



MİKOBAKTERİUM TÜBERKÜLOZIS'Lİ OLGULARDA SERUM ÇİNKO VE BAKIR DÜZEYLERİ SERUM ZINC, AND COPPER LEVELS IN CASES WITH MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Halil DÜZOVA¹

A. Alev KARAGÖZLER²

M. Sait TEKEREKOĞLU³

M. Hanifi EMRE¹

¹İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Malatya

²İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Malatya

³İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya

Anathar Sözcükler: mikobakterium tüberkülozis çinko, bakır,

Key Words: mycobacterium tuberculosis, zinc, copper,

ÖZET

Tüberküloz (TB), intrasellüler bir patojen olan Mikobakterium tüberkülozis (MTB) tarafından oluşturulan kronik bir enfeksiyondur. Bu çalışmada konakçıda Mikobakterium tüberkülozis enfeksiyonunda, serum geçiş metallerinden olan bakır (Cu) ve çinko (Zn) düzeyleri araştırıldı. Çalışma, TB tanısı için balgamda asit fast basil (ARB) ve "polymerase chain reactionu" (PCR) negatif olan sağlıklı 21 (n=21) kişiden (yaş ort; 35, 77 ±10, 54) oluşan kontrol grubu ve balgam, plevra, bronşial alveolar lavaj ve aspirasyon sıvısında PCR, ARB vb yöntemlerle tanısı konulmuş ve henüz tedaviye başlanmamış olan 19 (n=19) (yaş ort; 31, 85 ±7, 39) kişiden oluşan hasta grubu ile yapıldı. Serumdaki Cu ve Zn düzeyleri, atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile ölçüldü. Hasta ve kontrol gruplarının serum Cu düzeyleri sırasıyla 72.05 ± 7.04 f.ig/100 mL ve 68.33 ± 4.66 jig/100 mL olarak bulundu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (p < 0,05). Hasta ve kontrol gruplarının serum Zn düzeyi ise sırasıyla 62.00 ± 7.86 f.ig/100 mL ve 68.67 ± 5.84 f.ig/100 mL olarak bulundu ve aralarından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamadı (p > 0,05).

SUMMARY

Tuberculosis (TB) is a chronic infection caused by Mycobacterium tuberculosis (MTB), an intracellular pathogen. In this study, levels of copper (Cu) and zinc (Zn), which are serum transition metals, were studied in the host infected with Mycobacterium tuberculosis. Twenty one healthy subjects (mean age = 35, 77 ±10, 54) (n = 21) negative polymerase chain reaction (PCR) and acid fast bacilli (ARB) in sputum for tuberculosis, and 19 non-treated patients with TB (n=19) (mean age = 31, 85 ± 7, 39) diagnosed by PCR and ARB etc. in sputum, and pleural, bronchial alveolar lavage and aspiration fluid were subjected to the study. Cu and Zn levels in serum were measured by atomic absorption spectrophotometer. Cu levels in sera for the control groups and the patients were found to be 72.05 ± 7.04 f.ig/100 mL and 68.33 ± 4.66 f.ig/100 mL respectively, and statically there was a significant difference between them (p < 0,05). Sera Zn levels for control groups and the patients were 62.00 ± 7.86 f.ig/100 mL and 68.67 ± 5.84 f.ig/100 mL respectively, and there was no significant statistical difference between them (p > 0,05).

Yazışma adresi: Halil Düzova, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı, Malatya

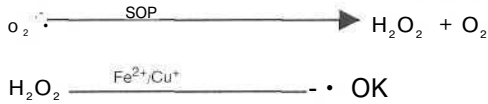
Makalenin geliş tarihi: 03. 06. 1999; kabul tarihi: 03. 10. 2000

GİRİŞ

Tüberküloz (TB) bir asit fast basil olan, Mikobakteriyum tüberkülozis (MTB) tarafından oluşturulan kronik intrasellüler bir enfeksiyondur (1-3). Tüberkülozda immun yanıt, hem koruyuculuk sağlamaktadır hem de hastalığın

resolüsyonuna veya aktif hastalığın karakteristik patolojisine neden olmaktadır (3).

