



T.C
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK BAKTERİYOLOJİ VE ENFEKSİYON HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

BRUSELLOZ'DA HIGH MOBILITY GROUP BOX PROTEİN 1 (HMGB1) VE
ÇÖZÜNEBİLİR CD163 (sCD163)'UN DİYAGNOSTİK VE PROGNOSTİK
DEĞERİ

Dr. Ayşe OĞUZ AYARCI

UZMANLIK TEZİ

BURSA - 2012



T.C
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK BAKTERİYOLOJİ VE ENFEKSİYON HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

BRUSELLOZ'DA HIGH MOBILITY GROUP BOX PROTEİN 1 (HMGB1) VE
ÇÖZÜNEBİLİR CD163 (sCD163)'UN DİYAGNOSTİK VE PROGNOSTİK
DEĞERİ

Dr. Ayşe OĞUZ AYARCI

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof.Dr. H. Barbaros ORAL

BURSA – 2012

İÇİNDEKİLER

İçindekiler.....	i
Özet.....	ii
Summary (İngilizce özet).....	iv
Giriş.....	1
Gereç Yöntem.....	28
Bulgular.....	32
Tartışma ve Sonuç.....	46
Kaynaklar.....	52
Teşekkür.....	60
Özgeçmiş.....	61

ÖZET

Brucella bakterilerine karşı konak defansı tam olarak anlaşılammıştır, fakat hücrel immünitelin virülan *Brucella* enfeksiyonuna karşı etkin bir rol oynadığı bilinmektedir. Sonuç olarak CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositler IFN- γ salgılayarak makrofajların bakterisidal işlevlerini etkinleştirdikleri için *Brucella*'ya immünitede kısmen de olsa kritik rol oynarlar. Bu nedenle, makrofaj aktivasyonunun değerlendirilebilen belirteçlerin kullanılması diagnostik ve prognostik öneme sahip olabilir.

Yüksek hareketli grup kutu proteini 1 (High mobility group box 1 protein; HMGB1) aktive makrofajlardan salgılanan geç başlangıçlı bir proinflatuvar sitokindir. Çözünür CD163 (soluble CD163; sCD163) anti-enflatuvar makrofajlara özgü bir belirteçtir

Bu çalışmanın amacı, bruselloz ve onun akut, subakut ve kronik formlarının ile HMGB1 ve sCD163 serum düzeylerinin olası ilişkileirini test etmektir.

Bu amaçla 49 bruselloz hastasının serum HMGB1 ve sCD163 düzeyleri (23 akut, 15 subakut, 11 kronik) 52 sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

Bruselloz tanısı, hastalıkla uyumlu klinik semptom ve bulgulara ek olarak kan kültür pozitifliği ve/veya serolojik testlerdeki artmış *Brucella* antikörleri ile konuldu. Serum HMGB1 ve sCD163 konsantrasyonları üretici firma protokolüne göre ticari enzim bağı immunosorbent assay (ELISA) kiti ile belirlendi.

Hem serum HMGB1 ve sCD163 seviyeleri Bruselloz hastalarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Serum HMGB1 ortanca düzeyi Bruselloz hastalarında 170,65 (13,19-188,23) ng/mL iken sağlıklı kontrollerde 77,09 (0,00-182,84) ng/mL idi. Serum sCD163 ortanca düzeyi Bruselloz hastalarında 1,27 (0,37- 2,13) mg/L iken sağlıklı kontrollerde 0,57 (0,21- 1,52) mg/L idi. Ayrıca serum HMGB1 ile sCD163 arasında pozitif

bir korelasyon vardı, oysa bunların ikisi de CRP, lökosit ve sedimentasyon ile korele bulunmadı.

Sonuç olarak, bizim çalışmamız HMGB1 ve sCD163 düzeyleri bruselloz için bir tanı belirteci olabileceğini, ancak bunların hiçbirinin hastalığın üç farklı formunu (akut, subakut, kronik) ayırt etmek için kullanılamayacağını gösterdi. Öte yandan, bu sonuçların biyolojik önemini onaylamak için daha büyük hasta serileri çalışmaların yapılması gerekmektedir. Ayrıca, tedaviye yanıt olarak bu mediyatörlerdeki değişimleri değerlendirmeye gereksinim vardır.

Anahtar kelimeler: Bruselloz, immünite, HMGB1, sCD163

SUMMARY

Diagnostic and Prognostic Value of High Mobility Group Box Protein 1 (HMGB1) and Soluble CD163 (sCD163) in Brucellosis

Host defence to *Brucella* is incompletely understood, but cell-mediated immunity seem to play a major role in immune response against virulent *Brucella* infection. Consequently, both CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes play critical roles in immunity to *Brucella*, in part because they secrete IFN- γ and activate the bactericidal functions in macrophages. Therefore, use of markers which can evaluate macrophage activation may have diagnostic and prognostic importance.

High mobility group-box 1 protein (HMGB1) is a late-onset proinflammatory cytokine secreted from activated macrophages. Soluble haemoglobin scavenger receptor (sCD163) is a specific marker of anti-inflammatory macrophages.

The aim of this study was to test potential associations of serum levels of HMGB1 and sCD163 with Brucellosis and its acute, subacute and chronic forms.

Serum HMGB1 and sCD163 levels in 49 Brucellosis patients (23 acute, 15 subacute, 11 chronic) were compared with 52 healthy control subjects. Brucellosis was identified by a positive blood culture and/or increased *Brucella* antibodies in serological tests in addition to compatible clinical symptoms. Concentrations of serum HMGB1 and sCD163 were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) according to the protocol of manufacturer.

Both serum HMGB1 and sCD163 levels were significantly higher in Brucellosis patients compared with healthy controls. The median serum HMGB1 level was 77.09 (0.00-182.84) ng/mL in control, whereas it was 170.65 (13.19-188.23) ng/mL in Brucellosis patients ($p < 0.001$). The median serum sCD163 level was 0.57 (0.21-1.52) mg/L in healthy controls, whereas

it was 1.27 (0.37-2.13) mg/L in brucellosis patients ($p < 0.001$). There was no statistically significant difference in serum levels of HMGB1 and sCD163 among acute, subacute and chronic cases with Brucellosis. Additionally, serum HMGB1 levels were positively correlated with sCD163 levels, whilst neither HMGB1 nor sCD163 levels were correlated with CRP, WBC and sedimentation values.

As a conclusion, our study demonstrated that the levels of HMGB1 and sCD163 may be diagnostic markers for Brucellosis, but none of them can be used for differentiating three different forms of disease (acute, subacute, chronic). On the other hand, studies with larger series of patient populations are necessary to confirm the biological significance of our results. Also, further studies are needed to assess the alteration of these mediators in response to treatment.

Key words: Brucellosis, immunity, HMGB1, sCD163

GİRİŞ

Bruselloz, hayvanlardan insanlara bulaşan ve gelişmekte olan ülkelerde hala endemik olarak görülen bir zoonozdur. Özellikle koyun, keçi, sığır, manda ve domuz gibi evcil hayvanları etkilemekte ve bu hayvanlardan insanlara direk ve indirek yollarla bulaşmaktadır. Belirti ve bulguların spesifik olmaması nedeniyle de pek çok hastalıkla karışabilmektedir (1- 2). Hastalık, insanlara hasta hayvanların vücut sıvıları, idrar, et, süt ve bu süt ile hazırlanan süt ürünleri, gebelik materyalleri aracılığı ile geçer ve daha ziyade bir meslek hastalığıdır (2- 3). Bruselloz, hayvanlarda yavru atımı, süt ve et verim kaybına neden olur; insanlarda ise akut başlangıçlı yüksek ateş, gece terlemesi, eklem ağrısı gibi belirti ve bulgular ile seyredildiği gibi; sinisi başlangıçlı, romatizmal ve psikiyatrik hastalıkları taklit eden atipik belirti ve bulgular ile de seyredebilir (2- 4).

Tarihçe

Hastalık ilk olarak Hipokrates tarafından 'humma' olarak tanımlanmıştır. *Brucella* enfeksiyonları için günümüze kadar değişik isimler kullanılmıştır. Hastalık ilk kez Malta adasında saptandığından 'Malta Humması', 'Akdeniz Humması' ya da 'Gibraltar Humması'; tipik ateş trasesi nedeni ile "Dalgalı Humma / Ondülan Ateş"; koyunlardan insanlara bulaşması nedeni ile halk arasında "Koyun hastalığı" veya "Mal hastalığı" gibi isimlerle anılır. İnsan brusellozunun ilk doğru tanımlaması bir cerrah olan Marston tarafından yapılmıştır. Etken ajan ise 1886 da Bruce tarafından Malta Hummasından ölen askerlerin dalaklarından *Micrococcus* (daha sonra *Brucella*) *melitensis* izole edilmesi ile saptanmıştır (1, 2). 1905'de Zammit keçiyi Brucellanın rezervuarı olarak keşfetmiş ve pastörize edilmemiş keçi sütlerinin kullanılmasını engelleyerek ordu mensuplarında görülen enfeksiyon ve ölümlerde hızlı bir düşüş sağlamıştır (5). 1914'de Traum tarafından domuzlardan *B.suis* izole edilmiştir.

1920'de Danimarka'da veteriner olan Bang tarafından *B.abortus*, abortus yapmış ineklerin intrauterin membranlarından üretilmiştir. 1996'da Carmichael tarafından köpeklerde ve onların eğitimcilerinde epidemik olarak *B. canis* tanımlanmıştır (1- 2). 1918'de Evans bu bakterilerin hepsini Brucelia grubu adı ile bir araya toplamıştır. *B. ovis* 1953'de koyunlardan, *B. neotomae* 1957'de ratlardan izole edilmiştir. Wright, 1897 yılında bruselloza yakalanan hastaların ve aşılı hayvanların kanında *B. melitensis*'e karşı aglutininlerin varlığını göstermiş, ayrıca hastalığın tanısı için günümüzde kullanılmakta olan, serum aglütinasyon testini ilk kez gerçekleştirmiştir.

Ülkemizde ilk insan bruselloz olgusu 1915 yılında Dr. Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından Kuleli Askeri Hastanesi'nde tedavi edilen bir askerde tesbit edilmiştir. Koyunlarda *B. melitensis* ilk defa Aktan ve Köylüoğlu tarafından 1944 yılında Bandırma Merinos çiftliğinde saptanmıştır. Ülkemizde sığırlarda ilk izolasyon 1931-1932 yıllarında Berke tarafından bildirilmiştir (6). Yine Türkiye'de insan ve hayvanlarda brusellozun serolojik yöntemlerle saptanması Golem tarafından 1943 yılında bildirilmiştir (7).

Bakteriyolojik Özellikler

Brucella cinsi bakteriler, 0,6 µm en, 1,5 µm boyunda, spor oluşturmayan, katalaz (+), hücre içi üreyen Gram (-) kokobasildir (1, 2, 3). Genel olarak oksidaz pozitif olup, üreaz aktivitesi, H₂S üretimi ise değişken olan *Brucella* türleri patojenitedeki ve konak tercihindeki farklılıklara göre *B.abortus*, *B.melitensis*, *B.suis*, *B.ovis*, *B.canis*, *B.neotomae*, *B.maris* olarak sınıflandırılır (1, 2, 3). Bu türler içinde sadece *B.abortus*, *B.melitensis*, *B.suis* ve *B.canis* insanda enfeksiyon yaparken, *B.ovis*, *B.neotomae* ile insanda enfeksiyon bildirilmemiştir. *Brucella* bakterilerinin ideal üreme ısısı 37°C'dir, ancak 20-40 °C' de de ürerler (2).

Brucella türlerinin çoğu aerop ortamda ürerler. *B.abortus* ve *B.suis* ise mikroaerofildir ve özellikle primer izolasyon için %5- 10 CO₂ ihtiyaç duyarlar. Bakteri pepton içeren ve kan veya serum ile zenginleştirilmiş herhangi bir kültür ortamında üreyebilir, bazı türler için tiamin, niasin, nikotinik

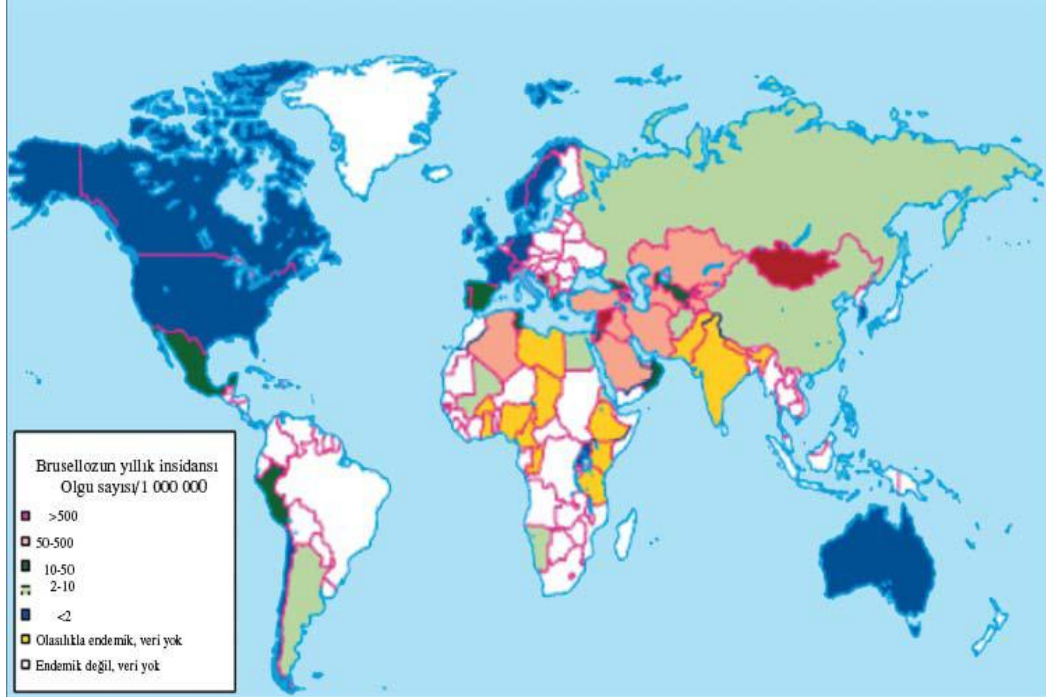
asit, biotin ve bazı vitaminler gerekebilir (1, 2, 4). Konvansiyonel yöntemlerde inkübasyon süresi uzun (yaklaşık 3 hafta) olmalıdır. Ancak son yıllarda *Brucella* türlerinin daha kısa sürelerde izolasyonunu sağlayan otomatize kan kültür sistemleri kullanılmaktadır (2).

Brucella türleri ve biyovaryantlarının ayrımı; kültür ortamında üremeleri, oksidatif metabolizma testleri ve *Brucella* fajları ile erimelerine göre yapılır. *Brucella* türleri doğal konaklarına, kültür, metabolik ve antijenik özelliklerine göre 6 türe ayrılır. DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarında suşlar arasında %90'ın üzerinde benzerlik olması özel konaklara uyum için alt türleri olan monospesifik genus olduğunu göstermektedir (1- 2).

Bakterinin bilinen bir ekzotoksini yoktur (4). *Brucella* cinsi bakterilerde pek çok dış ve iç membran, sitoplazmik, periplazmik antijen tanımlanmış, özellikleri saptanmıştır. Mikroorganizmanın virülansında ve intrasellüler yaşamında iç ve dış membran, stoplazmik ve periplazmik proteinleri rol oynamaktadır. Bunların çoğu koruyucu immüniteyi uyarmada önemli olabilir. Ancak *Brucella*'nın baskın olan, major hücre duvar antijeni ve virülans faktörü, ilk olarak Wilson ve Miles tarafından tanımlanan A ve M antijenleri içeren smooth-lipopolisakkarit (S-LPS)'tir (1, 2).

Epidemiyoloji

Bruselloz, en sık görülen zoonotik hastalıklardan biri olup tüm olgularda doğrudan ya da dolaylı olarak hayvan teması söz konusudur. Hastalık dünyanın her bölgesinde görülebilmekle birlikte Akdeniz ülkeleri, Arap yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika'da yaygın olarak görülmektedir. Ancak gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre tüm dünyada her yıl 500.000 yeni olgu bildirilmektedir. Ülkeden ülkeye hastalığın insidansı ve prevalansı değişmektedir. *B.abortus* ABD ve Kuzey Avrupada yaygın görülürken, *B. melitensis*'e Latin Amerika ve gelişmekte olan ülkelerde daha sık rastlanmaktadır (1- 2). Dünyada insan brusellozu insidansı Şekil 1'de görülmektedir



Şekil-1. Dünyada insan brusellozu insidansı (9).

Bruselloz Türkiye’de endemik olarak görülmektedir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre 1999 yılında bildirilen yeni olgu sayısı 11.462 ve insidans 17,41/100.000 iken 2005 yılına gelindiğinde 14.644’e ulaşmıştır (20,32/100000). Olgular özellikle güney ve güneydoğu illerinden bildirilmiştir. Bu artışın hastalık prevalansındaki gerçek artıştan çok bildirim ve tanı koyma oranlarındaki artıştan kaynaklandığı tahmin edilebilir (10). Türkiye’de çok merkezli yapılan seroprevalans çalışmasında sağlıklı bireylerde seropozitiflik oranı %1.8 iken yüksek risk grubunda (veteriner, çiftçiler gibi.) bu oran %6 olarak bulunmuştur (2).

Ülkemizde hastalık her yaş ve cinsten görülmektedir. Hastalık görülme oranı 15- 35 yaş grubunda en yüksektir. Bazı meslek grupları; hayvan yetiştiriciler, veteriner hekim ve sağlık memurları, mezbaha işçileri, et sanayisinde çalışanlar, veteriner araştırma laboratuvarında çalışan elemanlar bruselloz açısından riskli gruplardır. Yaz aylarında insanların kırsal kesime seyahatlerinin artması, süt ve süt ürünlerinden peynir ve krema tarzında yağları taze olarak tüketmeleri enfeksiyonun yaz mevsiminde 4 kat fazla görülmesine neden olur.

Bruselloz her yıl binlerce insanı etkileyerek iş gücü kaybı ve fiziksel yetersizliğe neden olmaktadır. Enfeksiyonun hayvanlardan insanlara bulaş yolu içinde; hayvanlar ve sekresyonlarına ciltteki kesik ve sıyrıklar yoluyla, düşüğe müdahale ya da kesim sırasında direkt, indirekt temas, enfekte aerosollerin inhalasyonu, konjunktiva yoluyla inokülasyon, pastörize olmayan süt ürünlerin alınması sayılabilir (1-4). Et ürünleri, çiğ yenmemelerinden ve kas dokusunda mikroorganizmanın sayısının az olmasından dolayı enfeksiyonun bulaşında nadir bir kaynaktır (1). İnsandan insana bulaş nadirdir, ancak *B.melitensis* biyotip 2 ve 3 ile enfekte iki ayrı laboratuvar personelinin eşlerinde de Bruselloz izlenmiştir (4). Bu gibi nadir olgularda bulaşın cinsel yolla olabileceği düşünülmüş, nitekim etken sperm örneklerinden izole edilmiştir (1).

Brucella bakterileri hayvanlarda yaşam boyu kalmakta ve kronik enfeksiyona yol açmaktadır. İnsanlarda ise direk veya indirek olarak hayvanla temas sonrası bulaşır. *Brucella* türlerinin rezervuarı evcil hayvanlardır. Bruselloz bir yandan hastalığın esas kaynağını oluşturan evcil hayvanlarda süt verimini azaltırken, hayvan düşüklüğü ile ekonomik kayba yol açmaktadır. Ergin ve gebe dişi hayvanlar bruselloza daha duyarlıdır. Enfeksiyon etkeninin gebe hayvanlarda uterusu, erkeklerde testise yerleşme eğilimi daha fazladır. Gebe hayvanlarda kotilodonlara yerleşen bakterinin meydana getirdiği enfeksiyon, yavrunun yeterli beslenmesini engeller ve anne karnında ölmesine, annenin düşük yapmasına neden olur. *Brucella* bakterisinin hayvan sütüne karışması hayvanda oluşturduğu mastit ve genital akıntıdan karışma şeklindedir (1-4).

