seviyelerindeki artış ile eş zamanlı olduğu vurgulanmıştır.

Dornand ve arkadaşları (104) çalışmalarında, brusella infeksiyonunda monükleer hücrelerde IL-1, IL-6, IL-8 düzeyinde artış saptarken, TNF α düzeyinde artış saptanmadığını bildirmişler. TNF α sentezlenmemesinin brusella LPS'sinin düşük potansiyeli ile ilişkilendirilemeyeceği, ısı ile öldürülmüş *B.suis* 503 suşu ile aşılama sonucunda IL-1, IL-6, IL-8 ilaveten TNF α düzeyinin arttığını bundan çıkacak sonucun canlı bakterinin TNF α sentezini baskılaması olduğunu bildirmişler. Bu makalede TNF α 'nın üretimindeki bu eksikliğin IL-10, TGF β gibi sitokinlerle ilgili olmadığı, Omp 25'in TNF α sentezini baskıladığı bildirilmiştir.

Brusellozda yapılan çalışmalarda TNF α düzeyleri ile ilgili sonuçlar tartışmalıdır. Palmer ve arkadaşlarının (102), Refik ve arkadaşlarının (100), Ahmed ve arkadaşlarının (96) çalışmalarında brusellozlu olgularda **TNF α düzeylerinde** kontrol grubuna göre, akut veya subakut seyirli olmasına göre anlamlı artış olmadığı belirtilmiştir. Buna karşın Akbulut ve arkadaşlarının (94), Demirdağ ve arkadaşlarının (95) çalışmasında ve bizim çalışmamızda **TNF α düzeyleri** kontrol grubuna ve brusellozlu olguların tedavi sonu değerlerine göre istatistiki olarak anlamlı saptanmıştır ($p < 0.05$). TNF α 'nın yüksek bulunmaması yarı ömrünün kısa olmasına bağlanırken (96), TNF α 'nın yüksek saptanması proinflatuvar bir medyatör olması ve IFN γ yükselmesi ile izah edilebilir.

Brusellozda **IL-2** düzeyleri araştırıldığında Makis ve arkadaşları (105), akut brusellozlu 20 çocukta tedavi öncesi ve sonrasında, ayrıca 20 sağlıklı kontrol grubunda IL-2 ve sIL2R düzeylerini araştırmış. Sonuçta IL-2'nin tedavi öncesi değerleri kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen, arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulmamıştır ($p=0.097$). Aynı şekilde tedavi sonrası IL-2 düzeyi ile kontrol grubu arasında da anlamlı fark saptanmamıştır. Buna karşın tedavi öncesi sIL2R düzeyleri kontrol

grubundan istatistiki olarak anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir ($p<0.001$). Tedavi ile sIL2R düzeyleri azalmasına rağmen, tedavi sonu değerleri de kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p <0.002$). Bu çalışmada sIL2R düzeylerinin akut brusellozlu olgularda artması Th1 hücre aktivasyonu doğrulamıştır. Çalışmada tedavi sonrası sIL2R düzeyinin yüksek kaldığı 3 olguda relaps geliştiği bildirilmiştir. Artmış sIL2R düzeyi ile relaps arasında ilişki olduğu vurgulanmıştır. Hastalardaki IL-2 düzeyleri ile kontrol grubu arasında fark olmaması; IL-2'nin lokal otokrin veya parakrin etkili olmasına ve sIL2R'nin IL-2'yi bağlayarak nötralize etmesine bağlanmıştır.

Akbulut ve arkadaşları (94), akut ve subakut brusellozlu olgularda, bu olguların tedavi öncesi ve sonrası değerleri ile, kontrol grubu arasında IL-2 düzeyleri arasında istatistiki olarak anlamlı fark tespit etmemiştir ($p>0.05$). Çalışmada bu durumla ilgili yorum yapılmamıştır.

Ahmed ve arkadaşları (96), akut brusellozlu olgularla kontrol grubu arasında, IL-2 düzeyleri yönünden istatistiki olarak anlamlı fark tespit edememiştir ($p>0.05$). Th1 hücrelerinde üretilen IL-2'nin hücre sel immün cevaptaki önemi bilinmektedir. IL-2'nin makrofajların aktivasyonunda önemli bir kofaktör olduğu, ayrıca monositlerden TNF α 'nın salınımını arttırdığı vurgulanmıştır. Buna rağmen çalışmada, iki grup arasında IL-2 seviyeleri açısından, hasta grubu lehine fark olmaması, IL-2'nin yarı ömrünün kısa olmasına bağlanmıştır.

Refik ve arkadaşları (100), brusellozlu hasta grubu ile kontrol grubunu IL-2R açısından karşılaştırıldığında, hasta grubunda IL-2R düzeylerinin istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bildirmiştir ($p<0.05$). IL-2R düzeylerinin hasta grubunda belirgin yüksek olması, aktive olan inflamatuvar reaksiyonun düzenlemedeki rolüne bağlanmıştır.

