

**BRUCELLA TANISINDA; DECOY RECEPTOR 3,
LİPOPOLYSACCHARİDE-BİNDİNG PROTEİN, SFİNGOZİN 1
FOSFAT GİBİ ENFLAMATUAR BİYOBELİRTEÇLERİN
ROLÜNÜN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Ülkiye YETİM

Batman Eğitim Ve Araştırma Hastanesi
Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji

GİRİŞ VE AMAÇ

- Bruselloz tanısı klinik bulgular, serolojik testler ve kültür pozitifliğiyle konulmaktadır.
- Kültürde bakteriyi üretmek için uzun süreye ihtiyaç duyulmakta, üretme oranlarının değişken, bulaş riski yüksek, her kurumda kan kültürü çalışma imkanı yok
- Serolojik testlerde Brusellaya ait antikor titrelerinin tedavi sonunda uzun süre yüksek düzeylerde seyretmesi tedaviyi sonlandırma kararı almada veya nüks tanısı koymada sıkıntı oluşturmaktadır.
- Bunun için bu hastaların tanı ve tedavi takibinde kullanılabilecek yeni biyobelirteçler gündeme gelmiştir.
- Bu tez çalışmasında, yeni inflamatuvar biyobelirteçlerden olan decoy reseptör 3 (DcR3), lipopolisakkarit bağlayıcı protein (LBP) ve sfingozin-1 fosfatın (S1P) brusella tanısındaki rolünü araştırmak amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışma Planı

- Çalışma, tek merkezli prospektif bir kohort çalışması olarak planlandı.
- Bu amaçla Ağustos 2021 ve Aralık 2021 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji servis veya poliklinikte takip edilen çalışma kriterlerimize uyan brusella tanısı konan 50 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.
- Hasta grubu olarak; 18 yaşından büyük olan, klinik ve laboratuvar olarak kesin brusella tanısı konulan hastalar çalışmaya dahil edildi. 18 yaşından küçük olan, kronik brusella hastaları, rekurren brusella hastaları, yeni tanı alıp >7 gün tedavi almış hastalar çalışma dışı bırakıldı.
- Kontrol grubu olarak; bilinen kronik hastalığı bulunmayan, herhangi bir ilaç kullanma öyküsü olmayan ve BMI<25 olan 30 sağlıklı kişi seçildi.

MATERYAL VE METOD

Çalışma Planı

- Hastaların beyaz küre sayısı ve C- reaktif protein değerleri ölçüldü. Kan kültürleri alındı ve brusella serolojik testleri çalışıldı.
- Aynı anda hastalardan düz biyokimya tüplerine kan örnekleri alındı. Alınan kanlar santrifüj edilerek serum ayrıştırıldı. Elde edilen serum örneklerinden Decoy Reseptör-3, Lipopolisakkarit Binding Protein ve Sfingozin 1- Fosfat değerlerinin çalışılacağı zamana kadar -80 derecede derin dondurucuda saklandı.
- Hasta grubu ve kontrol grubu kanları çalışmanın yapılacağı günden bir gün önce, -80 dereceden çıkarılıp +4 derecede bekletildi.

MATERYAL VE METOD

Çalışma Planı

- DcR3, LBP, S1P testi için enzim-linked immuno sorbent assay (ELISA) yöntemi kullanıldı. Serum DcR3, LBP, S1P seviyeleri Human DcR3, Human LBP, Human S1P (Sunred Biological Technology, Shanghai, Çin) ticari kitlerine uygun olarak BioTek ELx50 Microplate Washer ve BioTek ELx800 Microplate Reader (BioTek Instruments, Inc. USA) cihazları kullanılarak ölçümleri yapıldı.
- DcR3 değerleri ng/ml, LBP değerleri ug/ml ve S1P değerleri ng/L cinsinden elde edildi. Elde edilen değerler istatistik hesaplamalar yapılmak üzere SPSS programına kaydedildi.

MATERYAL VE METOD

Çalışma Planı

- Hastaların yaş, cinsiyet, başvuru anındaki şikayetleri, ek hastalıkları, yaşadığı yer, eklem tutulumu ve diğer organ tutulumları, kültürde üreme varlığı, beyaz küre, CRP, DcR3, LBP ve S1P değerleri çalışmadaki değişkenler olarak belirlendi.
- Hasta grubundaki beyaz küre, CRP değerlerinin eş zamanlı alınan kanlarda bakılan DcR3, LBP ve S1P değerleri ile korelasyonu ve aynı zamanda brusella hastalarında elde ettiğimiz DcR3, LBP ve S1P değerlerinin kontrol grubundaki değerleri ile karşılaştırılması planlandı.
- Bruselloz tanısı konan hastalardan alınan kan kültürlerinde üreme olan ve olmayan hastalar tespit edildi. Kültürlerde üreme olan ve olmayan hastalar arasında DcR3, LBP ve S1P düzeyleri arasında fark olup olmadığı değerlendirildi.