Brucella laboratuvar ortamında oldukça enfeksiyözdür. Bakteri 60°C'de 10 dakikada, %1'lik fenol eriyiğinde 15 dakikada tahrip olur (4). Normal mide asidi bakteriyi öldürebilir. 4-8°C'de saklanan keçi peynirinde 6 aydan uzun süre, düşük yapmış hayvan fetüsünde 75 gün, enfekte süttten yapılmış dondurmada 30 gün, %10 tuz içeren salamura peynirde 45 gün, %17 tuz içerisindeki peynirde 1 ay yaşayabilir (2, 4). Etken ısı ve pastörizasyona duyarlıdır. Tulum ve kaşar peyniri uzun süre bekletildiği, yoğurt asiti fazla olduğu için hastalığı bulaştıramaz (11).

Patogenez

Brucella bakterileri gastrointestinal sistem, deri, nadiren de solunum yolu veya diğer mukoza yüzeylerinden alındıktan sonra, nötrofiller ve doku makrofajları tarafından alınarak bölgesel lenf bezlerine transfer edilirler. İlk üremesini bölgesel lenf bezlerinde yaparlar ve kan yolu ile tüm vücuda özellikle retiküloendotelyal sistem (RES) organlarına (karaciğer, dalak, kemik iliği vb.) dağılırlar. Bakteriler yerleştikleri organlarda epitel hücreleri, nötrofiller, lenfositler ve dev hücrelerden oluşan granülom formasyonlarına yol açarlar. Zaman zaman polimorfonükleer hücreleri lizise uğratarak dolaşıma salınırlar ve endotoksinleri sayesinde hastalığın semptom ve belirtilerini meydana getirirler (5, 12, 13).

İnkübasyon süresi 2- 3 hafta olup, *B. melitensis* ve *B. suis*, *B. abortus* ile *B. canis*' ten daha virülandır. Konağın nutrisyonel ve immünolojik durumu, inokulum miktarı ve bulaşma yolu hastalığın belirleyici faktörleridir (12).

Brucella fakültatif hücre içi bakterisidir. Smooth lipopolisakkarit (LPS)'e sahip *Brucella* bakterileri olan *B. melitensis*, *B. abortus* ve *B. suis* rough tipi LPS'e sahip olan *B. canis*'e göre polimorfonükleer ve mononükleer lökositler içerisinde daha kolay canlılığını sürdürür. Bakterinin hücre içinde canlılığını sürdürmesinde, Cu-Zn superoksit dismutaz eritroz fosfat dehidrogenaz içermesi ve stresle indüklenebilir proteinleri salgılamasının rolü olabileceği düşünülmektedir. En önemli virülans faktörü ise nötrofillerde myeloperoksidaz-H₂O₂ sistemini baskılayan, makrofajlarda fagozom-lizozom füzyonunun engelleyen ve oksidatif hasara karşı koruyan adenin ve guanin monofosfat gibi bazı maddeleri sentezlemesidir (2,12).

Brusellozda karakteristik histopatolojik görünüm; dalak, kemik iliğinde epiteloid hücreler, plazma hücreleri ve mononükleer hücrelerle çevrili granülomlardır. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda *B. abortus*'ün granülomlar, *B. melitensis* ile *B. suis*'in ise abseye sebep olduğu gösterilmiştir (5, 14).

Sonuç olarak bakteri hücre içi ortamda üremesine devam eder ve RES dokularında hücre proliferasyonuna bağlı organomegali meydana gelir.

Enfeksiyonun daha sonraki dönemlerinde immünite gelişir ve makrofajlar aktive olur. Mikroorganizma öldürülür ve böylece endotoksinler açığa çıkar. Vücudun endotoksinlere cevap vermesiyle tipik klinik belirtiler ortaya çıkar (12).

Klinik Bulgular

Bruselloz klasik olarak titreme ile yükselen ateş, bol terleme, halsizlik, baş ağrısı, kilo kaybı, bel ağrısı ve yaygın vücut ağrıları ile kendini gösterir (5,13). Bruselloz olgularında en sık rastlanan bulgular: ateş, hepatomegali, splenomegali, lenfadenomegali ve artritir. Klinik olarak akut, subakut, kronik ve nüks enfeksiyon şeklinde seyir gösterir (2,12). Hastalığın inkübasyon süresi genellikle 2- 3 hafta olup, birkaç aya uzayabilir (15).

Bruselloz *Brucella* türlerine bağlı olarak farklı şekillerde görülebilir. *B.melitensis* diğerlerine nazaran daha ciddi sistemik hastalığa neden olurken, *B.suis* daha çok lokalize, süpüratif hastalığa neden olur (16). Uzun süre tedavi edilmemiş hastalarda (özellikle *B.melitensis* enfeksiyonlarında) ateş 10- 15 gün 38- 39°C veya daha yükseğe çıktıktan sonra basamak basamak azalarak iki hafta içinde normale iner ve 3- 10 günlük bir ateşsiz dönem sonrası ateş tekrar yükselir (ondülan ateş) (4,12). Ek olarak kemik, eklem veya genitoüriner sistemin fokal enfeksiyonu lokal ağrıya neden olabilir. Öksürük ve plöritik göğüs ağrısı da bildirilmiştir. Aerosoller ile enfekte hastaların semptomları diğer yollar ile enfekte olanlarınkinden farklı değildir. Bruselloz'lu hastalarda depresyon, huzursuzluk gibi nöropsikiyatrik semptomlar yaygındır (16). Somatik şikayetlerin yoğunluğuna rağmen, fizik muayene bulguları azdır (12).

Akut bruselloz hafiften ağır seyirli tabloya kadar değişen bir spektrum gösterebilir. Ağır seyirli tabloda üşüme, titreme ile yükselen ateş, terleme, yaygın vücut ve eklem ağrıları görülürken, hafif ve orta seyirli olgularda influenzaya benzer nonspesifik belirtiler mevcuttur. Akut ve subakut brusellozda sık rastlanan fizik muayene bulguları splenomegali (%20-30),

hepatomegali (%20), servikal ve aksiller bölgede hafif lenfadenopatidir (%12-21) (12, 17, 18).

Akut bruselloz olgularının tedavi edilmeyen bir kısmı subakut döneme geçebilir. Başlangıç süresi iki ay ile bir yıl arasında değişen olgulardır. Bu hastalarda en sık belirtiler yorgunluk, sinirlilik, baş ve bel ağrıları olup, sıklıkla hepatomegali vardır. Artrit, epididimoorşit, hematolojik tutulum ve göz tutulumuna akut formdan daha sık rastlanır. Tedavi edilen bruselloz olgularının bir kaç ay içinde yeniden ortaya çıkması durumunda nüks ya da reenfeksiyon sözkonusudur (4, 12, 19).

Subakut brusellozda semptomlar olmadığı ya da klinik bulgular tam ortaya çıkmadığı halde serolojik bulgular pozitif olabilir. Bu seyir özellikle enfekte hayvanlarla yakın teması olan mezbaha çalışanları, veteriner hekimler ve hayvancılıkla uğraşanlarda görülür (12, 17, 18).

Hastalığın bir yıldan uzun sürdüğü durumlarda kronikleştiği kabul edilir. Bu durum çocuklarda nadir görülmekle birlikte 40 yaş üstü erişkinlerde sıklıkla. Kronik brusellozlu olguların bir bölümünde ilk atağın uygun olmayan tedavisine bağlı olarak hastalık devam edebilir ya da kemik, karaciğer veya dalakta fokal süpüratif lezyonlar ile birlikte. Kronik brusellozda halsizlik, yorgunluk, sinirlilik, uykusuzluk, emosyonel labilite, baş ağrısı ve depresyon ön plandadır. Fizik muayene bulguları; arasında ateş, hepatomegali, splenomegali, lenfadenopati görülebileceği gibi etkilenen sistemlere ait bulgulara da rastlanabilir (12, 17).

Tedavi sonrasında yeniden ortaya çıkan *Brucella* enfeksiyonları nükse veya reenfeksiyona bağlıdır (14).

Komplikasyonlar

Bruselloz hemen her sistemi tutabilen bir zoonozdur. En sık tutulan sistemler; kas iskelet sistemi ve gastrointestinal sistem olup, merkezi sinir sistemi, ürogenital sistem, hematolojik sistem, kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, deri ve oküler sistemler ise daha az tutulurlar (17).

Osteoartiküler Sistem Tutulumu

Brusellozda en sık tutulan sistemlerden biri osteoartiküler sistemdir (12). Hastalığın ilerleyen dönemlerinde ateş ve terleme azalırken, osteoartiküler sistem bulguları ön plana çıkar. Eklem bulguları hastalığın 3. ve 4. haftasında en siktir. Spontan ağrı dışında hareketle de duyarlılık artar. Kemik ve eklem lezyonları artrit, spondilit, osteomyelit, tenosinovit ve bursittir. Sakroilit ve spondilit en sık bildirilen komplikasyonlardır (16). Spondilitli olgularda en sık lomber vertebranın tutulumu bildirilmekle beraber, servikal ve torakal düzeylerde de tutulum saptandığı görülmektedir. Periferik eklemler arasında en sık tutulan kalça, omuz, diz, el ve ayak bileği eklemleridir.

Gastrointestinal Sistem Tutulumu

Hastalığın başlangıç döneminde iştahsızlık, karın ağrısı, kusma, ishal ya da kabızlık gibi gastrointestinal semptomlar siktir. *B. melitensis*'in yol açtığı kolit ve ileit olguları bildirilmiştir. Brusellozlu hastalarda dalak ve karaciğer büyüklüğü genellikle birlikte bulunur. *B. abortus* granülomatöz hepatit yaparken, *B. melitensis* enfeksiyonunda periportal mesafelerde mononükleer hücre infiltrasyonu ile safra akımının bozulması ve sarılık gelişimi görülebilir. Bununla beraber karaciğer fonksiyon testlerinde fazla artış görülmez. *Brucella* türleri nadiren kolesistit, pankreatit ve spontan bakteriyel peritonit nedeni olabilirler (12, 20).

Genitoüriner Sistem Tutulumu

Genitoüriner sistem tutulumu brusellozda nadir görülmekle birlikte erkeklerde epididimo-orşit %0-%12,7 oranlarında bildirilmektedir (20, 21, 22, 23). Ayrıca prostatit, tuboovaryen abse, glomerülonefrit, pyelonefrit, böbrek abseleri gibi atipik olgu bildirimleri de dikkati çekmektedir (24, 25).

Kardiyovasküler Sistem Tutulumu

Hem doğal, hem protez kapakta bildirilen endokardit olguların %2'sinden azında izlenir. Ancak Bruselloz ilişkili ölümlerin %80'inden sorumludur (16). Perikardit, endokarditin komplikasyonu olabildiği gibi, primer enfeksiyon olarak da gelişebilir (12).

Nörolojik Sistem Tutulumu

Bruselloz'da depresyon ve dikkat bozukluğu yaygın olmasına karşın, santral sinir sistemi (SSS)'nin direkt invazyonu %5'ten az olguda izlenir. Sinir sistemi komplikasyonu içinde menenjit, ensefalit, miyelit, radikulonörit, beyin absesi, epidural apse, demiyelinizasyona neden olan sendromlar ve menengovasküler sendromlar sayılabilir. Akut ya da kronik menenjit SSS'nin en yaygın komplikasyonudur (12). Nörobrusellozda tanı, klinik bulguları olan hastalarda serumda ve beyin omurilik sıvısında (BOS) aglütinasyon testinin pozitifliği, BOS glukozunun azalması, protein artışı, pleositoz varlığı ile konmaktadır. BOS'tan *Brucella* bakterileri izole edilebilmektedir. Depresyon ve zihinsel yorgunluk gibi nörolojik komplikasyonlar olguların %2'sinde görülmektedir.

Pulmoner Sistem Tutulumu

Pulmoner tutulum daha çok kontamine aerosollerin inhalasyonu veya bakterilerin akciğerlere bakteriyemi ile yayılımı sonunda görülebilir. Hastaların dörtte biri öksürük, dispne, plöritik ağrı gibi solunum yoluna ait şikayetler ile başvurabilirler. Solunum sistemi tutulumu nezle benzeri semptomlardan bronşit, bronkopnömoni, akciğer nodülü, apse, plevral efüzyona kadar farklı bulgular ile kendisini gösterebilir (5, 12, 16).

Hematopoetik Sistem Tutulumu

Hastalığın seyri sırasında anemi, lökopeni ve trombositopeni oluşabilir. Bruselloz gibi kronik seyirli hastalıklarda hafif hipokrom ve mikrositer bir anemi görülebilir. Pansitopeni nadir görülen bir bulgudur. Brusellozda görülen pansitopeni geçicidir ve uygun tedavi ile kısa sürede düzelmektedir. Bruselloz bazen derin nötropeniyle de seyredilmektedir (5, 12).

Cilt bulguları

Hastalığın yüksek ateşle seyrettiği toksik dönemde nadir olgularda makülopapüler veya eritematöz deri döküntüleri görülebilir. Deri lezyonları; eritem, papül, ürtiker, peteşi, impetigo, ekzema benzeri raş, eritema nodosum, derialtı abseleri, kütanöz vaskülit şeklinde olabilir. Düşük yapan hayvanların plasentasını çıkartmak için müdahale eden veteriner hekim veya

hayvan bakıcılarının temas yerlerinde, özellikle ön kollarında görülebilir (5, 12, 17).

Oküler tutulum

Brusellozla ilişkili göz tutulumları; üveit, optik nevrit, papil ödemi, korneal tutulum, kronik iridosiklit, ve koroidit olarak bildirilmiştir. Üveit dolaşan immün komplekslerin varlığı ile açıklanır, nonenfeksiyözdür ve topikal ve sistemik kortikosteroid tedavisine yanıt vermektedir (12, 26).

Güngör ve arkadaşlarının 147 bruselloz hastası üzerinde yaptıkları bir çalışmada, olguların 38'inde (% 26,0) oküler komplikasyonlara rastlanmıştır (27).

Tanı

Brusellozda belirti ve bulgular özgün olmadığı için kapsamlı bir öykü almak önemlidir. Mesleki riskler, hayvan teması, endemik bölgeye yolculuk, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi sorgulanmalıdır (26). Lökosit sayısı normal veya düşük olabilir. Sedimantasyon hızı değişken olup, transaminazlar birkaç kat yükselmiş bulunabilir. Anemi, trombositopeni, lökopeni görülebilir (12, 14). Bakterinin hemen hemen tüm vücutta ve hücre içinde bulunması tanıda zorluk ve karışıklığa neden olur. İlk atakta teşhis nispeten daha kolay olsa da, kronik, nüks veya lokalize Bruselloz'da tanıya ulaşmak güçtür. Bu nedenle Bruselloz'un kesin tanısı ancak laboratuvara dayanılarak konulabilmektedir (4, 12). Brusellozda nadir görülen böbrek tutulumunun olmadığı durumda idrar tetkiki normaldir. Yüksek ateşli dönemde febril albuminüri bulunabilir. Böbrek tutulumu olduğu zaman; idrar dansitesi düşebilir, proteinüri belirginleşir, idrar sedimentinde eritrosit, lökosit ve silendir görülebilir (5).

Etkenin izolasyonu

Brusellozda kesin tanı etkenin sıklıkla kan ve kemik iliğinden, nadiren BOS, plevra sıvısı, periton sıvısı ve idrar gibi örneklerden kültürde üretimi ile konur. Kan kültürlerinde üretme şansı %15-70 arasında değişirken, kemik iliği kültüründen %90 oranındadır. Gotuzzo ve arkadaşlarının (28)

yaptıkları çalışmalarında, kemik iliği kültürlerinde % 92, kan kültürlerinde %70 oranında üreme saptamışlardır. Kan kültürlerinde daha az oranda üremenin saptanması hücre içi bir bakteri olmasından ve öncesinde antibiyotik kullanım öyküsünden kaynaklandığı bildirilmiştir. Bruselloz düşünüldüğünde laboratuvar, kültürleri en az 4 hafta bekletmesi için uyarılmalıdır (12). Bu süre günümüzde otomatize kan kültür sistemleri olan BACTEC (NR 660, 9240), BacT/Alert kullanılmasıyla 5-7 güne kadar düşmüşse de *Brucella* bakterisi hücre içi ve zor üreyen bir bakteri olduğundan inkübasyon süresinin uzatılması ve sub-kültürlerin yapılması önerilmektedir (29). *Brucella* izolasyonu için kullanılan başlıca besiyerleri katı ve sıvı besiyerleri şeklindedir. Sıvı besiyerleri daha çok kan ve BOS gibi materyallerin ekiminde kullanılır. Besiyerleri olarak; serumlu dekstrozu agar, gliserozlu dekstrozu agar, patates agar, triptaz agar, triptikaz soy agar, *Brucella* K vitaminli agar, *Brucella* agar kullanılır. Ekimler çift yapılarak birisi normal atmosfer koşullarında diğeri % 5-10 CO₂'li atmosferde inkübe edilmelidir (4).

Serolojik Tanı

Brusellozda bakterinin kültürde üremesi için uzun süre gerekmesi ve bu süre içinde hasta serumunda ve plazmasında mikroorganizmanın antijenlerine karşı antikörlerin oluşumu nedeniyle serolojik testler sıklıkla tercih edilir (4). Wright-Tüp aglütinasyon testi (Standard Aglütinasyon testi; SAT) en sık kullanılan standart metottur (12). *B. abortus* S99 kökeninin kolonilerinden alınan bakterilerin ısı ile öldürülmesi ve fenol ile süspansiyon edilmesi ile elde edilen antijen, hasta serumunun ardışık dilüsyonları ile karşılaştırılır. Bu test serumun öldürülmüş mikroorganizmaları aglütine edebilme yeteneğine dayanır ve anti-O polisakkarit antikörünün varlığını yansıtır (16). Aktif enfeksiyonda tanı koydurucu titre genelde 1:160 ve üstündeki titrelerdir (5, 12). Daha düşük titreler tanı koydurucu değildir ve testin bir süre (10-14 gün) sonra tekrarlanmasında 4 kat titre artışı izlenir. Ancak çoğu hasta klinik bulguları gösterdiği sırada yüksek titrelere sahiptir ve titrede 4 kat artış olmayabilir (16). Hastalığın erken dönemlerinde IgM artar, üç ayda en yüksek düzeye ulaşırlar, daha sonra azalırlar (16). Başarılı tedavi sonrası yıllarca 1/20 gibi düşük titrelerde kalır. STA testinde salmonella,

tularemi, kolera enfeksiyonu ve kolera aşısı yapıldıktan sonra, Sistemik Lupus Eritematozus (SLE), myeloma, *Yersinia enterocolitica* serotip O:9 enfeksiyonları, lenfoma ve tüberküloz olgularında yanlış pozitiflikler olabilmekle birlikte titre genellikle 1/160'ın altındadır (30). STA testinde bazen antikor fazlalığına bağlı olarak aglütinasyonun engellenmesi yani prezon olayı olabilmektedir. Bu durumun önüne geçmek için serumun sulandırımının artırılması gerekmektedir (11). Hastalığın başlangıcından üç hafta sonra IgG antikorları yükselmeye başlar; 6-8 haftada en yüksek düzeye ulaşırlar. Ancak hastalığın iyileşmesi ile hızla kandan kaybolurlar ve reaktivasyon durumunda tekrar ortaya çıkarlar (4). Dolayısıyla bir reaktivasyon belirteci olarak kabul edilebilir. İmmüoglobulin titrelerinde düşmede zayıflama relaps veya kronik enfeksiyonda prognostik değere sahiptir. Kronik enfeksiyonun akut alevlenmesinden şüphe ediliyorsa, IgG'nin aglütinasyon titresinin gösterilmesi gerekir. Bu amaçla total titrenin IgM'e ait kısmı, 2-Merkaptoetanol (ME) veya Rivanol ile IgM'yi monomerlere ayırmak suretiyle yok edilir ve yüksek titrede IgG saptanması ile tanı konabilir (16).

Klinik olarak bruselloz belirtileri olduğu halde yapılan aglütinasyon deneylerinin olumsuz olması, brusellozda sık rastlanan bir durumdur. Olay antikorların antijenlere bağlandıkları halde aglütinasyon reaksiyonu oluşturmasını engelleyen mekanizmanın bulunmasından doğmaktadır. Bloke edici ya da blokan antikorlar olarak tanımlanan bu tip immüoglobulinlerin varlığında, antijen-antikor birleşmesi gerçekleşmekte, fakat aglütinasyon gözlenememektedir. Bu antikorlar Coombs serumu (anti-human globulin) kullanılmak suretiyle ortaya çıkarılır. Ortama ilave edilen Coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak gerçek seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar (1-5). Bu testin özellikle düşük titrede antikor içeren veya negatif sonuç alınan olguların belirlenmesinde önemi vardır.