Görüldüğü gibi brusellozlu olgularda **IL-2 düzeyi** (bazı çalışmalarda IL-2 ve/veya sIL2R düzeyleri) araştırıldığında farklı sonuçlar elde edilmiştir. Makis ve arkadaşları (105), Akbulut ve arkadaşları (94), Ahmed ve arkadaşları (96) hasta ve kontrol grubu arasında IL-2 düzeylerinin fark tespit edememişlerdir. Bu durum IL-2'nin lokal otokrin veya parakrin etkili olmasına, sIL2R'nün IL-2'yi bağlayarak nötralize etmesine, IL-2'nin yarı ömrünün kısa olmasına bağlanmıştır. Buna karşın çalışmamızda Th1 hücrelerinden üretilen, makrofaj aktivasyonunda önemli kofaktör olan IL-2 düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek düzeyde bulunmuştur.

IL-8 nötrofil mobilizasyonu, aktivasyonu ve degranülasyonunu sağlayan bir kemokindir. Brusellozda IL-8 düzeyleri incelendiğinde; Akbulut ve arkadaşları (94) akut ve subakut brusellozlu olgularla kontrol grubu arasında ayrıca, hasta grubunda tedavi öncesi ve tedavi sonrası IL-8 düzeyleri açısından anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir. Bunun nedeni makalede tartışılmamıştır.

Refik ve arkadaşları (100) brusellozlu hasta grubunda kontrol grubuna göre, ayrıca akut brusellozlu (9 olgu) olgularda subakut brusellozlu (28 olgu) olgulara göre IL-8 düzeyleri yönünden istatistiki olarak anlamlı fark olduğunu bildirmiştir ($p<0.05$). Bu çalışmada IL-8 düzeylerinin hasta grubunda artmasının brusella patogenezinde lökosit alt gruplarının migrasyonu ve kemotaksisini göstermesi yönünden anlamlı olduğu vurgulanmıştır.

Brusellozda IL-8 düzeyinin değişmediğini (94) belirten çalışmalara karşın, bizim çalışmamızda, Refik ve arkadaşlarının çalışmasında (100), Dornand ve arkadaşlarının çalışmasında (104) hasta grubunda kontrol grubuna göre IL-8 anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi. Bu artış bruselloz patogenezinde IL-8 etkisi ile gerçekleşen lökosit migrasyonu ve kemotaksisinin etkili olduğunu, tedavi sonunda düzeyinin düşmesi

inflamasyonun sınırlandırılmasına işaret etmesi yönünden anlamlı olduğunu düşündürmektedir.

IL-10 aktive makrofajların inhibitörüdür. Bu makrofajlar üzerine etki ederek onların sitokin salmasını ve eş uyarıcılarla ifadenmesini engeller (89). Rafiei ve arkadaşları (97) 15 akut brusellozlu ve 8 sağlıklı erişkin üzerinde yaptığı çalışmada IL-10 düzeylerini hasta ve kontrol grubunda farklı bulmamıştır. Bizim çalışmamızda da akut brusellozlu olguların **IL-10 düzeyi** ile kontrol grubu arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$).

IL-4 naif CD4+ T lenfositlerden TH2 hücre gelişimini uyarır ve farklılaşmış TH2 lenfositler için otokrin büyüme faktör özelliği gösterir. Dolayısıyla IL-4 TH2 alt grubunun uyarılarak genişlemesinden sorumludur. Ayrıca IL-4, IFN γ 'nın makrofaj aktivasyon özelliğini antagonize ederek hücre aracılı immün yanıtı baskılar (86).

Akbulut ve arkadaşları yaptığı çalışmada (99) 25 akut brusellozlu hasta grubunda, 11 sağlıklı kontrol grubuna göre CD3+ T lenfosit ve CD4 + T lenfosit seviyesini istatistiki olarak anlamlı düşük saptamıştır ($p < 0.05$). Bu çalışmada CD3 + IL-4 düzeyi brusellozlu hastalarda istatistiki olarak anlamlı düşük bulunurken, CD4 + IL-4 düzeylerinde hasta ve kontrol grubu arasında fark saptanmamıştır.

Pasquali ve ark.(106) **IL-4 düzeyini** çalışmamızla uyumlu olarak hastalarda kontrol grubundan düşük bildirmişlerdir. Akbulut başka bir çalışmasında hasta ve kontrol grubunda IL-4 düzeyleri arasında fark saptamamıştır (94). Bunlara karşın brusellozda IL-4'ün yükseldiği az sayıda çalışma mevcuttur (Galanakis (107) akut brusellozlu çocuklarda IL-4 düzeyini yüksek olarak bildirmiştir).

