

# Akciğer Tüberkülozunun Aktivite Tayininde, Bronkoalveoler Lavaj Sıvısında 'Adenozin Deaminaz' İzoenzim Düzeylerinin Rolü

Gülşah Günlüoğlu, Erdoğan Çetinkaya, Sedat Altın, Nurdan Kalkan, Ekrem Cengiz Seyhan

Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, Türkiye

## ÖZET

### Akciğer Tüberkülozunun Aktivite Tayininde, Bronkoalveoler Lavaj Sıvısında 'Adenozin Deaminaz' İzoenzim Düzeylerinin Rolü

Tüberkülozda erken tanı ve tedavi, hastalığın morbiditesinden korunmada önemli rol oynamaktadır. Ancak, etkenin bakteriyolojik olarak gösterilmesi her vakada mümkün olamamaktadır. Bu durumda çeşitli indirekt tanı yöntemlerine başvurulmaktadır. Bu çalışmada, yayma negatif akciğer tüberkülozu hastalarında, Bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısında ölçülen Adenozin Deaminaz (ADA) enziminin, izoenzim düzeylerinin, aktif tüberküloz hastalığı varlığını desteklemedeki rolü araştırıldı. Çalışma, Ocak 2002 – Mart 2004 tarihleri arasında, prospektif olarak yürütüldü. Aktif akciğer tüberkülozlu, yayma negatif 26 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların 18(%69)'i erkek, 8(%31)'i kadın olup, yaş ortalamaları 24 idi. Sekel akciğer tüberkülozlu 10 hasta da kontrol grubu olarak alındı. Bu hastaların 5(%50)'i erkek, 5(%50)'i kadın olup, yaş ortalamaları 38 idi. Tüm hastalara fiberoptik bronkoskopi uygulanarak BAL sıvısı alındı. Sıvıda total ADA ile birlikte, ADA-1 ve ADA-2 izoenzim düzeyleri saptandı. Bu düzeylerin her iki gruptaki ortalamaları, Student's -t- test kullanılarak karşılaştırıldı. Aktif tüberküloz grubunda, ortalama total ADA, ADA-1 ve ADA-2 düzeyleri sırasıyla; 6.7U/ml, 2.11U/ml ve 4.62U/ml idi. Sekel tüberküloz grubunda ise sırasıyla 1.78U/ml, 0.78U/ml ve 1.0U/ml idi. Aktif tüberküloz grubunda, ADA-1 yüksekliği istatistiksel olarak zayıf anlamlı saptanırken ( $p=0,049$ ), total ADA ve ADA-2 yüksekliği ileri derecede anlamlı bulundu ( $p<0,01$  ve  $p<0,01$ ). Aktif akciğer tüberküloz hastalarında, BAL'da total ADA enzim ve ADA-2 izoenzim düzeyleri, sekel tüberküloz olgularına göre anlamlı şekilde yüksektir. Yayma negatif akciğer tüberküloz hastalarında, BAL'da ADA enzimi ve ADA-2 izoenzimi düzeylerinin saptanması, bu hastaların sekel tüberküloz hastalarından ayırıldığına, dolayısıyla antitüberküloz tedavisi erkenden başlanmasında etkin ve hızlı bir yöntem olarak kullanılabilir.

**Anahtar sözcükler:** tüberküloz, adenozin deaminaz (ADA), bronkoalveoler lavaj (BAL)

Geliş tarihi: 05.01.2006

Kabul tarihi: 05.05.2006

## ABSTRACT

### The Role of Isoenzyme Levels of Adenosine Deaminase in Broncho Alveolar Lavage Fluid to Evaluate Activity of Pulmonary Tuberculosis

Early diagnosis and treatment is playing very important role on avoiding morbidity of pulmonary tuberculosis. If the agent cannot be isolated, there were used some indirect tools. We measured isoenzyme levels of Adenosine Deaminase in Broncho-alveolar lavage fluid in smear(-) tuberculosis patients to evaluate if disease is active or sequela. We evaluated 26 active and 10 sequela smear(-) tuberculosis patients between 2002 and 2004 prospectively. Of the active tuberculosis patients, 18 were male, 8 were female with mean age of 24. In the sequela tuberculosis group, there were 5 male and 5 female with mean age of 38. Fiberoptic bronchoscopy was performed and BALF was taken from all the patients. Total ADA with ADA-1 and ADA-2 levels of BALF were determined. The average levels of groups for ADA and isoenzymes were compared with using Student's -t- test. Total ADA, ADA-1 and ADA-2 levels were determined as 6.7U/ml, 2.11U/ml and 4.62U/ml respectively in active tuberculosis group and 1.78U/ml, 0.78U/ml and 1.0U/ml in sequela tuberculosis group. The elevation of ADA-1 level in active tuberculosis group were discovered poorly significant ( $p=0,049$ ) whereas, elevation of total ADA and ADA-2 levels in active tuberculosis group were highly significant ( $p<0,01$ ). ADA-2 isoenzyme and total ADA levels in BALF of active tuberculosis patients is significantly higher from patients who have sequela tuberculosis. Determination of ADA-2 and total ADA levels in BALF is, effective and rapid method for differentiating smear(-) active tuberculosis patients from sequela ones, so putting the indication to start antituberculous therapy.

**Keywords:** tuberculosis, adenosine deaminase (ADA), bronchoalveolar lavage (BAL)

Received: 05.01.2006

Accepted: 05.05.2006

## GİRİŞ

Tüberküloz, tanı ve tedavideki gelişmelere rağmen, ülkemizde olduğu gibi, tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Dünyada her yıl yaklaşık 2 milyon insan, bu hastalık nedeniyle ölmektedir [1].