Rose Bengal ise *B.abortus* S99 süspansiyonunun hasta serumu ile lam üzerinde karşılaştırılması sonucu aglütinasyonun olup olmadığının belirlenmesine dayanan bir testtir (11, 31). Aglütinasyon varlığında test pozitif olarak değerlendirilir. Çalışması kolay ve hızlı sonuç veren düşük oranda

yanlış pozitifliği olan bir tarama testidir (28). Ancak pozitif sonuçlar SAT ile konfirme edilmelidir (5).

Benzer şekilde tam kan ile çalışılabilen SPOT testi de çabuk sonuç veren testlerden biridir. Özellikle kitle taramalarında kullanılır (4).

Brucella enfeksiyonlarının serolojik tanısında lökosit tarafından fagosite edilen ortalama bakteri sayısının değerlendirildiği opsonositofajik test; antijene spesifik IgM, IgG ve IgA'nın saptanabildiği ELISA testleri; immün-yakalama aglütinasyon testi olan *Brucellacapt* gibi yöntemler, bakterilerden elde edilmiş, saflaştırılmış nükleoprotein kompleksinden oluşmuş "Brucellergen" deri testi ve PCR tanı da kullanılabilecek diğer yöntemlerdir (4, 5).

Korunma

İnsanların brusellozdan korunması; doğrudan doğruya özellikle koyun, keçi, sığır ve domuz gibi evcil hayvanların kontrolü ve eradikasyonuna bağlıdır. *Brucella* bakterisi ile enfekte olmamış süt danaları *B. abortus* 19 suşu, süt kuzuları *B. melitensis* Rev 1 suşu aşısı ile aşılanmalıdır (4, 5).

Brusellozdan korunmak için alınması gerekli önlemler; risk altındaki personelin (mezbaha işçileri, et paketleyicileri, laborantlar, veterinerler ve hayvan bakıcıları) eldiven ve tüm kollarını örten giysiler giymeleri ve gözlük takmaları gerekmektedir. Kırsal kesimdeki halk bilinçlendirilmeli ve çiğ süttten peynir ve yağ yapımı önlenmelidir. İnsanlarda kullanılabilecek etkin ve güvenilir bir aşı henüz yoktur (4, 5, 12, 32).

Bruselloz'da Immün Yanıt

İmmün sistemin gelişimi için en iyi itici güç konak ile mikroorganizma arasındaki süregelen çatışmadır. Bu çatışma kimi zaman konak, kimi zaman da mikroorganizma lehine sonuçlanır (33). Ancak mikroorganizma, hücre içinde kendisine immün sistemden kaçabileceği koruyucu bir alan

bulduğunda immün sistem mikroorganizmanın çoğalmasını kontrol etse de genelde ortadan kaldırmakta yetersiz kalır.

Hücre içinde yaşama, koruyucu immün yanıtın tipini de belirgin etkiler. Hücre içi bakteri, antikor ve özgül olmayan sıvısal efektör moleküller ile nadiren ilişki kurar; daha ziyade hücre içinde bir takım işlemlerden geçirilerek antijenik peptidler halinde Major Histokompatibilite Kompleksi (Major Histocompatibility Complex; MHC) molekülleri tarafından T lenfositlere sunulur. Yani hücre içi bakteriler ile gerçekleştirilen enfeksiyonların bir diğer özelliği konağın antikorlardan çok T hücreleri aracılı immünolojik mekanizmalar kullanılarak savunulmasıdır. T hücrelerinin en önemli görevi enfekte makrofajlarda etkili antibakteriyel fonksiyonların aktivasyonu, başka bir deyişle mononükleer fagositin major efektör hücreye dönüşmesidir (33). Sıklıkla hücre içi bakteriler makrofaj içinde yaşamaya devam eder. Aktive makrofajlar ile bu mikroorganizmalar arasındaki bu sürekli savaş bölgesinde karakteristik doku yanıtı olarak granülomatöz reaksiyon gelişir (33).

Hücre içi bakterilerin bir kısmı konak hücrelerinde yaşamaya iyi adapte olmalarına rağmen, nadiren hücre dışında da bulunurlar. Mononükleer fagositleri yaşamak için tercih ederler ancak diğer konak hücrelerini de enfekte edebilirler. “Fakültatif hücre içi bakteri” olarak nitelendirilen bu bakteriler içinde sayılan *Brucella spp.* nötrofiller tarafından öldürmeye dirençli, makrofajlarda ve profesyonel olmayan fagositlerde çoğalabilen, konak hücreleri ile uzun süreli ilişki kurabilen bir patojendir (33, 34).

Doğal immün yanıt, patojenlere karşı enfeksiyonun erken dönemlerinde ortaya çıkan, özgül olmayan ilk immün yanıttır (33). Bruselloz’da doğal immünitenin başlıca rolü, başlangıçtaki virülan bakterinin sayısını azaltmak ve konakta T yardımcı 1 (T helper 1; Th1) tipi immün yanıtı oluşturmak için ortam hazırlamaktır (34). Bu savunma hattını aşan mikroorganizmalar spesifik olmayan sıvısal ve hücreyel komponentlerden oluşan ikinci bir savunma hattı ile karşılaşılırlar. Sıvısal komponentler kanda, dokularda, mukoid salgılar ve vücut sıvılarında bulunan antimikrobiyal sıvısal faktörlerdir (lizozim, interferon vb.). Hücreyel faktörler B ve T hücrelerinin aktivasyonunu ve mikroorganizmalara karşı daha spesifik savunma

oluşmasını sağlar. Makrofajların uyarılması ve antijen işleyerek bunları Th hücrelerine sunması Th hücrelerinin sitokin [İnterlökin (IL)-2, İnterferon (IFN)- γ v.b.)] salgılamasını artırdığı gibi, B hücrelerini de uyararak spesifik antikorların sentezlenip salgılanmasını sağlar. Makrofajlar tarafından sentezlenen IL-1 hem B hem T hücrelerinin uyarılmasında önemli işlevlere sahiptir (35).

Makrofajlar ve dendritik hücreler gibi antijen sunan hücreler (ASH) ve Doğal öldürücü (Natural Killer; NK) hücreleri invaze olan mikroorganizmalara karşı reaksiyonda en erken görev yapan hücrelerdir, cilt altı ve mukozal bölgelerde bulunur (39). Doğal immün yanıt primer olarak monositik fagositler ve dendritik hücrelerin bakteri tarafından sentezlenen lipopolisakkarit, bakteriyel lipoprotein ve lipoteikoik asit gibi ürünler ile konağın kendi yapı elementlerini ayırt edebilmeleri yeteneğine bağlıdır (33). Fagositik hücreler, patern tanıyan reseptörler (pattern recognition receptors; PRR) denilen bir grup mikroorganizmanın paylaştığı değişmez moleküler paternlerini tanıyan reseptörler taşırlar. Makrofaj mannoz reseptör, CD14 ve çöpçü (scavenger) reseptörler ve Toll benzeri reseptörler gibi belirli konak reseptörlerine bakterinin bağlanması mikroorganizmanın aktif bir şekilde içeri alınmasını sağlar (33, 39). Hücre içine alınan bakteri ve apoptotik hücreler ASH'lerce işlenerek peptidler haline getirilir, yeni sentezlenmiş MHC sınıf I ve sınıf II moleküllerinin oluklarına yüklenerek, bu peptidlere özgül T hücre reseptörüne sahip T lenfositlerine sunulur. CD4⁺ T hücreleri peptid-Sınıf II, CD8⁺ T hücreler ise peptid-Sınıf I kompleksleri ile etkileşir (33, 39). Nitekim ısı ile öldürülmüş *B. abortus*'un ASH fonksiyonunun farklı yönleri üzerindeki etkileri çalışılmıştır ve *in vitro* çalışmalar *B. abortus*'un insan monositlerini proenflamatuvar sitokinler TNF- α , IL-1 β , IL-6 salgılaması için uyardığını göstermiştir (38, 39). Sitokinler ile aktivasyon, ASH'yi daha çok aktive eder, çeşitli antibakteriyel efektör mekanizmaların hareketlenmesine neden olur, mononükleer fagositlerin efektör hücrelere dönüşmesini sağlar (33). Fagositoz ve aktivasyonu takiben, ASH'ler yüzeylerinde MHC ve kostimülatör moleküller B7.1/2'inin düzeylerini yukarı çeker; ASH'ler daha sonra cilt ve mukozadan T hücre bölgeleri olan lenf düğümlerine göç ederler. Bu bölgelerde T hücrelerini

T hücre reseptörü (THR)'nü aktive eden MHC peptid kompleksleri ve T hücrelerindeki CD28'i uyaran B7.1/2 gibi kostimülatör moleküller yoluyla stimüle eder (39). Bu iki sinyalin oluşması, kazanılmış immünite gibi antijene özgü yolda T hücreleri aktive eder. Th1 hücrelerinin gelişimini IL-12 uyarır ve böylece makrofajları aktive eden önemli bir sitokin olan IFN- γ yapımının sürekliliğini sağlar (36). Th1 sitokini olan IFN- γ , makrofajı aktive etmede ve *Brucella*'nın neden olduğu enfeksiyonu sınırlandırmada hem *in vivo* hem de *in vitro* önemli bir rol oynar. Zıt olarak makrofaj aktivasyonu IL-4, IL-10, Transforme edici büyüme faktörü (Transforming Growth Factor)- β gibi Th2 sitokinleri tarafından baskılanabilir ve bu durum enfeksiyona duyarlılığı artırabilir (33). Makrofajların bakterisidal fonksiyonları IFN- γ ve TNF- α tarafından uyarılan reaktif oksijen metabolitleri ve reaktif nitrojen metabolitleri ile gerçekleştirilir (34).

Brucella bakterisi mukozal epitelden geçişi izleyerek bölgesel lenf noduna serbest ya da fagositik hücre içinde taşınır (33). Peyzer plaklarında mononükleer fagositler mikroorganizmayı alır, ancak tamamen eradike edemez. Bunlar daha derin dokulara iletmek için sığınak ya da geçiş sistemi olarak görev yapar (16, 33). Başlangıçta mononükleer fagositlerce alınmış *Brucella* hücre içinde yaşamını ve çoğalmasını sürdürür (33). Burada üredikten sonra lenf yolu ile genel dolaşıma karışır. Mikroorganizma hematojen yayılımı takiben karaciğer, dalak, kemik iliği gibi retiküloendotelial sistemden zengin organlarda lokalize olur.

Doğal ve özgün immün yanıtın efektör hücreleri olan nötrofiller; muhtemelen insanda Bruselloz ile mücadelede ilk ortaya çıkan immün sistem hücreleridir (38). Nötrofiller kemotaksis ile mikroorganizmanın giriş bölgesine hücum eder (33). Virülan ve atenüe *Brucella* suşlarının nötrofiller ile hızlı fagositozu, antikor ve kompleman ile opzonizasyonun ardından gerçekleşir. Opzonize olmamış *Brucella spp.*, fagositik hücreler ile zayıf şekilde sindirilir. Bu durum opzonizasyonun fagositoz için gerekli olduğunu düşündürür (34, 38). Ancak mikroorganizmanın nötrofil içindeki bakteri öldürücü mekanizmalara direnç gösterdiği izlenmiştir. Bunu sağlayan mekanizmalar tam olarak anlaşılacak şekilde birlikte bu faktörler arasında adenin, guanin

monofosfat üretimi ile nötrofillerin degranülasyonunun önlenmesi ve Cu-Zn superoksid dismutaz üretimi sayılabilir (12, 34, 38).

Brusellozla mücadelede diğer bir immün sistem hücresi doğal öldürücü hücrelerdir. Hücre içi bakteriler ile yapılan çalışmalarda doğal öldürücü hücrelerin aktive olduğu ve bu bakteriler ile enfekte konak hücrelerinin parçalandığı gösterilmiştir. NK hücrelerinin enfekte ve enfekte olmayan konak hücrelerini ayırt ederken inhibitör reseptörleri aracılığıyla MHC Sınıf I molekülünü eksprese etmeyen veya düşük düzeyde eksprese eden hedef hücreleri özellikle parçaladığı saptanmıştır (33). Bunun yanı sıra NK hücreleri aktive edildiklerinde IFN- γ üreterek ve makrofaj aktivasyonuna katılırlar (33, 39). *B. abortus*'un IL-12 salgılamak için antijen sunan hücreleri uyararak NK hücrelerini aktive edebildiği gösterilmiştir (33, 39). IL-12 de NK hücrelerini, öldürücü hücre olacak ve IFN- γ sekrete edecek şekilde uyarır (39).

Edinsel immünite; antijen ile karşılaşıldığında uyarılan ve sadece o antijene özgü olarak gelişen, ikinci karşılaşmada daha güçlü bir yanıt verilmesini sağlayan sistemdir. Spesifik immünitenin başlıca elemanları T ve B lenfositler, antikolar ve bazı lenfokinlerdir. T lenfositler, hücrel immünitenin kaynağı olarak direkt hücrel temas ve sitokinler yolu ile diğer T ve B hücreleri ile monosit fonksiyonlarını düzenlerler. T hücrelerinin immün uyarı sonrası çeşitli sitokinler salgılayarak diğer T ve B hücreleri ile monosit-makrofajların uyarılma ve olgunlaşmalarını sağlayan alt grubu yardımcı Th olarak adlandırılırlar. Bu grup yüzeyinde CD4 ve THR α β taşır. Periferik T lenfositlerinin %60-65'ini oluştururlar. Yardımcı hücre grubu salgıladıkları sitokinlere göre iki alt gruba ayrılabilir. B hücre özelleşmesi, inflamasyon ve otoimmünitede yer alan Th1 lenfositler IL-2, IFN- γ , TNF- β salgılamak, IL-4 ve IL-5 salgılamaz. Th2 lenfositler ise IFN- γ ve TNF- β salgılamazken; IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 salgılar. Diğer bir T hücre grubu ise yabancı antijenleri HLA sınıf I molekülleri yardımıyla tanıyıp bu hücreleri öldüren sitotoksik T hücreleridir. Bu hücreler CD8 ve THR α β molekülleri taşırlar ve periferik lenfositlerin % 30-35'ini oluştururlar (40).

Antijenik uyarı sonrası, T hücrelerinden salınan sitokinlerin de katkısıyla (IL-2, IL-6) B hücreleri plazma hücrelerine dönüşerek gelişimlerini tamamlarlar ve ikincil lenfoid organlara (lenf bezi follikülleri ve dalak) yerleşirler. Plazma hücreleri ise antikor olarak adlandırılan çözünebilir formdaki immüoglobulinleri sentezlerler. Plazma hücrelerine farklılaşmayan bir grup B hücreleri spesifik antijenik uyarıyı tanıyıp saklayan bellek (memory) hücreleri olurlar. Bunlar istirahat halinde kalırlar ve aynı antijenle yeniden karşılaştıklarında süratle çoğalarak immün cevabın daha hızlı ve etkin bir biçimde oluşmasını sağlarlar (37, 40).

Enflamasyon

Organizmanın, hücre hasarı oluşturacak uyarılara karşı vaskülarize konnektif dokuda verdiği koruyucu yanıtıdır. Amaç, organizmayı hücre hasarı oluşturan uyarandan ve bu hasarın sonucunda oluşan nekrotik materyal ve dokulardan temizlemektir. Enflamatuvar yanıt konnektif doku, plazma, dolaşan hücreler ve kan damarlarını içerir. İki tip enflamasyon mevcuttur. Akut inflamasyon, nisbeten kısa süreli, birkaç dakika ile birkaç gün arasında olup esas özellikleri plazma protein ve sıvısının eksudasyonu, lökositlerin emigrasyonudur. Kronik inflamasyon ise daha uzun sürelidir ve histolojik olarak lenfositler ve makrofajların bulunması, kan damarları proliferasyonu ve konnektif dokunun mevcudiyeti ile birlikte (42).

Akut Enflamasyon

Organizmanın hücre hasarı oluşturacak uyarıya karşı verdiği ani ve erken yanıtıdır. Üç majör komponenti vardır. Kan akışında artışa neden olan damar çapındaki değişiklikler, plazma protein ve lökositlerinin sirkülasyondan dışarı çıkmasına yol açan mikrosirkülasyondaki striktürel değişiklikler, mikrosirkülasyondan lökositlerin emigrasyonu ve hasar bölgesinde toplanmasıdır.

Hasarlı bölgede artan kan akışı ile karakterize vasküler olay, arteriolar dilatasyon ve kapiller yatağın açılmasıyla meydana gelir. Artan vasküler geçirgenlik, proteinden zengin ekstrasvasküler sıvı birikimine neden olur ve eksudayı meydana getirir. Plazma proteinleri, damarları ya venüllerin genişlemiş intraendotelyal hücre bileşkelerinden veya direk endotelyal hücre

incinmesiyle terk eder. Başlıca nötrofiller olmak üzere lökositler, önce adezyon molekülleriyle endotele yapışır, sonra mikrosirkülasyonu terk eder ve kemotaktik ajanların etkisi ile hasarlı bölgeye doğru göç ederler. Bunu, hasar oluşturan etkenin fagositozu takip eder ve bu da mikroorganizmanın ölümüne yol açabilir. Kemotaksis ve fagositoz esnasında aktive lökositler toksik metabolitleri ve proteazları ekstrasellüler olarak açığa çıkarabilir ve bu da endotelial ve doku hasarına yol açabilir (42).

Kronik Enflamasyon

Akut enflamasyonu takiben gelişebilir veya hasarlanmanın başından itibaren kronik seyredebilir. Akut enflamatuvar yanıt hücre hasarı oluşturan uyarının devam etmesi halinde ya da normal iyileşmedeki bazı bozukluklarda kronik hale geçebilir. Çoğu durumlarda kronik enflamasyon primer olay olarak başlar. Genellikle, akut enflamasyona yol açan uyarılara göre daha az toksik ajanlara maruziyet söz konusudur. Düşük toksisiteli intrasellüler mikroorganizmalarla gelişen persistan enfeksiyonlar, parçalanamayan cansız materyale (silika inhalasyonu) uzun süre maruz kalma veya bazı otoimmün reaksiyonlar kronik enflamasyona yol açar. Kronik enflamasyon makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerini, doku detruksiyonunu ve fibrozisi içeren özellik taşır (42).

Enflamasyonun Kimyasal Mediyatörleri

Enflamasyonun vasküler ve sellüler yanıtları, plazma ve hücrelerden çıkan ve enflamatuvar stimulusla meydana gelen kimyasal faktörlerle ortaya çıkmaktadır. Bu kimyasal mediyatörler ve sitokinler, bir arada veya sırayla etki yaparak enflamatuvar yanıtı oluştururlar. Mediyatörler, aktive edilince veya hücreden salınıncaya çoğu bozulur veya inaktive olur. Bu şekilde, mediyatör etkilerinin ayarlanmasında kontrol ve denge sistemi vardır. Hemen tüm mediyatörler, hedef hücredeki spesifik reseptöre bağlanarak biyolojik aktivitelerini meydana getirirler (42).

Pro-enflamatuvar ve Anti-enflamatuvar Sitokinler

Özellikle aktive lenfosit ve makrofaj gibi birçok hücreden salınan, değişik yapıda bir grup çözünen proteinden oluşan polipeptitlerdir. Bazı karakteristik özellikleri vardır:

a) Çok düşük konsantrasyonlarda (<10-11 mol/L) aktif olan protein yapısında hormonlardır.

b) Doğal ve spesifik immüntenin efektör evresinde üretilirler.

c) Diğer polipeptit hormonlar gibi hedef hücredeki spesifik reseptörlere bağlanarak etki gösterirler.

d) Konağın immün ve enflamatuvar yanıtlarına aracılık ederler ve önemli otokrin, parakrin ve endokrin etkileri vardır (43).

Sitokinlerin enflamasyondaki en önemli etkileri endotel üzerine olan lokal etkileri ile sistemik olarak akut faz reaktanları ve fibroblastlar üzerindedir. Endotelyal adezyon moleküllerinin yüzey düzenlemesini sağlar ve endotelin trombojenitesini arttırlar (42).

