

Kronik karaciğer hastalıklarında serum solubl-IL-2 reseptör düzeyleri

Serum solubl-IL-2 receptor levels in patients with chronic liver disease

Dr. Hakan YÜCEYAR, Dr. Ali KOKULUDAĞ, Dr. Ömer ÖZÜTEMİZ, Dr. Ahmet KESKİNOĞLU, Dr. Tomris KABAKÇI, Dr. Filiz SEBİK, Dr. Yücel BATUR

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji, Immunoloji ve Organ Nakli Bilim Dalları, İzmir

ÖZET: T hücrelerinin yüzeyindeki interlökin-2 reseptörü (IL-2R) ve onun serumdaki solubl formu olan serum interlökin-2 reseptörü (sIL-2R) immun sistem aktivasyonunun markırlarıdır. Kronik karaciğer hastalıklarının patogeneğinde immun mekanizmalar önemli bir rol oynarlar. Bu sebeple, 24 karaciğer sirozu (17'si hepatit B veya C'ye ve 7'si alkole bağlı) ve 11 kronik aktif hepatit olgusunda ve 10 sağlıklı bireyde sIL-2R düzeyleri araştırılmıştır. Serum sIL-2R düzeyleri sandviç EIA (Boehringer) yöntemi ile ölçülmüştür. Lenfosit subgrupları flow-cytometry ile değerlendirilmiştir. Serum sIL-2R düzeyleri karaciğer sirozu olgularında (170.3 ± 34.8 pmol/L) kronik aktif hepatitli olgularında (182.1 ± 19.2 pmol/L) bulunmuş ve her iki grubun sIL-2R değerleri kontrol grubu olgularının (77.3 ± 20.1 pmol/L) değerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Siroz ve aktif hepatit olgularının sIL-2R değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Sonuç olarak, yüksek serum sIL-2R düzeyi kronik karaciğer hastalıklı olgularda immun sistem aktivasyonunun bir göstergesi olabilir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer sirozu, kronik aktif hepatit, serum interlökin 2 reseptörü

SUMMARY: Interleukin-2 receptors (IL-2R) on the surface of T cells, and its soluble (sIL-2R) form in the serum are markers of immune system activation. Immune mechanisms play an important role in the pathogenesis of chronic liver diseases. Therefore, we investigated serum sIL-2R levels in 24 patients with liver cirrhosis (17 due to hepatitis B or C and 7 due to alcohol), 11 patients with chronic active hepatitis and 10 healthy subjects. Serum sIL-2R levels were measured by using sandwich EIA (Boehringer). Lymphocyte subgroups were assessed by flow-cytometry. Serum sIL-2R levels were found higher in patients with liver cirrhosis (170.3 ± 34.8 pmol/L) and chronic active hepatitis (182.1 ± 19.2 pmol/L) than healthy controls (77.3 ± 20.1 pmol/L). There was no significant difference between liver cirrhosis and chronic active hepatitis groups. It is concluded that elevated serum sIL-2R levels might be a marker of immune system activation in patients with chronic liver diseases.

Key words: Liver cirrhosis, chronic active hepatitis, serum interleukin-2 receptor

OTOİMMUN mekanizma ile oluşmaların dışındaki diğer kronik karaciğer hastalıklarında (KKH) da karaciğer hasarının oluşumunda özellikle hücrel immun sistemin rol oynadığına dair bulgular giderek artmaktadır. In vitro çalışmalarda immun sistemin baskılandığı belirtilirken, in vivo koşullarda baskılandığı veya aktive olduğu şeklinde farklı görüşler bulunmaktadır (1,2). Bu konuda ayrıntılı çalışmalar sürdürülmektedir.

Lenfositlerin yüzeyinde, aktif hale geçmelerinden sonra interleukin-2 reseptörü oluşur. Bu reseptörün hücre yüzeyinden ayrılması ile oluşan solubl interleukin-2 reseptörü (sIL-2R) immun sistemin aktivasyonunun bir bulgusu olarak kabul edilir. Serum sIL-2R düzeyi, patogeneğinde immun siste-

min rol oynadığı birçok enfeksiyöz, inflamatuvar ve malign hastalıklarda artmaktadır (9).

