

Multipl Skleroz Hastalarında Serum Neopterin Düzeyleri

SERUM NEOPTERIN LEVELS IN THE PATIENTS OF MULTIPLE SCLEROSIS

Dr. H. Handan AKBULUT,^a Dr. Serpil BULUT,^b Dr. M. Said BERİLGİN,^b Dr. Fatma KANSIZ^b

^aİmmünoloji AD, ^bNöroloji AD, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, ELAZIĞ

Özet

Amaç: Multipl skleroz (MS)'de, demiyelinizan plakların oluşumunda hücrel immün aktivasyonun tetik çekici olarak görev yaptığı kabul edilmektedir. Bu çalışmada Relapsing-Remitting MS (RR-MS)'li hastalarda hücrel immün aktivasyonun en önemli göstergelerinden biri olan neopterinin atak ve remisyon dönemlerindeki serum değerlerinin saptanması ve neopterinin atak dönemleri için belirleyici bir laboratuvar tetkiki olup olamayacağını tartışılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışma grubu Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi Nöroloji Polikliniği'nde izlenen RR-MS tanılı 39 hasta ve kontrol grubu ise 39 sağlıklı gönüllüden oluştu. Serum neopterin değerleri ELISA yöntemiyle ölçüldü. Hasta grubunun klinik durumları Expanded Disability Status Scale (EDSS) ile belirlendi.

Bulgular: Çalışma grubunda neopterin düzeyleri 18.77 ± 2.36 nmol/L, kontrol grubunda 11.79 ± 3.35 nmol/L olarak tespit edildi ($p < 0.05$). Atak dönemindeki MS hastalarında neopterin değerleri 24.42 ± 7.56 nmol/L iken, remisyon dönemindeki hastalarda ise 15.95 ± 3.41 nmol/L olarak saptandı ($p < 0.01$). MS'li hastaların EDSS skoru ve neopterin düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon vardı ($p < 0.05$, $r = 0.4$).

Sonuç: Serum neopterin düzeyinin MS hastalarının atak dönemini değerlendirmede objektif bir laboratuvar bulgusu olarak kullanılabilmesi sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Multipl skleroz, neopterin

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005, 25:178-182

Abstract

Objective: Cellular immune system activation functions as a triggering factor in the formation of demyelination plaques in multiple sclerosis (MS). Our aim was to study the levels of neopterin, an important activation marker of the cellular immune response in patients with Relapsing-Remitting MS (RR-MS), during attack and remission periods and to determine its efficacy as a laboratory marker or predictor of imminent periods of disease activation.

Material and Methods: 39 age and sex matched healthy patients diagnosed with RR-MS were investigated in the Neurology Department of Fırat University Faculty of Medicine. Neopterin levels were determined by ELISA. Patients were classified according to clinical status with the Expanded Disability Status Scale (EDSS).

Results: Neopterin levels were 18.77 ± 2.36 nmol/L and 11.79 ± 3.35 ng/mL in the patient and control groups, respectively ($p < 0.05$). During attack and remission periods, Neopterin levels were 24.42 ± 7.56 nmol/L and 15.95 ± 3.41 nmol/L, respectively ($p < 0.01$). There was a positive correlation between EDSS scores and neopterin levels of the MS patients ($r = 0.4$, $p < 0.05$).

Conclusion: We conclude that neopterin levels might be used as an objective criterion in the evaluation of attack periods of RR-MS patients.

Key Words: Multiple sclerosis, neopterin

Multipl skleroz (MS), özellikle periventricüler beyaz cevherde demiyelinizasyon, oligodendrosit kaybı ve reaktif astrogliazdan oluşan plaklarla karakterizedir.¹ Hastalığın ilk dönemlerinden itibaren akson kaybı

söz konusudur. Akson kaybı eşiği aştığında sekonder progressif MS (SP-MS)'e dönüşüm ve kalıcı nörolojik bulgu ortaya çıkar. Hastalığa yatkın kişinin viral ya da bakteriyel bir ajanla karşılaşması sonucu başta miyelin proteinleri olmak üzere tüm santral sinir sistemi (SSS) elemanlarına karşı otoimmün bir mekanizma gelişir.^{2,3} Bu gelişimde hücrel immün aktivasyonun ve özellikle T hücrelerinin tetik çekici olarak görev yaptığı kabul edilmektedir. Atak ve remisyonla seyreden MS'de atak dönemini belirleyici bir laboratuvar tetkiki halen

