

TÜBERKÜLOZA GENETİK YATKINLIK

Zeynep Ceren Karahan ❖ Nejat Akar

ÖZET

Bütün dünyada önemini sürdüren bir infeksiyon hastalığı olan tüberkülozun etkeni olan *Mycobacterium tuberculosis* ile infekte olan bireylerin hemen hemen tamamında infeksiyon gelişmekte, ancak bu kişilerin sadece %5-10 kadarında klinik hastalık tablosu ortaya çıkmaktadır. Bu hastaların çok azında altta yatan bir risk faktörü tespit edilebilmektedir. Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalar, bu durumdan sosyoekonomik faktörler, kalabalık yaşam ve malnütrisyon gibi çevresel faktörler kadar, konağa ait genetik faktörlerin de sorumlu olduğunu ortaya koymuş ve tüberküloza yatkınlık oluşturan pek çok genetik faktör belirlenmiştir. Bunlar arasında özellikle, HLA tipleri, vitamin-D reseptörü, NRAMP-1, MBL, TNF- α ve IL-1 üzerinde durulmaktadır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler, tanı, tedavi ve korunma açısından önemli adımların atılmasında yol gösterici olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, Genetik Yatkınlık

SUMMARY

Genetic Susceptibility to Tuberculosis

Tuberculosis is still an important infectious disease all around the world. Its etiologic agent, *Mycobacterium tuberculosis*, infects nearly all exposed people, but only 5-10% of them develop clinical disease. In only a few of these individuals, an underlying condition can be found. Genetic factors of the host are as important determinants for developing tuberculosis as socioeconomic status, crowded living conditions and malnutrition. Many genetic factors have been studied and HLA types, vitamin-D receptor, NRAMP-1, MBL, TNF- α and IL-1 have been found to be associated with tuberculosis. The results of these studies will lead to great developments in diagnosis, therapy and prevention of tuberculosis.

Key Words: Tuberculosis, Genetic Susceptibility

Milattan önce 5000 yılından beri bilinen ve günümüzde de özellikle HIV infeksiyonundaki artış ile yeniden önem kazanan bir infeksiyon hastalığı olan tüberküloz, her yıl yaklaşık iki milyon kişinin ölümüne neden olmaktadır. Bugün, tüm dünyada yaklaşık iki milyar tüberküloz hastası olduğu ve bu sayıya her yıl sekiz milyon yeni vakanın eklendiği tahmin edilmektedir. Halen mevcut tek aşısı olan BCG'nin etkinliğinin değişken olması ve antitüberküloz ajanlara gitgide artan direnç problemi nedeniyle tüberküloz, toplum sağlığı açısından giderek büyüyen bir problem haline gelmektedir (1).

Mycobacterium tuberculosis, konak hücresi olarak makrofajları kullanmaktadır. Oluşturduğu

infeksiyona karşı direnç, bakteri ile konağın bağışıklık sistemi arasında gelişen kompleks ilişkilerin sonucudur. Bakterinin temizlenmesinde özellikle makrofajlar ve makrofaj fonksiyonu üzerine etkili olan sitokinlerin önemli rolü vardır (1). İnterferon- γ (IFN- γ), tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve interlekin-6 (IL-6) gibi sitokinler, makrofajları aktive ederek tüberküloz direncinde önemli roller üstlenmekle beraber, hastalıkta ortaya çıkan doku hasarından da sorumlu tutulmaktadır. Makrofajlar, reaktif oksijen ve nitrojen ara ürünleri oluşturma, fagozomların asidifikasyonu, fagozomlarla lizozomların füzyonu ve intrafagozomal demirin kısıtlanması gibi mekanizmaları devreye sokarak bakteri ile savaşır. *M.tuberculosis*'in bu saldırıdan nasıl korunduğu tam olarak bilinmemekle beraber, bir-

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Moleküler Patoloji ve Genetik Bilim Dalı, Ankara

kaç muhtemel mekanizma üzerinde durulmaktadır. Makrofajları C3b reseptörleri aracılığı ile invaze ederek reaktif oksijen ara ürünlerinin oluşumunu engelleyebilmektedir. Ayrıca M. tuberculosis, fagolizozomal füzyonu engelleyebilmekte ve fagozomların asidifikasyonunu önlemek için amonyak üretmektedir (2).

M.tuberculosis ile infekte olan bireylerin hemen hemen tamamında infeksiyon gelişmekle beraber, infeksiyonu geçirenlerin sadece %5-10 kadarında klinik hastalık tablosu ortaya çıkmaktadır (1). Oysa hastaların çok azında Diabetes mellitus, ileri yaş, alkol bağımlılığı, HIV infeksiyonu, kortikosteroid kullanımı gibi alta yatan bir risk faktörü tespit edilebilmektedir (2). Son yıllara kadar bu durumdan sosyoekonomik durum, kalabalık yaşam ve malnütrisyon gibi çevresel faktörler sorumlu tutulmuştur. Ancak, özellikle son 10 yılda aile ve ikiz çalışmaları ile başlayan ve yeni moleküler yöntemlerin devreye girmesi ile çeşitlenerek devam eden sayısız çalışma, konağa ait genetik faktörlerin de en az çevresel faktörler kadar önemli rolü olduğunu ortaya koymuştur. Bugüne kadar tüberküloza konak duyarlılığı üzerine etkili olduğu bildirilen genetik faktörler şunlardır:

- 1- HLA tipleri
- 2- Vitamin D reseptörü
- 3- NRAMP-1 (natural rezistance associated macrophage protein-1)
- 4- MBL (mannoz bağlayan lektin)
- 5- Sitokinler (TNF- α ve IL-1)

HLA SİSTEMİ

İnsanlarda HLA sistemi, altıncı kromozomun kısa kolunda yerleşmiş olan MHC Class I (A, B, C lokusları) ve Class II (DP, DQ, DR lokusları) moleküllerinden oluşan bir komplekstir. Class I molekülleri vücutta tüm çekirdekli hücrelerde bulunurken, Class II molekülleri B-lenfositler ve makrofajlar başta olmak üzere sadece birkaç tip hücrede bulunur. Class I moleküller, hücre içine alınan endojen antijenlerin (virüsle infekte olan konak hücreleri gibi) CD8+ T lenfositlere sunumunda görev alır ve hedef hücrelerin efektör fonksiyonlarını yönlendirirler. Class II moleküller ise immün yanıtın uyarılmasında görev yaparlar. Antijen sunan hücreler (makrofajlar gibi), ekzojen antijenlerle Class II molekülleri bir araya getirerek, IL-1 varlığında bu antijenleri CD4+ T lenfositlere sunarlar (3).

