

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ (FMF) HASTALIĞINDA AKUT FAZ YANITI İLE TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR- α , İNTERLÖKİN-8 VE İNTERLÖKİN-6 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Emel Örün* ❖ Fatoş Yalçinkaya** ❖ Nuray Özkaya** ❖
Nejat Akar*** ❖ Hafize Gökçe****

ÖZET

Çalışmamızda serozal zarların inflamasyon atakları ile karakterize kalıtsal bir hastalık olan ailevi Akdeniz ateşi (FMF) hastalarında atak ve ataksız dönemlerde akut inflamasyonda önemli rol oynayan sitokin düzeylerinin belirlenmesi ve tedavinin sitokin düzeyleri ile akut faz yanıtı üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya toplam 72 FMF hastası alınmıştır. Hasta grubu tedavi alıp almamalarına ve atak döneminde olup olmamalarına göre 4 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu 20 sağlıklı çocuktan oluşturulmuştur. Çalışmada FMF hastalarında TNF- α , IL-8, IL-6 ve akut faz reaktanlarının düzeyi araştırılmıştır.

Klasik akut faz reaktanları (fibrinojen, sedimentasyon, CRP) tedavi alan ve almayan hastaların atak dönemlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış göstermiştir. TNF- α , IL-6 ve IL-8 düzeyleri kolşisin tedavisinden bağımsız olarak atak ile beraber artmıştır. **TNF- α sonuçları**, tedavi alan grubun atak döneminde ataksız döneme göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır. **IL-8 değerleri** atak ile beraber artış görülmesine rağmen, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. **IL-6 değerlerinde de** aynı şekilde atak ile beraber artış görülmesine rağmen, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Ailevi Akdeniz Ateşi, Akut Faz Yanıtı, İnterlökin-6, İnterlökin-8, Tümör Nekrozis Faktör- α

SUMMARY

Acute Phase Response, Levels of TNF- α , IL-6 And IL-8 With Familial Mediterranean Fever Patients

In our study 72 FMF patients which are divided in to 4 groups were examined. Group 1: 11 patients who were diagnosed as FMF on follow up, not already treated and examined during asymptomatic period, Group 2: 11 patients who were diagnosed as FMF on follow up, not already treated and examined during attacks. Group 3: 27 patients who were diagnosed before the study, colchicine treated and examined during asymptomatic period, Group 4: 23 patients who were diagnosed before the study, colchicine treated and examined during attack. There are 20 healthy children as control group in our study.

In each group fibrinogen, erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, white blood count levels and TNF- α , IL-6, IL-8 concentrations were determined by using ELISA. Fibrinogen, erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein levels were increased in treated and untreated patients during attacks.

TNF- α , IL-8 and IL-6 levels were found elevated during attacks independent from colchicine therapy. **TNF- α levels** were found significantly higher in colchicine treated and examined during attacks group than asymptomatic group. In the colchicine treated group **IL-8 levels** and **IL-6 levels** were higher during attacks but no statistically meaningful results were observed. According to our results when compared with control healthy group; TNF- α levels were increased in all patients.

Our results suggest that the cytokine network is activated during attacks of FMF. TNF- α appears to play an important role in the evolution of FMF attacks. Because there are great of differences in literature, further studies are needed to elucidate this.

Keys Words: Acute Phase Response, Familial Mediterrean Fever, Interleukine-6, Interleukine-8, Tumor Necrosis Factor

* T.C Emekli Sandığı Gnl. Müd. Merkez Plk. Çocuk Sağl. ve Hst. Uzmanı
** A.Ü.T.F Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı
*** A.Ü.T.F Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı
**** A.Ü.T.F Pediatrik Hematoloji Laboratuvarı

Ailevi Akdeniz ateşi (FMF), Akdeniz kökenli bazı etnik gruplarda (Türkler, Ermeniler, Araplar ve Yahudiler) görülen otozomal resesif geçişli kalıtsal bir hastalıktır. Klinik tablo tekrarlayan ateş, karın ağrısı, göğüs ağrısı, artrit ve erizipel benzeri deri lezyonu ile karakterizedir (1-7).