Bu çalışmada kronik karaciğer hastalıklarında immun sistemin durumunu ortaya koymak için, serum sIL-2R düzeyleri ve lenfosit alt grupları araştırılmıştır.

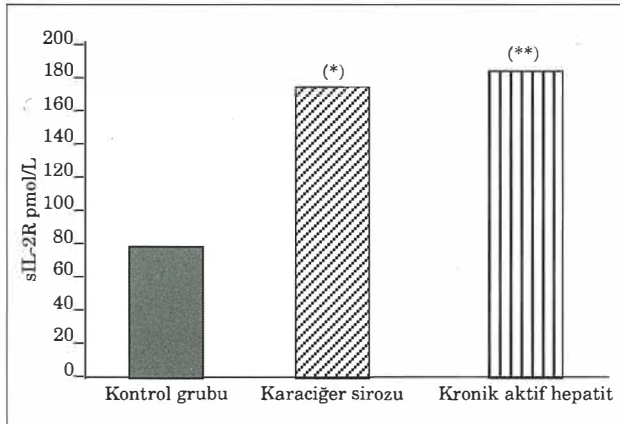
GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda 24 karaciğer sirozu (KS) olgusu (17'si viral etiyolojiye, 7'si alkole bağlı) ile 11 kronik aktif hepatit (KAH) olgusu (viral etiyolojiye bağlı) incelemeye alınmıştır. Ayrıca HBV ve HCV göstergeleri negatif 10 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Viral etiyolojiye bağlı KS olgularının 14'ünde HBV, 3'ünde HCV enfeksiyonu saptanmıştır. KAH olgularında ise 7'si HBV, 4'ü HCV ile ilişkili bulunmuştur. KS gru-

Tablo 1. Karaciğer sirozlu ve kronik aktif hepatitli olgularda serum immunglobulinlerinin ölçümleri

GRUPLAR	IgG	IgA	IgM	IgE
Normal değerler	%800-1800mg	%100-490mg	%50,320mg	<100kU/L
KAH(ort±SD)	1929,9±844,6	259,9±76,7	193,9±49,5	51,36±16,3
KS(ort±sSD)	2533,5±960,5	574,5±148,1	255,7±161,8	191,4±187,9

Grafik 1. Karaciğer sirozlu ve kronik aktif hepatitli olguların sIL-2R düzeylerinin kontrol grubu olgularının değerlerine göre karşılaştırılması.



(*): Karaciğer sirozu olgularının 17'si viral 7'si alkole bağlı etiyolojilidirler.

(**): Karaciğer sirozu ile kronik aktif hepatit olgularının sIL-2R değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur.

bunda olguların 4'ü (%16.7) kadın, 20'si(%83.3) erkek olup yaşları 37 ile 69 (ortalama 52.7) arasındadır. KAH grubunda olguların 7'si (%63.6) kadın, 4'ü(%36.4) erkek olup yaşları 27 ile 64 (ortalama 42.8) arasındadır.

Tüm olguların tanıları klinik, biyokimyasal, sonografik ve histopatolojik bulgular ile yapılmıştır. HBV ve HCV göstergeleri için II. jenerasyon EIA (Abbot) kitleri kullanılmıştır.

İmmunolojik olarak hastalarda, serum immunglobulinleri (IgG, IgA, IgM), otoantikorlar (antinükleer antikor (ANA), romatoid faktör (RF) ve tiroid otoantikorları anti-T, anti-M) ve lenfosit alt grupları araştırılmıştır. Ig'ler ve RF, nefelometre cihazında bakılmıştır. ANA, Hep2 plate'leri kullanılarak indirekt immunofluoresan yöntemle bakılmıştır. Anti-T ve anti-M hemaglutinasyon yöntemi ile titre edilmiştir. Flow-cytometry ile total T lenfosit, CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit, B lenfosit, natural killer (NK) hücre sayımları yapılmış; hücre yüzeyinde IL-2R ve DR aktivasyon antijenleri bakılmıştır. Serum sIL-2R düzeyleri,

Boehringer firmasının kit kullanılarak sandwich EIA yöntemi ile ölçülmüştür.