ğında bu antijenleri CD4+ T lenfositlere sunarlar (3).

1970'li yıllardan beri çeşitli HLA tiplerinin tüberküloz hastalığının seyri üzerine etkisi araştırılmaktadır. İlk çalışmalar Hindistan ve Surinam'da yapılmış ve HLA varyasyonlarının hem tüberküloz, hem de lepra duyarlılığı ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (4).

HLA genlerinin hastalık üzerine etkisinin, T-lenfositlerin antijen sunmadaki tipik fonksiyonları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar, klinik tüberkülozun ortaya çıkışı ve hastalığın ciddiyeti ile ilişkili birkaç major genin varlığını ortaya koymuştur. Bu çalışmaların çoğunda, bir Class-II antijeni olan HLA-DR2 (özellikle HLA-DRB1*1501 ve HLA-DRB1*1502) ile pulmoner tüberküloz gelişimi ve radyolojik olarak yaygın lezyonlarla seyreden ciddi hastalık tablosu arasında ilişki bulunmuştur. Bu ilişkinin mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber bir çalışmada, HLA-DR2 (+) olan hastalarda M.tuberculosis'in 38kDa proteinine karşı artmış immün yanıt tespit edilmiş ve bazı hastalarda aktif tüberkülozda yükselmesi beklenen lizozim düzeyleri daha düşük bulunmuştur. Güney Hindistan'da, yayma (+) tüberküloz gelişim riskinin %29'u, Endonezya'da ise %36'sı HLA-DR2'ye bağlanmıştır (1). Ancak, bu ilişki çalışılan bütün popülasyonlarda gösterilememiştir (5).

HLA-DR2, tüberkülozda ilaç direncinden de sorumlu tutulmaktadır. Major antitüberküloz ajanlardan biri olan izoniyazid, karaciğerde asetillenerek metabolize olmaktadır. Karaciğerin ilaç asetilleyen enzimlerinin (N-asetil transferaz 2) genetik kontrol altında olduğu uzun yıllardan beri bilinmektedir. İnsanlar, farmakokinetik, biyokimyasal ve genetik açıdan, hızlı ve yavaş N-asetilleyenler olarak ikiye ayrılmaktadır. Yavaş asetilleyenler, periferik nöropati gibi ilacın yan etkilerinin ortaya çıkması açısından risk altındayken, hızlı asetilleyenler hızla ilacı uzaklaştırdığından tedavinin yetersiz kalması ile karşı karşıya kalır. HLA-DR2, hızlı asetilleyen grupta anlamlı olarak daha yüksek düzeyde bulunmuştur (1).

Tüberküloz gelişimi ile ilişkili bulunan diğer HLA tipleri, HLA-DQw1 (Endonezya), HLA-DQB1*0503 (Kamboçya, Hindistan), HLA-DQA1*0101 (Meksika), HLA-DQB1*0501 (Meksi-

ka), HLA-DQB1*0601 (Hindistan) ve HLA-DR1*1501 (Hindistan, Meksika)'dir (1,6). Meksika'da yapılan bir çalışmada, pulmoner tüberküloz gelişimi açısından DQA1*0101 ve DQB1*0501'in 6 kat, DR1*1501'in ise 8 kat risk artışına neden olduğu ileri sürülmüştür. Endonezya çalışmasında yayma (+) tüberküloz gelişim riskinin %39'u HLA-DQw1'e bağlanmıştır (1).

Tüberküloza konak duyarlılığını azaltan bazı ilişkiler de öne sürülmektedir. Bunlar arasında, HLA-DR3, HLA-DQw3, HLA-DQB1*0402, HLA-DR4, HLA-DR8 ve HLA-DPB1*04 allelleri yer almaktadır (1,7). Bothamley ve ark (8), HLA-DQw3'ün klinik tüberküloz vakalarının %57'sini önleyebileceğini ileri sürmektedir. HLA-DQB1*0402 ve HLA-DR4 veya DR8 allelleri olan bireylerde, bu allelleri olmayanlara oranla klinik tüberküloz gelişme olasılığının %10-24 oranında azaldığı bildirilmiştir (1). HLA sistemi ile Tüberküloz ilişkisi Tablo-1'de özetlenmektedir.

VİTAMİN D RESEPTÖRÜ

D vitamininin aktif metaboliti olan 1-25 dihidroksi vitamin-D₃ (1,25D₃), kalsiyum metabolizmasında önemli bir regülatör olmasının yanısıra, bağışıklık sistemini düzenleyici fonksiyonları vardır. 1,25D₃, monositleri aktive eder, hücre aracılı bağışıklığı regüle eder, lenfosit proliferasyonu ile immünglobulin üretimi ve sitokin sentezini baskırlar.

1,25D₃'ün bu fonksiyonlarına aracılık eden Vitamin D Reseptörü (VDR) geni, insanda 12. kromozomda lokalize olmuştur. VDR, monositler ve aktive T ve B lenfositler üzerinde bulunur (9). Yapılan çalışmalar, VDR'nin insanlarda infeksiyon

hastalıklarına duyarlılığı regüle eden bir immün yanıt geni olabileceğini ortaya koymuştur (5).