High Mobility Group Box-1 (HMGB1)

Yaklaşık 30 yıl önce, hücre nükleusundan histonlarla birlikte 30 kDA molekül ağırlıklı protein serbestleştirilmiş ve elektroforez jelindeki hızlı hareketinden dolayı High mobility group (yüksek hareketli grup) box-1 (HMGB1) olarak adlandırılmıştır (80). Ökaryotlardaki korunmuş proteinler arasında en yararlı olanı olarak kabul edilen ve nüklear bir protein olan HMGB1 kromatin bağlayıcı önemli yapısal bir faktördür. Nükleozomal yapı ve stabilitenin belirlenmesi, transkripsiyon faktörlerinin aynı kökenli DNA yapılarına bağlanması gibi farklı hücresel fonksiyonlar içerir. İleri derecede elektriksel yüke sahip olan HMGB1, C-terminalinde negatif yüklü rezidüer (aspartik ve glutamik asit), N-terminalinde pozitif yüklü bölgeler (A box ve B box) içerir. Sekonder DNA yapıları için bağlanma bölgeleri mevcuttur. Bu gözlemler HMGB1'in DNA rekombinasyonu, onarımı, replikasyonu ve transkripsiyonunda rol oynadığını desteklemektedir (81, 82, 83).

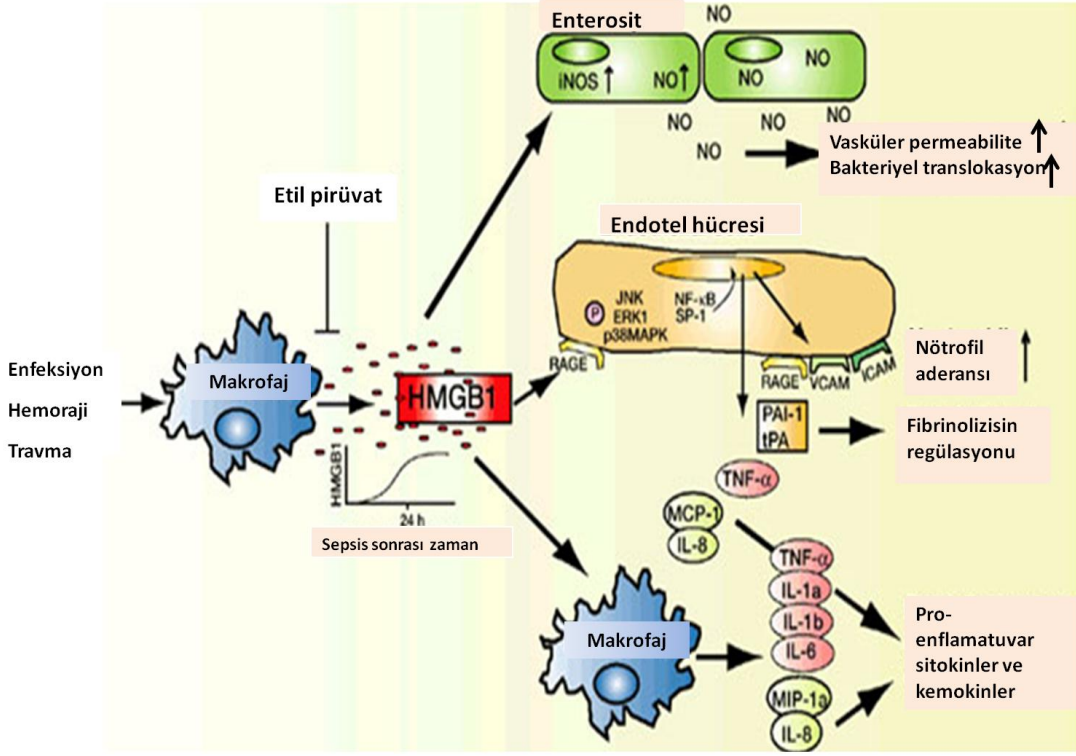
HMGB1 hemen her hücre tipinde üretilir, ancak hücre düzeyi yaş ve gelişimle değişir. Hücresel lokalizasyon çalışmaları, HMGB1'in nükleus ile sitoplazma arasında hücre siklusuna bağlı olarak hareket ettiğini ortaya koymuştur. HMGB1, karaciğer ve beyin hücrelerinde belirgin olarak sitoplazmada bulunurken lenfoid hücrelerde hem sitoplazma da hem de nükleusta yer alır (83, 84).

Enflamasyona yanıt olarak HMGB1'in bağıışıklık sistem hücrelerinden (monosit, makrofajlar) aktif, nekrotik hücrelerden de pasif salınımı söz konusudur (82). HMGB1'in aktif salınımı, ekzojen bakteriyel endotoksin veya endojen proinflatuar sitokin (TNF- α , IL-1 β) stimölasyonu ile doz ve zaman bağıımlı olarak gerçekleşir. Nekrotik ve hasarlı hücrelerden pasif olarak salınan HMGB1 ise komşu bağıışıklık sistem hücrelerine hasar sinyalinini taşıır (44, 85, 86).

Ekstrasellüler HMGB1, *in vivo* enflamatuvar yanıtta aracılık eder. Genetik olarak lipopolisakkarite dirençli farelere intratrakeal verilen HMGB1 akciğerde nötrofil birikimini ve proinflatuar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β) akciğer dokusunda lokal üretimini stimöl eder. Akciğer dokusunun histolojik incelemesinde interstisyel ve intraalveolar alanlarda nötrofil birikimi, interstisyel ödem, alveolar yüzeye protein eksudasyonu ile karakterize akut diffüz enflamatuvar yanıt görülür (87). Ancak önceki gözlemlerde rekombinant TNF- α infüzyonuna bağılı şok tablosu geliştiğı gösterilen hayvanların aksine HMGB1 infüzyonu şok tablosu oluşturmaksızın ani kardiyak ölüme neden olur (88, 89). HMGB1'in intraserebroventriküler verilmesi beyinde TNF- α ve IL-6 yapımını artırır (90). Gastrointestinal sistem üzerine etkisi incelendiğinde, nitrik oksit sentaz aktivitesini, epitelyal bariyer fonksiyon kaybı ile intestinal mukozal permeabiliteyi ve mezenterik lenf nodlarına bakteriyel translokasyonu arttırdığı gösterilmiştir (91).

Enflamasyonun geç mediyatörü olarak salınan HMGB1 sistemik enflamatuvar yanıt patogenezinde erken mediyatör yanıtından sonra katılır (45) (Şekil-2). Endotoksin verilmesinden 8 saat sonra ilk olarak serumda tespit edilir ve 16-32 saate kadar artarak plato düzeyine ulaşır (44). Benzer olarak, deneysel sepsis modellerinde (ekal ligasyon ve perforasyon), peritonit indüksiyonundan 18 saat sonra serumda HMGB1 saptandığı ve 72 saate kadar serum düzeylerinin yüksek kaldığı gösterilmiştir (92). HMGB1'in gecikmiş ortaya çıkışı, deneysel endotoksemi veya sepsise sekonder letalitenin başlangıcı ile paralellik gösterir ve sistemik enflamatuvar yanıtın TNF- α ve önceden tanımlanmış diğerk erken etkili mediyatörlerinden farklıdır

(93). Klinik çalışmalar da serum HMGB1 seviyelerinin belirgin olarak arttığını göstermiştir. Septik veya sepsise sekonder organ yetmezlikli hastaların serum HMGB1 düzeyleri sağlıklı gönüllülere göre belirgin olarak yüksek saptanmıştır (44).



Şekil-2: HMGB1'in makrofağlardan salınımı (105).

Hemorajik şok da enfeksiyon olmaksızın HMGB1'in sistemik salınımını stimüle edebilir. Klinik olarak hemorajik şokta 24 saat sonra HMGB1'in serumda belirgin arttığı ve şok tablosu gerileyinceye kadar yüksek kaldığı gözlenmiştir. Şoka erken TNF- α yanıtının uyarısı ve hasarlı ve ölü hücrelerin uyarısı ile aktiflenen bağışıklık sistem hücrelerinden HMGB1 salındığı düşünülmektedir (94).

Deneyssel olarak HMGB1'in salınımını ya da aktivitesini inhibe eden tedavi stratejileri, hayvanlarda sepsise bağlı ölümü önlemiştir. HMGB1 antikorları ve HMG A box (HMG'nin N-terminalinde yer alan pozitif yüklü bölge) HMGB1'i antagonize ederken etil pirüvatın HMGB1 salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (44).

Özet olarak HMGB1, letal sistemik enflamasyonun, monosit veya makrofaj kaynaklı geç etkili sitokini olarak tanımlanmıştır. HMGB1'in geç etkisi, TNF- α ve diğer klasik proinflamatuvar sitokinlerden ayıran özelliğidir ve doğal immün yanıtın anlaşılması ve manipüle edilmesinde önemlidir (44).

Çözünebilir CD163 (sCD163)

Hemoglobin çöpçü reseptör (CD163), haptoglobin–hemoglobin kompleksinin endositozunda yer alan membrana bağlı bir proteindir. Sadece makrofajlar ve monositler tarafından salınır ve alternatif olarak aktive (antienflamatuvar) makrofajların belirteçi olarak kabul edilmektedir. Bu reseptör ilk defa 1987 yılında saptandı (46). CD163 reseptörü, çöpçü reseptör süper ailesi B sınıfının bir üyesidir (47, 48).

CD163 üzerindeki en önemli çalışmalar sıçanlarda ve insanlarda yapılmıştır. (47, 49, 50, 51, 52, 53). Domuzlar üzerinde yapılan bir çalışma da CD163 antijeni saptanmış ve 2A10 antijeni olarak adlandırılmıştır (54). Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışma da ise kromozom 6 üzerinde kodlanan ve ED2 antijeni ismi verilen peptid olarak saflaştırılmıştır (55).

CD163 reseptörü 1076 aminoasitten oluşan bir proteindir. Ekstrasellüler kısmı 1003, transmembran kısmı 24 ve stoplazmik parçası ise 49 aminoasitten oluşmaktadır (56- 48). Bugüne kadar CD163 'ün 5 farklı izotipi tanımlanmıştır. Bu izotipler kendi aralarında sitoplazmik parçaları veya fosforilasyon bölgeleri açısından farklılık göstermektedir (58).

CD163 reseptörünü kodlayan gen 12. kromozomun 13p bölgesinde yer almaktadır. Bu genomik bölge 17 ekson ve 16 introndan oluşan 35 kD'luk bir bölgedir (56, 57).

Genel olarak CD163 çöpçü reseptör monosit ve makrofajlar üzerinde seçici olarak eksprese edilmekle birlikte bazı çalışmalarda tüm monosit ve makrofajların üzerinde olduğu bildirilmiştir (48, 59, 60). Bu çöpçü reseptör özellikle dalak, plesanta, karaciğer (kupffer hücreleri), lenf düğümleri, timus, kemik iliği, beyin, akciğer ve periton gibi doku makrofajlarında yüksek düzeyde ifade edilmektedir (47).

CD163 ekspresyonu çeşitli faktörlerden etkilenir. Örneğin; siklosporin A ve forbol ester tedavisi sırasında hücre yüzeyinde ekspresyonu azalır (59,

61, 62). CD163'ün salınımı pro- ve anti-enflamatuvar mediatörler tarafından düzenlenir. TNF- α , IFN- γ ve LPS CD163 yapımı ve salınımını azaltırken; glukokortikoidler, IL- 6, IL-10 artırmaktadır (57, 59, 60, 63, 64, 65, 66, 67).

Birkaç yıl önce, makrofaj membran proteini olarak bilinen CD163, immünolojik ve hemostatik özel fonksiyonları olan bir protein olarak bilinmekteydi. Günümüzde ise monositlerin endotel yüzeyine yapışmasında önemli bir reseptör olduğu kanıtlanmıştır. Özellikle enflamasyonun erken döneminde anti-enflamatuvar olarak monositler yüzeyinde ekspre edildiğine dair çalışmalar bildirilmiştir (50, 62).

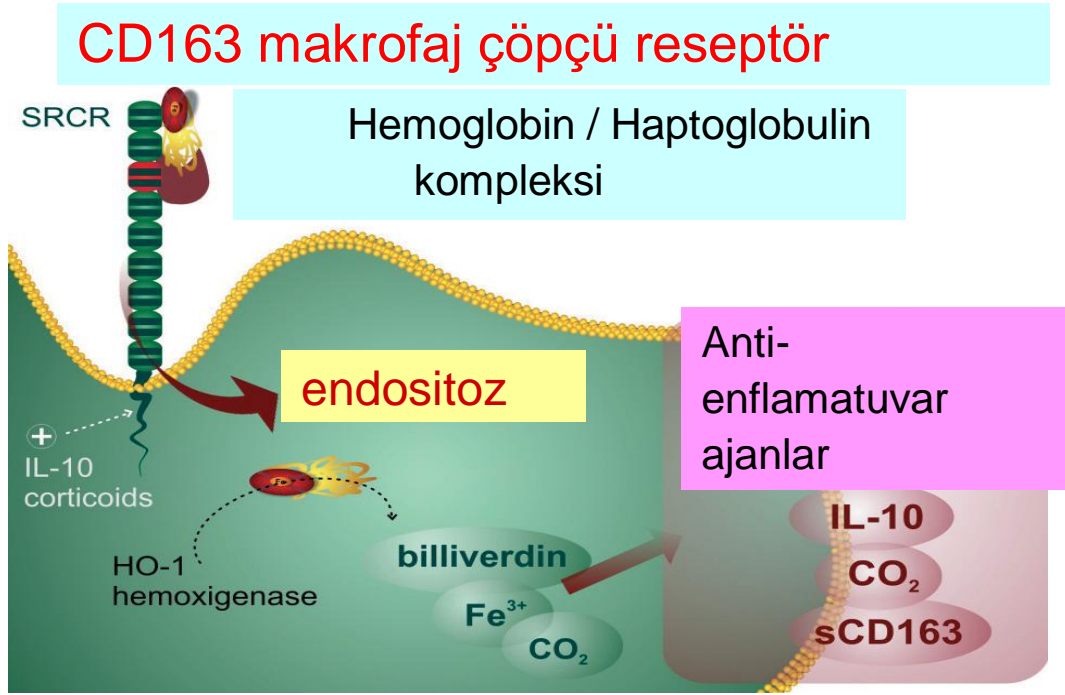
CD163 reseptörü, akut ve kronik enflamasyonda, enflamasyonun sonlandırılması aşamasında önemli bir düzenleyici mediatördür (63, 64, 68). Enflamasyonlu dokuda makrofaj yanıtının düzenlenmesinde önemli olduğu görülmüştür. Sistemik enflamasyonu olan hastalarda dolaşımdaki monositler üzerinde ekspresyonu artmaktadır (67). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda CD163'un tolerans indüksiyonu ve doku rejenerasyonunda önemli görevler üstlendiği görülmüştür (65, 69). Bazı *in vitro* çalışmalarda sCD163'ün insan T lenfositlerinin aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe ettiği (70, 71) ve böylece enflamatuvar yanıtın baskılanmasını kolaylaştırdığı gösterilmiştir (71, 72). Frigler ve ark. sCD163'ün CD4⁺ T lenfositler üzerinde direkt baskılayıcı etkisi olduğunu göstermişlerdir (72).

CD163'ün en iyi bilinen fonksiyonu serbest hemoglobinin temizlenmesidir. sCD163 ise sitokinleri baskılayarak anti-enflamatuvar olarak görev yapar.

Serbest hemoglobin ya ekstra ya da intravasküler hemoliz ile kan dolaşımına salınmaktadır. Ekstravasküler hemoliz, kemik iliğinde ve dalakta eritrositlerin makrofajlar tarafından fagositozu ile oluşur. İnvasküler hemoliz %10-20 oranında eritrositlerin fagosite edilmesi ile oluşur. Bu mekanizma ile hemoglobin α ve β olmak üzere 2 dimerine ayrılır. Bu iki subünit haptoglobulin tarafından hemen yakalanır ve hemoglobin-haptoglobulin kompleksi oluşur (58- 65).

Haptoglobulin insanda 1 ve 2 olmak üzere yaygın 2 alleli olan bir plazma proteindir. Hemoglobin bağlayan protein, 3 majör fenotip gösteren

genetik polimorfizm ile ekspre edilmektedir (73, 75, 76). CD163 reseptörü hemoglobin-haptoglobulin kompleks-2'ye daha yüksek oranda afinite gösterir (77). CD163 bağlayan haptoglobulin 1 ve oluşan hemoglobin-haptoglobulin kompleks 1 IL-10 gibi anti-enflamatuvar sitokinlerin üretimini hızlı bir şekilde uyarır (Şekil-3).



Şekil-3: CD163 çöpçü reseptörün serbest hemoglobini dolaşımdan uzaklaştırması (106).

Diğer taraftan CD163 bağlayan haptoglobulin ve oluşan hemoglobin-haptoglobulin kompleks-2 ise anti-enflamatuvar sitokin salınımını uyarmaz (73-74). Hemoglobin-haptoglobulin kompleksinin CD163'e bağlanması Ca⁺² varlığında gerçekleşir (65, 78).

Son zamanlarda hemoglobin-haptoglobulin kompleks 1'in kazein kinaz II sinyaline bağlı anti-enflamatuvar sitokin sentezini stimüle ettiği rapor edilmiştir (74).

Çözünabilir CD163 formu ise plazmadan daha çok diğer vücut sıvılarında bulunur. sCD163'ün BOS, sinovial sıvı, asit sıvısı vb. pek çok vücut sıvısında varlığı gösterilmiştir. Sağlıklı plazmada sCD163 0,73 ile 4,69

mg/L arasında, ortalama 1,87 mg/L olarak saptanabilir düzeyde olacağı yayınlarda ifade edilmiştir (49, 47, 58, 61).

Çözünebilir CD163 pek çok klinik durumla ilişkili bir biyolojik belirteçtir. Koroner arter hastalığı, transplantasyon, ateroskleroz, RA, lizozomal Gaucher hastalığı, kanser ile ilişkili yeni makrofaja spesifik biyobelirteç olarak gösterilmektedir (47, 79). Aynı zamanda (SIRS), sepsis, bakteriyemi, mononükleoz, leishmaniasis, Crohn hastalığı, Çölyak, spondiloartropati, sinovit, skleroz, hepatit ve fulminan karaciğer yetmezliğinde enflamasyonun saptanmasında önemli bir rol oynar (64, 65, 71). Ayrıca lenfoma, reaktif hemofagositik sendrom, histiositik neoplazm, miyeloproliferatif hastalıklar, myelo-monositik lösemi gibi immünohematolojik hastalıklarla da ilişkili bulunmuştur. Aynı zamanda monositik enflamasyonla karakterize diğer durumlarla da ilişkisi dökümanite edilmiştir. En ilginç kısmı ise bu hastalıkların iyileşmesi ile korele olarak bu reseptör seviyelerinde artış olmasıdır (58, 63).

Bir çok hastalıkta hastalar intravasküler hemolize ya da doku yaralanmasına bağlı olarak yaygın serbest hem/hemoproteine maruz kalır. CD163 lokal yada dolaşımdaki potansiyel toksik pro-enflamatuvar hemoglobini temizlemek için etkili bir sistem olarak gösterilmektedir. Bu nedenle esas enflamasyonda olmak üzere pek çok hastalıkta prognostik bir belirteç olarak kabul edilmektedir (79).

sCD163 son derece hassas ve iyi standarde edilmiş ELISA kitleri ile serum, plazma ve diğer vücut sıvılarında ölçülebilir. Ayrıca flow sitometri, immünohistokimya, immünopresipitasyon ve Western blot yöntemi ile de tespit edilebilir.

Sonuç olarak, CD163 çöpçü reseptör B sınıfı üyesi ve fonksiyonları tam bilinmeyen bir proteindir. Bununla birlikte sCD163 enflamasyon, sepsis ve immünohematolojik hastalıklarda önemli bir biyolojik belirteç olarak kullanılabilir. Bu hastalıkların izlenmesinde prognostik bir belirteç olarak kabul edilmektedir. Diğer enflamasyon belirteçleri ile karşılaştırıldığında, bu belirteç sadece monosit/makrofaj hücrelerinden salınır. Ekspresyonunun CRP gibi diğer enflamasyon parametreleri ile korele olmadığı teyid edilmiştir (58).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvurarak klinik, serolojik ve bakteriyolojik olarak tanı konulmuş 23 "akut", 15 "subakut" ve 11 "kronik" olmak üzere toplam 49 Brusellozlu hasta alındı. Hastaların 32'si erkek, 17'si kadın idi. Bruselloz için teşhis kriterleri; klinik bulgular eşliğinde kan kültüründe (BACTEC 9050, Becton-Dickinson Diagnostic Instrument System, Sparks, A.B.D.) *Brucella spp.* üretilmesi veya tek serum örneğinde SAT ya da Coombs'lu SAT'nde 1/160 ve üzerinde titre saptanmasıdır.