İnterlökin-6 hem doğal hem de edinsel bağışıklık yanıtında rol oynayan birçok hücre üzerine etkili biyolojik aktivitesi olan bir sitokindir. IL-1 ve TNF α ile birlikte sinerjistik etkiyle T hücre stimülasyonu yapar. T hücrelerinin, sitotoksik T hücrelerine farklılaşması

dahil olmak üzere, diferansiasyon, aktivasyon ve büyümesinde görev alır (87). Dornand ve ark.(104), Akbulut ve ark.(94), Refik ve ark.(100) çalışmalarında IL-6 düzeyini hastalarda kontrol grubundan yüksek bildirmişler. Çalışmamızda hasta ve kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$).

Akbulut ve arkadaşları 2007 yılında 35 brusellozlu (28 akut, 7 subakut) hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarında IL-6, TNF α ve IFN γ 'nın tedavi ile düştüğünü, IL-2, IL-4, IL-8, TGF- β , IL-1 β 'nin değişmediğini tespit etmişlerdir (94). Çalışmamızda 42 akut brusellozlu olgunun 0.gün, 45.gün ve 1.yıl TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerlerinde istatistiki açıdan anlamlı bir değişiklik saptanmadı (Tablo 3). Relaps yapan olguların bu değerleri etkileme ihtimali düşünülerek relaps yapan ve yapmayan hastalar ayrı ayrı değerlendirildi. Otuzbeş tane relaps yapmayan olgunun 0.gün, 45.gün ve 1.yıl değerlerinde TNF α , IL-6, IL-8, IL-10'da istatistiki açıdan anlamlı bir değişim saptanmadı. IFN γ , IL-2, IL-4, sIL 2R'daki değişim ise istatistiki olarak anlamlı idi (Tablo 4). Bu 4 değer Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile irdelendiğinde 0-45. günler arasında istatistiki fark olmadığı tespit edildi (Tablo5). 0 gün-1.yıl değerleri aynı düzeltme testi ile değerlendirildiğinde IFN γ , IL-2, IL-4 arasında anlamlı fark saptanmazken, sIL 2R düzeyinin düştüğü, bu farkın istatistiki olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Tablo 6). Refik ve arkadaşları sIL 2R'nün brusellozda yükseldiğini bildirmiştir (100). Makis ve arkadaşları ise sIL 2R α 'nın brusellozda arttığını tespit etmiştir (105). Bu çalışmada, sIL 2R α düzeyi tedavi sonunda yüksek kalan olgularda relaps saptamış ve sIL 2R α 'nın relapsları saptamada güvenilir bir parametre olduğunu bildirmiştir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda sitokinlerle relaps arasındaki ilişki ve relaps gözlenen olguların tanısı ve tedavisi netleşmemiştir. Relaps yapacak hastalar bazı laboratuvar tetkikleri ile önceden tahmin edilebilir, hastaların tedavi ve takipleri

düzenlenerek klinik nöksler önlenebilir. Çalışmamızda relapsı önceden tahmin etmede kullanılabilecek parametre varlığı değerlendirildi. Relaps saptanan akut brusellozlu olguların 0.gün IL-2 ve IL-6 ortalama değerleri relaps saptanmayan gruptan daha yüksek, sIL2R'nün ortalama değeri ise daha düşük saptanmıştır. Bu değerler istatistiki olarak anlamlıdır (Tablo8). Bu iki grubun 45 günlük tedavi sonunda TNF α , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R değerleri karşılaştırıldığında, relaps tespit edilen akut brusellozlu olguların 45.gün IL-6 ortalama değeri daha yüksek tespit edilmiştir. Bu değer istatistiki olarak anlamlıdır (Tablo9). Bu sonuçlar hastanın 0.gün ve tedavi sonu 45.gün IL-6 değerlerinin relapsı göstermede güvenilir prognostik bir belirleyici olduğunu düşündürmektedir. 0.gün IL-2 ve IL-6 düzeyinin yüksek, sIL2R'nin düşük olduğu hastalarda relaps açısından dikkatli olunması gerektiğini düşünüyoruz.

Sonuç olarak diğer infeksiyon hastalıklarında olduğu gibi bruselloz patogeneğinde de sitokinlerin önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda bruselloz kliniğinde, özellikle relapsı öngörmeye sitokinlerin rolü netlik kazanmamıştır. Çalışmamızdaki veriler 0.gün ve tedavi sonu 45.gün IL-6 değerlerinin relapsı göstermede güvenilir prognostik bir belirleyici olduğunu, 0.gün IL-2 ve IL-6 düzeyinin yüksek, sIL2R düzeyinin düşük olduğu hastalarda relaps açısından dikkatli olunması gerektiğini düşündürmektedir, bu hipotezimizin daha fazla sayıda olgunun katılacağı çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünüyoruz.