Geliş Tarihi/Received: 18.02.2004

Kabul Tarihi/Accepted: 15.02.2005

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Serpil BULUT
Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi
Nöroloji AD, 23119, ELAZIĞ
serpilbulut@firat.edu.tr

Copyright © 2005 by Türkiye Klinikleri

bulunmamaktadır.^{4,5}

Neopterin; guanozin trifosfat cyclohidrolase I enzimi (GTP-CH I) aracılığıyla, guanozin trifosfattan derivate edilen 250 dalton moleküler ağırlığında bir pyrimidine-pyrimide bileşimidir. Aktive olmuş T lenfositlerinden salınan gama interferon GTP-CH I enzimini arttırarak, insan makrofajları tarafından neopterin üretimini arttırır.⁶ Serum, idrar ve beyin omirilik sıvısı (BOS) gibi vücut sıvılarında, radyoimmünoassay ve enzimimmünoassay gibi metotlarla neopterin hassas ve kolay bir şekilde ölçülebilmektedir.⁷

Bu çalışmada kliniğimizde takip edilen RR-MS'li hastalarda hücrel immün aktivasyonun en önemli göstergelerinden biri olan neopterinin atak ve remisyon dönemlerindeki serum değerlerinin saptanması ve neopterinin atak dönemleri için belirleyici bir laboratuvar tetkiki olup olmayacağını tartışılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Çalışmanın etik onayı Fırat Üniversitesi etik kurulundan alındı ve hastalara rıza formları Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi Nöroloji Kliniği Multipl Skleroz Polikliniği'nde takip edilen 23 kadın, 16 erkek hasta olmak üzere toplam 39 RR-MS hastası, çalışma grubu ile benzer yaş ve cins özelliklerine sahip 39 sağlıklı gönüllü çalışma kapsamına alındı. Örnek alınımından önceki 3

hafta içinde yeni nörolojik semptomları ortaya çıkan ya da daha önceki semptomları kötüleşen hastalar atak döneminde kabul edildi. Ciddi sistemik enfeksiyonu olan, malignitesi bulunan ve büyük cerrahi girişim uygulanan hastalar çalışma kapsamına alınmadı.

Hasta ve kontrol grubundan uygun şartlarda venöz kan örnekleri alındı ve serumları ayrılıp çalışma gününe kadar -20°C'de bekletildi. Neopterin değerleri ELİSA yöntemiyle BRAHMS (Diagnostica GmbH, Berlin, Almanya) marka kitler kullanılarak saptandı. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 10.01 paket programı kullanıldı. Hasta ve kontrol grubunun verilerinin karşılaştırılmasında student T test, χ^2 testi, profilaktik tedavi alan ve almayan hastaların atak ve remisyon dönemlerindeki verilerin karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Ayrıca parametreler arası ilişkinin incelenmesinde Spearman korelasyon testi uygulandı.

Sonuçlar

Hastaların yaş ortalaması 36.8 ± 11.0 olup, 13 (%33.3)'ü herhangi bir profilaksi almayan, 26 (%66.6)'sı ise interferon-beta1a (IFN β 1a) ya da interferon-beta1b (IFN β 1b) alan hastalardan oluşuyordu. Hastaların hastalık süreleri 6.7 ± 5.6 yıl olarak saptandı (Tablo 1, 2).

MS'li hastalarda neopterin düzeyleri $18.77 \pm$

Tablo 1. Çalışma grubunun demografik özellikleri.

	Hasta (n: 39) n (%)	Ort \pm SD	Kontrol (n: 39) n (%)	Ort \pm SD	p*
Cinsiyet					
Kadın	23 (%59)		25 (%64.1)		> 0.05
Erkek	16 (%41)		14 (%35.9)		
Yaş ortalaması		36.8 ± 11.0		37.2 ± 11.9	> 0.05
Hastalığın süresi (yıl)		6.7 ± 5.6			
Hastalığın seyri					
Remisyonunda	26 (%66.6)				
Atakta	13 (%33.3)				
Profilaksi (interferon)					
Alanlar	26 (%66.7)				
Almayanlar	13 (%33.3)				
EDSS değeri		3.1 ± 2.3			

SD: Standart Deviasyon, EDSS: Expended Disability Status Scala.