Hastalığın tanısı klinik bulguların izlemi ile yapılır. Spesifik tanı yöntemi yoktur. Hastalığa neden olan gen (MEFV geni) 16. kromozomun kısa kolunda (16p13.3) tanımlanmıştır (4,5,7). MEFV geninde mutasyon saptanması klinik bulguları FMF ile uyumlu olan hastada tanıyı destekler. Tanıyı destekleyen bir diğer bulgu ise atak dönemlerinde akut inflamatuvar olaylarda arttığı bilinen akut faz reaktanlarının yükselmesidir. Atakta C-reaktif protein (CRP), sedimentasyon, fibrinojen ve beyaz küre sayısı artar. Ayrıca serum amiloid-A proteini (SAA), seruloplazmin, haptoglobulin ve çeşitli sitokinlerin de atak döneminde yükseldikleri bildirilmiştir (1,6,8).

Sitokinler, inflamasyon olayında akut faz proteinlerinin oluşumunda esas mediatörlerdir. TNF- α , İL-6, ve İL-8 inflamasyonla ilişkili sitokinler arasında yer almaktadır (9,10). **TNF- α** ; akut inflamasyonda T-helper hücrelerinin aktivasyonunu artırır (11-14). **İL-6**, TNF- α ile sinerjistik etkileri olan bir sitokindir, karaciğerden akut faz reaktanlarının sentezini indükler (11,12). **İL-8** ise, akut inflamasyon bölgesine lökositleri çekebilme yeteneğine sahip bir kemokindir (11,12,14).

Bu çalışmada FMF'li hastalarda ve sağlıklı kontrollerde serum TNF- α , İL-6 ve İL-8 düzeyleri ölçülmüştür. Aynı zamanda hasta gruplarında akut faz yanıtını değerlendirmek amacı ile beyaz küre, sedimentasyon, fibrinojen, CRP düzeylerine bakılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Hasta grubu: Hasta grubunu Mayıs-1999 ve Aralık 2000 tarihleri arasında kliniğimizde FMF tanısıyla izlenen ve tedavi verilen hastalar ile FMF ön tanısıyla izlenip izlem sırasında FMF tanısı konan hastalar oluşturmuştur. Çalışmaya toplam 72 hasta ve 20 sağlıklı kontrol alınmıştır. FMF hastaları 4 gruba ayrılmıştır. İstatiksel değerlendirmenin sağlıklı olması amacı ile her bir FMF hastası, sadece bir hasta grubuna dahil edilmiştir. İzlemede FMF tanısı konan hastalar kolşisin tedavisi başlanmadan önceki atak durumlarına göre Grup 1 (ataksız

dönem-11 hasta; 5 erkek, 6 kız yaş ortalaması: 11.18 \pm 6.4) ve Grup 2 (ataklı dönem-11 hasta; 6 erkek, 5 kız yaş ortalaması: 8.90 \pm 3.1) şeklinde sınıflandırılmıştır. Kolşisin tedavisi altında FMF tanısıyla izlenen hastalar ise atak durumlarına göre Grup 3 (ataksız dönem-27 hasta; 18 erkek 9 kız, yaş ortalaması: 10.88 \pm 2.56) ve Grup 4 (ataklı dönem-23 hasta; 12 erkek 11 kız, yaş ortalaması: 11.30 \pm 3.81) olarak ikiye ayrılmıştır. Grup 5 (kontrol grubu) ise 10'u erkek, 10'u kız sağlıklı çocuktan oluşturulmuş ve yaş ortalamaları 10.7 \pm 5.67 olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubu ile dört hasta grubu karşılaştırıldığında yaş ve cinsiyet açısından fark saptanmamıştır. Hastalar yapılacak çalışma hakkında önceden bilgilendirilmiş ve onayları alınarak çalışmaya dahil edilmişlerdir.

Hastaların atak dönemleri; 1) Ateş ve/veya peritonit (jeneralize), plevrit (unilateral), perikardit, monoartrit, unilateral orşit, erizipel benzeri eritem, uzamış febril miyalji kliniği ile başvuran ve daha önce benzer tablolar gözlenen hastalar 2) Atak kliniği ile ilk 72 saati içinde başvuran hastalar 3) Ateşe neden olabilecek bir odağın olmaması 4) Tanımlanan ateşin aksiller $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ olması ve ateşin en az 12 saat sürmesi 5) Tipik klinik tablo varlığında hastaların sedimentasyon hızı ≥ 30 mm/saat olması, CRP ≥ 5 mg/dl, fibrinojen ≥ 350 mg/dl, lökosit sayısı $\geq 10.000/\text{mm}^3$ olması olarak tanımlanmıştır. En az 3 haftadır atak geçirmeyen hastalar atak dışı dönem olarak kabul edilmiştir. Amiloidoze bağlı böbrek tutulumu olan hastalar çalışmaya alınmamıştır.