Akciğer tüberkülozunun bilinen tek kesin tanı yöntemi, elde edilecek bir pulmoner materyalden, kültürde *Mycobacterium tuberculosis* üretilmesidir. Bugün için hiçbir test, tü-

berküloz tanısında *Mycobacterium tuberculosis* kültürü ile karşılaştırılacak güvenilirliğe sahip değildir. Ancak hastaların bir kısmında bu yöntem, çeşitli nedenlerle tanı için yeterli olmaz; hastaların bir kısmından materyal elde edilemez, bir kısmında, elde edilen materyal uygun şekilde işlenemez, ya da bazılarında tüm çabalara rağmen kültürde *Mycobacterium tuberculosis* üretilmez. Bunlara ek olarak işlem, 3-4 haftalık bir süre gerektirir. Bu nedenlerle, ya tedavi gecikir ya da, tanı kesinleştirilmeden gereksiz ve komplikasyon riski taşıyan deneme tedavisi verilir [2,3].

Yazışma Adresi: Dr.Gülşah Günlüoğlu, Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları Kliniği Zeytinburnu İstanbul-Türkiye, Tel: +90 505 6408044, e-posta: mzungun@hotmail.com

Bu olumsuzluklardan kurtulmak için, klinisyenler, direkt ya da indirekt başka tanı yöntemleri aramaya başlamışlardır. Bu amaçla, çeşitli materyal alma teknikleri, yeni kültür yöntemleri kullanılmakta, çeşitli moleküler biyolojik ve serolojik yöntemler çalışılmaktadır [4]. Serolojik yöntemlerin en büyük zaafı ise hem sensitivitelevlerinin düşük olması, hem de infekte olma ile hasta olma ayrımını yapmaktaki başarısızlıklarıdır [4].

Çalışmamızda da amacımız, teorik olarak bu zorlukları aşabilecek potansiyeli olan bir yöntemi, infeksiyon alanında lokal olarak üretilen ve bir immünite göstergesi olan Adenozin Deaminaz (ADA) ve izoenzimlerini test etmek oldu. Bu amaçla, aktif ve sekel akciğer tüberküloz olgularında, Bronkoalveoler Lavaj (BAL) sıvısında ADA ve izoenzimleri düzeylerini ölçerek, bu düzeylerin, aktif tüberküloz hastalığı varlığını destekleme, dolayısıyla, antitüberküloz tedaviye güvenle başlama kararını aldırmadaki etkinliklerini göstermeyi ve izoenzim düzeylerinin daha spesifik bir gösterge olarak kullanılıp kullanılmayacağına araştırmak istedik.

Vücuttaki tüm hücrelerde bulunan polimorfik bir enzim olan ADA, adenin nükleotidlerin metabolizmasında aktif rol oynar [5]. Pürin metabolizmasının bir adımı olan adenosine'in inosine'e ve deoxyadenosine'in deoxyinosine'e irreversible ve hidrolitik deaminasyonunu katalizler [6]. İnsanda ADA, farklı optimal pH, substrat spesivite paterni ve molekül ağırlıklarına sahip 3 izoenzimden oluşmuştur[6]. Bu izoenzimler, ADA-1, ADA1+CP ve ADA-2 olarak adlandırılmıştır. ADA düzeyi, lenfositlerin ve monosit-makrofaj sistemi hücrelerinin mitojenik cevabı sürecinde aktivitesi artar [7]. Bu nedenle lenfosit ve monositlerde temel fizyolojik aktivitesinin, bu hücrelerin diferansiyasyon ve proliferasyonu ile ilgili olduğu düşünülmektedir [8]. Bu teoriye dayanılarak, ADA'nın hücresele immünitenin bir belirleyicisi olabileceğine inanılmıştır [9]. Nitekim, hücresele immünite oluşturan çeşitli hastalıklarda serumda, romatoid artrit'te sinovyal sıvıda, tüberküloz meninjit'te beyin-omurilik sıvısında yüksek ADA düzeyi saptanmıştır [9,10].

Tüberkülozun çeşitli formlarında, ADA enzim düzeyinin yüksek olduğu gösterilmiştir [11,12]. Akciğer tüberkülozu hastalarında, BAL sıvısında ADA enzim düzeyinin yükseldiği de son yıllarda bildirilmektedir [12,13]. Ancak bu düzeyler, tüberküloz için yeterince spesifik bulunmamıştır.

ADA-2 izoenziminin, hücresele immünitenin, total ADA düzeyinden daha spesifik bir belirleyicisi olduğu ileri sürülmektedir [8]. Nitekim, bazı granulomatöz akciğer hastalıklarında yükseldiği bildirilmektedir[14].

Bu çalışmada, yayma negatif akciğer tüberkülozu hastalarında, BAL sıvısında ölçülen ADA izoenzim düzeylerinin, aktif tüberküloz hastalığı varlığını destekleme ve tedaviye başlama kararını verdirmedeki rolü araştırıldı.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Ocak 2002 – Mart 2004 tarihleri arasında, prospektif olarak yürütüldü. Klinik ve radyolojik olarak aktif akciğer tüberkülozu düşünülen (öksürük, kilo kaybı, terleme, halsizlik semptomları bulunması, yüksek sedimentasyon hızı ve radyolojik olarak pulmoner infiltrasyon ya da kavitenin bulunması), **yayma negatif** hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilmek için, hastaların aşağıdaki kriterleri taşıyor olması şartı arandı;

1. Hastanın 10 yaş altı ya da 60 yaş üstü olmaması (immünite etkilendiğinden dolayı),
2. Ek herhangi bir sistemik hastalık ya da immünite bozukluğu bulunmaması,
3. Daha önce tüberküloz tanı ve tedavi öyküsü olmaması.