Tüm verilerin istatistiksel analizi, minitab pocket programda student's t testi ve korelasyon için lineer regresyon ile yapılmıştır.

BULGULAR

Serum sIL-2R düzeyleri kontrol grubunda 47.1 ile 121.1 (ort. 77.3, SD 20.1) pmol/L arasında bulunmuştur. KS grubunda 82.8 ile 221.1 (ort. 170.3±36.6) pmol/L arasında, KAH grubunda 152.3 ile 217.0 (ort. 182.1±22.2) pmol/L arasında bulunmuştur. Karaciğer sirozu (KS) ve kronik aktif hepatit (KAH) gruplarının sIL-2R düzeyleri Grafik 1'de gösterilmiştir. Normal olguların sIL-2R düzeylerinin ortalamasının üç standart sapmasının üzerindeki değerler yüksek olarak kabul edilmiştir. KS ve KAH grubunda serum sIL-2R düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0.01$). KS ve KAH grupları arasında anlamlı fark bulunmaz iken, viral etyolojiye bağlı KS olguları ile alkole bağlı KS olguları arasında sIL-2R düzeyleri (sırasıyla 162,4±34,5 ve 193,5±20,4) istatistiksel olarak anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p<0.05$). Viral etyolojiye bağlı KS olguları ile alkole bağlı KS olgularının SGOT ve SGPT değerlerinin karşılaştırılmasında ise anlamlı farklılık saptanmamıştır. Alkole bağlı KS viral etyolojiye bağlı KS ve KAH olgularının sIL-2R düzeylerinin dağılımları ise Grafik 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1'de KS ve KAH olgularına ait serum Ig düzeyleri gösterilmiştir. Serum IgG'si KS grubunda olguların 19'unda (%79.2), KAH grubunda olguların 6'sında(%54.5) yüksek bulunmuştur. IgA ise KS grubunda 15 olguda (%62.5) yüksektir. IgM 4 (%16.6) KS olgusunda yüksek olup diğer olgular da normaldir. IgE seviyeleri KS'lu olguların 10'unda (%41.7) yüksek iken, KAH'li olguların hepsinde normal sınırlardadır.

KS grubundan bir ve KAH grubundan iki hastada düşük titrede RF olumluluğu dışında olguların

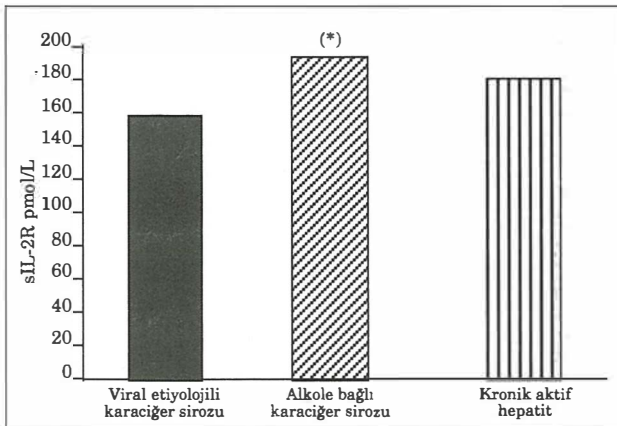
Tablo 2A. Karaciğer sirozlu olgularda flow-cytometry ile lenfosit subgruplarının ölçümleri ve SGOT SGPT değerleri