Kontrol grubuna, daha önce Bruselloz geçirme öyküsü olmayan, serolojik ve klinik olarak Bruselloz ile uyumlu bulgu saptanmayan, ek hastalığı bulunmayan, kan merkezine donör adayı olarak başvuran 52 sağlıklı kişi (38 erkek, 12 kadın) dahil edildi.

Çalışma için Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'dan onay ve çalışmaya alınan tüm hasta ve kontrol grubuna çalışma hakkında bilgi verilerek, onam alındı (26 Mayıs 2009 tarih 2009-9/10 no.lu karar).

Serum HMGB1 ve CD163 düzeyleri için; hasta ve sağlıklı kontrol grubundaki kişilerden 10 ml kan alınarak 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildi, serum kısmı ayrılarak 2 adet ependorf tüpüne konuldu ve serum örnekleri çalışılincaya kadar -20°C'de derin dondurucuda saklandı. Hasta ve kontrol grubunda yeterli sayıya ulaşıldığında HMGB1 ve sCD163 testleri çalışıldı.

Serum HMGB1 Düzeylerinin Ölçülmesi

Serumda HMGB1 düzeylerini saptamak için; sandviç enzim immünassay (ELISA) kiti (HMGB1 ELISA kiti; Usen Life Science Inc., Wuhan, P.R. Çin) kullanıldı. Serum örnekleri oda ısısına getirilerek, çözünmeleri sağlandı ve homojen karışım elde etmek için yavaş hızda vortekslendi. Testin çalışma prensibine göre;

1. Tüm reaktifler kullanımdan yaklaşık 30 dakika önce buzdolabından çıkarılıp oda sıcaklığına (18°C-25°C) getirildi.
2. Her bir serum örneği 1/500 oranında dilüsyon solüsyonu ile sulandırıldı ve vorteks ile karıştırıldı.
3. Çalışma plağının her bir kuyucuğuna hazırlanan 1/500 oranındaki sulandırılmış hasta serumlarından 100 mikrolitre (µl) konarak 37°C'de iki saat inkübe edildi.
4. İnkübasyon sonrası yıkama işlemi yapılmadan her kuyucuğa 100 µl Reagent A konarak 37°C'de bir saat inkübe edildi.
5. İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuk, üç kez 350 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı.
6. Yıkama işleminden sonra her kuyucuğa 100 µl Reagent B eklenerek 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.
7. İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuk, üç kez 350 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı.
8. Yıkama işleminden sonra her kuyucuğa 90 µl substrat solüsyon eklenerek 37°C'de 20 dakika inkübe edildi. Substrat solüsyonu eklendikten sonra kuyucuklardaki sıvının mavi renk aldığı görüldü.
9. İnkübasyon sonrasında 50 µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Kuyucuklardaki mavi renkli sıvının sarı renk aldığı görüldü.
10. Reaksiyon durdurulduktan sonra oluşan optik dansiteler 450 nm dalga boyu referans alınarak mikro ELISA okuyucuda (Sunrise™, Tecan Grup Ltd., Männedorf, İsviçre) okundu.

11. Optik okuma sonrasında elde edilen değerler standart eğriye göre hesaplandı ve dilüsyon faktörle çarpılarak hasta ve kontrol grubu serum HMGB1 düzeyleri saptandı.

Hasta grubunda ölçüm aralığı 13,19-188,23 ng/ml olarak gerçekleşti. Kontrol grubunda ise; 0,00-182,84) lm aralığı ng/ml olarak tespit edildi. Testin HMGB1 için minimum tespit limiti 3,6 pg/ml idi.

Serum sCD163 Düzeylerinin llmesi

Serum sCD163 düzeylerinin ölçümü için; mevcut ticari enzim immünoassay (ELISA) kiti (Quantikine® Colorimetric Sandwich ELISA, R&D Systems Inc. Tocris Bioscience · Boston Biochem, ABD) kullanıldı. Serum rnekleri oda ısısına getirilerek, çözünmeleri sağlandı ve homojen karışım elde etmek için yavaş hızda vortekslendi. Testin alışma prensibine göre;

1. Tüm reaktifler kullanımdan yaklaşık 30 dakika önce buzdolabından çıkarılıp oda sıcaklığına (18°C-25°C) getirildi.
2. Her bir serum örneğinden 20 µl alınarak 180 µl dilüsyon solüsyonu ile karıştırılarak serumlar 1/10 oranında sulandırıldı ve vortekslendi.
3. Çalışma plağının her bir kuyucuğuna 100 µl assay dilüent RD 1-34 konuldu.
4. Her bir kuyucuğa 1/10 oranında sulandırılmış serum ve standart solüsyondan 50 µl eklendi ve oda sıcaklığında iki saat inkübe edildi.
5. Inkübasyon sonrasında her bir kuyucuk, üç kez 400 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı.
6. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra her bir kuyucuğa 200 µl CD163 konjugat konarak oda ısısında iki saat inkübe edildi.

7. İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuk, üç kez 400 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı.
8. Yıkama işleminden sonra her bir kuyucuğa 200 µl substrat solüsyon eklenerek oda sıcaklığında karanlık alanda 30 dakika inkübe edildi.
9. İnkübasyon sonrasında 50 µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Kuyucuklarda maviden sarıya dönüşüm olacak şekilde renk değişikliği oluştu.
10. Reaksiyon durdurulduktan sonra oluşan optik dansiteler 450 nm dalga boyu referans alınarak okundu.
11. Optik okuma sonrasında elde edilen değerler standart eğriye göre hesaplandı ve dilüsyon faktörle çarpılarak hasta ve kontrol grubu serum CD163 düzeyleri saptandı.

Hasta grubunda ölçüm aralığı 0,37-2,13 mg/L olarak tespit edildi. Kontrol grubunda ise; ölçüm aralığı 0,21-1,52 mg/L olarak saptandı. Testin sCD163 için minimum tespit limiti ortalama 0.18 ng/ml olarak saptanmıştır.

Hastalarda CRP düzeyleri nefolometrik metodla (Siemens BNII, Cardiophase, Almanya) ve sedimantasyon düzeyleri fotometrik kapiller akış kinetik analiz prensibine göre (Alifax s.p.a, TEST1 THL, İtalya) ölçüldü.

İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda istatistiksel olarak değerlendirildi. Verilerin istatistiksel analizinde SSPS 13.0 istatistik paket programı kullanıldı. 2'den fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi, 2 bağımsız grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sürekli değişkenler dağılım yapısına göre ortalama ve standart sapma ya da medyan (minimum-maximum) olarak, kategorik değişkenler ise n ve yüzde olarak verilmiştir

Değişkenler arasındaki korelasyonu saptamada Pearson korelasyon katsayısı kullanıldı. sCD163 ile HMGB1'in hasta ve kontrolleri ayırmadaki performanslarının değerlendirilmesi için ROC analizi yapıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

BULGULAR

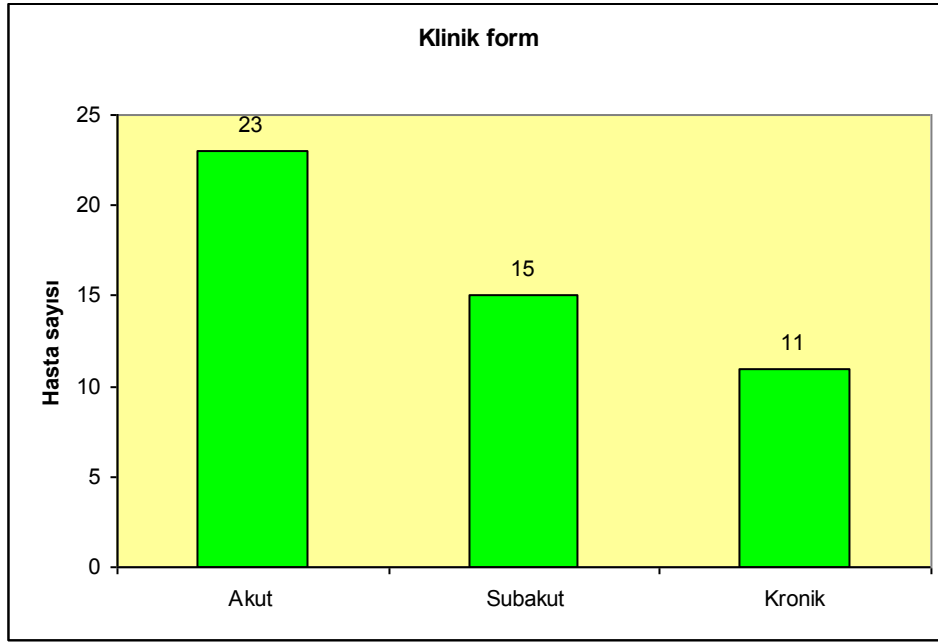
Bu çalışmaya 32'ü erkek, 17'si kadın olmak üzere toplam 49 hasta alındı. Hastaların yaş ortalaması $46,02 \pm 15,80$ (minimum-maksimum = 20-86) yıl olarak bulundu. (Tablo-1). Kontrol grubuna ise 40'ı erkek, 12'si bayan olmak üzere toplam 52 kişi alındı. Sağlıklı kontrol grubunun yaş ortalaması $33,80 \pm 8,48$ (minimum - maksimum= 18-55) yıl olarak saptandı.

Tablo- 1 Hasta ve kontrol grubunun yaş, cinsiyetlerinin karşılaştırılması.

	Hasta		Kontrol	
	n	%	n	%
Kadın	17	34,69	12	23,08
Erkek	32	66,31	40	76,92
Toplam	49	100,00	52	100,00
Yaş (Ortalama±Standart sapma)	46,02±15.80		33,8±8.48	

Hastalarımızın 23 "akut", 15 "subakut" ve 11 "kronik" Bruselloz tanısı almış idi. Şikayet süresi sekiz haftadan kısa olanlar akut, sekiz hafta ile 52 hafta arasında olanlar subakut, bir yıldan daha uzun süreli olanlar kronik olarak değerlendirildi. Olguların klinik formlara göre dağılımı Şekil-4'de

görülmektedir.



Şekil- 4: Olguların klinik formlara göre dağılımı.

Olguların %36,73'ünde (n=18) enfeksiyon için olası kaynak saptanmıştı. 10 (%20,40) olguda çiğ süt ürünleri ve özellikle taze peynir tüketimi mevcuttu. 8 olguda doğrudan hayvanlar ile temas öyküsü vardı (%16,32). Bir olgu veteriner hekim idi (%2,04). Olguların %63,26'ünde (n=31) ise kaynak saptanamadı. Olguların olası bulaş yolları Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo-2: Olguların Olası Bulaş Yolları.

Bulaş yolu	n	%
Çiğ süt ve süt ürünü	10	20,40
Hayvan teması	8	16,32
Mesleki temas	1	2,04
Bilinmeyen	32	63,26

Hastalarımızın en sık şikayeti ateş (%67,34) ve 2. sıklıkta ise bel ağrısı ve atralji (% 38,77) olduğu görüldü. Bruselloz olgularının semptomları Tablo-3'de görülmektedir.

Tablo-3: Bruselloz Olgularının Semptomları.

Semptom	Hasta sayısı	%
Ateş	33	67,34
Bel ağrısı	19	38,77
Atralji	19	38,77
Halsizlik	18	36,73
Terleme	14	25,57
Baş ağrısı	8	16,32
Miyalji	8	16,32
İştahsızlık	3	6,12
Kusma	2	4,08
Bulantı	2	4,08

Olgularımızda en sık saptanan fizik muayene bulgusu ateşti (%36,73). Daha sonraki sıklık sırasıyla osteoartiküler tutulum (%25,57) ve hepatomegali (%6,12) idi. Olgularımızın fizik muayene bulguları Tablo-4'de görülmektedir.

Tablo-4: Bruselloz Olgularının Bulguları.

Bulgular	Hasta sayısı	(%)
Ateş	18	36,73
Osteoartiküler tutulum	14	25,57
Hepatomegali	3	6,12
Splenomegali	2	4,08
Epididimorşit	1	2,04
Endokardit	1	2,04

Çalışmaya alınan olgularımızın bazı laboratuvar verileri Tablo-5'de özetlenmiştir.

Tablo-5: Bruselloz Olgularının Laboratuvar Bulguları.

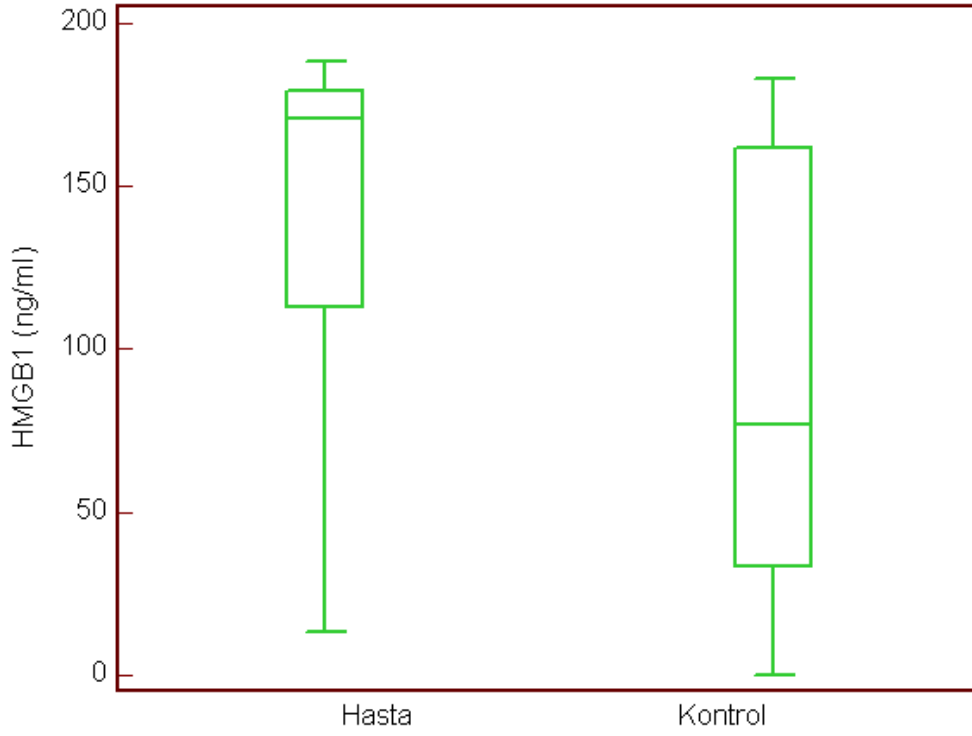
Laboratuvar Bulgular (n:49)	Ortanca değer	Minimum	Maximum
WBC	5,87	2,64	13,2
CRP	0,41	0,31	10,3
STA	320	20	2560
2-ME	80	20	1280
Sedimantasyon	22	2	116

Hasta ve kontrol grubunda serum HMGB1 düzeyleri değerlendirildiğinde, bruselloz grubunda HMGB1'in kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı saptandı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$) (Tablo-6, Şekil-5).

Tablo-6: Hasta ve kontrol grupta HMGB1 düzeyleri.

HMGB1 (ng/mL)	Hasta	Kontrol	<i>p</i>
Ortanca Değer (minimum-maksimum)	170,65 ^a (13,19-188,23)	77,09 (0.00- 182,84)	< 0,001

^a $p < 0,001$ HMGB1 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır.



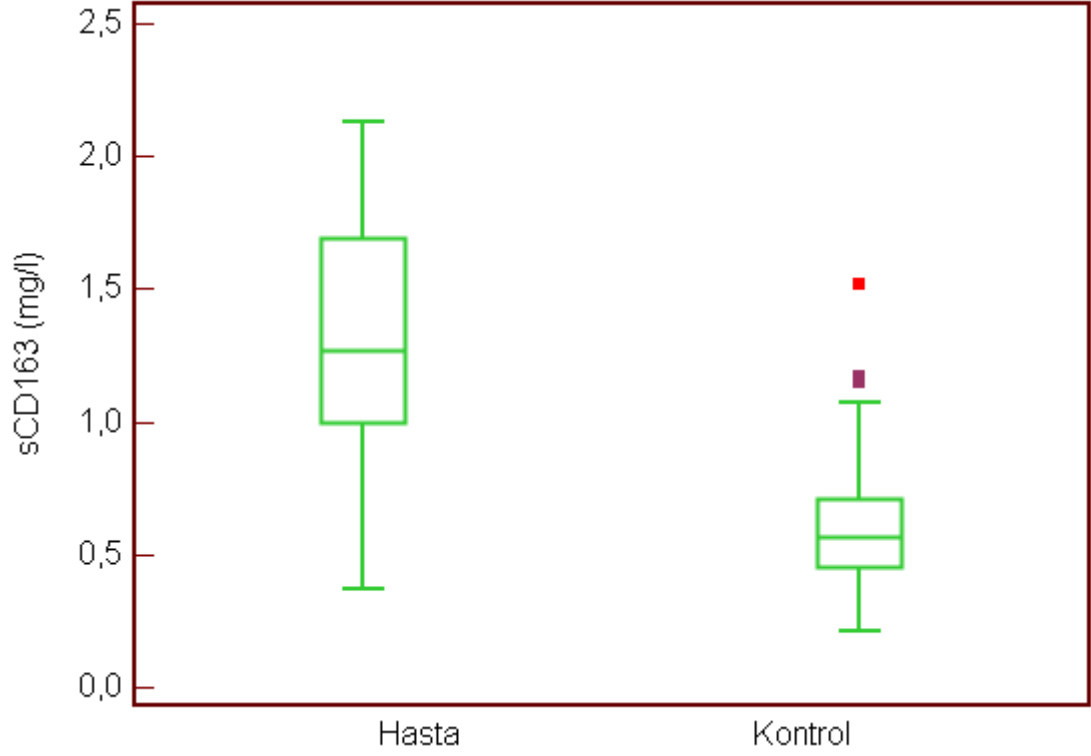
Şekil-5: Hastalarda ve sağlıklı bireylerde HMGB1 (ng/ml) düzeyleri.

Serum sCD163 düzeyleri değerlendirildiğinde, bruselloz grubunda sCD163'ün kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı saptandı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$) (Tablo- 7, Şekil-6).

Tablo-7: Hasta ve kontrol grupta sCD163 düzeyleri.

sCD163 (mg/L)	Hasta	Kontrol	<i>p</i>
Ortanca Değer (minimum –maksimum)	1,27 ^a (0,37- 2,13)	0,57 (0,21- 1,52)	< 0,001

^a $p < 0,001$ sCD163 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı görülmüştür.

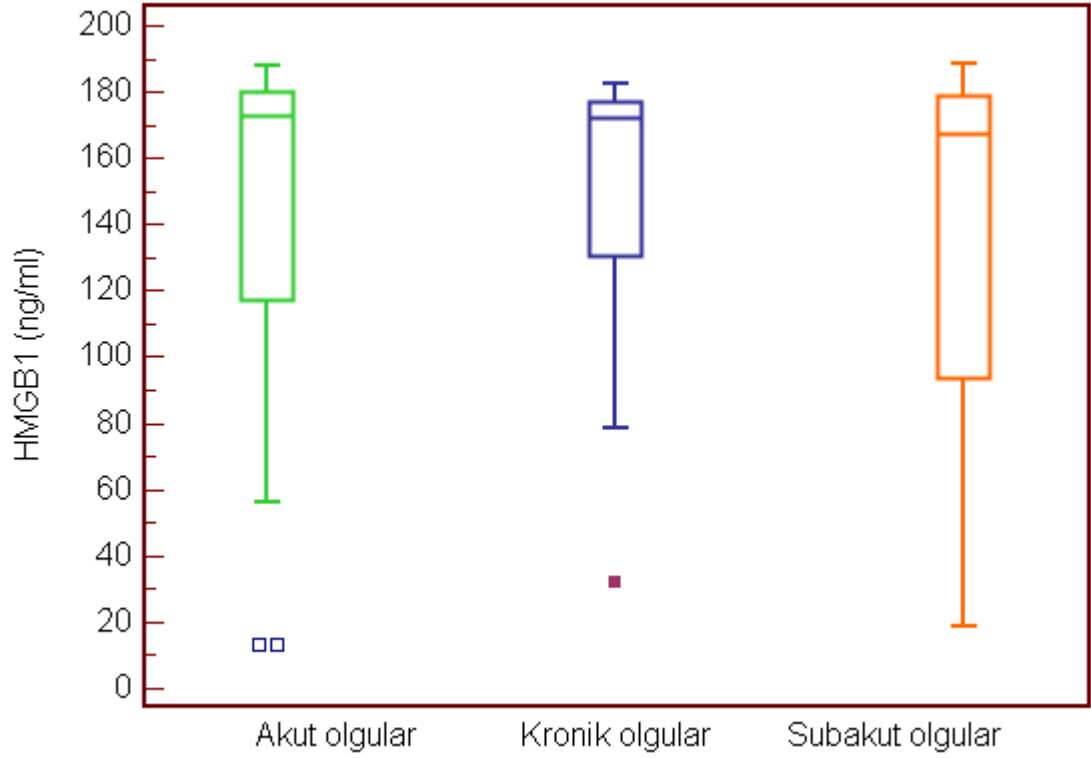


Şekil-6: Hastalarda ve sağlıklı bireylerde sCD163 (ng/ml) düzeyleri.