Bu kriterleri taşıyan toplam 26 hasta aktif akciğer tüberkülozu çalışma grubunu oluşturdu. Aktif tüberküloz grubundaki hastaların 18'inde (%69) spontan ya da indükte balgam elde edilebildi. Sekiz (%31) hastada ise balgam örneği elde edilemedi. Balgam çıkarabilen hastaların balgamlarında 3 kez direkt ve yayma yöntemleriyle Asido-rezistan basil (ARB) arandı ve aynı anda balgamdan Löwenstein - Jensen besiyerine ekim yapılarak *Mycobacterium tuberculosis* kültürü çalışmasına başlandı. Balgam çıkaramayan hastalarda sadece bronkoskopi yapılarak alınan post bronkoskopik balgam veya bronşial lavajda ARB arandı ve kültür için Löwenstein - Jensen besiyerine ekim yapıldı. Hastaların ancak 9'unda (%34,6), tüberküloz varlığı, kültür ile ispat edilebildi (balgam ya da lavajda). Diğer hastaların aktif tüberküloz hastası oldukları, anti-tüberküloz tedaviye klinik ve radyolojik yanıt alınmasıyla ispat edildi.(Öksürük, kilo kaybı, terleme, halsizlik semptomlarının düzelmesi, sedimentasyon hızının azalması ve radyolojik olarak pulmoner infiltrasyonun silinmesi ya da kavitenin küçülmesi). Bu gruptaki tüm hastalara, kültür sonuçları beklenirken standart 4'lü antitüberküloz tedavi başlandı ve hastalar, en az 12 ay süresince takip edildi.

Özgeçmişinde tüberküloz tanı ve tedavi öyküsü olan, klinik (öksürük halsizlik gibi silik semptomlar) ve radyolojik (apikal lineer, fibrotik ya da kalsifik dansite varlığı) olarak sekel akciğer tüberkülozu düşünülen, ayrıca, çalışmaya dahil edilme kriterlerinin ilk ikisini taşıyan 10 hasta da kontrol olarak alınarak, sekel akciğer tüberkülozu çalışma grubunu oluşturdu. Bu hastalarda aktif tüberküloz hastalığı bulunmadığı, balgam, bronkoskopik BAL ve postbronkoskopik balgam (PBB) materyallerinde mikrobiyolojik olarak ARB saptanmaması, kültürde üreme olmaması, klinik ve radyolojik olarak aktif hastalık bulgusu olmaması ve en az 6 aylık takipte aktif hastalık bulgusu gelişmemesiyle ispat edildi.

Tüm hastalar, semptomatoloji yönünden sorgulandı, ayrıntılı fizik muayene yapıldı. İki yönlü direkt akciğer grafileri ve Bilgisayarlı Toraks Tomografileri çekildi. Klinik ve radyolojik bulgular sınıflandırılarak kaydedildi. Hastaların tümünün tam kan sayımı ve biyokimyasal analizleri yapıldı, elektrokardiyografileri çekildi. Rutin olarak, sol önkol iç yüzüne, 5TU standart PPD ile tüberkülin cilt testi uygulandı.

Aktif pulmoner tüberküloz düşünülen hastalara, tanının bir aşaması olarak, materyal elde etmek amacıyla, sekel pulmoner tüberküloz düşünülen hastalara, tüberküloz alevlenmesi olmadığının ispat edilebilmesini sağlayacak materyal elde etmek amacıyla bronkoskopi yapılması önerildi. Hastaların yazılı izinleri alındıktan sonra, Aktif tüberküloz grubunda, tedaviye başlamadan önce, Sekel tüberküloz grubunda ilk tanısal işlemlerden sonra, hastalara fiberoptik bronkoskopi (FOB) uygulandı. Radyolojik olarak infiltrasyonun yoğun olduğu, aktivite alanı düşünülen segmentten, BAL alındı. Bu amaçla, bronkoskopun ucu, ilgili segment ya da subsegment bronşunu tama yakın tıkayacak şekilde "wedge" pozisyonuna getirildi. Oda ısısındaki steril serum fizyolojik(SF), 20 ml'lik porsiyonlar halinde 5 kez verilmek ve yavaşça aspire edilmek suretiyle toplam 100ml miktarla lavaj yapıldı. Verilebilen ve alınabilen serum fizyolojik miktarları kaydedildi. Alınan sıvı miktarı 25 ml'nin altında ise, işlem başarısız olduğu için, hasta çalışmadan çıkarıldı.

BAL alındıktan sonra, tüm hastaların bronşial lavajları ve işlem sonrası PBB'ları alınarak, direkt ve yayma yöntemleri ile ARB arandı ve *Mycobacterium tuberculosis* üretmek amacıyla kültüre ekildi.