8.ÖZET

Bu çalışmanın amacı akut brucellozda hücresel immün yanıtın araştırılmasıdır. Çalışma 42 akut brucellozlu hasta ile 43 sağlıklı kontrol grubu üzerinde yapıldı. Hastaların 0. gün serum örnekleri alındıktan sonra 45 gün standart brucelloz tedavisi verildi. Tedavi sonunda 45.gün serum örnekleri alındı. Hastalar 1 yıl süre ile relaps açısından izlendi. Yedi hastada relaps saptandı. Relaps saptanan olgulardan serum örnekleri alınıp brucelloz tedavisi tekrarlandı. Tedavi sonunda kontrol serum örnekleri alındı. Alınan örnekler -80 °C’de saklandı. Serum örneklerinden IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, sIL2R, IFN γ , TNF α düzeyleri çalışıldı.

Hastalarda IL-2, IL-8, sIL2R, IFN γ , TNF α düzeyleri kontrol grubundan yüksek, IL 4 düzeyi düşük tespit edildi. Bu değerler istatistiki olarak anlamlı idi. IL-6, IL-10 hasta grubunda yüksekti fakat bu yükseklik istatistiki olarak anlamlı değildi.

Relaps yapan 7 olguda 0. günde IL-2, IL-6 değerleri yapmayan 35 olgudan yüksek, sIL2R düzeyi düşük saptandı. Relaps yapan grupta 45 günlük tedavi sonunda IL-6 yüksekliği devam etti. Bu değerler istatistiki açıdan anlamlı idi.

Bu sonuçlar, hastanın 0 ve 45.gün IL-6 değerlerinin relapsı göstermede güvenilir prognostik bir belirleyici olduğunu, 0.gün IL-2 ve IL-6 düzeyi yüksek, sIL2R düzeyi düşük hastalarda relaps açısından dikkatli olunması gerektiğini düşündürmektedir.

9-SUMMARY

The aim of this study is to search cellular immune response in acute brucellosis. 42 patients with acute brucellosis and 43 healthy control groups were taken to the study. The serum samples were taken from the patients at the time of diagnosis and standard therapy for brucellosis was given to the patients for 45 days. At the end of therapy the serum samples were taken again. The patients were followed up for one year for relapse. Relapse was determined at 7 patients. Treatment for brucellosis is given again to the patients who were relapsed after taking the serum samples. At the end of therapy control serum samples were taken. The serum samples were kept at -80 °C. IL2, IL4, IL6, IL8, IL10, SIL2R, TNF α , IFN γ were studied at serum samples.

IL2, IL4, IL6, IL8, IL10, SIL2R, TNF α , IFN γ levels of patients were higher than the control group, IL4 levels were lower. These values were statistically significant. IL6 and IL10 levels were higher in the patients group but these elevations were not statistically significant. IL2, IL6 values of the 7 relapsed patients at the beginning of the therapy was higher than the 35 patients who were not relapsed and SIL2R level was lower. At the end of 45 days therapy IL6 levels were persisted higher in the relapsed patients. These values were statistically significant. These results showed that IL6 value at the beginning and end of therapy is a determinate of prognosis to show relapse. In the patients whose IL2 and IL6 levels were high and SIL2R levels were low at the beginning of the therapy care must be taken for relapse.

10.KAYNAKLAR

- 1-Doğanay M, Aygen B. Human brucellosis: an overview. *Int Infect Dis* 2003;7:173-82.
- 2-Pappas G, Akritidis N, Basilkovski M, Tisianos E. Review article Brucellosis. *N Engl J Med* 2005;352:2325-36.
- 3-Wafa Al-Nassir. Brucellosis. Article Last Updated 2006 (<http://www.emedicine.medscape.com/article/213430>).
- 4-Young EJ. Brucella species. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6 th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill- Livingstone, 2000:2386-93.
- 5-Colmenero JD, Reguera JM, Martos F, Sanchede-de-Mora D, Delgado M, Causse M, Martin-Farfan A, Juarez C. Complications associated with Brusella melitensis infections: a study of 530 cases. *Medicine* 1996;75:195-211.
- 6- Sözen TH. Bruselloz. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, eds. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, 2002:636-42.
- 7-Madkour MM. Bruselloz : Genel Bakış. In Madkour MM.edt. *Bruselloz*. Ankara: Nobel Kitap evi 2008:1-20.
- 8-Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of clinical and laboratory features of human Brucellosis. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2007;25:188-202.
- 9- Smith LD, Ficht TA. Pathogenesis of Brucella. *Crit Rev Microbiol* 1990;17:209-30.
- 10- Onul B. Brusellozis. *İnfeksiyon Hastalıkları*. Ankara: Ankara Üniversitesi Yayınları. 1983:715.
- 11- Bilgehan H. Aerob gram olumsuz küçük basiller, Brusella. In: Bilgehan H, eds. *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları*. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2000:199-204.