Akut, subakut, kronik brusellozlu hastalarda serum HMGB1 düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak hasta- kontrol grubunun aksine anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,828$) (Tablo-8, Şekil-7).

Tablo-8 Akut, subakut, kronik brusellozlu hastalarda HMGB1 düzeyleri

HMGB1 (ng/mL)	Akut olgular	Subakut olgular	Kronik olgular	<i>p</i>
Ortanca Değer (minimum-maksimum)	173,05 (13,19- 187,99)	167,48 (18,52- 188,22)	172,35 (32,00- 182,48)	0,828

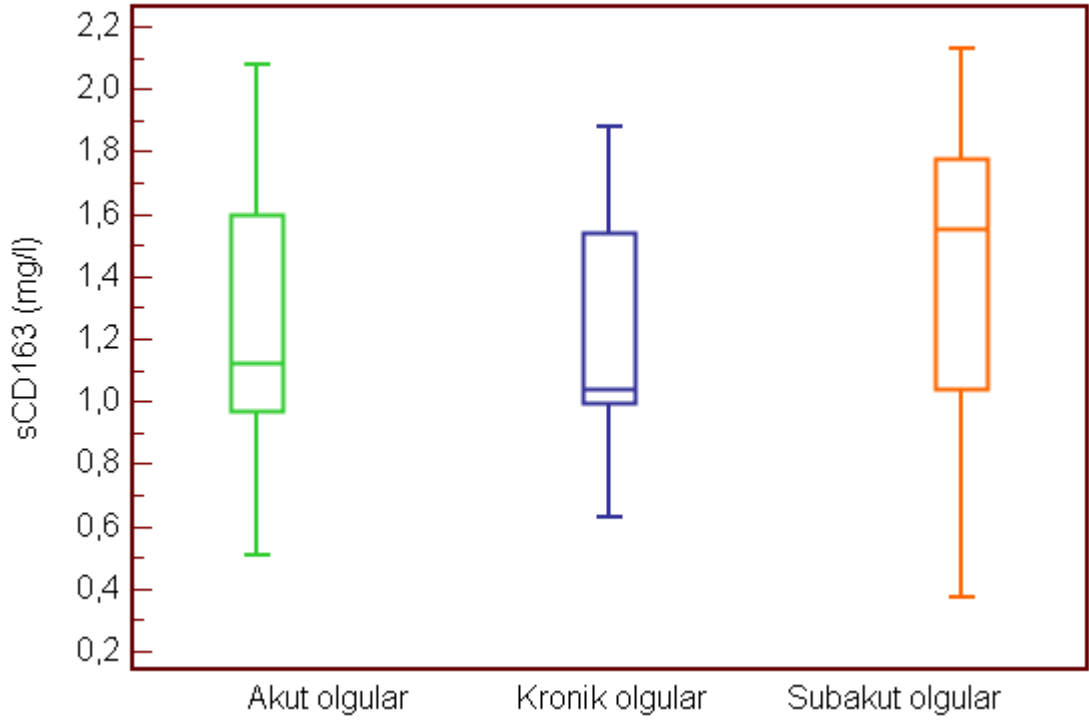


Şekil-7: Akut, subakut, kronik brusellozlu hastalarda HMGB1 düzeyleri.

Akut, subakut, kronik brusellozlu hastalarda serum sCD163 düzeyleri karşılaştırıldığında hasta- kontrol grubunun aksine anlamlı bir fark saptanmamıştır. ($p=0.427$) (Tablo-9, Şekil-8).

Tablo-9 Akut, subakut, kronik brusellozlu hastalarda sCD163 düzeylerinin karşılaştırılması.

sCD163 (mg/L)	Akut olgular	Subakut olgular	Kronik olgular	<i>p</i>
Ortanca Değer	1,12	1,55	1,04	0,427
(minimum-maksimum)	(0,51- 2,08)	(0,37- 2,13)	(0,63- 1,88)	

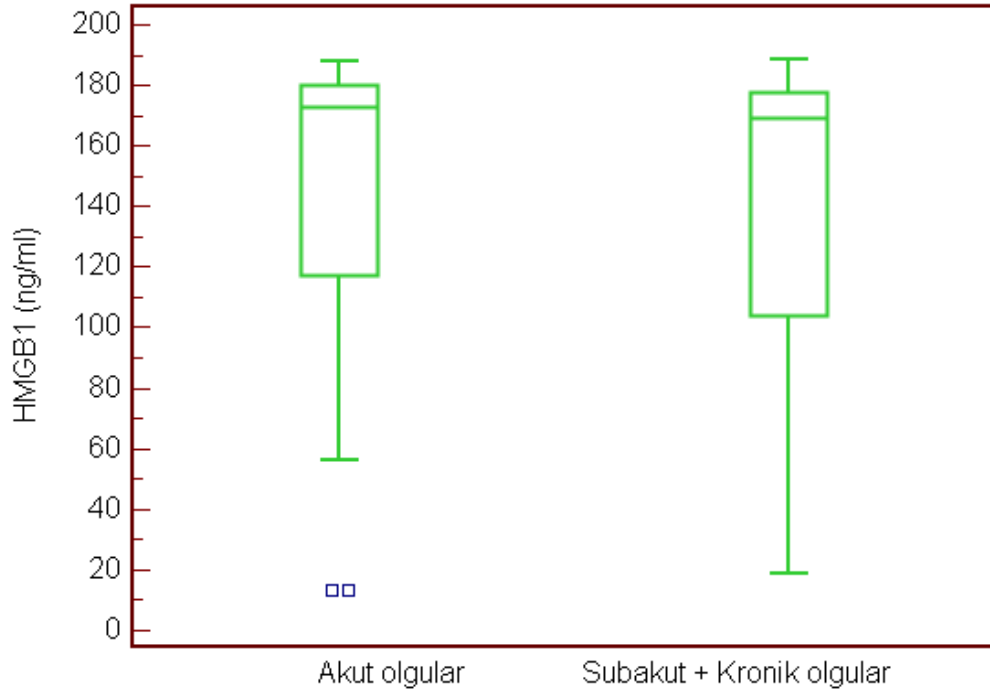


Şekil-8: Akut, subakut, kronik brusellozlu hastalarda sCD163 düzeyleri.

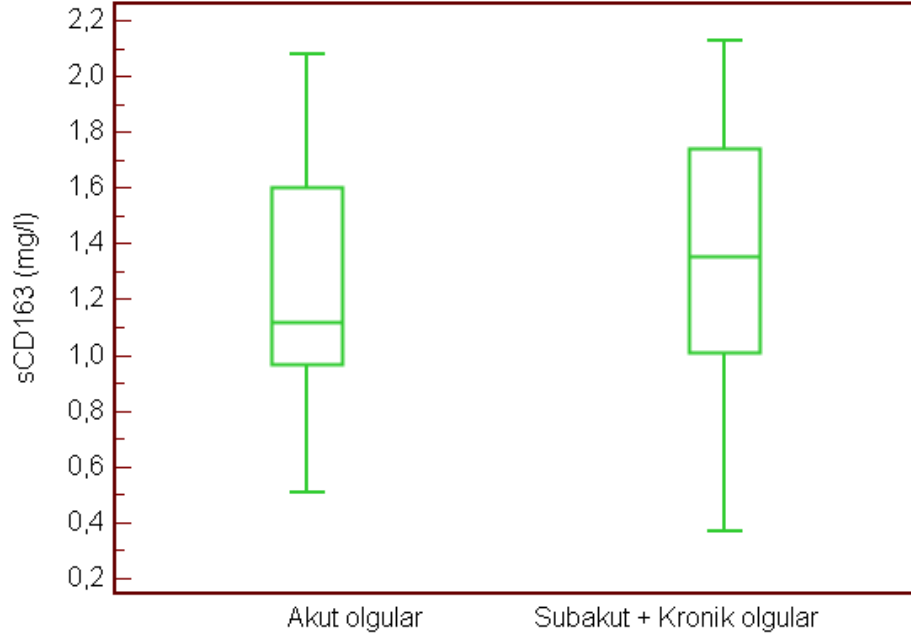
Serum HMGB1 ve sCD163 ölçümleri akut ve subakut + kronik olgular bazında karşılaştırıldığında akut brusellozlu olgularda istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo- 10, Şekil-9 ve -10).

Tablo-10: Akut ve subakut, kronik brusellozlu hastalarda HMGB1 ve sCD163 düzeyleri.

	Akut olgular	Subakut ve Kronik olgular	<i>p</i>
HMGB1 (ng/ml)	173,05 (13,19- 187,99)	169,39 (18,52- 188,23)	0,541
sCD163 (mg/L)	1,119 (0,51- 2,08)	1,355 (0,37- 2,13)	0,548



Şekil-9: Akut ve subakut, kronik brusellozlu hastalarda HMGB1 düzeyleri.

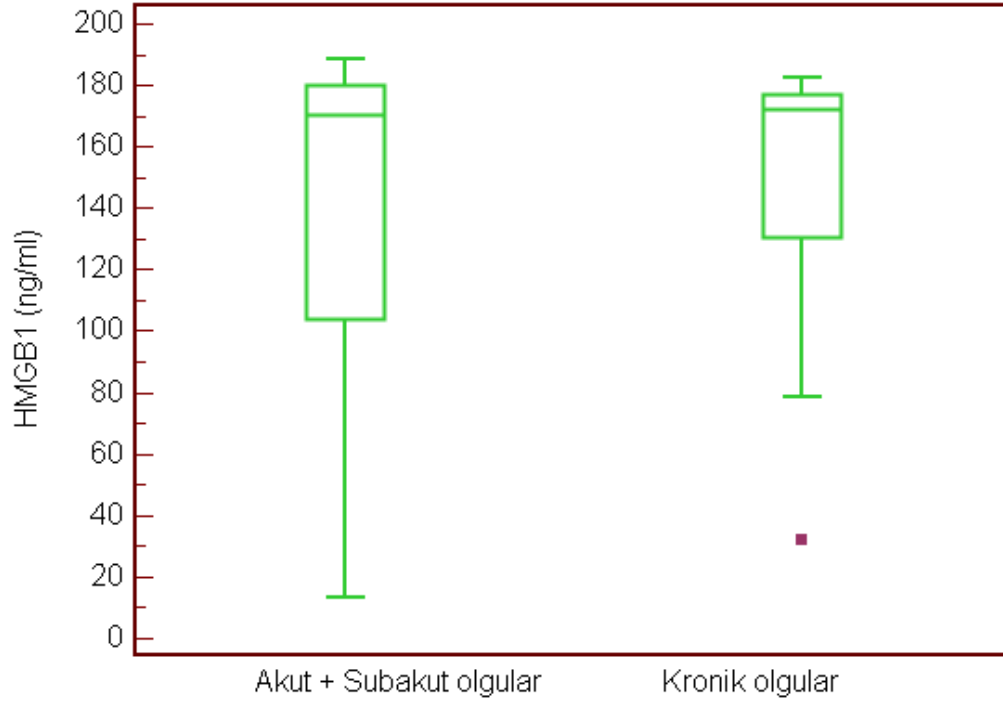


Şekil-10: Akut ve subakut, kronik brusellozlu hastalarda sCD163 düzeyleri.

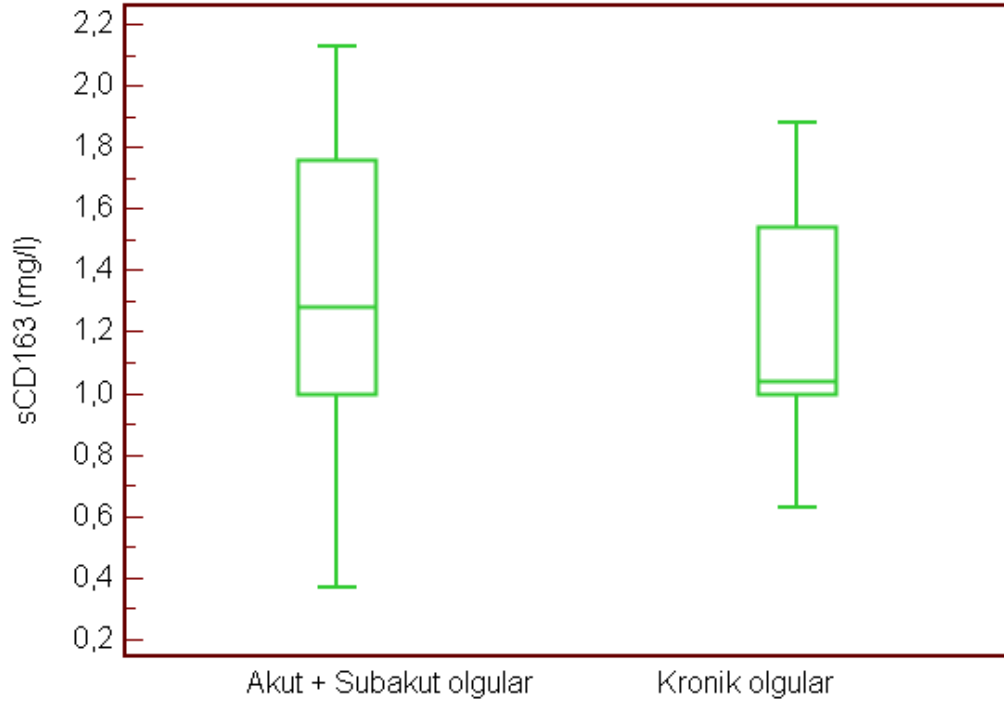
Serum HMGB1 ve sCD163 ölçümleri akut+subakut ve kronik olgular bazında karşılaştırıldığında kronik brusellozlu olgularda istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo- 11, Şekil-11 ve -12).

Tablo-11: Akut+subakut ve kronik brusellozlu hastalarda HMGB1 ve sCD163 düzeyleri.

	Akut ve Subakut olgular	Kronik olgular	p
HMGB1 (ng/ml) (minimum-maksimum)	170,56 (13,19- 188,23)	172,35 (62- 182,48)	0,801
sCD163 (mg/L) (minimum-maksimum)	1,28 (0,37- 2,13)	1,04 (0,63-1,88)	0,487

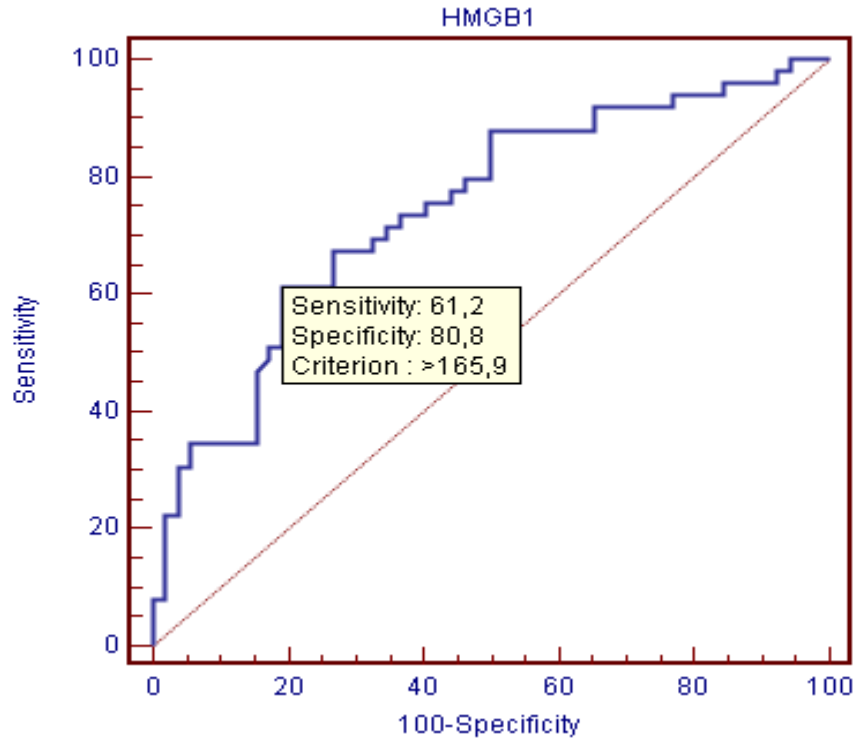


Şekil-11: Akut+subakut ve kronik brusellozlu hastalarda HMGB1 düzeyleri.



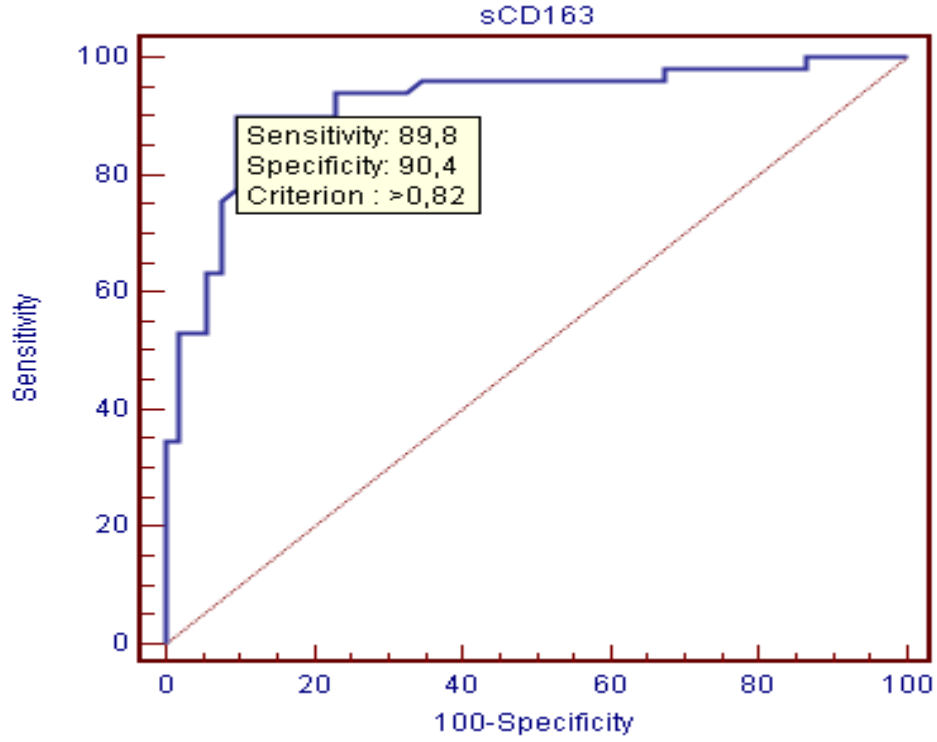
Şekil-12: Akut+subakut ve kronik brusellozlu hastalarda sCD163 düzeyleri.

Pro-enflamatuvar sitokin olarak HMGB1'in hastaların tanısında kullanılabilecek yeni bir test olarak kabul edilip edilemeyeceği araştırıldı. Bu doğrultuda HMGB1'in non-enfekte kontrol grubu ile hasta grubunu ayırabilmedeki performansı incelendiğinde, HMGB1 testi için ROC eğrisi altında kalan alan (AUC) 0,744 olarak bulunmuştur ($p < 0,001$). Buna göre HMGB1 testinin, non-enfekte kontrol grubu ile hasta grubunu ayırmadaki performansı istatistiksel olarak anlamlıdır. HMGB1 testi için eşik değeri $>165,99$ olarak alındığında, duyarlılığı %61,2 (%95 güven aralığı=46,2-74,8) ve özgüllüğü %80,8 (%95 güven aralığı=67,5-90,4) olarak bulunmuştur (Şekil-13).