* Student's t test ve χ^2 testi.

Tablo 2. Remisyon ve atak dönemindeki hastaların cinsiyet ve yaş dağılımları.

	Remisyon (n: 26)		Atak (n: 13)	
	IFN (+)	IFN (-)	IFN (+)	IFN (-)
Cinsiyet (E/K)	8/10	3/5	3/5	2/3
Yaş	37.8 ± 10.9	34.9 ± 13.5	36.4 ± 11.9	35.4 ± 10.4

* p> 0.05.

Tablo 3. MS hastaları ile kontrol grubu neopterin değerleri (nmol/L).

Gruplar	n	Neopterin ± SD
MS hastaları	39	18.77 ± 2.36*
Kontrol	39	11.79 ± 3.35

* p< 0.05.

2.36 nmol/L olarak gözlenirken, kontrol grubunda 11.79 ± 3.35 nmol/L düzeylerinde tespit edildi (p< 0.05) (Tablo 3, Şekil 1).

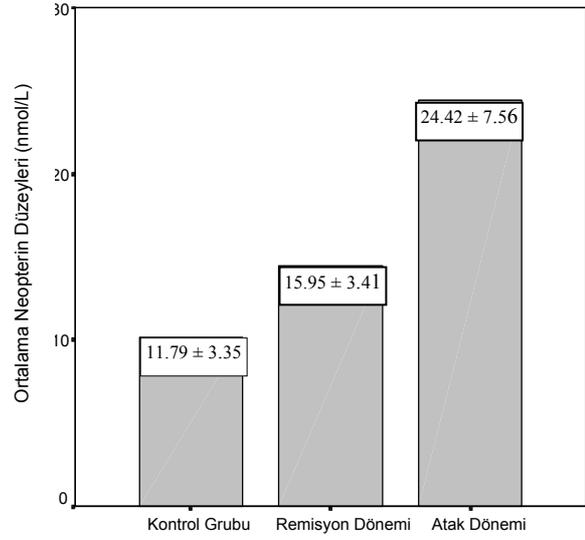
Atak dönemindeki MS hastalarında neopterin değerleri 24.42 ± 7.56 nmol/L iken, remisyon dönemindeki hastalarda ise 15.95 ± 3.41 nmol/L olarak saptandı (p< 0.01) (Tablo 4).

Profilaktik olarak IFN β kullanan hastaların atak dönemindeki serum neopterin düzeyleri arasında fark gözlenmedi. Remisyon döneminde ise IFN profilaksisi almayan hastaların serum neopterin düzeylerinin alanlardan anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi (sırasıyla; 11.15 ± 3.97 nmol/L, 18.50 ± 3.31 nmol/L, p< 0.05, Tablo 4).

Genel olarak MS'li hastaların EDSS skoru ve neopterin düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu saptandı (p< 0.05, rho= 0.8) (Şekil 2).

Tartışma

MS SSS'nin sebebi bilinmeyen kronik bir hastalığı olup, demiyelinizasyon patogenezinde; genetik yatkınlık, otoimmünite ve çeşitli enfeksiyonların rol oynadığı düşünülmektedir.^{8,9} Neopterin, interferon-gama ile aktive olmuş makrofajlar tarafından üretilmekte olup, inflamasyonun serum, BOS ve idrarda ölçülebilen bir belirleyicisi olup olamayacağını araştıran çalışmalar yapmıştır.^{10,11}

**Şekil 1.** MS hastaları ve kontrol grubunda neopterin değerleri.

Yaş ortalaması 31 ± 7.1 olan 26 RR-MS hastası ve 27 kontrolün karşılaştırıldığı bir çalışmada serum neopterin düzeyleri; kontrol grubunda 3.85 ± 1.70 nmol/L, MS hastalarında 5.82 ± 5.91 nmol/L (p< 0.05) olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada BOS neopterin düzeyleri ise; kontrol grubunda 1.82 ± 1.29 nmol/L, MS hastalarında 3.54 ± 1.87 nmol/L (p< 0.0005) olarak tespit edilmiştir.¹²