Kan örneklerinin toplanması: Hasta ve kontrol grubu çocuklardan sitokin ölçümü için venöz kan örneği alınmıştır ve serumları ayrılmıştır. Serumlar -70°C 'de çalışılincaya dek bekletilmiştir. Sitokin ölçümü ELİSA tekniği ile CyteelisaTM kitleri kullanılarak yapılmıştır. Sedimentasyon Westergren metodu ile, CRP turbidimetrik metod ile (Behring, Germany), fibrinojen ise pıhtılaşma zamanı metodu ile (Biopool, USA) değerlendirilmiştir.

İstatiksel değerlendirme: Tek yönlü varyans analizi ve ona bağlı olarak Benferroni testi, Mann-Whitney U testi, Kruskal-Wallis varyans analizi ve çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (15,16). Bu işlemler için SPSS bilgisayar programından yararlanılmıştır. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

SONUÇLAR

Fibrinojen, CRP ve sedimentasyon; tedavi alan ve almayan gruplarda atak ve ataksız dönem değerleri yönünden karşılaştırıldığında atak dönemlerinde ataksız döneme göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$). Tedavi alan ve almayan gruplar karşılaştırıldığında ise henüz tedavi başlanmamış grubun (grup 1) ataksız dönemdeki CRP değeri tedavi alan gruba göre (grup 3) istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$) (Tablo1). Beyazküre sayılarının atakla beraber arttığı fakat istatistiksel fark saptanmadığı görülmüştür.

TNF- α değerlerinin hem tedavi alan grupta hem de almayan grupta atak dönemlerinde atak dışı döneme göre arttığı gözlenmiştir (Tablo 2). Fakat istatistiksel anlamlı artış sadece tedavi alan grupta gösterilmiştir ($p < 0.01$). Hasta grupları ile sağlıklı kontrol grubunun TNF- α değerleri karşılaştırıldığında ise tüm hasta gruplarında istatistiksel anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$).

İL-8 ve İL-6 düzeyleri hem tedavi alan grupta, hem de henüz tedavi başlanmamış grupta atak dönemlerinde artmıştır. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 1: Her bir grubun fibrinojen, CRP, beyazküre sayısı ve sedimentasyon değerleri

	GRUP 1 Tedavisiz/Ataksız	GRUP 2 Tedavisiz/Atakta	GRUP 3 Tedavili/Ataksız	GRUP 4 Tedavili/Atakta
CRP (mg/dl)	0,96 ± 1,11	12,44 ± 12,95	0,13 ± 0,19	14,21± 5,68
SEDİMENTASYON (mm/sa)	28,91 ± 25,61	56,09 ± 26,41	17,71 ± 12,9	47,39 ± 22,1
FİBRİNOJEN (mg/dl)	356 ± 86.63	511.75 ± 157,05	285.57 ± 64.97	479.87 ± 127.99
BEYAZKÜRE (/mm ³)	8400 ± 3498,57	12027 ± 6207	6496,3 ± 1347,21	9308,7 ± 6398,72

Tablo 2: Her bir grubun TNF- α , İL-6 ve İL-8 değerleri

	GRUP 1 Tedavisiz/Ataksız	GRUP 2 Tedavisiz/Atakta	GRUP 3 Tedavili/Ataksız	GRUP 4 Tedavili/Atakta	GRUP 5 Kontrol
TNF- α (pg/ml)	56±102,27 (4-320)	104±91.47 (1-280)	40±93.29 (1-304)	152±144,13 (12-496)	1.5±42.69 (1-176)
İL-8 (ng/ml)	0.78±0.24 (0.48-1.36)	4.55±7.46 (0.21-23.2)	1.24±0.89 (0.29-4.16)	9.4±41.53 (0.24-200)	1.1±0.18 (0.64-1.44)
İL-6 (pg/ml)	4.6±9.13 (2.2-32)	9±17.26 (3.4-56)	6.5±8.13 (2.1-34)	12±197.53 (2.9-950)	6.8±8.07 (4.4-34)