Materyalin bir kısmı ise, ADA ve izoenzim düzeylerinin tespiti için ayrıldı ve buz içinde saklanarak, 1 saatte laboratuvara ulaştırıldı. Sıvı, mukustan arındırılmak üzere, gazlı bezden süzülde. Numune ikiye ayrıldı, bir porsiyondan hücre sayımı ve diferansiyel sitolojik değerlendirme yapıldı. CELL-DYN 3500R (Abbott) cihazı ile total hücre sayımı yapıldı. Numune süzildükten sonra Immufuge II santrifüjü ile 45 saniye santrifüj edilip supernatantı atıldı. Dipte kalan hücreler spesifik monoklonallerle boyanmış lenfosit alt gruplarının, lenfosit total sayısına oranı olarak hesaplandı ve kaydedildi. Aynı örnekten ayrıca modifiye Bromcresol Green yöntemiyle Cobas Integra 800(ROCHE) cihazıyla, albumin düzeyi ölçüldü. BAL numunesinin ikinci porsiyonu, ADA ve izoenzimlerinin analizi için 10 dakika, 1500rpm'de santrifüje edildi ve analiz yapılcaya dek, -20C de bekletildi. ADA aktivitesinin değerlendirilmesi için, Giusti ve Galanti tarafından tarif edilen spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Ortama substrat olarak adenosine'in eklenmesi sonrası oluşan amonyak miktarı, Berteholt reaksiyonu ile ölçülerek ADA aktivitesi belirlendi.

İzoenzimlerin aktivitelerinin tayini için, aynı işlem, ortama, 200 mmol/l konsantrasyonda EHNA [erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl) adenine] eklenerek yeniden uygulandı. Bir ADA-1 inhibitörü olan EHNA'nın eklenmesiyle oluşan aktivite, yalnızca ADA-2 düzeyini yansıtmış oldu. Bu değer, total ADA aktivitesi değerinden çıkarılarak, ADA-1 aktivitesi hesaplandı. Bu işlemler, ülkemizde, referans kabul edilen bir özel laboratuvarında yapıldı. ADA ve izoenzimlerinin düzeylerinin saptanması için, hastadan ücret talep edilmedi, maliyet, çalışmacılar tarafından karşılandı.

Çalışmamızda, BAL sıvısında saptanan enzim düzeylerinin, serumdan diffüzyondan kaynaklanmayıp, direkt olarak lokal üretimi gösterdiklerinden emin olmak amacıyla, BAL sıvısında aynı zamanda albumin düzeyleri de ölçüldü. Tüm hastalardan alınan BAL örneklerinde ortalama albumin düzeyi 0,3g/dl olarak tespit edildi. Albuminin, akciğerde lokal olarak üretilmediği ve bu nedenle, total BAL albumininin alveoler alana, vasküler yataktan diffüzyonla geçtiği varsayıldı[7,15]. Bulunan değerler, sağlıklı insan serum düzeylerine göre son derece düşük olduğundan, saptadığımız enzim düzeylerinin direkt olarak lokal üretimi gösterdiklerine karar verdik.

Her iki grubun bulguları, ADA ve izoenzimlerinin aktivite düzeyleri kaydedildi. Her bir değişken için, grupların ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı. Grup ortalamaları, Independent Samples -t- test kullanılarak karşılaştırıldı. Olasılık düzeyi olarak, p<0,05 düzeyi anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Aktif tüberküloz grubunda minimum yaş 14, maksimum yaş 36 olup, grup yaş ortalaması 24 olarak tespit edildi. Hastaların 18'ini(%69) erkek, 8'ini(%31) kadınlar oluşturmaktaydı. Sekel tüberküloz grubunda ise, minimum yaş 22, maksimum yaş 48 olup ortalama yaş 38 olarak hesaplandı. Hastaların 5'ini(%50) erkek, 5'ini(%50) kadınlar oluşturmaktaydı (Tablo I).

BAL amacıyla verilen SF miktarı, tüm hastalar için ortalama 111cc, alınan miktar ise 52cc olarak tespit edildi. Aktif akciğer tüberkülozu grubunda, verilen ortalama SF miktarı 108 cc, alınan ortalama SF miktarı 51 cc iken bu miktarlar sekel akciğer tüberkülozu hastalarında sırasıyla 120cc ve 56cc olarak ölçüldü. Bu ortalamalar karşılaştırıldı.

**Tablo I.** Aktif ve sekel akciğer tüberkülozu gruplarındaki hastaların genel karakteristikleri

GRUP	n	E/K	YAŞ ORTALAMASI
AKTİF TBC	26	18/8	24(14-36)
SEKEL TBC	10	5/5	38(22-48)

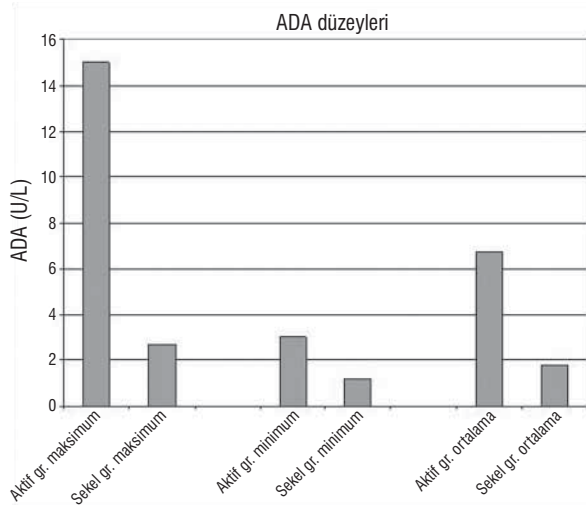
**Tablo II.** Her iki grupta, BAL'da hücre populasyonları oran ortalamaları

	Aktif tüberküloz grubu	Sekel tüberküloz grubu	p
Lenfosit %	39	25	<0,01
Nötrofil %	25	18	
Makrofaj %	36	57	

diğında, iki grubun ortalamaları arasında anlamlı fark olmadı (p>0,05).