Şekil-13: HMGB1 testi için ROC eğrisi.

Anti-enflamatuvar sitokin olarak CD163'ün non-enfekte kontrol grubu ile hasta grubunu ayırabilmedeki performansı incelendiğinde, ROC eğrisi altında kalan alan (AUC) 0,920 olarak bulunmuştur ($p < 0,001$). Buna göre CD163, non-enfekte kontrol grubu ile hasta grubunu ayırmadaki performansı istatistiksel olarak anlamlıdır. Brusellozlu olgularda tanı testi olarak bakıldığında, CD163 testinin eşik değeri $>0,82$ olarak alındığında duyarlılığı %89,80 (%95 güven aralığı=77,8-96,6) ve özgüllüğü %90,38 (%95 güven aralığı=79,0-96,8) olarak bulunmuştur (Şekil-14).

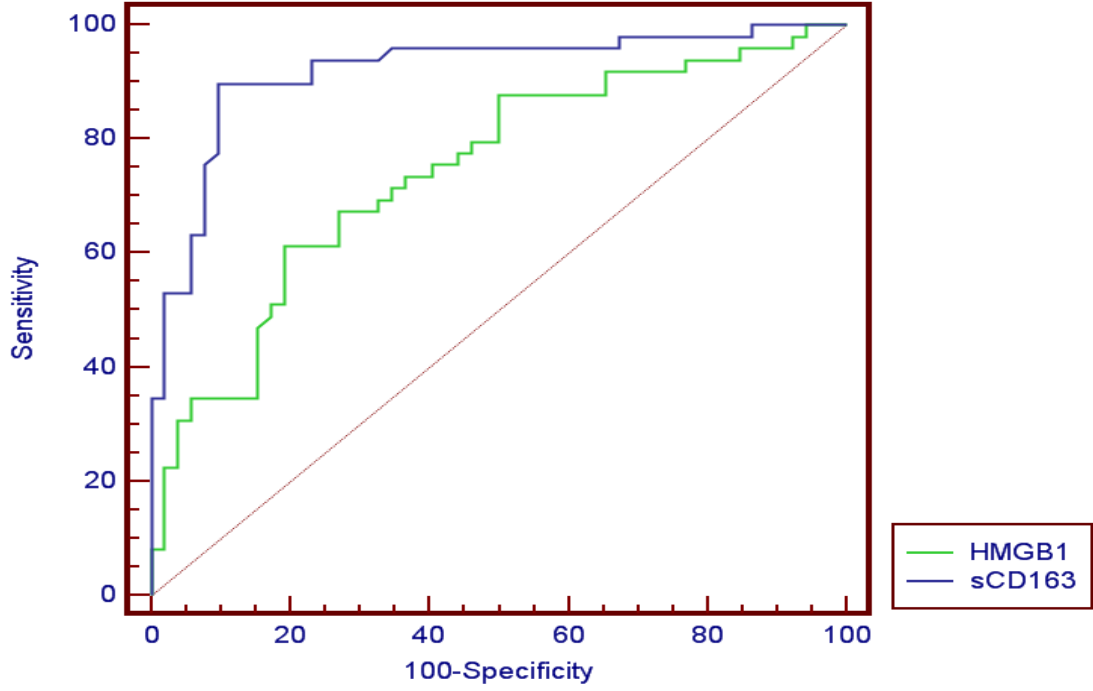


Şekil-14: sCD163 testi için ROC eğrisi.

Brusellozlu hastaların tanısında ve takibinde kullanılabilecek yeni tanı testleri olarak HMGB1 ve CD163 karşılaştırıldığında, hasta ve kontrolleri ayırmada CD163'ün HMGB1'e göre daha üstün performansa sahip olduğu bulunmuştur ($p=0,001$). Ayrıca CD163'in duyarlılık ve özgüllük değerlerinin HMGB1'inkinden daha yüksek olduğunu saptadık (Tablo- 12, Şekil-15).

Tablo-12: Brusellozlu hastalarda CD163 ve HMGB1'in karşılaştırılması.

	Duyarlılık	Özgüllük	Eşik değer
HMGB1 (ng/ml)	%61,22	%80,8	>165,9
CD163 (mg/L)	%89,80	%90,38	>0,82



Şekil-15: sCD163 ve HMGB1'in ROC Eğrilerinin Karşılaştırılması.

Hasta grupta HMGB1 ve CD163 arasındaki korelasyon incelendiğinde, HMGB1 ile CD163 arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunmuş; ancak HMGB1 ve CD163 ile LÖKOSİT, sedim ve CRP arasında anlamlı korelasyon tespit edilememiştir (Tablo-13).

Tablo-13: HMGB1/sCD163 ve diğer enflamatuvar belirteçler arasındaki korelasyon.

HMGB1 ile korelasyon	<i>r</i>	<i>p</i>	sCD163 ile korelasyon	<i>r</i>	<i>p</i>
sCD163	0,398	0,005	HMGB1	0,398	0,005
Sedimentasyon	-	0,061	Sedimentasyon	-	0,685
CRP	-	0,251	CRP	-	0,744
Lökosit sayısı	-	0,296	Lökosit sayısı	-	0,111

TARTIŞMA VE SONUÇ

Aslında bir zoonoz olmakla beraber insanlarda ondülan ateş, artrit, endokardit, osteomyelit gibi klinik tablolara yol açan Bruselloz'da *Brucella* bakterisine karşı oluşan koruyucu immün yanıtın anlaşılması ve bu immün yanıtı güçlendiren *Brucella*'ya özgül protein antijenlerin saptanması, bruselloz kontrolünde etkili olabilecek yeni aşuların geliştirilmesinde, yeni tanı reaktiflerinin hazırlanmasında ve tedavi için yeni yaklaşımların belirlenmesinde bize yol gösterici olabilir.

Brucella enfeksiyonlarına karşı gelişen konak immün yanıtlarından antijen spesifik T hücre aktivasyonu, CD4⁺, CD8⁺ T hücreleri ve sıvısal immün cevap rol oynamaktadır. Bununla birlikte asıl koruyucu immün yanıt hücresel immünitedir. Hücresel bağışıklıkta temelde iki tip reaksiyon rol oynar. T hücre kökenli sitokinler, mikroorganizmaların öldürülmesine yol açarken, diğer taraftan CD8⁺ sitotoksik T lenfositleri yolu ile enfekte hücrelerin lizisi gerçekleşir (95,96).

Hem CD4⁺ hem de CD8⁺ T hücreleri özellikle salgıladıkları IFN- γ ile makrofajların bakterisidal aktivitelerini arttırması en etkili mekanizma olarak görülmektedir. Bu bağlamda makrofaj aktivasyonunun değerlendirilebildiği belirteçlerin kullanılması diagnostik ve prognostik değer taşıyabilir.

Lokal ve sistemik enfeksiyonların varlığının gösterilmesi, etkenin bakteriyel, viral ve mantar ayrımının yapılması ve prognozunun değerlendirilmesinde CRP, HMGB1 ve sCD163 gibi biyomarkerlar önemli bir yere sahiptir (97, 98). HMGB1, son 10 yılda yapılan pek çok çalışmada sepsisin geç dönem biyomarkeri olarak incelenmiştir (44, 45, 92,95, 99).

Enflamasyonun geç mediyatörü olarak salınan HMGB1 sistemik enflamatuvar yanıt patogeneze erken mediyatör yanıtından sonra katılır (45). Endotoksin verilmesinden 8 saat sonra ilk olarak serumda tespit edilir ve 16-32 saate kadar artarak plato düzeyine ulaşır (44). Benzer olarak, deneysel sepsis modellerinde (çekal ligasyon ve perforasyon), peritonit indüksiyonundan 18 saat sonra serumda HMGB1 saptandığı ve 72 saate

kadar serum düzeylerinin yüksek kaldığı gösterilmiştir (92). HMGB1'in gecikmiş ortaya çıkışı, deneysel endotoksemi veya sepsise sekonder letalitenin başlangıcı ile paralellik gösterir ve sistemik enflamatuvar yanıtın TNF- α ve önceden tanımlanmış diğer erken etkili mediyatörlerinden farklıdır (93). Klinik çalışmalar da, serum HMGB1 seviyelerinin belirgin olarak arttığını göstermiştir. Septik veya sepsise sekonder organ yetmezlikli hastaların serum HMGB1 düzeyleri sağlıklı gönüllülere göre belirgin olarak yüksek saptanmıştır (44).

CD163 reseptörü, akut ve kronik enflamasyonda, enflamasyonun sonlandırılması aşamasında önemli bir düzenleyici mediatördür (63, 64, 68). Enflamasyonlu dokuda makrofaj yanıtının düzenlenmesinde önemli olduğu görülmüştür. Sistemik enflamasyonu olan hastalarda dolaşımdaki monositler üzerinde ekspresyonu artmaktadır (67). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda CD163'un tolerans indüksiyonu ve doku rejenerasyonunda önemli görevler üstlendiği görülmüştür (65, 69). Bazı *in vitro* çalışmalarda soluble CD163'ün (sCD163) insan T lenfositlerinin aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe ettiği (70, 71) ve böylece enflamatuvar yanıtın baskılanmasını kolaylaştırdığı gösterilmiştir (71, 72). Frigler ve ark. sCD163'ün CD4⁺ T lenfositler üzerinde direkt baskılayıcı etkisi olduğunu göstermişlerdir (72). Bununla birlikte sCD163 enflamasyon, sepsis ve immünohematolojik hastalıklarda önemli bir biyolojik belirteç olarak kullanılabilir. Bu hastalıkların izlenmesinde prognostik bir belirteç olarak kabul edilmektedir.

Gani ve ark (100) yapmış olduğu bir çalışmada, bakteriyemili hastalarda HMGB1 ve sCD163 düzeylerine bakılmış ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda bakteriyemi olmasının yanısıra hücrel immünitinin etkin olduğu brusellozda makrofaj aktivasyonuna bağlı olarak HMGB1 ve sCD163'ün serum düzeylerinde değişiklik olabileceği hipotezinden yola çıkılarak Brusellozlu hastalarda serum HMGB1 ve sCD163 düzeylerine bakılarak sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Brusellozlu hastalarda pro-enflamatuvar sitokin olarak HMGB1 ve anti-enflamatuvar sitokin olarakta sCD163 kontrol grubuna göre

anlamli olarak yuiksek bulundu. HMGB1 ve sCD163'un brusellozlu hastaların tanısında ve prognozunda biyolojik bir belirteç olarak kullanılmasını belirlemek amacıyla yapılan bu prospektif çalışma; bu grupta ilk çalışma özelliğini taşımaktadır.

Splichalova ve ark (101) yapmış olduğu bir çalışmada; domuz yavrularında virulan enterik patojenlerle oluşturulan deneysel sepsis modelinde HMGB1, enflamatuvar sitokinlerle ilişkili bulunmuş ve ciddi sepsis olgularında biyolojik bir belirteç olduğu vurgulanmıştır.

HMGB1'in aktif salınımı, ekzojen bakteriyel endotoksin veya endojen proinflatuar sitokin (TNF- α , IL-1 β) stimülasyonu ile doz ve zaman bağımlı olarak gerçekteşir (44, 85, 86). Genetik olarak lipopolisakkarite dirençli farelere intratrakeal verilen HMGB1 akciğerde nötrofil birikimini ve proinflatuar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β) akciğer dokusunda lokal üretimini stimüle ettiği saptanmıştır (87). HMGB1'in intraserebroventriküler verilmesi beyinde TNF- α ve IL-6 yapımını arttırmaktadır (90). Brusellozlu hastalarda immünite ve sitokin profili ile ilgili Zapata ve ark (102) yapmış olduğu bir çalışmada tedavi öncesi ve tedavi sonrası sitokin düzeyleri ölçülmüş ve brusellozlu hastalarda özellikle TNF- α , IL-1 β , IFN- γ düzeyleri olmak üzere sitokin düzeylerinde belirgin artış gözlenmiş ve tedavi sonrası ölçülen sitokin düzeylerinin ise; sağlıklı kontrollere yakın değerler olduğu görülmüştür. Akbulut ve ark (102) yapmış olduğu başka bir çalışmada; brusellozlu hastalarda IL-6, IFN- γ ve TNF- α düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yuiksek bulunmuş, akut ve subakut bruselloz olguları karşılaştırıldığında anlamlı bir sitokin yuiksekliği tespit edilmemiştir. Akbulut ve ark'larının (102) bir pro-enflamatuvar sitokin olan TNF- α ile elde ettikleri verilere benzer olarak, çalışmamızda da akut, subakut ve kronik brusellozlu hastalarda serum HMGB1 ve sCD163 düzeyleri ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum HMGB1 ve sCD163 düzeyleri anlamlı olarak yuiksek bulundu. Ancak olgular kendi aralarında alt gruplar olarak değerlendirildiğinde serum HMGB1 ve sCD163 düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Deneysel olarak HMGB1'in salınımını ya da aktivitesini inhibe eden tedavi stratejileri, hayvanlarda sepsise bağlı ölümü önlemiştir. Yang ve ark (92) fareler üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada deneysel olarak sepsis ve hemoraji oluşturdukları farelerde anti-HMGB1 antikoru veya HMGB1 inhibitörleri ile HMGB1'in salınımını veya aktivitesini inhibe ettikleri hayvanlarda organ hasarı gelişmesini önlemişler ve dolayısıyla yaşam sürelerinin arttığını saptamışlardır. HMGB1 antikoru ve HMG A box (HMG'nin N-terminalinde yer alan pozitif yüklü bölge) HMGB1'i antagonize ederken, etil pirüvatın HMGB1 salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (44).

Barnay-Verdier ve ark (103) yapmış olduğu bir çalışmada; sepsisli hastaların %37,5'da ve sağlıklı kan donörlerinin ise %15'inde HMGB1'e spesifik Ig G antikoru varlığı saptanmış ve septik şok olgularında, yaşayanlarda bu antikoru ölen hastalara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve dolayısıyla anti-HMGB1 antikoru varlığı surveye ilişkili bulunmuş.

Son dönemlerde hem hayvanlar hemde insanlar üzerinde yapılan çalışmalar göstermiştir ki HMGB1; romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, polimiyozit vb. hastalıkların patogeneğinde de önemli bir role sahiptir. Bu hastalıkların tedavisinde yeni yaklaşımlar HMGB1'in hücreden salınımının ve reseptörleri ile etkileşimini inhibe edilmesi olarak görülmektedir (104)

Çalışmamızda pro-enflamatuvar sitokin olarak HMGB1'in brusellozlu hastaların tanısında kullanılabilecek yeni bir test olarak kullanılabilirliği araştırıldı. Bu doğrultuda HMGB1'in sağlıklı kontrol grubu ile hasta grubunu ayırabilmedeki performansı incelendiğinde, HMGB1 testi sağlıklı kontrol grubu ile hasta grubunu ayırmadaki performansı istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Brusellozlu olgularda tanı testi olarak değerlendirildiğinde HMGB1 testi için eşik değeri >165,99 olarak alındığı zaman testin duyarlılığı %61,2 (%95 güven aralığı = 46,2 - 74,8) ve özgüllüğü %80,8 (%95 güven aralığı= 67,5 - 90,4) olarak saptandı.

Yapılan çalışmalarda sCD163 pek çok klinik durumla ilişkili bir biyolojik belirteç olarak saptanmıştır. Koroner arter hastalığı,

transplantasyon, ateroskleroz, RA, lizozomal Gaucher hastalığı, kanser ile ilişkili yeni makrofaja spesifik biyobelirteç olarak gösterilmektedir (47, 79). Aynı zamanda (SIRS), sepsis, bakteriyemi, mononükleoz, leishmaniasis, Crohn hastalığı, Çölyak, spondiloartropati, sinovit, skleroz, hepatit ve fulminan karaciğer yetmezliğinde enflamasyonun saptanmasında önemli bir rol oynar (64, 65, 71). Lenfoma, reaktif hemofagositik sendrom, histiositik neoplazm, miyeloproliferatif hastalıklar, myelo-monositik lösemi gibi immünohematolojik hastalıklarla da ilişkili bulunmuştur. Aynı zamanda monositik enflamasyonla karakterize diğer durumlarla da ilişkisi dökümanite edilmiştir. Yapılan çalışmalarda bu hastalıkların iyileşmesi ile korele olarak bu reseptör seviyelerinde artış saptanmıştır. (58, 63).

Çalışmamızda brusellozlu hastalarda, anti-enflamatuvar sitokin olarak CD163'ün sağlıklı kontrol grubu ile hasta grubunu ayırabilmedeki performansı incelendi. sCD163, brusellozlu olgular ile sağlıklı kişileri ayırmadaki performansı istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Brusellozlu olgularda tanı testi olarak değerlendirildiğinde CD163 testinin eşik değeri 0,82 olarak alındığında duyarlılığı %89,80 (%95 güven aralığı = 77,8 - 96,6) ve özgüllüğü %90,38 (%95 güven aralığı = 79,0 - 96,8) olarak saptandı.

Çalışmamızda brusellozlu hastaların tanısında ve takibinde kullanılabilecek yeni tanı testleri olarak HMGB1 ve sCD163 karşılaştırıldı. Brusellozlu olguları sağlıklı kontrollerden ayırmada sCD163'ün HMGB1'e göre daha üstün performansa sahip olduğu görüldü. Ayrıca brusellozlu hastalarda sCD163'ün duyarlılık ve özgüllük değerlerinin HMGB1'inkinden daha yüksek olduğu da gösterildi.

Çalışmamızda brusellozlu olgularda HMGB1 ve sCD163 arasında korelasyon olup olmadığı araştırıldığında Brusellozlu olgularda HMGB1 ve sCD163 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu tespit edildi. Ancak HMGB1 ve sCD163 ile sedimantasyon, lökosit ve CRP gibi özgül olmayan konvensiyonel testler arasında korelasyon saptanmadı. Gani ve ark (100) yapmış olduğu bir çalışmada da sepsis tanılı olgularda HMGB1 ile CRP, sedimantasyon, lökosit sayısı ve prokalsitonin arasında korelasyon saptanırken sCD163 ile herhangi bir korelasyon tespit edilmemiştir.

Sonuç olarak; letal sistemik enflamasyonun, monosit veya makrofaj kaynaklı geç etkili sitokini olarak HMGB1 ve enflamasyon, sepsis ve immünohematolojik hastalıklarda önemli bir biyolojik belirteç olarak sCD163'ün brusellozlu olguların tanısında ve bu hastaların izlenmesinde prognostik bir belirteç olarak kullanılabileceği kanısındayız. Bununla beraber hem HMGB1 hem de sCD163 brusellozun akut, subakut ve kronik formlarını ayırt edmede yetersiz kalmaktadır. Ancak bu konuda kapsamlı daha standardize edilmiş test kitleri ile daha fazla olgu içeren çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Edward JY. Brucella species. In: Mandell GL, (ed).Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE. Principles and Practice of Infectious Diseases 7th edition.Philelphia: Churchill Livingstone, 2010: 2921-4.
2. Doğanay M, Bruselloz, Willke Topçu A, Söyletir G, Enfeksiyon Hastalıklar ve Mikrobiyolojisi. 3.baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 897-908.
3. Doğanay M, Aygen B. Human brucellosis; an overview, Int J Infect Dis 2003; 7; 173-82.
4. Baysal B. Brucella. Ustaçelebi Ş (editörler). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1.baskı. Ankara: Güneş Kitapevi; 1999; 571-7.
5. Sözen T H. Bruselloz. Topçu AW, Söyletir G, Doganay M (editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyolojisi. 2. baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri;2002; 1: 636-42.
6. T.C. Tarım Bakanlığı Veteriner İşleri Genel Müdürlüğü: 'Sığırlarda Brusellosis ve Tüberkülozis Mücadele Projesi-14 yıllık' Tarım Bakanlığı Brusellosis ve Tüberkülozis Şubesi, Ankara; 1965.
7. Golem SB: Mmleketimizdeki insan ve ehli hayvanlarda Brucella bakımından serolojik araştırma, Türk Hıfsız Tecr Biol Mec 1943;1: 105.
8. Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş,Tümbay E, Mete Ö. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1.baskı. Ankara. Güneş Kitabevi;1996: 571-7.
9. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. Lancet Infect Dis 2006; 6: 91-9.
10. Sağlık Bakanlığı verileri (Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Çalışma Yıllığı 2005).
<http://www.sb.gov.tr/TR/belge/1-2953/temel-saglik-hizmetleri-generel-mudurlugu-calisma-yilligi-.html> (erişim tarihi:24.01.2012)
11. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 7.baskı. İzmir: Barış Yayınları; 1992. 157-68.
12. Young EJ. Brucella species. In:Mandel GL, Bennet JE, Dolin R(eds). Principles and Practice of Infectious Disease. Sixth edition Pennsylvania: Churchill Livingstone 2005; 2, 2669- 73.
13. Smith LD, Ficht TA. Pathogenesis of Brucella. Crit. Rev. Mikrobiol 1990;17: 209.
14. Sümerkan B. Brusella türleri. Topçu AW, Söyletir G, Doganay M (editörler).Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyolojisi. 2. baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri;2002.1647-52.
15. Galanakis E, Makis A, Bourantas K.L and Papadopoulou Z.L. Interleukin-3 and interleukin-4 in childhood brucellosis. Infection 2002;30: 33- 4.