- 12-Cutler SJ, Whatmore AM and Commander NJ. A Review Brucellosis new aspects of and old disease. *Journal of Applied Microbiology* 2005;98:1270-81.
- 13- Baysal B. Brusella. In: Ustaçelebi Œ, Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete , eds. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: GneŒ Kitabevi, 1999:571-7.
- 14- Memish Z, Mah MW, Al Shaalan M, Khan Y. *Brucella bacterimiae*: clinical and laboratory observation in 160 patients. *J Infect* 2000;40:59-63.
- 15-Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of clinical and laboratory features of human Brucellosis . 20007;25:188-202.
- 16-Gorvel JP, Moreno E. *Brucella* intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Vet Microbial* 2002;90:281-97.
- 17-Lopez-Goni I, Guzman-Verri C, Manterola L, Sola-Landa A, Moriyon I, Moreno E. Regulation of *Brucella* virulence by the two-component system BvrRiBvrS. *Vet Microbial* 2002;90:329-339.
- 18-Gnay O. Brusellozun epidemiyolojisi ve korunma yolları. 24. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kayseri 1990.
- 19-Ariza J, Mile B, Antonio C, Colmenero JD, Corbel MJ, Falagas ME, et al. Perspectives for the treatment of Brucellosis in the 21 st century: The Ioannina Recommendations. *Plos Medicine* 2007;4:1872-8.
- 20-Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis Review. *The Lancet Infectious Diseases* 2007;7:775-86.
- 21-Young EJ. An overview of human brucellosis. *Clin Infect Dis* 1995;21:283-90.
- 22-Yılmaz M. Bruselloz. İ.Ü. CerrahpaŒa Tıp Fakültesi Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi 2007;55:215-26.
- 23-Memish Z. Brucellosis control in Saudi Arabia: prospects and challenges. *J Chemoter* 2001;13:11-7.

- 24- Celi J. Surviving inside a macrophage: The many ways of Brucella. *Research in Microbiology* 2006;157:93-8.
- 25-Boschirolu ML, Ouahrani-Bettache S, Foulongne V, Michaux-Charachon S, Allardet-Servent A, et al. Type IV secretion and Brucella virulence. *Vet Microbial* 2002; 90:341-8.
- 26- Durmuş A, Karahocagil MK, Akdeniz H, Karsen H, Baran Aİ, Evirgen Ö. hematological complications in 787 cases of acute Brucellosis in Eastern Turkey. *Turk J Med Sci* 2008; 38: 421-4.
- 27- Yingst S, Hoover DL. T cell immunity to Brucellosis. *Critical Reviews in Microbiology* 2003;29:313-31
- 28-Göral G. Hücre içi bakterilerin yaptığı hastalıkların immunopatogenezi. 28. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Antalya 1998. Kongre Kitabı;111-4.
- 29-Trujillo IZ, Zavala AN, Cacaes JG, Miranda CQ. Brucellosis. *Infect Dis Clin North Am* 1994;8:59-63.
- 30-Hall WH. Brucellosis. In: Evans AS, Brachman PS, eds. *Bacterial infections of humans epidemiology and control*. New York: Plenum Medical Book 1991;133-49.8.
- 31-Chung TD, Nusrat H, Mustafa AS. A study of secreted cytokine profile in human brucellosis. 11 th ECCMID 2001. Istanbul, Turkey. Congress Book.
- 32-Bodur H, Erbay A, Akıncı E, Colpan A, Cevik MA, Balaban N. Neurobrucellosis in an endemic area of brucellosis. *Scand J Infect Dis* 2003;35:94-7.
- 33-Kokoğlu OF, Hoşoğlu S, Geyik MF, Ayaz C, Akalin S, Buyukbese MA et al. Clinical and laboratory features of brucellosis in two university hospitals in southeast Turkey. *Trop Doct* 2006;36:49-51.
- 34-Aygen B, Doğanay M, Sümerkan B, Yıldız O, Kayabaş Ü. Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: an evaluation 480 patients. *Med Mal Infect* 2002;32:485-93.