BAL örneklerinde hücre populasyonları ayrıştırılarak, total hücre sayısına oranları tespit edildi. Her iki gruptan elde edilen hücre populasyon oran ortalamaları Tablo II'de özetlenmiştir. BAL sıvısındaki hücre populasyonlarının aktif ve sekel tüberküloz grup ortalamaları karşılaştırıldığında, lenfosit oranının, aktif tüberküloz grubunda daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu yüksekliğin, sekel tüberküloz grubu düzeyine göre, istatistiksel olarak anlamlı olduğu hesaplandı (p<0,01). Çalışmamızda, BAL sıvısı lenfosit subpopulasyon oranları da araştırıldı. CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oran ortalaması, aktif tüberküloz grubunda 2,3 olarak saptanırken, sekel tüberküloz grubunda 2,05 olarak hesap edildi. Bu ortalama oranlar karşılaştırıldığında, aktif tüberküloz grubunda CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranı yüksek görülmekle birlikte, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05).

Her iki grubun, BAL sıvısında, total ADA ile ADA-1 ve ADA-2 düzeylerinin minimum, maksimum ve ortalama değerleri, Tablo III'de ve ortalamaların grafiksel karşılaştırmaları, sırasıyla, Şekil 1, Şekil 2 ve Şekil 3'te görülmektedir. Total ADA, ADA-1 ve ADA-2 düzeyleri ortalaması, aktif tüberküloz grubunda, sırasıyla, 6,7 U/L, 2,1 U/L ,

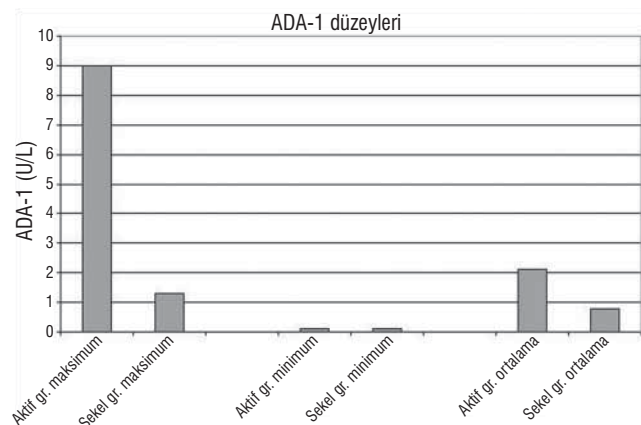
**Şekil 1.** Aktif ve Sekel tüberküloz gruplarının BAL total ADA düzeylerinin, maksimum ve ortalama değerlerinin karşılaştırmalı grafiği**Tablo III.** Aktif ve Sekel tüberküloz gruplarında BAL'da ADA ve izoenzimlerinin minimum, maksimum ve ortalama değerleri düzeyleri

U/L	Aktif tüberküloz grubu			Sekel tüberküloz grubu			p
	Minimum	Maksimum	Ortalama	Minimum	Maksimum	Ortalama	
Total ADA	3	15	6,7	1,2	2,7	1,78	<0,01
ADA-1	0,10	9,0	2,11	0,10	1,30	0,78	=0,049
ADA-2	2,4	11	4,62	0,49	1,50	1,0	<0,01

4,6 U/L olarak hesaplandı. Aynı düzeyler, sekel tüberküloz grubunda, sırasıyla, 1,7 U/L , 0,7 U/L, 1,0 U/L olarak tespit edildi. Aktif tüberküloz grubunda, hem total ADA, hem ADA-1, hem de ADA-2 düzeyleri ortalaması, sekel grubu ortalamasından yüksek saptandı. ADA-1 düzeyinin yüksekliği istatistiksel olarak zayıf anlamlı saptanırken (p=0,049), total ADA ve ADA-2 düzeyi yüksekliği ileri derecede anlamlı bulundu (p<0,01 ve p<0,01).

## TARTIŞMA

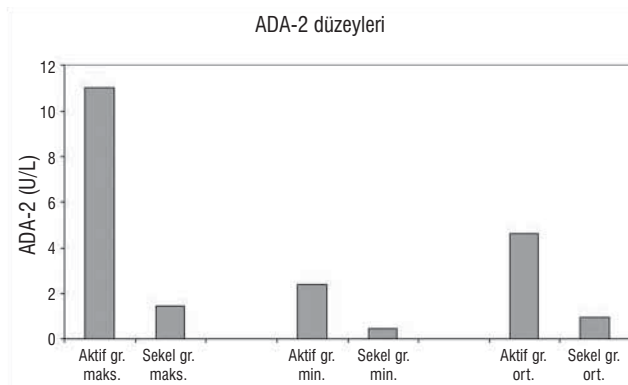
Ülkemizde olduğu gibi, tüm dünyada hala önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olan tüberküloz hastalığının kesin tanısı, etken olan *Mycobacterium tuberculosis*'in kültür ortamlarında üretilmesi ile konabilmektedir. Ancak hastaların önemli bir bölümünde, ne direkt mikroskopi yöntemiyle basil görülebilmekte, ne de kültürde üreme elde edilebilmektedir [2,3,15]. Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol Merkezi (CDC) verilerine göre, tüberküloz hastalarının %11,5'inde bakteriyolojik tanıya ulaşılamamaktadır [16]. Buna ek olarak, üreme saptanan hastalarda dahi, basilin yavaş üreme hızı nedeniyle, üreme olduğunun gösterilmesi ve tedaviye başlanması için, uzun denebilecek bir süreye ihtiyaç bulunmaktadır.