Geçiş metallere zincir (Zn⁺²), bakır (Cu)⁺² doğal olarak oksidan hasara karışmalarından ve gerekse de in vivo olarak radikal reaksiyonlarını katalize edebilen iyonlar gibi sorunlara neden olmalarından dolayı immün yanıtta önemlidirler. Geçiş metalleri aşağıdaki reaksiyonlar aracılığıyla ile etkilerini gösterirler (4). MTB gibi intrasellüler bakteriler konakçı makrofajları tarafından yapılan oksidan maddelere karşı kendilerini korumak için gerekli olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan maddeleri sentezlemek için de geçiş metallere gereksinim duyarlar (5).



Tüberkülozda (TB) aktive olmuş makrofajlar ve lenfositler tarafından salgılanan sitokinler ve sitokin olmayan diğer maddeler, konakçının geçiş metallere düzeylerinde değişikliğe neden olabilir. Bu çalışma, PCR, mikroskopik ve histopatolojik yöntemlerle TB tanısı konulmuş hastalarda vücuttaki geçiş metallere düzeylerinde meydana gelen değişikliğin gözlenmesi için planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Verem savaş dispanserine başvuran TB tanılı 14 (n=14) erkek ve 5 (n=5) kadın hasta, anti-TB tedavisi almadan önce çalışmaya alındı. Akciğer TB'lu hastaların tümünde en az bir kez balgamda veya alınan materyalinde (plevra, bronko-alveolar lavaj, aspirasyon sıvısı, v.s..) asit fast basil (ARB) ve PCR (polymerase chain reaction) pozitif olarak bulundu. Hastaların hiçbirinde çalışmadan önce kortikosteroid veya diğer bir immunosuppressif tedavi uygulanmadı. Lupus eritromatosus, sepsis ve akciğer enfeksiyonu gibi inflamatuvar hastalığı veya diabet olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu ise 11 (n=11) erkek ve 10 (n=10) kadın sağlıklı kişiden oluşturuldu. Kontrol grubundakilerin hiçbirinde, anamnez, fizik muayene, P.A. akciğer grafisi, kan biyokimyası, hematolojik tetkikte, balgam, diğer materyalde ARB ve PCR sonuçları ile yapılan değerlendirmede akciğer hastalığına veya diğer inflamatuvar hastalıklara ait bulgular bulunamadı. Kontrol grubunun bireylerinin yarısı düzenli olarak sigara içiyordu ve herhangi bir ilaç da almıyordu. Hastalar ve kontrol grubundaki kişilerin tümünün anamnezi alındı, fizik muayenesi yapıldı, mikrobiyolojik (ARB ve PCR) inceleme, kan biyokimyası (karaciğer fonksiyon testleri, total protein, albumin, üre, kreatinin), hematolojik ölçümler yapıldı. Kan sedimantasyon değerlerine bakıldı. P.A. akciğer grafisi ve patolojik incelemeler yapıldı. Çalışmaya

alınan kişilerin tümüne yapılan işlemler anlatıldı ve çalışmaya katılmak istediklerine dair yazılı izinleri alındı

Kontrol ve hastalardan sabah saat on da herhangi antikoagülan katılmadan 10 mL venöz kan alındı ve alınan kan 5 dk aralıklarla cam bagetle karıştırıldı, 15 dk sonra 500Xg'de 10 dk santrifüj edilerek serum ayrıldı. Örnekler -40° C'de derin dondurucuda polipropilen tüpler içinde saklandı. Analiz için kullanılan triklorasetik asit ile Cu ve Zn standart çözeltileri Merck Co.'dan alındı.

Geçiş metallere analizleri, serum örnekleri seyreltilmeden triklorasetik asit (TCA) çöktürmesi yapılarak süpernatandan çalışıldı. Analiz için Philips PO 9100 X Alevli Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi kullanıldı. Süpernatantlar 150 µL'lik kısımlar halinde çalışıldı. Her örnek en az iki kez okunarak ortalama değerleri alındı. Sonuçlar standart grafiği çizilerek değerlendirildi.

Deneylerin sonuçları non-parametrik istatistiksel testlerle incelendi. Grup içi değerlendirilmede Wilcoxon testi, deney ve kontrol grupları arasında değerlendirmede ise Mann-Whitney U testi kullanıldı.

BULGULAR

Yaş bakımından kontrol (35, 77 ±10, 54) ve hasta (31, 85 ± 7, 39) grupları arasında fark yoktu (p> 0, 05). Hasta ve kontrol gruplarının ARB ve PCR sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hasta ve kontrol gruplarının ARB ve PCR sonuçları.