Decoy Receptor 3 (DcR3)

- Decoy reseptör- 3 (DcR3) ilk olarak 1988’ de tümör nekroz faktörü reseptör ailesinin bir üyesi olarak tanımlanmıştır. Transmembran yerleşimi olmayan yalnızca salgılanan, bir tuzak reseptörüdür.
- Çeşitli kanserlerde tümör hücreleri tarafından eksprese edilir. DcR3 seviyelerinde artış tümör hücrelerinin büyümesini sağlar, invazyonunu kolaylaştırır ve apoptozunu engeller.
- Tuzak reseptör özelliği ile TNF ailesinin bazı üyelerinden olan, LIGHT (TNFSF14), TNF benzeri molekül (TL 1A/TNFSF15) ve FAS ligandına bağlanarak bu moleküllerin biyolojik aktivitelerini inhibe eder. Bu etkileri ile hem antiapoptotik hem de proinflamatuvar özellik gösterir.

Lipopolysaccharide Binding Protein(LBP)

- Başlıca karaciğerde, daha az oranda barsak ve yağ dokuda sentezlenen, bakterilere karşı verilen doğal immün yanıtın temel elemanlarından biridir.
- İnflamasyon durumunda 15-30 dk içinde salgılanmaya başlar ve 24-48 saatte pik değerine ulaşır.
- Lipopolisakkarit (LPS) ve diğer bakteri yüzeyindeki bileşenlere karşı afinitesi yüksek bir akut faz proteindir.
- LBP düşük konsantrasyonlarda proinflamatuvar etkilere sahipken, yüksek konsantrasyonlarda anti inflamatuvar etki gösterir.

Sfingozin 1 Fosfat (S1P)

- Sfingosin-1-fosfat (S1P), ilk olarak 1960'larda keşfedilmiştir.
- Hücre büyümesi, hücre proliferasyonu, anjiyogenezis, vasküler maturasyon, hücre migrasyonu, hücre iskeleti yapısının yeniden düzenlenmesi, gibi birçok aşamayı düzenleyen sfingolipidlerin major biyoaktif bir metabolitidir.
- Dolaşımdaki S1P'nin başlıca kaynakları, eritrositler ve endotelial hücrelerdir. Ayrıca lenfositlerin sekonder lenfoid organlardan periferik kana çıkışında rol oynamaktadır.
- T hücre üzerindeki etkileri konsantrasyon bağımlıdır. S1P düşük konsantrasyonlarda apoptozu inhibe eder ve kemotaksisi artırırken yüksek konsantrasyonlarda ise T hücre kemotaksisini inhibe eder.
- S1P insan serumunda 0.1-1 μM konsantrasyonda bulunmaktadır.

BULGULAR

Tablo 4. Bruselloz Tanısı Konan Gün Biyobelirteçlerin Korelasyonları

	Spearman korelasyonu		Sonuç
	r korelasyon katsayısı	p değeri	
WBC- CRP	-0,072	0,626	İlişki yok
WBC-DcR3	0,035	0,815	İlişki yok
WBC-LBP	0,003	0,981	İlişki yok
WBC-S1P	0,077	0,601	İlişki yok
CRP- DcR3	-0,160	0,279	İlişki yok
CRP- LBP	-0,082	0,578	İlişki yok
CRP- S1P	-0,087	0,556	İlişki yok
DcR3- LBP	0,775	0,000	Pozitif Yönde bir ilişki var. DcR3 azalırken LBP' de azalmıştır.
DcR3- S1P	0,730	0,000	Pozitif Yönde bir ilişki var. DcR3 azalırken S1P' de azalmıştır.
LBP- S1P	0,874	0,000	Pozitif Yönde bir ilişki var. LBP azalırken S1P' de azalmıştır.

BULGULAR

Tablo 3. Biyobelirteçlerin Hasta-Kontrol Grubu Değerleri

	Hasta Grubu		Kontrol Grubu		P değeri
	Ort \pm SS	Medyan(min- Max)	Ort+SS	Medyan(min- Max)	
DcR3, ug/mL	12,71 \pm 14,24	5,91 (0,69- 59,12)	26,11 \pm 16,88	596,9 (1,54- 56,38)	0,000
LBP, pg/mL	8,66 \pm 8,04	5,74 (1,33- 34,73)	19,22 \pm 11,43	18,2 (2,86- 41,04)	0,000
S1P, ng/L	212,18 \pm 225,89	125,4 (33,98- 840,55)	444,81 \pm 312,49	424,32(13,35- 1042,39)	0,001

BULGULAR

Tablo 7. Kan Kültüründe Uremeler ve Biyobelirteçlerin İlişkisi

	Sayı (n)	Ort \pm SS	Medyan (Min-Max)	P değeri
WBC				
Üreme var	17	5,90 \pm 3,14	5,50(1,4-13,6)	0,0445
Üreme yok	31	7,26 \pm 2,07	6,80(4,2-12)	
CRP				
Üreme var	17	3,72 \pm 2,80	3(0,2-9,7)	0,071
Üreme yok	31	2,86 \pm 3,80	1(0,1-15)	
DcR3				
Üreme var	17	9,77 \pm 11,28	5,54(1,18-38,85)	0,419
Üreme yok	31	14,323 \pm 15,56	5,94(0,69-59,12)	
LBP				
Üreme var	17	8,50 \pm 7,64	5,81(2,91-27,91)	0,535
Üreme yok	31	8,75 \pm 8,37	5,66(1,33-34,73)	
S1P				
Üreme var	17	233,11 \pm 245,74	135,51(39,23-840,55)	0,590
Üreme yok	31	200,70 \pm 217,61	103,15(33,98-796,86)	