**Şekil 2.** Aktif ve Sekel tüberküloz gruplarının BAL'da ADA-1 düzeylerinin, maksimum, minimum ve ortalama değerlerinin karşılaştırmalı grafiği

ADA düzeyi tayini, tüberküloz tanısında indirekt bir yöntem olarak, çeşitli vücut sıvılarında çalışılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır [17,18]. Bununla ilgili ilk çalışma, 1973'te Piras ve Gakis tarafından yayınlanmıştır [19]. Bu çalışmada, tüberküloz meninjitli hastalarda, beyin-omurilik sıvısında ADA düzeyinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmadan sonra tüberküloz ile ADA ilişkisinin araştırılması popüler hale gelmiştir. Ekstrapulmoner tüberküloz hastalarında, çeşitli vücut sıvılarında, ADA düzeyinin yüksek olduğu gösterildi [20,21]. 1978'de yine Piras ve Gakis, tüberküloz plevral effüzyonlu hastaların plevral sıvılarında ADA düzeyinin anlamlı şekilde yükseldiğini gösterince [22], tüberküloz hastalarında, özellikle tüberküloz effüzyonlu hastalarda ADA düzeyi ile ilgili araştırmalar hızla artmaya başlamıştır. Çalışmalar sonucunda, plevral sıvıda ADA aktivitesi tayininin, tüberküloz effüzyon tanısında, %90'ın üzerinde sensitivite ve %80'in üzerinde spesifiteye sahip olduğu bildirildi [23].

Bununla birlikte, özellikle tüberküloz prevalansının yüksek olduğu merkezlerden, düşük sensitivite ve spesifite oranları da bildirilmiştir [24]. Tüberküloz dışı bazı hastalıklarda da yüksek ADA düzeyi rapor edilmiştir. Örneğin, lenfosit zengin effüzyon oluşturan lenfoproliferatif hastalıklarda ve primer veya metastatik akciğer kanserlerinde de yüksek ADA düzeyi saptanabilmektedir [25]. Bu nedenle, tüberkülozda ADA düzeyi tayininin sensitivite ve spesifitesini yükseltmek amacıyla yeni çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. En güncel araştırmaları, sıvıdaki hakim hücre profilinin tespiti ve ADA'nın izoenzim paternlerinin saptanması oluşturmaktadır.

Tüberküloz plevral effüzyonda, sıvıda hakim olan izoenzimin ADA-2 olduğu pek çok çalışmada gösterilmiş olup [26,27], ADA-2 izoenzim düzeyi tayininin daha spesifik olabileceği beklenmektedir. Bazı çalışmalarda ise, yalnız başına ADA tayinine ek katkı sağlamadığı bildirilmektedir [28].



Şekil 3. Aktif ve Sekel tüberküloz gruplarının BAL'da ADA-2 düzeylerinin, maksimum, minimum ve ortalama değerlerinin karşılaştırmalı grafiği

Akciğer tüberkülozunun tanısında ADA düzeyi saptanmasının rolü ise, henüz yeterince açık değildir. Serumda ADA düzeyi, birçok çalışmada yüksek olarak saptanmış da, tanısal değeri vurgulanmamıştır [29]. Serumda, özellikle ADA-2 düzeyinin yüksek olduğu görülmüşse de, sensitivite, ancak %36.9 gibi düşük oranlarda saptanmıştır [30]. Balgamda ölçülen ADA düzeyinin, yüksek olmakla birlikte anlamlı olmadığı bildirilmiştir [31].

Tüberküloz, immünopatogenetik olarak, mononükleer hücrelerin (lenfosit ve makrofajlar) etkin olduğu, antijenin bulunduğu alanda bu hücrelerin, lokal olarak aktive olduğu bir infeksiyon hastalığıdır. ADA aktivitesi, mononükleer hücrelerin aktivasyon, proliferasyon ve differansiasyonu sırasındaki nükleik asit sentezinin indirekt göstergesi olduğundan, BAL sıvısında ADA düzeyi tayini, potansiyel olarak, alveoler mononükleer hücrelerin, hastalığın olduğu alandaki düzeyini, dolayısıyla tüberkülozun aktivite düzeyini göstermede kullanılabilir.

Akciğer tüberkülozlu olgularda, BAL sıvısında ADA düzeyi ile ilgili yapılmış birkaç adet çalışma mevcuttur [13,32-34]. Bu çalışmalarda, ADA düzeyi yüksek saptanmış olup, yayma negatif akciğer tüberkülozu hastalarında BAL sıvısında ADA düzeyi tayininin tüberküloz tanısını doğrulamaya yardımcı olması ümit edilmektedir.

Bununla birlikte, Kubota [34], ancak milier tüberkülozda BAL sıvısında belirgin şekilde yüksek ADA düzeyi bildirirken, Albera [33], hem tüberküloz hem de sarkoidoz hastalarında BAL sıvısında ADA düzeyini yüksek saptamıştır. Delibalta ise, tüberküloz dışı hastalıklarda da BAL sıvısında yüksek ADA düzeyleri bildirmiştir [15]. Çalışma sayısının azlığı ve sonuçların akciğer tüberkülozu-ADA ilişkisini kuvvetle desteklememesi nedenleriyle, akciğer tüberkülozunun ayırıcı tanısında tek başına ADA düzeyi ölçümünü kullanmak şimdilik doğru değilmiş gibi görünmektedir.