		Hasta grubu (n=19)	Kontrol grubu (n=21)
ARB	Negatif	7 (% 37)	21 (% 100)
	+	7 (% 37)	- (% 00)
	++	- (% 00)	- (% 00)
	+++	5 (% 26)	- (% 00)
PCR	Negatif	5 (% 26)	21 (% 100)
	+	5 (% 26)	- (% 00)
	++	6 (% 32)	- (% 00)
	+++	3 (% 16)	- (% 00)

Bir olguda alınan biyopside TB'li olduğu, buna karşın PCR negatif olan diğer bir olguda sol koltuk altında 3X3 çapındaki lezyonda alınan biyopsiden materyalinin mikroskopik incelenmesinden granülom yapılar, Langhans tipi hücreler, dev histiositler ile kazeifikasyon nekrozuna rastlandı. PCR ve ARB negatif olan hastalarda, klinik durum, tüberküloz kültürü, ilaçlara cevap verme, aile bireylerinde TB olması, radyolojik bulgular, diğer hematolojik ve biyokimyasal bulgularla TB tanısı konuldu.

Serum serbest Cu düzeyleri hasta grubunun kontrol grubuna göre daha yüksekti ve aralarında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardı ($p < 0,01$). Kontrol ve hasta gruplarının serum Zn düzeyleri arasında fark bulunmadı ($p > 0,05$). Grupların kendi içinde yapılan değerlendirilmesinde; kontrol gruplarında Zn kadınlarla erkekler arasında istatistiksel olarak farklı bulundu ($p < 0,05$). Fakat TB gruplarında hem Cu hem de Zn kadınlarla erkekler arasında istatistiksel olarak fark göstermedi ($p > 0,05$). Kadın ve erkek hasta ve kontrol grupları arasından yapılan değerlendirmede ise TB ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak Cu ve Zn arasında anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$), (Tablo 2).

Tablo 2. Hasta ve kontrol gruplarında serum bakır ve çinko düzeyleri.

	Serum Bakır Düzeyi ($\mu\text{g/dL}$) ort+SD	Serum Çinko Düzeyi ($\mu\text{g/dL}$) ort+SD
Kontrol Genel (n:21)	68.33 \pm 4.66	68.67 \pm 5.84
Kontrol Erkek (n:11)	69.36 \pm 6.87	80,91 \pm 7.28
Kontrol Kadın (n:10)	67.20 \pm 6.60	55.20 \pm 7.45
TB Genel (n:19)	92.05 \pm 7.56	62.00 \pm 7.86
TB Erkek (n:14)	97.71 \pm 9.78	69.36 \pm 9.27
TB Kadın (n:5)	79.60 \pm 6.87	41.40 \pm 11.49

TARTIŞMA

Kronik infeksiyon ve inflamasyonların vücut metabolizmasını etkileyerek serum Cu ve Zn düzeylerinde değişiklik oluşturduğu bir çok çalışmada belirtilmiştir (6-12). Bu çalışmada, hasta grubunun serum Cu düzeyleri, kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Ancak, hasta grubunun sonuçları normal sınırlar içinde iken kontrol grubunun sonuçları normalden düşük bulundu. Bu bulgular, literatür sonuçlarına paralellik göstermektedir (7-9,10). Serum Cu düzeyinin yüksek oluşu aktif TB'un belirtisi olabilir. Bu yükselme, MTB ile invaze olan hücrelerin sitoplazmik ve nükleer kompartmanlarında bulundukları Cu'ü ekstrasellüler ortama salgılaması sonucu olabilir. Ayrıca, TB vakaların çoğunda parçalanmış hücrelerin sitoplazmasından ve çekirdeğinden kaynaklanan Cu nedeni ile serum Cu düzeyi yükselebilir (9). Nitekim, Beveridge ve ark. yaptığı çalışmada kronik inflamasyonda akut inflamasyona göre serum Cu düzeyini yüksek bulmuşlardır (6).