Epidemiyolojik veriler, D vitamini eksikliği ile tüberküloz duyarlılığı arasında bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Tüberkülozlu hastaların alveoler makrofajlarının 1,25D₃ ürettiği gösterilmiştir. Ayrıca, cilt tüberkülozu olan olgulara D vitamini verilmesi klinik düzelme sağlamaktadır (2).

VDR geninin 3' ucunda kodon 352'de tek baz değişimi (C→T) tanımlanmıştır. Bu değişimi taşımayanlar TT olarak ifade edilirken, taşıyanlar tt olarak gösterilmektedir. Daha nadir allel olan "t", daha yüksek düzeyde mRNA ekspresyonuna neden olmaktadır. tt genotipi, birçok popülasyonda azalmış kemik mineral dansitesi ve osteoporoz ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, primer/sekonder hiperparatiroidizme direnç, prostat kanserine direnç, Hepatit-B virüsünün eliminasyonunda artma ve pulmoner tüberküloza direnç ile bu genotip arasında ilişki varlığını gösteren yayınlar da mevcuttur (9).

1,25D₃, M.tuberculosis'in insan makrofajlarında replikasyonunu sınırlamaktadır. Gambia'da 410 tüberküloz hastası ve 417 kontrol üzerinde yapılan çalışmada, kodon 352 değişimi için homozigot olanların (tt), tüberkülozlu olgularda kontrollerden daha az bulunduğu tespit edilmiş (p<0.01) ve D vitamini desteğinin tüberkülozda bağışıklığı modifiye edebileceği üzerinde durulmuştur (9).

Gujarati Asya'lılarda, 91 tüberküloz hastası ve 116 infekte olmuş birey üzerinde yapılan bir başka çalışmada da, D vitamini eksikliğinin tüberküloz gelişim sıklığını arttırdığı (p=0.008) ve VDR değişimlerinin tüberküloza duyarlılığı etkilediği gösterilmiştir (6).

Tablo1: HLA sistemi ve tüberküloz ilişkisi

Tüberküloza duyarlılık ile ilişkili bulunan HLA allelleri	Tüberküloza dirençle ilişkili bulunan HLA allelleri
DR2 / DRB1*1501 ve DRB1*1502	DR3
DQB1*1502, DQB1*0501, DQB1*0503, DQB1*0601	DR4 / DR8
DQw1	DQB1*0402
DR1*1501	DQw3
	DP1*04

NRAMP-1 (Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1)

Klasik inbred fare suşları, *M.bovis* (BCG suşu), *M.lepraemurium*, *M.intracellulare*, *S.typhimurium* ve *L.donovani* infeksiyonlarına karşı doğal olarak dirençlidir. Bu direnç, farede birinci kromozom üzerinde yer alan *Bcg* (=It_y=Lsh) lokusu tarafından kontrol edilmektedir. *Bcg* için aday bir gen pozisyonel klonlama ile izole edilmiş ve *Nramp-1* olarak isimlendirilmiştir. *Nramp-1*'in sekans analizi, infeksiyona duyarlılığın, proteinin transmembran domeyninde 169. pozisyonunda tek bir aminoasit değişimine (Gly→Asp) bağlı olduğunu ortaya koymuştur. 169. pozisyonunda Gly varlığı fonksiyonel protein için şart olup, hücre içi parazitlerle infeksiyona karşı direnci ortaya çıkartır. Gly 169→Asp değişimi sonucunda protein olgunlaşmaz (11). Yapılan çalışmalar, bu genin insanlardaki homoloğu olan ve 2q35 kromozom bölgesinde lokalize olan NRAMP-1'in varlığını ortaya koymuştur (12). NRAMP-1 proteini, *Nramp 1* ile %85 oranında aynı, %92 oranında benzer olup ileri derecede korunmuştur (13).

NRAMP-1, 53kDa'luk bir integral membran proteini olup, makrofajlarda endolizozomal kompartmanda lokalize olmuştur. Kesin fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber, özellikle demir alımını yönlendiren bir metal iyon taşıyıcısı olarak görev yaptığı düşünülmektedir. İnfekte makrofajların fagolizozomlarından demiri sitoplazmaya pompalayarak, fagolizozomlardaki bakterilerin gelişimi için esansiyel olan demiri ortamdan uzaklaştırır ve hücre içi parazitlerin replikasyonunu önler (13). Makrofaj aktivasyon yolunda da önemli roller üstlenmektedir: CXC kemokin KC regülasyonunu sağlar; interlökin-1b, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), MHC Class II molekülleri, TNF-α ve nitroz oksit (NO) salınımını düzenler; L-arginin akımı ve oksidatif patlamayı denetler; ayrıca tümorisidal ve antimikrobiyal aktiviteleri bulunmaktadır (10).

NRAMP-1, insanda en fazla alveoler makrofajlarda ve periferik kan polimorfonükleer lökositlerinde eksprese olmaktadır (10). Bugüne kadar NRAMP-1 geninde sayıları onbire varan değişim belirlenmiştir (14). Bu değişimlerden tüberküloz gelişimine yatkınlık oluşturma açısından önemli bulunanları şunlardır:

- 1- NRAMP1 geninin promoterinin 5' kodlanmayan bölgesinde, Z-DNA oluşumuna neden olan polimorfik bir tekrar bölgesi bulunmaktadır. Bu bölgede, gen ekspresyonunu yönlendirme yetenekleri açısından fark gösteren 4 allel tanımlanmıştır [(CA)_n mikrosatellitleri]: 1-T(GT)₅AC(GT)₅AC(GT)₁₁G (gen sıklığı:0.001, zayıf promoter), 2-T(GT)₅AC(GT)₅AC(GT)₁₀G (gen sıklığı: 0.25, zayıf promoter), 3-T(GT)₅AC(GT)₅AC(GT)₉G (gen sıklığı: 0.75, kuvvetli promoter), 4-T(GT)₅AC(GT)₉G (gen sıklığı: 0.001, zayıf promoter). IFN-γ varlığında bu allellerin hepsinde gen ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Lipopolisakkarit eklendiğinde, allel 1 ve 4'de herhangi bir değişiklik olmazken, allel 2'de gen ekspresyonu azalmakta, allel 3'de artmaktadır (13).
- 2- Dördüncü intronda tek nükleotid polimorfizmi (469+14G/C)
- 3- 543. kodonda aspartik asidi asparagine değiştiren nonkonservatif tek baz değişikliği (D543N)
- 4- 3' transle edilmeyen bölgede 4 bazlık (TGTG) delesyon (1729+55del4) (5)