16. Hoover DL, Friedlander AM. Brucellosis. Zajtchuk R, Bellamy RF Takafuji ET, Franz DR (eds). Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. Department of the Army, Office of The Surgeon General, Borden Institute;1997. 513-21.
17. Dilmener M. Bruselloz'un klinik prezentasyonları. Klimik Derg 1990;3: 23-5.
18. Hall W.H. Brucellosis. In:Evans A.S, Brachman, P.S(eds).Bacterial infections of humans. London. 2'nd edition, Plenum Publishing Corporation;1991; 133-51.
19. Çevik M.A. Bruselloz. Klinik Özellikler. Bruselloz Sempozyumu 3. Harran Enfeksiyon Günleri. Harran Üniversitesi Şanlıurfa 2005.
20. Aygen B, Doğanay M, Sümerkan B, Yıldız O, Kayabaş Ü. Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: a retrospective evaluation of 480 patients. Med Mal Infect 2002; 32:485-93.
21. Öztürk R, Soysal F, Atlaş K. Sperm kültüründe Brucella melitensis Üretilen Bir Epididimo-Orşit Bruselloz Olgusu. Türk Mikrobiyol Cem Derg 23: 148-50.
22. Gür A, Geyik MF, Dikici B, Nas K ve ark. Complications of brucellosis in different age groups: A study of 283 cases in Southeastern Anatolia of Turkey. Yonsei Medical Journal 2003; 44: 33- 44.
23. Akıncı E, Bodur H, Çevik MA, et al. A complication of brucellosis: epididymoochitis. Int J Infect Dis 2006; 10: 171-7.
24. Şenol Ş, Yamazhan T, Gökengin D. Akut prostatit ile seyreden seronegatif bir bruselloz olgusu. Klimik Derg 2004; 17: 209-10.
25. Fenkçi V, Çeviroglu S, Yılmaz M. Ovarian abscess due to Brucella melitensis. Scan J Infect Dis 2003; 35: 762-3.
26. Mamıkoglu L. Bruselloz. Ulusoy S, Leblebicioglu H, Arman D (editörler). Gram negatif bakteri enfeksiyonları. 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi;2004. 327- 43.
27. Güngör K, Bekir NA, Namiduru M. Ocular complications associated with brucellosis in an endemic area. Eur Ophthalmol 2002;12:232-7.
28. Gotuzzo E, Carillo C. Brucella. Gorbach S.L, Bartlett J.G, Blacklow N.R (eds). Infectious Diseases. 2'nd edition. Pennsylvania: W.B. Saunders Company;1998. 1837-45.
29. Baysallar M, Aydoğan H, Kiliç A, Küçükaraaslan A, Senses Z, Dogancı L. Evaluation of the BacT/ALERT and BACTEC 9240 automated blood culture systems for growth time of Brucella species in a Turkish tertiary hospital. Med Sci Monit 2006;12:235-8.
30. Türkçapar N, Kurt H. Bruselloz. Uzun Ö, Ünal S(editörler). Güncel Bilgiler Işığında Enfeksiyon Hastalıkları. 2.baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi;2002. 1015-24.
31. Badur S. Brusellozda Serolojik Tanı ve seroepidemioloji. Klimik Derg 1990;3:17- 20.

32. Kaya O, Yaylı G. Bruselloz. MN Dahili Tıp Bilimleri 2006;1:222-7.
33. Collins HL, Kaufmann HES. Immune Responses To Intracellular Bacteria. Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Kotzin BL, Schroeder HW (eds). Clinical Immunology Principles and Practice. 2'nd edition, England: Mosby; 2001. 26:1-14.
34. Ko J, Splitter GA. Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. Clin Microbiol Rev 2003; 16: 65-78.
35. Arda M. Bağışıklık (İmmünite). Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, özgür M, Diker S(editörler). İmmunoloji. 1. baskı Ankara: Medisan Yayınevi;1994. 9-18.
36. Aydınтуğ O. İmmun sistemin genel özellikleri ve immün yanıt. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S(editörler). İç hastalıkları 2. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi;2005. 2555-62.
37. Kılıçturgay K. Kan hücrelerinin gelişimi. Kılıçturgay K (editör) İmmunolojiye giriş 3. baskı. İstanbul: Güneş Nobel Tıp Kitabevleri;1994.8-24.
38. Covert J, Mathison AJ, Eskra L, Banai M, Splitter G. *Brucella melitensis*, *B. neotomae* and *B. ovis* elicit common and distinctive macrophage defense transcriptional responses. Exp Biol and Med 2009;234:1450-67.
39. Golding B, Scott DE, Scharf O et al. Immunity and protection against *Brucella abortus*. Microbes and Infect 2001;3: 43-8.
40. Direskeneli H. İmmun sistemin hücreleri. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S(editörler). İç hastalıkları. 2. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi;2005. 2:2562-65.
41. Dornand J, Antoine G, Virgine L et al. The innate immune response against *Brucella* in humans. Veterinary Microbiology 2002; 90: 383-94.
42. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. (Çeviri editörü:Çevikbaş U.) Temel Patoloji, 5. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1995:25-47.
43. Mollay RG, Monnick JA, Rodrick ML. Cytokines, sepsis and immunomodulation. Br J Surg 1993 80: 289-97.
44. Wang H, Yang H, Tracey KJ. Extracellular role of HMGB1 in inflammation and sepsis. J Intern Med. 2004;255: 320-31.
45. Andersson UG, Tracey KJ. HMGB1, a pro-inflammatory cytokine of clinical interest: introduction. J Intern Med. 2004;255: 318-9.
46. Philippidis P, Mason JC, Evans BJ, et al. Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis. Circ Res 2004; 94: 119–26.
47. Fabrick BO, Dijkstra CD, Van Den Berg TK. The macrophage scavenger receptor CD163. Immunobiol 2005; 210:153–60.

48. Sarrias MR, Gronlund J, Padilla O, et al. The scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) domain: an ancient and highly conserved protein module of the innate immune system. *Crit Rev Immunol* 2004; 24: 1–37.
49. Bruce HD, Zarev PV. Human monocyte CD163 expression inversely correlates with soluble CD163 plasma levels. *Cytometry B Clin Cytom* 2005; 63B: 16–22.
50. Buechler, C, Ritter M, Orso E, et al. Regulation of scavenger receptor CD163 expression in human monocytes and macrophages by pro- and anti- inflammatory stimuli. *J Leukoc Biol* 2000; 67: 97–103.
51. Kodama T, Freeman M, Rohrer L, et al. Type I macrophage scavenger receptor contains alpha-helical and collagen-like coiled coils. *Nature* 1990; 343: 531–5.
52. Ritter M, Buechler C, Langmann T, et al. Genomic organization and chromosomal localization of the human CD163 (M130) gene: a member of the scavenger receptor cysteine-rich superfamily. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 260: 466–74.
53. Zwadlo-Klarwasser G, Neubert R, Stahlmann R, et al. Influence of dexamethasone on the RM 3/1-positive macrophages in the peripheral blood and tissues of a new world monkey (the marmoset *Callithrix jacchus*). *Int Arch Allergy Immunol* 1992; 97: 178–80.
54. Sanchez C, Domenech N, Vazquez J, et al. The porcine 2A10 antigen is homologous to human CD163 and related to macrophage differentiation. *J Immunol* 1999; 162: 5230-37.
55. Schaer DJ, Schoedon G, Schaffner A. Assignment of the CD163 antigen (CD163) to mouse chromosome 6 band F2 by radiation hybrid mapping. *Cytogenet Genome Res* 2002; 98: 231.
56. Law SKA, Micklem KJ, Shaw JM, et al. A new macrophages differentiation antigen which is a member of scavenger receptor superfamily. *Eur J Immunol* 1993; 23: 2320–5.
57. Vila JM, Padilla O, Arman M, et al. The scavenger receptor cysteine-rich superfamily (SRCR–SF). Structure and function of group B members. *Immunologia* 2000; 19: 105–21.
58. Gravensen JH, Madsen M, Moestrup SK. CD163: a signal receptor scavenging haptoglobin-hemoglobin complexes from plasma. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34: 309–14.
59. Högger P, Dreier J, Droste A, et al. Identification of the integral membrane protein RM3/1 on human monocytes as a glucocorticoid-inducible member of the scavenger receptor cysteine-rich family (CD163). *J Immunol* 1998; 161: 1883–90.
60. Sulahian TH, Högger P, Wahner AE, et al. Human monocytes express CD163, which is upregulated by IL- 10 and identical to p155. *Cytokine* 2000; 12: 1312-21.

61. Sulihian TH, Hintz KA, Wardwell K, et al. Development of an ELISA to measure soluble CD163 in biological fluids. *J Immunol Methods* 2001; 252: 25–31.
62. Wenzel I, Roth J, Sorg C. Identification of a novel surface molecule, RM3/1, that contributes to the adhesion of glucocorticoid-induced human monocytes to endothelial cells. *Eur J Immunol* 1996; 26: 2758–63.
63. Bächli EB, Schaer DJ, Walter RB, et al. Functional expression of the CD163 scavenger receptor on acute myeloid leukemia cells of monocytic lineage. *J Leukoc Biol* 2006; 79: 312–8.
64. Hintz KA, Rassias JA, Wardwell K, et al. Endotoxin induces rapid metalloproteinase-mediated shedding followed by up-regulation of the monocytes hemoglobin scavenger receptor CD163. *J Leukoc Biol* 2002; 72: 711–7
65. Moestrup SK, Moller HJ. CD163: a regulated hemoglobin scavenger receptor with a role in the anti-inflammatory response. *Annals Med* 2004; 36: 347–54.
66. Schaer DJ, Boretti FS, Schoedon G, Schaffner A. Induction of the CD163-dependent haemoglobin uptake by macrophages as a novel anti-inflammatory action of glucocorticoids. *Brit J Haematol* 2002; 119: 239–43.
67. Weaver LK, Pioli PA, Wardwell K, et al. Up-regulation of human monocyte CD163 upon activation of cell-surface Toll-like receptors. *J Leukoc Biol* 2007; 81: 663–71.
68. Resnick D, Pearson A, Krieger M. The SRCR superfamily: a family reminiscent of the Ig superfamily. *Trends Biochem Sci* 1994; 19: 5-8.
69. Gratchev A, Guillot P, Hakiy N, et al. Alternatively activated macrophages differentially express fibronectin and its splice variants and the extracellular matrix protein beta1G-H3. *Scand J Immunol* 2001; 53: 386–92.
70. Högger P, Sorg C. Soluble CD163 inhibits phorbol ester-induced lymphocytes proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 288: 841–3.
71. Pioli PA, Goonan KE, Wardwell K, et al. TGF-B regulation of human macrophage scavenger receptor CD163 is Smad3-dependent. *J Leukoc Biol* 2004; 76: 500–8.
72. Frings W, Dreier J, Sorg C. Only the soluble form of scavenger receptor CD163 acts inhibitory on phorbol ester-activated T-lymphocytes, whereas membranebound protein has no effect. *FEBS Letters* 2002; 526: 93–6.
73. Guetta J, Strauss M, Levy NS, et al. Haptoglobin genotype modulates the balance of Th1/Th2 cytokines produced by macrophages exposed to free hemoglobin. *Atherosclerosis* 2007; 191: 48–53.
74. Strauss M, Levy AP. Regulation of CD163 associated casein kinase II activity is haptoglobin genotype dependent. *Mol Cell Biochem* 2008; 317: 131–5.

75. Langlois MR, Delangue JR. Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in humans. *Clin Chem* 1996; 42: 1589-600.
76. Levy AP. Haptoglobin: a major susceptibility gene for diabetic cardiovascular disease. *Israel Med Assoc J* 2004;6:308–10.
77. Schaer DJ. The macrophage hemoglobin scavenger receptor (CD163) as a genetically determined disease modifying pathway in atherosclerosis. (Letter to the editor). *Atherosclerosis* 2002; 163: 199–201.
78. Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen C, et al. Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature* 2001; 409: 198–201.
79. Kolackova M, Kudlova M, Kunes P, et al. Early expression of FcRI (CD64) on monocytes of cardiac surgical patients and higher density of monocyte anti-inflammatory scavenger CD163 receptor in „on-pump“ patients. *Med Inflamm* 2008; 2008: 235-461.
80. Canaple L, Decoville M, Leng M, Locker D. The Drosophila DSP1 gene encoding an HMG 1-like protein: genomic organization, evolutionary conservation and expression. *Gene* 1997; 184: 285–90.
81. Goodwin GH, Johns EW. The isolation and purification of the high mobility group (HMG) nonhistone chromosomal proteins. *Methods Cell Biol* 1977; 16: 257–67.
82. Wang H, Bloom O, Zhang M et al. HMGB-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999; 285: 248–51.
83. Landsman D, Bustin M. A signature for the HMG-1 box DNA-binding proteins. *Bioassays* 1993;15: 539–46.
84. Mosevitsky MI, Novitskaya VA, Iogannsen MG, Zabezhinsky MA. Tissue specificity of nucleo-cytoplasmic distribution of HMG1 and HMG2 proteins and their probable functions. *Eur J Biochem* 1989; 185: 303–10.
85. Wang H, Vishnubhakat JM, Bloom O et al. Proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor and interleukin 1) stimulate release of high mobility group protein-1 by pituicytes. *Surgery* 1999; 126: 389–92.
86. Rendon-Mitchell B, Ochani M, Li J et al. IFN-gamma induces high mobility group box 1 protein release partly through a TNF-dependent mechanism. *J Immunol* 2003; 170: 3890–7.
87. Abraham E, Arcaroli J, Carmody A, Wang H, Tracey KJ. HMG-1 as a mediator of acute lung inflammation. *J Immunol* 2000; 165: 2950–4.
88. Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* 1986; 234: 470–4.
89. Tracey KJ, Lowry SF, Fahey TJ et al. Cachectin/tumor necrosis factor induces lethal shock and stress hormone

- responses in the dog. *Surg Gynecol Obstet* 1987; 164: 415–22.
90. Agnello D, Wang H, Yang H, Tracey KJ, Ghezzi P. HMGB1, a DNA-binding protein with cytokine activity, induces brain TNF and IL-6 production, and mediates anorexia and taste aversion. *Cytokine* 2002; 18: 231–6.
 91. Sappington PL, Yang R, Yang H, Tracey KJ, Delude RL, Fink MP. HMGB1 B box increases the permeability of Caco-2 enterocytic monolayers and causes derangements in intestinal barrier function in mice. *Gastroenterology* 2002; 123: 790–802.
 92. Yang H, Ochani M, Li J et al. Reversing established sepsis with antagonists of endogenous HMGB1. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 2004; 101: 296–301.
 93. Wang H, Yang H, Czura CJ, Sama AE, Tracey KJ. HMGB1 as a late mediator of lethal systemic inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1768–73.
 94. Ombrellino M, Wang H, Ajemian MS et al. Increased serum concentrations of high-mobility-group protein 1 in haemorrhagic shock [letter]. *Lancet* 1999; 354: 1446–7.
 95. Yücel A. Bakteri, parazit ve funguslara karşı immün yanıt; Ustaçelebi S(editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. baskı Ankara. Öncü basımevi;1999. 267- 89.
 96. Oliveira SC, Soeurt N, Splitter G. Molecular and cellular interactions between *Brucella abortus* antigens and host immune responses. *Veterinary Microbiology* 2002;90:417-24.
 97. Marshall JC, Reinhart K: Biomarkers of sepsis. *Crit Care Med* 2009, 37: 2290-8.
 98. Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care Med*, 2010; 14: R15.
 99. Cinel I, Opal SM. Molecular biology of inflammation and sepsis:a primer. *Crit Care Med*. 2009; 37: 291–304.
 100. Gaïni S, Pedersen SS, Koldkjær OG, Pedersen C, Moestrup SK, Møller HJ. New immunological serum markers in bacteraemia: anti-inflammatory soluble CD163, but not proinflammatory high mobility group-box 1 protein, is related to prognosis. *Clin Exp Immunol* 2008; 151: 423–31.
 101. Splichalova A, Splichal I, Chmelarova P, Trebichavsky I. Alarmin HMGB1 Is Released in the Small Intestine of Gnotobiotic Piglets Infected with Enteric Pathogens and Its Level in Plasma Reflects Severity of Sepsis. *J Clin Immunol* 2011, 31:488- 97.
 102. Akbulut H, I. Celik, A. Akbulut. Cytokine levels in patients with brucellosis and their relations with the treatment. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25: 387–90.
 103. Barnay-Verdier S, Fattoum L, Borde C, Kaveri S, Gibot S, Maréchal V. Emergence of autoantibodies to HMGB1 is

- associated with survival in patients with septic shock, *Intensive Care Med* 2011, 37: 957–62
104. Pisetsky DS, Erlandsson-Harris H, Andersson U. High-mobility group box protein 1 (HMGB1): an alarmin mediating the pathogenesis of rheumatic disease. *Arthritis Res Ther.* 2008; 10: 209.
 105. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. Novel Strategies for the Treatment of Sepsis. *Nat Med* 2003; 9:517-24.
 106. Onofre G, Koláčková M, Jankovičová K, Krejsek J. Scavenger Receptor Cd163 And Its Biological Functions. *Acta Medica (Hradec Králové)* 2009;52:57–61

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocalarım sayın Prof. Dr. Safiye Helvacı'ya, Prof. Dr. Reşit Mıstık'a, Prof. Dr. E. Halis Akalın'a tezimin oluşumu, yürütülmesinde emeği ve desteği nedeniyle tez danışmanım sayın Prof. Dr. H. Barbaros Oral'a, yetişmemde emekleri olan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda yardım ve desteğini gördüğüm hocalarım sayın Prof. Dr. Suna Gedikoğlu'na, Prof. Dr. Güher Göral'a, Prof. Dr. Beyza Ener'e, Prof. Dr. Cüneyt Özakın'a, Doç. Dr. Yasemin Heper'e, Doç. Dr. Emel Yılmaz'a, Doç. Dr. Melda Sınırtaş'a, Uzm. Dr. Oktay Alver'e, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, tezimin istatistik analizini yapan sayın Deniz Sığırlı'ya, İmmünoloji Bilim Dalı'nda tezimin çalışılmasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm Doç. Dr. Ferah Budak'a, sayın Figen Aymak'a, laboratuvar, klinik, poliklinik ve kan merkezinde görev yapan hemşire, biyolog, teknisyen ve personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Beni yetiştiren, her türlü başarımda emeği olan, hayatımın her aşamasında desteklerini hissettiğim kıymetli anne ve babama; uzmanlık eğitimim süresince her türlü fedakarlığı gösteren sevgili eşim Dr. Ahmet Ayarcı'ya, sevgileri ve varlıkları ile bana kuvvet ve yaşama sevinci veren oğullarım; Harun Emre ve Ömer Faruk'a teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

01.08.1975 tarihinde Karaman'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Karaman'da tamamladım. 1996 yılında Erzurum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesine girdim. 2002 yılında tıp fakültesinden mezun oldum ve 4 yıl Rize İli Sağlık Müdürlüğünde Ana Çocuk Sağlığı Şube Müdürü olarak görev yaptım. 2006 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak girdim. Evli ve iki çocuk annesiyim.