Çalışmada hasta grubunun serum Zn değerleri ile kontrol grubunun değerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı, fakat hem hasta hem de normal kişilerin Zn değerleri normale göre biraz daha düşük bulundu. Değişik çalışmalarda, aktif TB'lu kişilerin serum Zn değerlerini normal kişilere göre düşük bulmuşlardır (7,12). Anti-tüberküloz tedavi alan pulmoner TB'lu hastaların serum Zn düzeylerinin farklı olabileceği rapor edilmiştir. Malnutrisyonu olan TB hastalarında düşük serum Zn düzeyi bulunmuştur ve bu durum hastalığın seyrini değiştirebilir (11). Bu çalışmada hem hasta hem de normal kişiler-

de serum Zn değerlerinin düşük çıkması toplumumuzun beslenme alışkanlığı ve sosyo-ekonomik durumu ile de ilişkili olabilir. Zhang, yaptığı çalışmada, aktif pulmoner TB'lu ve sağlıklı kontrol grubunda saç Cu ve Zn değerlerine incelenmiş ve sonuçta TB grubunda Zn ve Cu düzeyini kontrol grubuna göre düşük bulmuştur (12). Hua'a ise yaptığı çalışmada pulmoner TB ve pulmoner karsinoma hastalarında serum Cu düzeylerinde artış bulurken serum Zn düzeyinde ise azalma bulmuştur (7). Yu, 12'si tedavi edilmemiş olmak üzere toplam 72 aktif pulmoner TB'lu hastada ve sağlıklı 43 kişiden oluşan kontrol grubunun Zn ve Cu düzeylerinde hasta grubu lehine olmak üzere yüksek bulmuştur (10). Yu ark. sonuçları bu çalışmadaki Cu sonuçlarını teyit etmektedir. Zn sonuçlarının farklı olması uygulanan yöntemin farklı olması ve grubunun çoğunluğunu oluşturan hastaların büyük bir kısmının tedavi almış olması nedeni ile olabilir. Serum Zn ve Cu düzeylerini aktif pulmoner TB'lu olgularda Sönmez ve ark., yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmacıların Zn sonuçları hem çalışmamızın hem de diğer çalışmacıların sonuçlarının aksine yüksek bulunmuştur. Bu sonuç Sönmez ve ark, aktif TB grubunun tedavi edilen ve edilmeyen grupların ayırımının yapılmış olmasından ileri gelebilir (9).

Çeşitli araştırmacılar TB'da düşük serum düzeyini metabolizma değişikliğine bağlamışlardır (9). Nötrofiller inflamasyonun olduğu yerde protein sulfhidrillerle yüksekçe tepkime veren bir kısım hasar verici oksidan salgılar. HOCl ve O₂⁻ hücrel metalloproteinleri hasara uğratarak bağlı Zn'nın ve diğer geçiş metallerin serbest kalmasını sağlar, inflamasyon yerinde nötrofil oksidanlar tarafından mobilize olan Zn hücrel hasarın önemli bir nedeni olabilir (13-14). Konakçının MTB'a karşı direncinde etkili olan immun sistemin hücrel ve moleküller komponentlerin fonksiyonlarını yapmasında ve oluşturulmasında beslenme durumu önemlidir. Malnutrisyon, MTB'e karşı oluşan immun yanıtı zarar verebilir. Çinko eksikliği timus atrofisine neden olarak, T lenfositlerin meydana gelişini ve olgunlaşmasında yetersizliğe neden olur. Ayrıca, Th1 sitokinlerinden olan IL-1 ve INF-y yapımında azalma ile tüberkülinin ve PPD'in yaptığı lenfoproliferasyonun oluşmasında inhibisyona neden olur (15-16). Lepralı hastaların inflamatuvar hücrelerinden salgılanan, IL-1 konakçıda serum bakır düzeyinin yükselmesine, çinko düzeyinin azalmasına neden olur (14). McMurray ve ark., Zn eksikliği ve malnutrisyonu olan guinea pig'lerde MTB H37Ra şuşu ile yapılan enfeksiyonda hastalığın daha yayılcı olduğunu bulmuşlardır (17).

TB tedavi süresinin 6 aya indirilmesine ve 1980'lerden sonra moleküller biyoloji, genetik ve immünoloji alanlarından çok önemli gelişmeler olmasına rağmen, TB'nin insidensinde ve mortalitesinde anlamlı değişiklikler olmamıştır. Şu anda kullanılan tedavi yöntemleriyle yakın bir gelecekte sorunun çözülmesi zor görünmektedir.