TARTIŞMA

Hasta grubumuzda **fibrinojen, sedimentasyon ve CRP** değerleri atakta ataksız döneme göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. Kolşisin tedavisinin bu artışı engellemediği belir-

lenmiştir. Atakla beraber en belirgin artış CRP değerlerinde gözlenmiştir. Ayrıca ilginç olarak tedavi almayan gruptaki hastalarda ataksız dönemde, tedavi alanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek CRP ortalamalarının olduğu

belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada ataksız dönem FMF hastalarında ve asemptomatik FMF taşıyıcılarında CRP değerleri sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (17). Benzer bulgular başka araştırma grupları tarafından da bildirilmiştir (18,19). Bu sonuçlar FMF hastalarında asemptomatik dönemde de subklinik bir inflamasyonun sürdüğünü düşündürmektedir.

Çalışmamızda TNF- α düzeyleri atakla beraber artış göstermiştir. Bu artış hem tedavi alan hem de almayan hasta gruplarında saptanmıştır. Ancak ilginç olarak istatistiksel olarak anlamlı yükseklik tedavi alan hasta grubunda görülmüştür. Kolşisin tedavisi alan hastaların atak sırasında TNF- α düzeylerinde belirgin artış olması, atak kliniğinin ancak daha yüksek TNF- α düzeyleri varlığında gerçekleşebileceğini düşündürmüştür. Ayrıca hastaların her durumunda TNF- α değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar FMF hastalarında TNF- α 'nın atakla gelişen inflamasyon kaskadında ve ataksız dönemde subinflamasyonun oluşumunda önemli bir sitokin olduğunu desteklemektedir. Tıpkı CRP değerlerinde olduğu gibi TNF- α da asemptomatik dönemde süren inflamasyonun temel parçalarından biri olabilir. Bugüne dek yapılmış çalışmalarda her ne kadar farklı teknikler kullanılmış olsa da çeşitli çalışmalarda TNF- α düzeylerinin atak döneminde yükseldiği gösterilmiş sadece bir çalışmada atak dönemindeki TNF- α düzeyleri düşük bulunmuştur (20,21).

Çalışmamızdaki İL-8 ve İL-6 düzeyleri tedavi alan ve almayan grupta atakla beraber yükselmiştir; ancak bu yükseklik istatistiksel anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca hasta gruplarında atak dönemi İL-8 düzeylerinin sağlıklı kontrollerden yüksek olduğu,

buna karşın atak olmadığı dönemlerde sağlıklı kontrollerden farklı olmadığı görülmüştür.

İL-6 ve İL-8 düzeylerinin atakla birlikte artması inflamasyon yanıtının kanıtları olduğu düşünülmüştür. Bu iki sitokin ölçümündeki teknik zorluklar ve yarı ömürlerinin kısa oluşu bu konuda yapılmış çalışmalarda elde edilen sonuçların farklı olmasını açıklamaktadır. 1991 yılında yapılan bir çalışmada FMF hastalarında İL-6 düzeyinin dalgalanmalar gösterdiği rapor edilmiştir (22). Buna karşın 1997'de yayınlanan bir başka çalışmada İL-6 ve İL-8 düzeylerinin FMF hastalarında atak dönemlerinde ataksız döneme göre yüksek olduğu bulunmuştur fakat istatistiksel fark saptanmamıştır (23). İlginc olarak çok kısa süre önce yayınlanan bir çalışmada ise FMF hastalarının atak dışı dönemlerinde bakılan İL-1b, İL-6 ve İL-8 düzeylerinin sağlıklı kontrollerden yüksek olduğu saptanmış ve bunun da FMF hastalarında olduğu düşünülen subklinik inflamasyonun kanıtı olduğu belirtilmiştir (24).