Tablo 8. Brusella Capture Titreleri ve Biyobelirteçlerin İlişkisi

	Sayı (n)	Ort \pm SS	Medyan (Min-Max)	P değeri
WBC				
<1/1280	12	6,68 \pm 1,42	6,35(4,2-8,8)	0,821
\geq 1/1280	36	6,81 \pm 2,85	6,40(1,4-13,6)	
CRP				
<1/1280	12	2,10 \pm 2,78	0,75(0,1-9)	0,129
\geq 1/1280	36	3,52 \pm 3,64	2,25(0,2-15)	
DcR3				
<1/1280	12	19,97 \pm 19,82	11,51(0,69-59,12)	0,171
\geq 1/1280	36	13,29 \pm 11,16	5,52(1,02-42,75)	
LBP				
<1/1280	12	12,23 \pm 11,06	6,99(3,15-34,73)	0,234
\geq 1/1280	36	7,46 \pm 6,51	5,40(1,33-28,16)	
S1P				
<1/1280	12	266,36 \pm 267,92	138,13(33,98-796,86)	0,668
\geq 1/1280	36	194,11 \pm 211,23	113,06(34,78-840,55)	

TARTIŞMA

Decoy Receptor 3 (DcR3)

- 118 sağlıklı kontrol, 24 sepsis hastası ve 43 SIRS hastasının değerlendirildiği çalışmada, sepsis hastalarında serum DcR3 düzeyleri anlamlı olarak yüksek izlenmiş.
- 50 ankilozan spondilit (AS) tanılı hasta ve 50 sağlıklı kontrol grubunun karşılaştırıldığı çalışmada AS tanılı hastalarda serum DcR3 düzeyleri daha düşük ölçüldü.
- Çalışmamızda brusella hastalarında llen DcR3 değerleri, kontrol hastalarında llen DcR3 değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük tespit edildi (**p=0,000**).

TARTIŞMA

Lipopolysaccharide Binding Protein(LBP)

- 24 sepsis tanılı hasta ile 18 sağlıklı kontrolun serum LBP düzeyleri karşılaştırılmış. LBP serum seviyeleri, sepsis tanılı hastalarda anlamlı olarak daha yüksek ölçülmüştür.
- Enfektif endokardit tanılı 57 hasta,55 sağlıklı bireyin dahil edildiği çalışmada EE tanılı hastalarda serum LBP seviyeleri daha yüksek ölçülmüştür.
- Sistemik lupus eritematozus (SLE) tanılı hastaların serum LBP düzeyleri sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmış. Kontrol grubuna kıyasla SLE hastalarında düşük LBP seviyeleri ölçülmüştür.
- Brusella hastalarında ölçülen LBP düzeyleri, kontrol hastalarında ölçülen LBP düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı daha düşük tespit edildi (**p=0,000**).

TARTIŞMA

Sfingozin 1 Fosfat (S1P)

- 100 hasta (şiddetli sepsis/septik şok) ve 214 sağlıklı kontrol grubunun dahil edildiği çalışmada Serum-S1P düzeyleri hasta grubunda daha düşük ölçülmüştür
- Kronik hepatit C tanılı hastalar ile sağlıklı bireylerin serum S1P konsantrasyonları karşılaştırıldığı çalışmada kronik hepatit C tanılı hastalarda serum S1P konsantrasyonları sağlıklı bireylere göre azalmış olarak ölçülmüştür.
- Bizim çalışmamızda brusella hastalarında ölçülen S1P düzeyleri, kontrol hastalarında ölçülen S1P düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı daha düşük tespit edildi (**p=0,000**).

SONUÇ

- Literatür çalışmaları incelendiğinde, bruselloz hastalarında serumda DcR3, LBP ve S1P düzeylerinin çalışıldığı çalışmalara rastlanmadı. Çalışmamızın DcR3, LBP ve S1P düzeylerinin bruselloz tanısındaki rolüne ilişkin ilk çalışma olduğunu düşünmekteyiz.
- Yeni inflamatuvar biyobelirteçlerden olan DcR3, LBP ve S1P'ın bruselloz tanısında faydalı olabileceği düşünülmektedir.
- Çalışmamızda brusella hastalarının tanı anındaki kanlarında ölçülen DcR3, LBP ve S1P düzeyleri değerlendirildi. Bu biyobelirteçlerin brusella hastalığı seyrinde öneminin net olarak anlaşılabilmesi için tanı anında, tedavi süresi boyunca ve tedavi sonrası serum düzeylerinin ölçülmesi ve daha geniş hasta ve kontrol grubunda çok merkezli prospektif çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.