ADA-2'nin tek kaynağı, monosit-makrofaj sistemi hücreleridir. Bu nedenle, aktif tüberküloz hastalarında BAL sıvısında yüksek saptanabilmektedir. Akciğer tüberkülozunda, BAL sıvısında ADA izoenzimlerinin düzeylerinin çalışıldığı çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bununla birlikte, düzeyin yüksek olduğu görülmüştür [12,15,33]. Ancak, aktivite kriteri olarak şimdilik kullanılmamıştır.

Çalışmamızda, BAL sıvısında total ADA düzeyi, aktif tüberküloz hastalarında, sekel tüberkülozlu olgulara göre yüksek saptanmış olup, bu yükseklik, istatistiksel olarak, ileri derecede anlamlı bulundu. ADA-2 düzeyi de, aktif tüberküloz hastalarında, ileri derecede anlamlılıkta yüksek bulundu. ADA-1 düzeyi ise, aktif tüberküloz hastalarında, çok zayıf anlamlılıkta yüksek bulundu ( $p=0,049$ ). Bu sonuçlarla, aktif tüberküloz hastalarında, BAL sıvısında ADA

enzim düzeyinin, sekel tüberküloz olgularına göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu ve bu yükselmenin asıl kaynağının ADA-1 izoenziminden çok ADA-2 izoenzim düzeyindeki yükselme olduğu görüldü.

Bu bulgular, önceki çalışmalarda elde edilen bulgularla örtüşmektedir. Buna dayanarak, aktif tüberküloz hastalarında, BAL sıvısında ADA düzeyinin yükseldiği teyid edilmiş olmaktadır. Ancak çalışmamızın ortaya çıkardığı yeni bulgular, bu yüksekliğin kaynağını daha açık şekilde göstermiştir. Aktif tüberküloz hastalarında BAL sıvısında düzeyi yüksek olan ADA enziminin asıl yükselen komponenti, ADA-2 izoenzimi olarak saptanmıştır.

ADA-2 izoenzimi, sadece monosit-makrofajlarda bulunmakta iken, lenfosit oranının baskın olduğu aktif tüberküloz hastalarının BAL örneklerinde bu izoenzimin yüksek saptanması bir çelişki gibi görünmektedir. Aynı sonuca, tüberküloz plevral effüzyonlarda da rastlanmıştır. Tüberküloz plevral effüzyonlarda, sıvıda artan asıl ADA izoenziminin ADA-2 olduğu gösterilmiştir [26,27]. Bununla birlikte biz, lenfosit aktivasyonu ile birlikte çok artan makrofaj aktivasyonunun ADA-2 düzeyindeki artışı açıklayabileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda ortaya çıkan bazı başka bulgular, aktif tüberküloz hastalarında BAL sıvısında ADA düzeyi ölçümünün değerini daha da artırmaktadır. Çalışmamızın her iki grubunun BAL sıvısında ADA ve izoenzim düzeylerinin maksimum ve minimum değerleri incelendiğinde, sekel tüberküloz grubunun maksimum ADA düzeyinin, aktif tüberküloz hastalarının minimum düzeyine dahi erişemediği, aynı bulgunun ADA-2 düzeyleri açısından da geçerli olduğu saptandı. Bu nedenle, BAL sıvısında, yüksek total ADA enzim ADA-2 izoenzim düzeylerinin aktivite göstergesi olarak kullanılabilmesi sonucuna ulaşılmıştır. Ancak, cut-off değer verebilmek için, geniş kapsamlı çalışmalarla, belirli bir ADA ya da ADA-2 düzeyinin sensitivite ve spesifitesi ortaya çıkarılmalıdır.

Sonuç olarak, aktif pulmoner tüberküloz hastalarında, BAL'da ADA ve özellikle ADA-2 düzeylerinin yüksek olduğu, bu yüksekliğin saptanmasının, ileride, klinik bir anlam ifade edebileceğini düşünüyoruz. Bu bulgular, daha geniş kapsamlı çalışmalarla doğrulanmalıdır.