INT4 ve 3'UTR varyantlarının NRAMP-1 fonksiyonu üzerine etkili olup olmadığı ve başka herhangi bir genle linkage disequilibrium içerisinde olup olmadığı bilinmemektedir. Farklı etnik gruplarda INT4, D543N ve 3'UTR allel sıklıkları farklı bulunmuştur. 3'UTR alleli Avrupa'da çok nadir olduğu halde Gambia'da halkın %25'inde pozitif bulunmuştur. Bu da infeksiyonlara duyarlılıkta etnik grup farkının önemini vurgulamaktadır (5).

Gambia'da 410 tüberküloz hastası ve 417 kontrol üzerinde yapılan bir çalışmada NRAMP-1'in insanlarda da tüberküloz ile ilişkili olduğu bulunmuştur. INT4GC ve 3'UTR polimorfizmlerini heterozigot olarak taşıyan bireylerde tüberküloz yakalanma riskinin 4 kat arttığı tespit edilmiştir (10). 3'UTR polimorfizmi, Kore'de yapılan bir başka çalışmada da tüberküloz duyarlılığı ile ilişkili bulunmuştur (15).

MBL (Mannoz Bağlayan Lektin)

MBL, karaciğerde sentezlenen 96 kDa'luk bir akut faz proteini olup, bir kollajenöz bölge ve bir lektin domeyni taşıyan, proteinlerin kollektin ailesinin bir üyesidir. Bugün, doğuştan immün sistemin önemli bir elemanı olduğu kabul edilmekte-

dir. İnsanlarda, bu aileye üye olan proteinleri kodlayan genler, bir küme halinde, onuncu kromozomun uzun kolunda lokalize olmuştur ve dört ekzon içerir. Bu bölgede, sentromere yakın tek bir MBL geni ile akciğer sürfaktan proteinleri olan SP-D, SP-A1 ve SP-A2'yi kodlayan genler bulunmaktadır (16).

MBL, pek çok şekere etkin bir şekilde bağlanabilen ve oldukça iyi korunmuş bir antikor olarak görev yapar. Bağlandığı şekerlerin çoğu memeli hücrelerinde yüksek yoğunlukta bulunmadığından self yapıları genellikle tanımaz, sıklıkla mikrobiyal hücrelerin yüzeyleri ile iyi uyum gösterir. Bu hücrelerle bağlanması; fagositlerin MBL ile kaplanan bakterilere tutunması, bakterinin hücre içine alınması ve öldürülmesi ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle MBL, direkt olarak bir opsonin olarak görev yapmaktadır.

MBL, C1q'dan bağımsız olarak C1r₂-C1s₂ kompleksleri ile ilişkiye girerek klasik yoldan komplemanı aktive etmektedir. MBL, MBL ilişkili serin proteaz (MASP) ile birleşerek, "serum bakterisidal faktör" olarak adlandırılan bir kompleks oluşturmaktadır. MASP, fonksiyonel olarak aktive C1s'ye benzer ve hem C4 hem de C2'yi parçalayarak C3 konvertaz aktivitesi ile C4b2a komplekslerini oluşturabilir. Bu antikor ve C1q'dan bağımsız mekanizma, "kompleman aktivasyonunun lektin yolu" olarak isimlendirilmektedir. MASP, C3'ü direkt olarak parçalayabilecek bir yapıya sahip olduğundan, alternatif yoldan da komplemanı aktive edebileceği düşünülmektedir. Ancak bu son iki yolla ilgili yeterli bilgi yoktur.

MBL'nin etkin fonksiyon görebilmesi için doğumdan hemen sonra fizyolojik düzeylerde dolaşımda bulunması gerekir (16). Dünyada en yaygın immün yetmezlik olan MBL eksikliği, çocukluk

döneminde tekrarlayan çocukluk çağı infeksiyonlarına neden olmaktadır (1). MBL serum düzeyi, yapısal gen mutasyonlarının varlığında anlamlı olarak azalmaktadır. Ayrıca promotör bölge genlerinin aktivitesi ile de değişmektedir. Bugün, MBL yetmezliği ile ilişkili üç yapısal mutasyon tespit edilmiştir. Bu mutasyonların üçü de genin birinci ekzonunun kısa bir segmentinde ortaya çıkar ve proteinin kollajenöz bölgesinde tek bir aminoasit değişikliğine yol açar. Kodon 54 ve 57'deki mutasyonlar proteinin sekonder yapısını bozar ve azalmış serum MBL düzeyleri ile ilişkilidir. Kodon 52'deki mutasyonun proteinin serum düzeyleri üzerine etkisi bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalar, MBL mutant allelleri için hem homozigot hem de heterozigot olanlarda infeksiyon riskinin arttığını göstermektedir (16). MBL geni yapısal mutasyonları Şekil-1'de gösterilmiştir. X ve Y, normal kollajen yapısında yer alan ve değişkenlik gösterebilen aminoasitleri ifade etmektedir.