- 35-Ariza J, Corredoira J, Pallares R, Viladrich PF, Rufi G, Pujol M, Gudiol F. Characteristics of and risk factors for relapse of brucellosis in humans. *Clin Infect Dis* 1995;20:1241-9.
- 36-Ariza J, Pujol M, Valverde J. Brucellar sacroileitis: Findings in 63 episodes and current relevance. *Clin Infect Dis* 1993;16:761-5.
- 37- Mamikoğlu L. Atipik Seyirli Bruselloz. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi 3-8 Ekim 1999. Antalya,Türkiye.
- 38-Colmenero JD, Reguera JM, Fernandez-Nebro A, Cabrero-Franquela F. Osteoarticular complications of brucellosis. *Ann Rheum Dis* 1991; 50:23-6.
- 39-Mousa ARM, Muhtaseb SA, Almudallal DS, Khodeir SM, Marafie AA. Osteoarticular complications of brucellosis: a study of 169 cases. *Rev Infect Dis* 1987;9:531-43.
- 40-Tasova Y, Saltoglu N, Sahin G, Aksu HZ. Osteoarticular involvement of brucellosis in Turkey. *Clin Rheumatol* 1999;18:214-9.
- 41-Aygen B, Stimerkan B, Mirza M, Doganay M, Arman F. Treatment of neurobrucellosis with a combination of ceftriaxone, rifampicin and doxycycline. *Med Mal Infect* 1996; 26:1199-1201.
- 42-McLean DR, Russel N, Khan MY. Neurobrucellosis: clinical and therapeutic features. *Clin Infect Dis* 1992;15:582-90.
- 43-Young EJ. Brucellosis. In: Emmerson AM, Hawkey PM, Gillespie SH, eds. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. Chichester: Wiley, 1997:337-48.
- 44-Hadjinikolaou L, Triposkiadis F, Zairis M, Chlapoutakis E, Spyraou P. Successful management of *Brucella melitensis* endocarditis with combined medical and surgical approach. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;19:806-10.
- 45-Al-Mudallal DS, Mousa ARM, Marafie AA. Apyrexia *Brucella melitensis* aortic valve endocarditis. *Trop Geogr Med* 1989; 41:372-6.

- 46-Aygen B, Stimerkan B, Kardas Y, Doganay M, Inan M. Bruselloz: 183 olgunun değerlendirilmesi. *Klinik Dergisi* 1995; 8:13-6.
- 47-Paton NI, Tee NWS, Vu CKF, Teo TP Visceral abscesses due to *Brucella suis* infection in a retired pig farmer. *Clin Infect Dis* 2001;32:129-30.
- 48-Ariza J, Pigrau C, Canas C, Maron A, Maeritez F, Almirante B. Current understanding and management of chronic hepatosplenic suppurative brucellosis. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1024-33.
- 49-Diab SM, Araj GF, Al-Asfour AJ. Brucellosis: atypical presentation with peritonitis and meningitis. *Topical Geographical Medicine* 1989;41:160-3.
- 50-Young EJ, Tarry A, Genta RM, Ayden N, Gotuzzo E. Thrombocytopenic purpura associated with brucellosis: report of 2 cases and literature review. *Clin Infect Dis* 2000;31:904-9.
- 51-FrancoVictoria R, Balpardo J, Santamaria JM. Cutaneous vasculitis in a patient with acute brucellosis. *Dermatologica* 1985; 171:126-8.
- 52-Berger TG, Guill MA, Goette DK. Cutaneous lesions in brucellosis. *Arch Dermatol* 1981; 117:40-2.
- 53-Gelfand MS, Kaiser AB, Dale WA. Localized brucellosis: popliteal artery aneurysm, mediastinitis, dementia and pneumonia. *Rev Infect Dis* 1989;11:783-8.
- 54-Ibrahim AIA, Awad R, Shetty SD, Soad M, Bilal ME. Genitourinary complications of brucellosis. *Br J Urol* 1988;61:294-8.
- 55- Memish ZA, Venkatesh S. *Brucella* epididymo-orchitis in Saudi Arabia: a retrospective study of 26 cases and review of the literature. *BJU Int* 2001; 88:72-6.
- 56-Navarro-Martinez A, Solera J, Corredoira J. Epididymo-orchitis due to *Brucella melitensis*: a retrospective study of 59 patients. *Clin Infect Dis* 2001;33:2017-22.