Çalışmamız, aktif tüberküloz hastalarını, diğer aktif pulmoner patolojilerden ayırdetmek amacıyla planlanmamıştır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda, BAL sıvısında ADA seviyesi ölçümünün düşük spesiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu dezavantajı ortadan kaldırmak amacıyla, BAL sıvısında ADA-2 izoenzim düzeyi ölçümünün, aktif tüberküloz hastalarını diğer aktif pulmoner patolojilerden ayırdetmede daha etkin olup olmadığını gösterecek yeni çalışmaların planlanması gerektiği kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Dye C, Scheele S, Dolin P et al. Global burden of tuberculosis. Estimated incidence prevalence, and mortality by country. JAMA 1999;282:677-86.
2. Özdemir Ö. Tüberkülozda tanı yöntemleri. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 1994;14:420-4.
3. Çobanlı B. Tüberküloz. In: Numanoğlu N; ed. Klinik Solunum Sistemi ve Hastalıkları. Ankara:Antip; 1997:306-33.
4. Iseman MD. Çeviri: Şeref Özkara. Tüberkülozun Biyolojisi ve Laboratuvar Tanısı. Klinisyenler için Tüberküloz Kılavuzu. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Yayını; 2002:21-49.
5. Villena V, Navarro-Gonzalez JA, Garcia-Benayas C et al. Rapid automated determination of adenosine deaminase and lysozyme for differentiating tuberculous and nontuberculous pleural effusions. Clin Chem 1996;42:218-21.
6. Veena B. Adenosine Deaminase isoenzymes and pleural tuberculosis. J Lab Clin Med 1996;127:326-7.
7. Kurata N. [Adenosine deaminase] Nippon Rinsho. 1995 ;53:1178-83.
8. Ungerer JP, Oosthuizen HM, Bissbort SH, Vermaak WJ. Serum adenosine deaminase: isoenzymes and diagnostic application. Clin Chem 1992;38:1322-6.
9. Giusti G. In: Bergmayer; ed. Methods of enzyme analysis. New York: Academic Press Inc; 1974.
10. Goldberg DM. Serum adenosine deaminase in the differential diagnosis of jaundice. Br Med J 1965;5431:353-5.
11. Van der Kuyp F. The microbiology of the mycobacteria. In: Fishman P; ed. Pulmonary Diseases and Disorders. International ed. United States: McGraww Hill Company; 1998:2441-5.
12. Kubota M, Yanase N, Katagiri M et al. Adenosine deaminase activity in bronchoalveolar lavage fluid. [Konferans]
13. Latsi P, Orphanidou D, Virtzili S et al. The diagnostic value of ADA measurement and its isoenzymes in bronchoalveolar lavage of patients with TBC and various diffuse lung diseases. In: Decromerm (ed). European Respiratory Journal Proceedings of the World Congress on lung Health and 10th ERS Annual Congress; 2000 Aug 30-Sep 3; Florence, Italy. p216.
14. Delibalta M, Karnak D, Beder S, Kayacan O, Karaca L. Yayma negatif akciğer tüberkülozunda bronkoalveoler lavajdaki adozin deaminaz aktivitesinin tanısal değeri. Tüberküloz ve Toraks 2001;49:237-45.
15. Rossman M, Eyuboglu F. Clinical presentation and treatment of tuberculosis. In: Fishman P; ed. Pulmonary Diseases and Disorders. International ed. United States: McGraww Hill Company; 1998:2483-501.
16. [No authors listed] Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children. American Thoracic Society. Monaldi Arch Chest Dis 1994;49:327-45.
17. Hillebrand DJ, Runyon BA, Yasmineh WG, Rynders GP. Ascitic fluid adenosine deaminase insensitivity in detecting tuberculous peritonitis in the United States. Hepatology 1996;24:1408-12.
18. Canbakan SÖ, Atıkan Ş, Çapan N ve ark. Plevra sıvısının tanısında, karsinoembriyonik antijen (CEA), karbonhidrat antijen 19-9(CA 19-9) ve adozin deaminaz(ADA) ölçümünün değeri. Solunum Hastalıkları 1992;3:133-43.
19. Piras MA, Gakis C. Cerebrospinal fluid Adenosine Deaminase activity in tuberculosis meningitis. Enzyme 1973;14:311-7
20. Pettersson T, Klockars M, Weber TH, Somer H. Diagnostic value of cerebrospinal fluid adenosine deaminase determination. Scand J Infect Dis 1991;23:97-100.

21. Isaka N, Tanaka R, Nakamura M et al. A case of tuberculous pericarditis-use of adenosine deaminase activity (ADA)in early diagnosis. *Heart Vessels* 1990;5:247-8.
22. Piras MA, Gakis C, Budroni M, Andreoni G. Adenosine deaminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. *Br Med J* 1978;2:1751-2.
23. Niwa Y, Kishimoto H, Shimokata K. Carcinomatous and tuberculous pleural effusions. Comparison of tumor markers. *Chest* 1985;87:351-5.
24. Arab C, Ergün P, Özal N ve ark. Akciğer tüberkülozunda serum adenozin deaminaz aktivitesi. *Solunum Hastalıkları* 1992;3:321-5.
25. Maritz FJ, Malan C, Le Roux I. Adenosine deaminase estimations in the differentiation of pleural effusions. *S Afr Med J* 1982;62:556-8.
26. Ungerer JP, Oosthuizen HM, Retief JH, Bissbort SH. Significance of adenosine deaminase activity and its isoenzymes in tuberculous effusions. *Chest* 1994;106:33-7.
27. Perez-Rodriguez E, Perez Walton IJ, Sanchez Hernandez JJ et al. ADA1/ADAp ratio in pleural tuberculosis: an excellent diagnostic parameter in pleural fluid. *Respir Med* 1999;93:816-21.
28. Andreyan NA, Hairapetian HL, Sargisova YG et al. Activity of adenosine deaminase and its isoforms in pleural fluid in tuberculous pleuritis. *Med Sci Monit* 2002;8:708-12.
29. Kuyucu N, Karakurt C, Bilaloglu E et al. Adenosine deaminase in childhood pulmonary tuberculosis: diagnostic value in serum. *J Trop Pediatr* 1999;45:245-7.
30. Conde MB, Marinho SR, Pereira Mde F et al. The usefulness of serum adenosine deaminase 2 (ADA2) activity in adults for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Respir Med* 2002;96:607-10.
31. Dilmac A, Ucoluk GO, Ugurman F et al. The diagnostic value of adenosine deaminase activity in sputum in pulmonary tuberculosis. *Respir Med* 2002;96:632-4.
32. Orphanidou D, Stratakos G, Rasidakis A et al. Adenosine deaminase activity and lysozyme levels in bronchoalveolar lavage fluid in patients with pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2:147-52.
33. Albera C, Mabritto I, Ghio P et al. Adenosine deaminase activity and fibronectin levels in bronchoalveolar lavage fluid in sarcoidosis and tuberculosis. *Sarcoidosis* 1993;10:18-25.
34. Kubota M, Katagiri M, Yanase N et al. [Measurement of adenosine deaminase activity in bronchoalveolar lavage fluids as a tool for diagnosing miliary tuberculosis] *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 1996;34:139-44.