Kodon 54 mutasyonunun sıklığı Avrasya popülasyonlarında %11-16 arasındadır. Kodon 57 mutasyonu daha çok Sahra altı Afrika'da bulunmaktadır, sıklığı %23-29 arasında değişmektedir. Kodon 52 mutasyonları her iki popülasyonda da çok daha nadirdir: %0-5 (16). İngiltere'de MBL geninde tek mutant allel taşıyanlar toplumun %22.5'ini oluştururken, iki mutant allel taşıyanların sıklığı %4.6'dır. Gambiya'da bu sıklıklar sırasıyla %31 ve 10 olarak bildirilmiştir (5).

M.tuberculosis, hücre duvarında lipoarabinomannan ve fosfatidil inozitol mannozid içerir. Bunların ikisi de mannoz içeren birer karbonhidrat olduğundan MBL tarafından bağlanabilmektedir. MBL, mikobakterilerin makrofajlara alınmasını sağlayan bir bağlayıcı protein olarak görev yapmaktadır. Bu nedenle düşük serum MBL düzeyle-

Normal Protein	Arg	Y	Gly	X	Y	Gly	X
↑							
Normal DNA	CGT		GGC			GGA	
Kodon	52	53	54	55	56	57	58
Mutant DNA	TGT		GAC			GAA	
↓							
Mutant Protein	Cys	Y	Asp	X	Y	Glu	X

Şekil 1: MBL geni yapısal mutasyonları

rine neden olan fonksiyonel mutasyonların pulmoner tüberküloza duyarlılığı arttırabileceği üzerinde durulmaktadır (17).

Hindistan'da 202 pulmoner tüberküloz ve 109 sağlıklı kontrol üzerinde yapılan bir çalışmada MBL için fonksiyonel mutant homozigotların, pulmoner tüberküloz hastalarında kontrollere oranla daha sık olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla %10.9 ve %1.8, $p=0.008$, $OR=6.5$). Ayrıca MBL kodon 57 mutasyonunu heterozigot olarak taşıyanlar da pulmoner tüberküloz hastaları arasında kontrollere oranla daha sık bulunmuştur. Aynı çalışmada, tüberküloza yatkınlık oluşturduğu kabul edilen HLA-DR2 ile MBL genleri arasında ilişki olup olmadığı da araştırılmış ve ikisinin etkilerinin birbirinden bağımsız olduğu tespit edilmiştir (17).

Her ne kadar MBL'nin infeksiyon hastalıklarına yatkınlığı arttırdığı kabul edilmekteyse de böyle bir genin varlığını devam ettirebilmesi için belli koşullar altında koruyucu olması veya heterozigosite avantajı sağlaması gerektiği düşünülmektedir. Nitekim, Batı Afrika'da yapılan bir çalışmada MBL kodon 57 varyantı, tüberküloza karşı koruyucu bulunmuştur (18). Yine, tüberküloz insidansının yüksek olduğu bir Güney Afrika popülasyonunda 187 kontrol, 64'ü tüberküloz menenjit olmak üzere 233 tüberküloz hastası üzerinde yapılan çalışmada, MBL kodon 54 mutasyonunun tüberküloz menenjitte karşı kuvvetli koruma sağladığı tespit edilmiştir. Düşük MBL düzeyleri, tüberkülozun akciğer dışına yayılımını engelleyerek tüberküloz menenjitte karşı koruyucu olabilir (19).

SİTOKİNLER (TNF- α ve IL-1)

TNF- α , birçok inflamatuvar ve immün sistem aracılı cevapta önemli rol oynayan bir sitokindir. Esas olarak, monosit, makrofaj, T ve B-lenfositler, doğal öldürücü hücreler (NKC) ve endotoksin veya mikrobiyal ürünlerle uyarılan diğer hücrelerden salınır. Bağışık cevabı oluşturacak sitokin kaskadının indüksiyonu için gereklidir. TNF- α , inflamasyonda, yara iyileşmesinde ve doku onarımında görev alır. Septik şok ve kaşeksiyi indükler (kaşektin). Vasküler tromboz ve tümör nekrozundan sorumludur (3). Ortaya çıkarttığı reaksiyonun şiddeti, TNF ekspresyonunun büyüklüğü ile orantılıdır: Lokal üretildiği konsantrasyonlarda TNF, fizyolojik homeostazı devam ettirir. Düşük konsantrasyonlarda birçok fizyolojik olayın regülasyonun-

da görev alır (vücut ısısının sirkadyan ritmi, uyku, iştah vb.). Lokal hasara yanıt olarak TNF konsantrasyonları arttıkça inflamatuvar cevabın oluşumunda kritik bir rol üstlenir. Çevredeki hücreler üzerinde otokrin ve parakrin etki ile lokalize inflamatuvar olayı başlatır, devam ettirir ve sonlandırır. İleri derecede artmış TNF konsantrasyonları birçok hastalığın patofizyolojisinde görev alır. Ateş, iştah kaybı, kaşeksi, letarji ve doku hasarına neden olur. Kontrolsüz olarak aşırı üretimi ise yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Sepsis ve multipl organ yetmezliği ölümle sonuçlanabilir (20).

TNF molekülünün bu etkilerine aracılık eden iki reseptörü bulunmaktadır: 55kDa (TipI=CD120a) ve 75kDa (TipII=CD120b) TNF reseptörleri. TipII reseptörün TNF- α bağlama afinitesi, TipI reseptörden on kat fazladır. Tip I reseptör sitotoksik aktivite ve endotoksik şoktan sorumluyken, TipII reseptör lenfosit proliferasyonunu yönlendirmektedir (21).