Fredrikson ve ark.nın çalışmasında serum neopterin düzeyleri atak sırasında 7.1 nmol/L, remisyonunda ise 5.9 nmol/L olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada BOS sıvısında neopterin düzeyleri atak sırasında 3.95 nmol/L olarak bulunurken, remisyonunda 2.9 nmol/L olarak gözlenmiştir. Çalışmacılar daha fazla hasta grubunda çalışılmasını önermişlerdir.¹³

On primer progressif MS (PP-MS), 10 RR-MS, 11 SP-MS hastasının ve 14 sağlıklı kişinin değerlendirildiği bir çalışmada idrar neopterin düzeyleri; PP-MS'de 2.1 ± 1.8, RR-MS'de 3.0 ± 1.7, SP-MS'de 3.3 ± 2.3 nmol/mol, kontrol grubunda ise 0.2 ± 0.6 nmol/mol olarak tespit edilmiştir. Neopterin, MS hastalarında bir aktivasyon markeri olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.¹⁰

Serum neopterin düzeylerinin normal sınırları

Tablo 4. Profilaktik tedavi alan ve almayan hastaların atak ve remisyon dönemlerindeki neopterin değerleri (nmol/L) \pm SD.

	MS hastaları	IFN profilaksisi (+)	IFN profilaksisi (-)
Genel	18.77 \pm 2.36	20.82 \pm 4.31	17.90 \pm 2.29
Atak	24.42 \pm 7.56*	24.58 \pm 7.79*	24.06 \pm 4.88*
Remisyon	15.95 \pm 3.41	18.50 \pm 3.31	11.15 \pm 3.97†

* p< 0.01 (atak-remisyon dönemi),

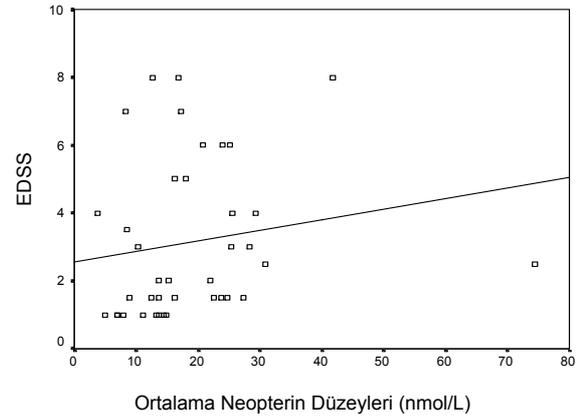
† p< 0.01 (profilaksi alan ve almayan).

erişkin yaşlarda ≤ 10 nmol/L'dir.⁷ Ancak ticari firmanın önerisi, her ülke hatta her bölgenin kendi laboratuvar normallerini belirlemesi yönündedir. Bizim çalışmamızda kontrol grubunda tespit ettiğimiz ortalama serum neopterin düzeyinin, literatür normallerinden 3-4 kat daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Bu durum 2 şekilde yorumlanabilir. Bunlardan ilki, ilimizin de içinde bulunduğu Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde paraziter enfeksiyonlara diğer bölgelerden daha sık rastlanmaktadır. Hücre içi yerleşen ve hücrel immün yanıt oluşturan, ancak klinik olarak sessiz kalabilen toxoplasma, leishmania gibi paraziter enfeksiyonlar çalışma ve kontrol gruplarımızın serum neopterin düzeylerinin literatür ortalamalarından daha yüksek bulunmasının nedeni olarak açıklanabilir. Diğer bir ihtimal ise, laboratuvarlar arası fark ve kit standardizasyonu farkının neden olduğu farklılıktır.

Serum neopterin düzeyleri, enfeksiyonlar, cerrahi girişimler ve malign hastalıkların yanı sıra, IFN tedavisi alanlarda da yükselmektedir.⁷ MS'de atak profilaksisinde IFN β 1a ve IFN β 1b en sık kullanılan ajanlardır. Her iki preparatın uygulandığı 75 sağlıklı gönüllüde en yüksek dozlarda bile neopterin gibi biyolojik markerlerin artışının en fazla 1 hafta sürdüğü ileri sürülmüştür.¹⁴ Ancak bizim çalışmamızda atak dönemindeki hastalarda IFN profilaksisi kullanmanın serum neopterin düzeyleri üzerine herhangi bir etkisi gözlenmezken, remisyon döneminde IFN almayanlarda serum neopterin düzeyinin kontrol grubuna yakın olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu bizim hasta

popülasyonumuzda IFN'ların serum neopterin düzeyleri üzerine etkisinin daha uzun sürdüğünü göstermektedir.