- 57-Gotuzzo E, Carrillo C, Guerra J, Llosa L. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis: the value of bone marrow culture. *J Infect Dis* 1986;153:122-5.
- 58-Thalhammer F, Elberte G, Kopetzki KU. Unusual route of transmission of *Brucella abortus*. *Clin Infect Dis* 1998;26:763-4.
- 59-Moyer NP, Holcomb LA, Hausler WJ. *Brucella*. In: Balow A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. eds. *Manual of Clinical Mikrobiyology*. 4 th ed. Washington DC: ASM pres; 1991:457-62.
- 60-Young EJ. Serologic diagnosis of human brucellosis: analysis of 214 cases by agglutination tests and review of the literature. *Rev Infect Dis* 1991;13:359-72.
- 61-Kittelberger R, Bundesen PG, Cloeckaert A, Greiser- Wilke I, Letesson JJ. Serological cross-reactivity between *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica* 0:9: IV Evaluation of the M- and C-epitope antibody response for the specific detection of *B. abortus* infection. *Vet Microbial* 1998;60:45-57.
- 62- Papas G, Akritidis N, Bosilkovski M. Brucellosis. *The New England Journal of Medicine* 2005;22:2325-36.
- 63-Queipo-Ortuno MI, Morata P, Ocan P, Manchado P, Calmenero JD. Rapid diagnosis of human brucellosis by peripheral blood PCR assay. *J Clin Microbial* 1997;35:2927-30.
- 64-Sifuentes-Rincon AM, Revol A, Barrera- Saldana HA. Detection and differentiation of the six *Brucella* species by polymerase chain reaction. *Mol Med* 1997;3:734-9.
- 65- Gotuzzo E, Carillo C. *Brucella*. In Gorbach SL, Barlett YG, Blackow NR, eds. *Infectious Disease*. 2 th eds. Philadelphia: WB Saunders Company, 1998:1837-45.
- 66-İnce D, Dilmener M. Bruselloz Tedavisi: Ülkemizde Hangi Kombinasyonu Tercih Etmeliyiz. *Flora* 1997;1:12-5.

- 67-Akova M, Uzun O, Akalin HE, Hayran M, Ünal S, Gür D. Quinolones in treatment of human brucellosis : Comparative trial of ofloxacin-rifampin versus doxycycline-rifampin. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;7: 831-34.
- 68- Joint FAO/WHO expert committee on Brucellosis (sixth report). WHO technical report series no. 740. Geneva: World Health Organization, 1986:56-7.
- 69- Skalsky K, Yahav D, Bishara. Treatment of human brucellosis: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2008;1-8.
- 70-Lang R, Dagan R, Potasman I, Einhorn M, Raz R. Failure of ceftriaxone in the treatment of acute brucellosis. *Clin Infect Dis* 1992;14:506-9.
- 71-Khuri-Bulas NA, Droud AN, Azab SM. Treatment of childhood brucellosis: Results of a prospective trial on 113 children. *Pediatr Infect Dis J* 1993;12: 377.
- 72- Ural O. Brucellosis Tedavisinde Rastlanan Sorunlar. *Flora* 2001;6:5-11.
- 73- Abbas AK, Lichtman AH. Temel İmmünoloji İmmün sistemin işlev ve bozuklukları. 1. baskı. Camcıoğlu Y, Deniz G. 1. baskı. İstanbul: Medikal Yayıncılık Ltd Şti, 2007;1-363.
- 74- Grossi C, Lydyard P. Cells Involved In Immune Responses. Roitt I, Brostoff J, Male D ed. *Immunology*. 4 th eds. Mosby: Year Book Europe Limited, 1993; 2.2-2.20.
- 75- Kılıçtılgay K. İmmünoloji. 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2003;1-160.
- 76- Abbas AK, Lichtman A H, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Pennsylvania: W.B Saunders Company Philadelphia, 2000;3-335.
- 77- Glickman MS, Pamer EG. Cell-mediated defense against infection. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6 th ed. Philadelphia: Churchill- Livingstone, 2000:117-135.
- 78- Roitt I, Male D. Introduction to the immune system. In: Roitt I, Brostoff J, Male D, eds. *Immunology*. 4 th eds. London: Year Book Europe Limited. 1993;1.1-1.12.

- 79- Densen P. Complement. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious diseases. 6 th ed. Philadelphia: Churchill- Livingstone, 2000:69-89.
- 80- Feldman M. Cell Cooperation In the antibody response. In: Roitt I, Brostoff J, Male D, eds. Immunology. 4 th ed. London:Year Book Europe Limited, 1993 7.1-7.16.
- 81- Janeway CA, Traves P. Immuno Biology. 1996 by Current Biology ltd . 2 th 1.18.52.
- 82- Champel H, Haeney M, Misbah S, Snowden N. Essentials of clinical immunology Blackwell Science Ltd. 1999;1-29.
- 83-Vilcek J. The Cytokines: An Overview. In: Thomson A editors. The cytokine handbook. Academic Press, 1998;1-21.
- 84-Samuel CE. Antiviral actions of interferons. Clinical Microbiology Reviews 2001;4:778–809.
- 85- Gaffen SL, Mark A, Greene WC, Grene G. Interleukin-2 and Interleukin-2 Receptor. In: Thomson A editors. The cytokine handbook. Academic Press, 1998;73-105.
- 86- Chomarat P, Rybak ME, Banchereau Interleukin-4. In:Thomson A editors. The cytokine handbook Academic Press,1998;133-75.
- 87- Hirano T. Interleukin-6. In:Thomson A editors. The cytokine handbook. Academic Press, 1998;197-229.
- 88- Wuyts A, Proost P, Damme JV. Interleukin-8 and other CXC Chemokines. In:Thomson A editors. The cytokine handbook. Academic Press,1998; 271-313.
- 89- Malefyt R W, Moore KV. Interleukin-10. In:Thomson A. editors. The cytokine handbook. Academic Press, 1998; 333-365.
- 90- Zang M, Tracey KJ. Tumor Necrosis Factor. In:Thomson A. editors The cytokine handbook. Academic Press, 1998; 517-549.
- 91- Rook G. Immunity To Viruses, Bacteria and Fungi. In:Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology 4.th eds. London: Year Book Europa Limited, 1993;15.1-15.22.