TNF geni, 3.6 kbp uzunluğunda olup insanda altıncı kromozomda, 6p21.1 ile 6p21.3 arasında MHC lokusunda yerleşmiştir. Olgun TNF molekülü, 17.356 Da ağırlığında olup, 157 aminoasitten oluşmuştur. Bu matür form, 26kDa'luk, 233 aminoasit taşıyan bir prekürsörden oluşur ve glikozilasyona uğramaz (22). Bugüne kadar TNF lokusunda tanımlanmış birkaç önemli polimorfizm bulunmaktadır (23,24,25):

- 1- (CA) n sekansları:
*TNF a (15 allel)
- 2- (CT) n sekansları:
*TNF b (7 allel)
*TNF c (2 allel)
*TNF d (7 allel)
*TNF e (4 allel)
- 3- Promoter bölge polimorfizmleri:
*-238 G \rightarrow A değişimi (TNFA) Het/Homozigot
*-244 G \rightarrow A değişimi
*-308 G \rightarrow A değişimi (TNF1-2) Het/Homozigot
*-376 G \rightarrow A değişimi
- 4- Diğer nadir polimorfizmler:
*- 49 G \rightarrow A değişimi
*-419 G \rightarrow C inversiyonu
* LT-a +250 G \rightarrow A değişimi (TNFB1-B2)
*-1031, -863, -857 ve -228'de değişimler vardır.

Bunlar arasında LT α +250 ve TNF α -308 polimorfizmleri, bazal ve uyarılmış olarak artmış TNF- α üretimi ile ilişkili bulunmuştur. Bu nedenle pek çok inflamatuvar ve infeksiyöz hastalığa yatkınlık ile bu polimorfizmler arasında ilişki kurulmaktadır (23). TNF lokusunda bildirilen önemli polimorfizmler Tablo-2'de özetlenmiştir.

IL-1, vücuttaki tüm çekirdekli hücreler tarafından üretilmektedir. İnsanda IL-1 α ve IL-1 β olmak üzere iki farklı formda bulunmaktadır. Bu iki form, ikinci kromozom üzerinde yer alan farklı genler tarafından kodlanan 159 ve 153 aminoasitlik peptidlerdir. Birbirleri ile sadece %26 oranında benzer olmalarına rağmen biyolojik aktiviteleri ve potensleri identiktir. Aynı hücre yüzey reseptörlerine, benzer afinitelerle bağlanırlar. Birçok hücre tarafından, biyolojik olarak inaktif olan, ancak reseptörlere bağlanma için IL-1 molekülleri ile yarışarak kompetitif inhibisyon yapan IL-1 reseptör antagonist (IL-1Ra) olarak bilinen proteini kodlayan üçüncü bir gen eksprese edilmektedir.

Her iki IL molekülünün etkilerini göstermesi için hücre yüzeyinde yer alan transmembran glikoproteinleri olan reseptörlerine bağlanmaları gerekir. IL-1 α ve β 'yi eşit olarak bağlayan iki tip IL-1 reseptörü tanımlanmıştır: Tip I reseptör (IL-1RI), IL-

1'e duyarlı olan tüm hücrelerde sinyal iletimini sağlarken, Tip II reseptör (IL-1RII) IL-1 β 'ya daha kuvvetli bağlanır ve inflamasyon bölgesinde IL-1 β 'nın endojen inhibitörü olarak davranır.

IL-1, TNF ile beraber antijen sunan hücrelerce T_H hücrelerin aktivasyonunu sağlar. Antijen ile temas eden antijen sunan hücreler tarafından salgılanan bu iki sitokin, birçok adezyon molekülünün ekspresyonunu artırır. IFN- γ üretimi ve hücre yüzeyinde MHC Class II moleküllerinin ekspresyonu artar. Böylece T_H hücreler tarafından antijen sunan hücreler bağlanabilir ve aktive olabilir. Aktive olan hücrelerde IL-2 salınımı ile IL-2 ve IFN- γ reseptörlerinin ekspresyonu artar, sonuçta duyarlı T_H hücrelerde klonal proliferasyon gerçekleşir. IL-1 ve TNF beraber hem humoral hem de hücresele immün cevabın ortaya çıkmasını sağlar. Nötrofil ve makrofajları stimüle eder, B hücre proliferasyonunu hızlandırır, hematopoiezisi stimüle eder, birçok sitokin ve inflamatuvar mediatörün etkilerine aracılık eder (3,21).

TNF- α , mikobakteriyel infeksiyonların hem in vivo hem de in-vitro olarak kontrolünde önemli rol oynamaktadır. IFN- γ ile beraber makrofajları aktive ederek, hücre içi parazitlerin gelişimini kontrol eder. Bu aktivasyon, reaktif oksijen ara-

Tablo2: TNF lokusunda tanımlanan polimorfizmler

TNF polimorfizmi	Lokalizasyonu	Nükleotid değişimi	Adlandırma
Mikrosatellit polimorfizmler			
Tekrarlayan CA dizileri	TNF β geni 3.5kb upstream		TNFa (15 allel)
Tekrarlayan CT dizileri	TNF β geni 3.5kb upstream		TNFb (7 allel)
	TNF- β geni 1. intron		TNFc (2 allel)
	TNF- α geni 3. intron		TNFd (7 allel)
	TNF- α geni 3. intron		TNFe (4 allel)
Promoter bölge polimorfizmleri	TNF α -238	G→A	TNF A
	TNF α -244	G→A	
	TNF α -308	G→A	TNF 1-2
	TNF α -376	G→A	
Nadir polimorfizmler	TNF α -49	G→A	
	TNFv-419	G→A	
	LT- α +250	G→A	TNFB1-B2

ürünlerinin oluşumu ile ilişkilidir. Sitokin ile aktive olan makrofajlar in-vitro olarak oluşturdukları reaktif nitrojen ara ürünleri aracılığıyla da mikobakterilerin hücre içi öldürülmesini sağlarlar. Fare peritoneal makrofajlarının IFN- γ ve TNF- α ile muamelesi nitrit üretimini artırır ve makrofajların antimikobakteriyel aktivitesi artar. İn-vivo olarak iNOS geni bozulan fareler reaktif nitrojen ara ürünleri oluşturamaz ve M.tuberculosis enfeksiyonuna daha duyarlı hale gelir. TNF- α 'nın antimikobakteriyel etkilerine iNOS aracılı nitrik oksit üretimi aracılık etmektedir. Ancak iNOS'dan bağımsız, TNF- α bağımlı antimikobakteriyel aktiviteye reaktif oksijen ara ürünleri aracılık etmektedir. TNF- α , oksidatif mekanizmalar aracılığı ile geç fagolizozomal vakuolün asitleşmesine neden olarak M.tuberculosis'in hücre içi gelişimini inhibe edebilir (26).