Giovannoni ve ark. serum inflamatuvar markerları ve hastalık progresyonu arasındaki

**Şekil 2.** EDSS skoru ile neopterin düzeyleri arasındaki korelasyon (p< 0.05, rho= 0.8).

ilişkileri inceledikleri çalışmada neopterin düzeyi ile kısa süreli klinik progresyon arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır. Ancak bizim çalışmamızda EDSS skoru ile belirgin olmasa da hafif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir.¹¹

MS'de klinik bulgular ile paralel olarak seyreden laboratuvar bulgusu halen bulunmamaktadır. Bu nedenle klinik bulguların tanımlanması bazan subjektif olarak kalmaktadır. Aktif plakların oluşumunda, makrofajların reseptör aracılı endositoz ile demiyelinizasyona katkı sağladığı saptanmıştır. Özellikle IFN γ tarafından uyarılan makrofajlar neopterin oluşumunu da arttırmaktadır. Böylece gerek serum, gerekse BOS'da neopterin düzeylerinin

yüksek saptanması demiyelinizasyonun arttığını akla getirecektir. Bu nedenle MS'li hastaların atak dönemlerinde serum neopterin düzeyleri objektif bir laboratuvar bulgusu olarak göz önünde bulundurulabilir.

KAYNAKLAR

- Olek MJ, Dawson DM. Multiple sclerosis and other inflammatory demyelinating diseases of the central nervous system. In: Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Marsden CD, eds. Neurology in Clinical Practice. 3rd ed. Boston: Butterworth Heinemann; 2000. p.1431-65.
- Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338:278-85.
- Bitsch A, Brück W. Differentiation of multiple sclerosis subtypes. *CNS Drugs* 2002;16:405-18.
- Shaw CE, Dunbar PR, Macaulay HA, Neale TJ. Measurement of immune markers in the serum and cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients during clinical remission. *J Neurol* 1995;242:53-8.
- Fredrikson S, Link H, Eneroth P. CSF neopterin as a marker of disease activity in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1987;75:352-5.
- Hamerlinck FF. Neopterin: A review. *Exp Dermatol* 1999;8:167-76.
- Berdowska A, Zwirski-Korczala K. Neopterin measurements in clinical diagnosis. *J Clin Pharm Ther* 2001;26 319-29.
- Rapp NS, Gilroy J, Lerner AM. Role of bacterial infection in exacerbation of multiple sclerosis. *Am J Phys Med Rehabil* 1995;74:415-18.
- Casetta I, Granieri E. Clinical infections and multiple sclerosis: Contribution from analytical epidemiology. *J Neurovirol* 2000;6:147-51.
- Giovannoni G, Lai M, Kidd D. Daily urinary neopterin excretion as an immunological marker of disease activity in multiple sclerosis. *Brain* 1997;120:1-13.
- Giovannoni G, Miller DH, Losseff NA, et al. Serum inflammatory markers and clinical/MRI markers of disease progression in multiple sclerosis. *J Neurol* 2001;248:487-95.
- Ott M, Demisch L, Engelhardt W, Fischer PA. Interleukin-2, soluble interleukin-2-receptor, neopterin, L-tryptophan and β_2 -microglobulin levels in CSF and serum of patients with relapsing-remitting or chronic-progressive multiple sclerosis. *J Neurol* 1993;241:108-14.
- Fredrikson S, Eneroth P, Link H. Intrathecal production of neopterin in aseptic meningo-encephalitis and multiple sclerosis. *Clin Exp Immunol* 1987;67:76-81.
- Sturzebecher S, Maibauer R, Heuner A, Beckmann K, Aufdembrinke B. Pharmacodynamic comparison of single doses of IFN-beta1a and IFN-beta1b in healthy volunteers. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19:1257-64.