- 92- Akbulut HH, Kilic SS, Bulut V, Ozden M. Determination of intracellular cytokines produced by Th 1 and Th 2 cells using flow cytometry in patients with brucellosis. *Immunology and Medical Microbiology* 2005;45:253-8.
- 93-Golding B, Scott DE, Scharf O, Huang LY, Zaitseva M, Lapham C, et al. Immunity and protection against *Brucella abortus*. *Microbes and Infection* 2001;3:43-8.
- 94- Akbulut H, Çelik I, Akbulut A. Cytokine levels in patients with Brucellosis and their relations with the treatment. *Indian J Med Microbiol* 2007;25:387-90.
- 95-Demirdağ K, Ozden M, Kalkan A, Godekmerdan A, Kiliç SS. Serum cytokine levels in patients with acute brucellosis and their relation to the traditional inflammatory markers. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2003;39:149-53.
- 96-Ahmed K, Matrouk A, Martinez G, Oishi K, Rotimi VO, Nagatake T. Increased serum levels of interferon- α and interleukin-12 during Human Brucellosis. *Am.J. Trop. Med. Hyg.* 1999;61:425-7.
- 97-Rafiei A, Ardestani SK, Kariminia A, Keyhani A, Mohraz M, Amirkhani A. Dominant Th1 cytokine production in early onset of Human Brucellosis followed by switching towards TH2 along prolongation of disease. *Journal of Infection* 2006;53:315-24.
- 98-Giambartolomei HG, Delphino MV, Cahanovich ME, Wallach JC, Baldi PC, Velikovsky CA, Fossati CA. Diminished Production of T Helper 1 cytokines correlates with T cell unresponsiveness to *Brucella* cytoplasmic proteins in chronic Human Brucellosis. *The Journal of Infectious Diseases* 2002;186:252-9.
- 99- Akbulut H, Kilic SS, Bulut V, Ozden M. Determination of Intracellular cytokines produced by Th1 and TH2 cells using flow cytometry in patients with Brucellosis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2005;45:253-8.

- 100-Refik M, Mehmet N, Durmaz R, Ersoy Y. Cytokine profile and nitric oxide levels in sera from patients with Brucellosis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2004;37:1659-63.
- 101- Zhan Y, Liu Z, Cherris C. Tumor necrosis alpha and interleukin 12 contribute to resistance to the intracellular bacterium *Brucella abortus* by different mechanisms. *Infect. Immun.* 1996;64:2782-6.
- 102-Palmer MV, Elsasser TH, Cheville NF. Tumornecrosis factor-alpha in pregnant cattle after intravenous or subcutaneous vaccination with *Brucella abortus* strain RB51. *American Journal of Veterinary Research* 1998;59:153-6.
- 103-Gorvel JP and Moreno E. *Brucella* intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Vet. Microbiol.* 2002;90:281-97.
- 104-Dornand J, Gross A, Lafont V, Liautard J, Oliaro J, Liautard JP. The innate immune response against *Brucella* in humans. *Vet Microbiol.* 2002;90:383-94.
- 105- Makis CA, Galanakis E, Hatzimichael CE, Papadopoulou ZL, Siamopoulou A, Bourantas KL. Serum levels of interleukin-2 receptor alpha as a predictor of outcome in Brucellosis. *Journal of Infection* 2005;51:206-10.
- 106- Pasquali P, Adone R, Gasbarre LC, Pistoia C, Ciuchini F. Mouse cytokine profiles associated with *Brucella abortus* RB51 vaccination or *B. abortus* 2308 infection. *Infect Immun* 2001;69:6541-4.
- 107- Galanakis E, Makis A, Bourantas KL, Papadopoulou ZL. Interleukin-3 and interleukin-4 in childhood brucellosis. *Infection* 2002; 30:33-4.

11-TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez süresince bana her türlü desteği veren hocalarıma ve mesai arkadaşlarıma, her zaman her konuda en büyük destekçim olan hayat arkadaşım Dr.Lütfi Saltuk DEMİR’e, benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan sevgili anne ve babama teşekkür ederim.