MTB enfeksiyonu sırasında salgılanan ekzotoksinler ve endotoksinler saptanması ve bunların, konakçının savunma hücreleri ve bunların salgıladığı sitokin ve sitokin olmayan maddelerin geçiş metalleri üzerindeki etkilerin

araştırılması gerekli kılmaktadır. Geçiş metalleri konusundaki bilgiler artması ile konakçı savunması ve inflamasyonunun daha iyi anlaşılması, yeni geliştirilen TB tedavi stratejileri için temel oluşturabilir.

KAYNAKLAR

1. Bates JH, Nardell E. Institutional control measures for tuberculosis in the era of multiple drug resistance. ACCP/ATS Consensus Conference. American College of Chest Physicians and the American Thoracic Society. Chest 1995; 108:1690-1710.
2. Davey SS, McCance K, Budd MC. Alterations of Pulmonary Function. McCance KL, Huether SE. ed. Pathophysiology; The Biologic Basis for Disease in Adults and Children. Mosby, St.Louis, Missouri. 1994: 1174-5.
3. Davies PDO, Giriling DJ, Grange JM. Tuberculosis and its problems in developing countries. Weatherall DJ, Ledingham JGG, Warrell DA. ed. Oxford Textbook of Medicine.3rd ed. Oxford Pub Med, Oxford. 1996: 638-64
4. Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. An overview. Packer L, Glazer AN. ed. Methods Enzymology, USA, 1990:186(B);1-85
5. Agranoff DD, Krishna S. Metal ion homeostasis and intracellular parasitism. Mol Microbiol. 1998;8(3);403-12
6. Beveridge SJ, Garret IR, Whitehouse MW, et al. Biodistribution of 64 Cu in inflamed rats following administration of two anti-inflammatory copper complexes. Agents Actions 1985;17(1);104-11.
7. Hua B. Clinical value of serum copper, zinc and copper/zinc ratio in the differentiation of sarcoidosis from pulmonary tuberculosis and pulmonary carcinoma. Chung Hua Chieh Ho Ho Hu Hsi Tsa Chih. 1989;12(4);212-3, 253-4
8. Resnick M, Fibach E, Lebastard M, et al. Response of the murine hematopoietic system to chronic infection with Mycobacterium lepraemurium. Infect Immun. 1988;56(12);145-51
9. Sönmez E, Yakıncı C, Küçükbay FZ, et al. Serum zinc, copper, and magnesium levels in pulmonary tuberculosis Cases. Türk J Med Sci. 1997;27(4):301-6
10. Yu KJ. Determination and analysis of some serum trace elements of active pulmonary tuberculosis. Chung Hua Chieh Ho Ho Hu Hsi Tsa Chih. 1989;12(1);10-1, 60
11. Yüregir GT, Kayrın L, Tuli A, Aksoy K, Arpacı A. Reference values for plasma Cu, Zn, Mg and erythrocyte Zn and Mg in Southern Turkey, Türk J Med Sci. 1997;27(4):297-300
12. Zhang DR. Determination of zinc, copper, iron, and zinc copper ratio in the hair of active pulmonary tuberculosis patients. Chung Hua Chieh Ho Ho Hu Hsi Tsa Chih. 1991;67(3);1386-92
13. Fliss H, Menard M. Oxidant-induced mobilization of zinc from metalloprotein. Arch Biochem Biophys. 1992;293(1);195-9
14. Jain A, Mukherjee A, Chattopadya D, Saha K. Biometals in skin and sera of leprosy patients and their correlation to trace element contents of M. lepra and histological types of the disease, a comparative study with cutaneous tuberculosis. Int J Lepr Other Mycobact Dis. 1995;63(2);249-58
15. Dai G, Phalen S, McMurray DN. Nutritional modulation of host response to mycobacteria. Front Biosci. 1998;20;3;E110-22
16. McMurray DN, Bartow RA, Mintzer CL, Hernandez-Frontera E. Micronutrient status and immune function in tuberculosis. Ann N Y Acad Sci. 1990:59-69
17. McMurray DN, Carlomagno MA, Cumberland PA. Respiratory infection with attenuated Mycobacterium tuberculosis H37Ra in malnourished guinea pigs. Infect Immun. 1983;39(2);793-9

*Türk Fizyolojik Bilimleri Derneği 24. Ulusal Kongresinde (14-19 Eylül 1998, Samsun) bir kısmı poster olarak sunulmuştur