Olgular	T	B	T4	T8	T4/T8	NK	DR T cell	İL-2R	SGOT	SGPT
Normal	%60-85	%7-23	%29-59	%19-48	0.6-2.8	%6-29	—	57-97pmol/l	20-40Ü/l	20-40Ü/l
1	53	25	38	28	13	18	2	1823	116	78
2	56	22	34	37	09	2	12	1894	185	230
3	82	6	46	34	13	2	4	938	232	176
4	90	17	40	23	17	negatif	2	828	65	87
5	65	8	28	36	07	negatif	11	1691	78	45
6	74	5	41	32	12	17	10	1717	43	54
7	62	20	48	21	22	18	6	1148	134	110
8	54	18	56	19	25	negatif	9	1623	115	189
9	83	4	54	34	15	12	13	1416	78	67
10	65	23	33	34	09	negatif	5	1539	89	77
11	62	4	41	40	1	23	7	1578	25	34
12	64	22	38	39	09	12	14	1992	33	39
13	65	13	52	21	24	19	5	1564	78	79
14	78	13	50	35	14	18	13	1822	118	169
15	47	29	33	19	17	12	4	1908	267	238
16	75	21	42	23	18	negatif	11	1791	49	76
17	62	10	34	36	09	8	9	1973	178	159
18	38	20	40	19	21	negatif	8	2005	110	78
19	52	21	34	21	16	negatif	5	2211	79	85
20	45	10	38	32	11	negatif	6	2005	65	67
21	44	28	48	5	19	10	4	1584	235	320
22	60	23	54	28	19	6	11	1776	450	340
23	56	12	58	27	21	negatif	3	1884	125	177
24	38	21	48	33	14	negatif	4	2171	118	110

tümünde otoantikorlar negatiftir.

KS olgularının flow-cytometry sonuçları ile SGOT ve SGPT değerleri Tablo 2A'da, KAH olgularının ise Tablo 2B'de gösterilmiştir. KS grubunda, 10 olguda(%41.7) T lenfositler, 4 olguda (%16.7) B lenfositler, 12 olguda (%50) NK hücre sayısı düşük bulunmuştur. KAH grubunda birer olguda

Grafik 2. Viral etiyolojiye bağlı karaciğer sirozlu olgular ile alkole bağlı karaciğer sirozlu olguları ve kronik aktif hepatit olgularının sİL-2R düzeylerinin dağılımı.



(*): Viral etiyolojili karaciğer sirozu ile alkole bağlı karaciğer sirozu olgularının sİL-2R değerleri sırasıyla $162,4 \pm 34,5$ ve $193,5 \pm 20,4$ olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$).

(%9.1) T ve B, 6 olguda (%54.5) NK hücre sayısı normal sınırların altındadır. Hastaların CD4+ ve CD8+ T lenfositlerinin miktarı ve CD4/CD8 oranları normal sınırlardadır.

DR+ T hücreleri, KS grubunda %2 ile %14 arasında değişen oranlarda, KAH grubunda %4 ile %8 arasında değişen oranlarda bulunmuştur ($p > 0.05$). Periferik kan lenfositlerinde yüzey İL-2R ise KS grubunda %6 ile %25 arasında değişen oranlarda ve KAH grubunda %12 ile %32 arasında değişen oranlarda bulunmuştur ($p < 0.05$). KS grubunda viral etiyolojiye bağlı olanlar ile alkole bağlı olanlar arasında bu parametreler açısından fark yoktur.

Tüm olguların SGOT, SGPT değerleri ile sİL-2R düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık yönünden karşılaştırıldığında korelasyon saptanmamıştır.

TARTIŞMA

HBV enfeksiyonuna bağlı karaciğer hasarının mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak, HBV'nün direkt toksik etkisinden çok immun sistemin aktivasyonunun rol oynadığına dair bulgular mevcuttur(6). Özellikle T lenfositler aracılığı ile oluşan sitotoksiste önemli rol oyna-

Tablo 2B. Kronik aktif hepatitli olgularda flow-cytometry ile lenfosit subgruplarının ölçümleri SGOT SGPT değerleri