Sonuç olarak bizim çalışmamızda atakla birlikte TNF- α , İL-6 ve İL-8 düzeylerinin yükseldiği ve bu sitokinlerin yükselmesinin akut inflamatuvar yanıtın göstergesi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kolşisin tedavisi ile sitokin düzeylerinin baskılanmadığı gösterilmiştir. Bu bulgu ise atakla birlikte sitokin sitümlasyonu olduğu ve bu yüksek değerlerin hastalığın patogenezinde bir neden değil bir sonuç olarak kabul edilmesi gerektiğidir. Diğer taraftan TNF- α düzeyleri atak dışı dönemlerde de sağlıklı kontrollerden yüksek bulunmuştur. Bu sonuç FMF hastalarında ataksız dönemde süren inflamasyonun bir başka kanıtı olarak kabul edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Ben-Chetrit E, Levy M. Familial Mediterranean fever. *Lancet* 1998;351:659-64.
2. Siegal S. Benign paroxysmal peritonitis. *Ann Intern Med.* 1945;23:1-21.
3. Heller H., Sohar E., Sherf L. Familial Mediterranean fever. *Arch.Int.Med.* 1958;102:50
4. The French Familial Mediterranean Fever Familial Mediterranean fever Consortium: a candidate gene for FMF. *Nat. Genet* 1997;17:25-31.
5. The International FMF Consortium. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause FMF. *Cell* 1997;90:797-807.
6. Samuels J., Aksentijevich I., Torosyan Y., Centola M., Deng Z., Sood R., Kastner D. Familial Mediterranean fever at the Millennium Clinical spectrum ancient mutations and a survey of 100 American referrals to the National Institutes of Health. *Medicine* 1998;77:268-97.
7. Sohar E, Pras M, Heller J, Heller H. Genetics of familial Mediterranean fever (FMF) *Arch Int Med.* 1961;107:109-118.
8. Özdemir AL., Sökmen C., Familial Mediterranean fever among the Turkish people. *Am J Gastroenterol* 1969;51:311-6.
9. Gabay C., Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation *The New Eng J Med* 1999;340:448-454.
10. Kelly WN et al.(eds). *Textbook of rheumatology* 4th ed. Philadelphia.W.B. Saunders Chapter 13,1992.
11. Kumar V,et al.(eds):*Basic pathology* 5th ed. Philadelphia.W.B. Saunders Sf:25-40 1995.
12. Roitt I, Brosstoff J, Male D. *Immunology* Fourth edition . Mosby 1998 9.11, 9.12, 14,8.
13. Beutler B, Cerami A, The biology of cachectin/TNF-alfa .*Ann Rev Immunol* 1989;7:625.
14. Lin E, Calvono E, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery.*Surgery* 2000;127 (2):117-126.
15. W. J. Conover *Practical Nonparametric statistics* 2ndEd. John Wiley & Sons 1980. Chapter 5, Section 5.2 page: 229-239.
16. Aziz Akgül . *Tıbbı Araştırmalarda İstatiksel Analiz Teknikleri-SPSS uygulamaları. Yükseköğretim Kurulu Matbaası, Ankara* 1997.
17. Tunca M, Kirkali G, Soytürk, Akar s, Pepys M, Hawkins P. Acute phase response and evolution of familial Mediterranean fever.*Lancet (Research letters)*1999;353(9162):1415
18. Drenth PH, Poland D, Livneh A, van Dijk W. Acute and chronic inflammation in FMF attacks and evidence for acute phase reaction in MEFV heterozygotos(abstract) *Clin Exp Rheumatol* 2000;18:B-2.
19. Korkmaz C, Özdoğan H, Kasapçopur Ö, Yazıcı H. Acute phase response in familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis* 2002 ;61:79-81.
20. Özyılkan E, Şimşek H, Telatar H. Tumour necrosis factor in familial Mediterranean fever. *Am J Med.* 1992;92:579.
21. Schattner A, Lachmi M, Livneh A, Pras M, Hahn T. Tumour necrosis factor in familial Mediterranean fever. *Am J Med.* 1991;90:434-8.
22. Gang N, Drenth J.P.H, Livneh A, Langevitz P. Activation of the cytokine network in familial Mediterranean fever. In 1 st International conference on familial Mediterranean fever. Program&Abstracts. Jerusalem-Israel, 7-11 September 1997:pp:58 (abst).
23. Erken E, Günesaçar R. Correlation between serum IL-6 and IL-8 levels in familial Mediterranean fever. 1 st International conference on familial Mediterranean fever Program&Abstracts. Jerusalem-Israel, 7-11 September 1997:pp:60 (abst).
24. Notamicola C, Didelot M.N, Seguret F, Demaille J, Touitou I. Enhanced cytokine mRNA levels in attack-free patients with familial Mediterranean fever. *Genes Immun* 2002 Feb;3(1): 43-45.