Juffermans ve ark.larının (27) Hollanda'da yaptığı bir çalışmada, tüberkülozlu hasta grubunda sTNFR I ve II konsantrasyonlarının sağlıklı kontrollere oranla daha yüksek olduğu ve tedavi ile bu konsantrasyonların düştüğü tespit edilmiştir. sTNF reseptörleri, sitokine oranla yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu inhibitor olarak görev yaparlar. Akut enfeksiyonlarda yüksek TNF düzeyleri bu inhibitor etkinin üstesinden gelirken, kronik enfeksiyonlarda TNF düzeyleri, reseptör konsantrasyonuna oranla düşük bulunmaktadır. Bu nedenle sTNF reseptör konsantrasyonları, artmış TNF üretiminin indirekt bir göstergesi olabilir (27).

Proinflamatuvar sitokin olan IL-1b ve IL-1 aktivitesinin spesifik inhibitörü olan IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra), in-vitro olarak M.tuberculosis tarafından indüklenmektedir. Yine tüberkülozlu hastaların IL-1Ra serum konsantrasyonları, sağlıklı kişilere oranla daha yüksek olup, tüberkülozda hastalık aktivitesinin bir belirleyicisi olarak tanımlanmıştır (28).

IL-1 β geninde, -511 ve +3953 pozisyonlarında iki adet biallellik polimorfizm tanımlanmıştır. IL-1Ra geninde ise, 5 farklı allel ve 2-6 adet 86bp'lik tandem repeat polimorfizmi bulunmuştur. Genetik analizler, IL-1Ra VNTR allel A2'nin, M.tuberculosis enfeksiyonuna cevap olarak daha yüksek dü-

zeyde IL-1Ra üretimi ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu alleli taşıyanlar, taşımayanlardan 1.9 kat daha fazla IL-1Ra üretmektedir. IL-1b'daki iki polimorfizm, in-vitro olarak M.tuberculosis tarafından indüklenen IL-1 β düzeyleri ile ilişkili bulunmamıştır. Ancak IL-1 β (+3953)A1 allelini taşıyan hastalarda IL-1 β için mRNA ekspresyonu hafif de olsa daha yüksek bulunmuştur (28).

Seksen dokuz tüberküloz hastası, 114 sağlıklı kontrol üzerinde yapılan bir çalışmada, IL-1 β ve IL-1Ra allel veya genotip sıklığında iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Ancak, IL-1RaA2(-) / IL-1 β (+3953)A1 genotip kombinasyonları, tüberküloz plörezisi olan hastalarda daha sık olarak dışa vurulmaktadır (%92, normal popülasyonda %52). Bu ilişkinin mekanik temeli henüz aydınlatılamamıştır (28).

Gambia'da yapılan bir başka çalışmada ise, IL-1Ra allel 2 için heterozigot olanlar, tüberküloz vakalarında kontrollere oranla daha nadir bulunmuştur (29).

Tüberküloza genetik yakınlıkla ilişkili bulunan genetik değişiklikler Tablo-3'de özetlenmiştir.

SONUÇ

Bugüne kadar yapılan bu çalışmalardan elde edilen veriler, tüberküloz patogenezi ve konak savunmasında kullanılan mekanizmaların aydınlatılmasına yardımcı olmanın yanı sıra, ilaç geliştirilmesinde yeni farmakolojik hedefleri ortaya koyacak, yeni ve etkinliği daha yüksek olan aşıların geliştirilmesini sağlayacaktır. Tüberküloza yakınlık üzerine etkili olan genetik faktörlerin, farklı popülasyonlarda değişiklikler göstermesi nedeniyle, bu faktörlerin çeşitli popülasyonlarda belirlenmesi bu gelişmeleri hızlandıracaktır. Riskli grupların ortaya konması; davranış paterni, seyahat alışkanlıkları, profilaktik antimikrobiyal kullanımı ve aşı uygulamalarında yeni yaklaşımların belirlenmesini sağlayabilecektir.

Sonuç olarak, şimdiye kadar yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular, bireysel genetik faktörlerin tüberküloz enfeksiyonu gelişimi açısından önemli olduğunu ve toplumlarda araştırılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Tablo 3: Konağa ait genetik değişiklikler ve tüberküloz ile ilişkisi:

Gen	Genotip	Kromozom lokalizasyonu	Tüberküloz ile ilişkisi
HLA	HLA-DR2 (DRB1*1501, DRB1*1502) HLA-DR1*1501 HLA-DQB1*1502 HLA-DQB1*0501 HLA-DQB1*0503 HLA-DQB1*0601 HLA-DQw1 HLA-DR3 HLA-DR4/DR8 HLA-DQB1*0402 HLA-DQw3 HLA-DPB1*04	6p21.3	Tüberküloz duyarlılığını artırır. Klinik olarak ağır seyreder. İlaç direnci ile ilişkilidir. Tüberküloz duyarlılığını artırır. Tüberküloza karşı koruyucudur.
VDR	tt (Kodon 352 C→T)	12q12-q14	Tüberküloz direncini artırır.
NRAMP-1	INT 4 (469+14G/C) 3'UTR (1729+55del4)	2q35	Tüberküloz duyarlılığını yaklaşık dört kat artırır.
MBL	Kodon 52, 54, 57 mutasyonları	10q11.2-q21	Tüberküloz duyarlılığını artırır. Ancak koruyucu olduğunu bildiren yayınlar da vardır: Kodon 54 mutasyonu tüberküloz menenjit riskini azaltır.
TNF- α	TNF2 (-308 G/A)	6p21.1-21.3	Tüberküloz direncini artırır, tüberküloz geçirenlerde doku hasarından sorumlu
IL-1 β IL-1Ra	+3953 A1 VNTR allel A2 (-)	2q14 2q14.2	Tüberküloz plörezi hastalarda daha sık dışı vurulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. McNicholl JM, Downer MV, Lidhayakumar V, et al. Host-pathogen interactions in emerging and re-emerging infectious diseases: A genomic perspective of Tuberculosis, Malaria, Human Immunodeficiency Virus infection, Hepatitis B and Cholera. *Annu Rev Public Health* 2000; 21:15-46.
2. Bellamy R. Identifying genetic susceptibility factors for tuberculosis in Africans: a combined approach using a candidate gene study and a genome-wide screen. *Clin Sci* 2000; 98: 245-250).
3. Cruse JM, Lewis RE. *Atlas of Immunology*. CRC Press LLC and Springer Company, 1999.
4. Hill AVS. Genetics and genomics of infectious disease susceptibility. *Brit Med Bull* 1999; 55(2): 401-13.
5. Bellamy R, Hill AVS. Genetic susceptibility to mycobacteria and other infectious pathogens in humans. *Curr Opin Immunol* 1998; 10: 483-87.
6. Marquet S, Schurr E. Genetics of susceptibility to infectious diseases. Tuberculosis and Leprosy as examples. *Drug Met Disp* 2001; 29: 479-83.
7. Ravikumar M, Dheenadhayalan V, Rajaram K ve ark. Associations of HLA-DRB1, DQB1 and DPB1 alleles with pulmonary tuberculosis in south India. *Tuber Lung Dis* 1999; 79 (5).
8. Bothamley GH, Beck JS, Schreuder GM, ve ark. Association of tuberculosis on M.tuberculosis-specific antibody levels with HLA. *J Infect Dis* 1989; 159: 549-55.
9. Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, ve ark. Variations in the NRAMP-1 gene and susceptibility to Tuberculosis in West Africans. *N Engl J Med* 1998; 338: 640-44.
10. Quereshi ST, Skamene E, Malo D. Comparative genomics and host resistance against infectious diseases. *Emerg Infect Dis* 1999; 5(1): 36-47.
11. Abel L, Dessein AJ. The impact of host genetics on susceptibility to human infectious diseases. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 509-16.
12. McNicholl JM. Host genes and infectious diseases. *Emerg Infect Dis* 1998; 4(3): 423-26.
13. Blackwell JM, Searle S. Genetic regulation of macrophage activation: Understanding the function of Nramp-1 (=lty / Lsh / Bcg). *Immunol Lett* 1999; 65: 73-80.
14. Buu N, Sanchez F, Schurr E. The Bcg host resistance gene. *Clin Infect Dis* 2000; 31 Suppl 3: 81-85.
15. Ryu S, Park YK, Bal GH ve ark. 3'UTR polymorphisms in the NRAMP1 gene are associated with susceptibility to tuberculosis in Koreans. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4 (6): 577-80.
16. Turner MW. Mannose-Binding Lectin: The pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today* 1996; 17 (11): 532-40.
17. Selveraj P, Narayanan PR, Reetha AM. Association of functional mutant homozygotes of the mannose binding protein gene with susceptibility to pulmonary tuberculosis in India. *Tuber Lung Dis* 1999; 79 (4): 221-27.
18. Bellamy R, Ruwende C, McAdam K ve ark. Mannose Binding Protein deficiency is not associated with increased susceptibility to Malaria, Hepatitis B nor Tuberculosis in Africans. *QJM* 1998; 91:13-18.
19. Hoal-Van Helden EG, Epstein J, Victor TC ve ark. Mannose-Binding Protein B allele confers protection against Tuberculous meningitis. *Ped Res* 1999; 45 (4): 459-64.
20. Streiter RM, Kunkel SL, Bone RC. Role of Tumor Necrosis Factor- α in disease states and inflammation. *Crit Care Med* 1993; 21 (10): 447-63.
21. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG, eds. *Medical Immunology*. 9th ed. Connecticut: Appleton and Lange, 1997:146-152.
22. Rink L, Kirchner H. Recent progress in the Tumor Necrosis Factor- α field. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 111: 199-209.
23. Quasney MW, Bronstein DE, Cantor RM ve ark. Increased frequency of alleles associated with elevated Tumor Necrosis Factor- α levels in children with Kawasaki disease. *Ped Res* 2001; 49 (5): 686-90.
24. Jongeneel CV, Briant L, Udalova IA ve ark. extensive genetic polymorphism in the human tumor necrosis factor region and relation to extended HLA haplotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 9717-21.
25. Kim HK, Han H, Choi HB ve ark. Distribution of seven polymorphic markers and haplotypes within the human TNF gene cluster in Koreans. *Hum Immunol* 2000; 61(12): 1274-80.
26. Bekker LG, Freeman S, Murray PJ ve ark. TNF- α controls intracellular Mycobacterial Growth by both inducible nitric oxide synthase- dependent and inducible nitric oxide synthase- independent pathways. *J Immunol* 2001; 166: 6728- 34.
27. Jujjermans NP, Verbon A, Van Deventer SJH ve ark. Tumor Necrosis Factor and Interleukin-1 inhibitors as markers of disease activity of Tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1328-31.

28. Wilkinson RJ, Patel T, Llewelyn M ve ark. Influence of polymorphism in the genes for the Interleukin (IL)-1 receptor antagonist and IL-1 β on Tuberculosis. *J Exp Med* 1999; 189(12): 1863-73.
29. Bellamy R, Ruwende C, Corrah ve ark. Assessment of the interleukin 1 gene cluster and other candidate gene polymorphisms in host susceptibility to tuberculosis. *Tuber Lung Dis* 1998; 79(2): 83-89