Olgular	T	B	T4	T8	T4/T8	NK	DR+Tcell	sIL-2R	SGOT	SGPT
Normal	%60-85	%7-23	%29-59	%19-48	0.6-2.8	%6-29	—	5797 pmol/l	20-40Ü/l	20-40Ü/l
1	54	12	54	38	2,8	negatif	4	2115	98	76
2	62	10	46	32	4	12	8	217	115	130
3	68	14	32	28	10	8	5	1875	238	258
4	72	11	36	24	2,8	negatif	4	1886	118	97
5	78	12	51	30	1,7	negatif	5	1736	178	125
6	66	11	48	34	13	12	5	1523	88	65
7	69	14	40	35	11	negatif	4	168	78	89
8	77	4	39	46	0,8	18	4	165	75	115
9	73	10	41	39	11	negatif	7	1749	56	76
10	64	12	54	22	2,3	negatif	8	1879	76	88
11	76	7	57	28	2	15	8	1768	115	178

maktadır. Kronik HBV enfeksiyonlarında karaciğer dokusunda, HBcAg için spesifik T lenfositlerin infiltrasyonu vardır. Hepatosit membranındaki HBcAg immun sistemin esas hedefidir. Ayrıca karaciğer hücre membran lipoproteini de hücre aracılı sitotoksitenin bir hedefidir (7). Sirozlu hastalarda sitotoksik T lenfositlerden salınan sCD8 seviyelerinin yüksek oluşu da bu görüşü desteklemektedir (3).

IL-2R, T lenfositlerin yüzeyinde antijenle veya mitojenle aktivasyondan sonra ortaya çıkar. Ayrıca aktif B lenfositlerin, NK hücrelerin ve monosit/makrofaj serisi hücrelerin yüzeyinde bulunur. Böylece immun sistemin, ama esas olarak hücre-sel immun sistemin aktivasyonunun bir bulgusudur. Serumdaki sIL-2R ise, hücre yüzeyindeki reseptörün proteolitik olarak ayrılması ile oluşur (9).

Olgularımızın serum sIL-2R düzeyleri, sağlıklı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). KAH grubunda daha fazla olmak üzere periferik kan lenfositlerinin yüzeyinde de IL-2R'nin saptanması bu lenfositlerin aktif durumda olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, HBV/HCV enfeksiyonuna veya alkole bağlı kronik karaciğer hastalıklarında immun sistemin aktivasyonunu göstermektedir. Literatürde benzer sonuçlar bildirilmiştir. Serum sIL-2R düzeyleri, birçok çalışmada kronik karaciğer hastalıklarında yüksek olarak bulunmuştur. Ayrıca primer bilier sirozlu (2,5) ve obstrüktif ikterli (3) olgularda da yüksek bulunmuştur.

Yamaguchi, akut ve kronik hepatitli olgularda serum sIL-2R düzeylerini yüksek bulmuşuna ve IL-2'ye bağımlı sitotoksik T lenfositlerin patogene-
nezde oynadığı role dikkati çekmiştir (2). Wagner

ve ark.ları hem alkole hem de HBV enfeksiyonuna bağlı karaciğer sirozlu olgularda yüksek serum sIL-2R düzeylerini saptamışlar ve iki grup arasında fark gözlememişlerdir (3). Bizim olgularımızda ise anlamlı fark vardır. Müller ve ark. ları da akut viral hepatitli, kronik aktif HBsAg+ hepatitli ve alkolik karaciğer sirozlu hastaların serum sIL-2R düzeylerini normal olgulardan yüksek bulmuşlardır (5). Dolar ve ark.ları, kronik viral karaciğer hastalıklarında serum sIL-2R düzeylerini yüksek bildirmişlerdir (11).

Alkole bağlı karaciğer hasarının oluşumunda alkol ve onun metabolitlerinin önemi bilinmektedir. Ancak, immunolojik mekanizmaların da rol oynadığına dair bulgular vardır. Bu bulgular arasında, özellikle T lenfositlerden oluşan mononükleer hücre infiltrasyonunun olması, bazı dolaşan otoantikorların varlığı ve bu hastaların lenfositlerinin in vitro olarak hepatositler için sitotoksik olması sayılabilir (8). Serum sIL-2R düzeylerinin yüksek bulunması da immun sistemin aktivasyonunun bir bulgusu olarak bu düşüncüyü desteklemektedir. Müller ve arkadaşları alkolik karaciğer sirozlu hastalarda serum sIL-2R düzeylerini artmış bulmalarına karşın, in vitro olarak, periferik kan mononükleer hücrelerin mitojenle uyarılma-
larından sonra sIL-2R yapımında, sağlıklı kontrollerden fark olmadığını saptamışlardır (5). Masumoto ve arkadaşları, kronik karaciğer hastalığı olan hastaların periferik kan lenfositlerinin yüzeylerinde IL-2 reseptörünü azalmış bulmuşlardır (1). Lai ve ark.ları ise in vitro çalışmalarında, HBV taşıyıcılarında mitojenle uyarılmış hücre-sel IL-2R ekspresyonunu, soluble IL-2R salınımını ve IL-2 üretimini gösterememişlerdir (4). İn vitro ve in vivo koşullarda farklı sonuçların elde edilmesi, sistemik lupus eritematosuslu olgular için de ge-

çerlidir (10). Serum sIL-2R düzeyleri yükselmiş iken, hücre yüzeyinde düşük düzeylerde saptanması, reseptörün hücre yüzeyinden ayrılması ile izah edilebilir. İn vitro çalışmalarda lenfositlerin uyarılara cevap vermemesi ise, in vivo olarak aktif durumda olan hücrelerin tükenmiş durumda olmalarına bağlanabilir.

Olguların lenfosit alt gruplarında hafif sapmalar

görülmekle birlikte, NK hücrelerindeki azalma daha belirgindir. Masumoto ve ark.ları, kronik karaciğer hastalıklarında NK hücre aktivitesinde azalma saptamışlardır (1).

Sonuç olarak, artmış serum sIL-2R düzeylerinin kronik karaciğer hastalıklarında inflamatuvar aktivitenin bir göstergesi olduğunu söylemek mümkündür.

KAYNAKLAR

1. Masumoto T, Onji M, Ohta Y. Decreased interleukin-2 receptor beta chain expression by peripheral blood lymphocytes in chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1992; 7:399-404.
2. Yamaguchi S. Increased levels of serum soluble interleukin 2 reseptor (sIL-2R) in patients with chronic liver diseases. *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1990; 87:2457-65.
3. Wagner F, Assemi C, Lersch C, Hart R, Calssen M. Soluble interleukin-2 receptor and soluble CD8 in liver cirrhosis and obstructive jaundice. *Clin Exp Immunol* 1990; 82: 344-349.
4. Lai KN, Leung JC, Tam JS, Leung NW. T lymphocyte activation in chronic hepatitis B infection: interleukin-2 release and its receptor expression. *Am J Gastroenterol* 1989; 84:1532-37.
5. Müller C, Knoflach P, Zielinski CC. Soluble interleukin 2 receptor in acute viral hepatitis and chronic liver disease. *Hepatology* 1989; 10:928-932.
6. Bain VG, Alexander GJM, Eddleston ALWF. Immunopathogenesis of viral hepatitis. In: *Immunology and immunopathology of the liver and gastrointestinal tract*. Ed: Targan SR, Shanahan F. Igaku-Shoin, New York, Tokyo, 1990; pp: 255-281.
7. Vogten AJM, Hadzic N, Shorter RG, Summerskill WHJ, Taylor WF. Cell-mediated cytotoxicity in chronic active liver disease: a new system. *Gastroenterology* 1978; 74:883-889.
8. Chapel H, Haeney M. Essential of clinical immunology. In: Chapel H Editor, Third edition Blackwell Scientific publications. London, 1993. Chapter 12 pp: 229-253.
9. Robb RJ, Kutny RM: Structure-fonction relationships for the IL-2 receptor system. *J Immunol* 1987; 139:855-862.
10. Huang YP, Miescher PA, Zubler RH. The interleukin 2 secretion defect invitro in systemic lupus erythematosus is reversible in rested cultured T cells. *J Immunol* 1988; 141:827-833.
11. Dolar ME, Dalva K, Baysal Ç, et al. Kronik viral karaciğer hastalıklarında serum solubl interleukin-2 reseptör düzeyi. *Gastroenteroloji* 1992; 3:627-631.