

İdiyopatik hipogonadotropik hipogonadizmli hastalarda konvansiyonel gonadotropin tedavisinin lenfosit alt gurupları üzerine etkileri ve IL-2 reseptör (IL-2R) ekspresyonu ile ilişkisi

The effects of conventional gonadotrophin therapy on lymphocyte subgroups and its association with IL-2R expression in patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism

Fatih Tanrıverdi,

Dr., MD,
Department of Endocrinology,
Erciyes University Medical Faculty,
fatih@erciyes.edu.tr

Ümit Demirkoparan,

Dr., MD,
Department of Internal Medicine,
Erciyes University Medical Faculty,
umit@yahoo.com

Fahri Bayram,

Prof. Dr., MD,
Department of Endocrinology,
Erciyes University Medical Faculty,
fbayram@erciyes.edu.tr

Yusuf Özkul,

Prof. Dr., MD,
Department of Genetics,
Erciyes University Medical Faculty,
ozkul@erciyes.edu.tr

Munis Dünder,

Prof. Dr., MD,
Department of Genetics,
Erciyes University Medical Faculty,
dunder@erciyes.edu.tr

Hilal Akalın,

Dr., PhD.,
Department of Genetics,
Erciyes University Medical Faculty,
akalin@erciyes.edu.tr

Türkan Patiroğlu,

Prof. Dr., MD,
Department of Pediatrics,
Erciyes University Medical Faculty,
turkanp@erciyes.edu.tr

Fahrettin Keleştimur,

Prof. Dr., MD,
Department of Endocrinology,
Erciyes University Medical Faculty,
fktimur@erciyes.edu.tr

This study was honoured with the Gevher Nesibe Research Encouragement Awards Championship, 2005.

This manuscript can be downloaded from the webpage:
[http://tipdergisi.erciyes.edu.tr/download/2007;29\(1\):001-006.pdf](http://tipdergisi.erciyes.edu.tr/download/2007;29(1):001-006.pdf)

Submitted : January 21, 2006
Revised : September 26, 2006
Accepted : January 17, 2007

Corresponding Author:

Fatih Tanrıverdi
Department of Endocrinology,
Erciyes University Medical Faculty,
38039, Kayseri/Turkey

Telephone : +90 352 4374937 - 20957
E-mail : fatihtan@erciyes.edu.tr

Özet

Amaç: Seks steroidleri ve immün sistem ilişkisinin varlığı insanda bilinmekle birlikte, otoimmün hastalıkların patogenezini anlamak için gerekli olan bu ilişkinin mekanizması halen açık değildir. Erkeklerdeki major seks steroidlerinden olan testosteron ile IL-2R ekspresyonunun lenfosit düzeyindeki fonksiyonel ilişkisi insanda in-vivo ortamda henüz incelenmemiştir. Bu nedenlerden dolayı idiyopatik hipogonadotropik hipogonadizmli (İHH) hastalarda planladığımız, konvansiyonel gonadotropin tedavisinin lenfosit alt gurupları ve periferik mononükleer hücrelerdeki (PMBC) IL-2R ekspresyonu üzerine etkileriyle ilgili araştırmanın ön çalışma sonuçlarını sunacağız.

Gereç ve Yöntem: İHH tanısı alan 10 erkek hasta (ortalama yaş 25,6 ± 7,1) ve yaş/cinsiyet eşleştirilmiş 10 sağlıklı kontrol (ortalama yaş 27,1 ± 3,9) çalışmaya alınmıştır. Hastalar 12 ay boyunca haftada 3 gün; hCG ve human postmenopozal gonadotropin (hMG) ile tedavi edilmiştir. Lenfosit alt guruplarından CD3, CD4, CD8, CD16 ve CD19 yüzdeleri flow sitometri ile ölçülmüştür. Quantitative real-time PCR ile kontrollerin PMBC'lerinden elde edilen cDNA'larda IL-2R (hedef gen) ve beta-aktin (referans gen) ekspresyonu analiz edilmiştir.

Bulgular: Hasta grubunda tedavi öncesi total lenfosit sayısı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek ve ortalama CD4 yüzdesi ise anlamlı olarak düşüktü ($P<0,05$). Tedavi sonrasında hastalarda lenfosit sayıları azaldı ve CD4 düzeyleri ise normalize oldu ($P<0,05$). Hastaların ortalama bazal IL-2R mRNA düzeyi % 273.3 ± 50 olarak bulundu ve kontrole göre anlamlı olarak yüksekti. Tedavi sonrasında ise IL-2R mRNA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı (%93 ± 13) ($P<0,05$).

Sonuç: Çalışmamızda literatürde ilk defa İHH tanısı alan hastalarda in-vivo olarak seks hormonu ile sitokin reseptörünün ilişkisi lenfosit düzeyinde gösterilmiş oldu. İHH'li hastalardaki gerek lenfosit alt tiplerinde gerekse de daha belirgin olarak IL-2R ekspresyonunda normale göre farklılıklar bulunmakta ve testosteron düzeyinin artmasıyla bu değişiklikler düzelmektedir.

Anahtar Kelimeler: **Hipogonadotropik hipogonadizm; İnterlökin reseptörleri; Lenfosit alt tipleri; Testosteron.**

Abstract

Purpose: Although the presence of the interaction between sex steroids and the immune system is known, the mechanism of this interaction, which is very important in understanding the pathogenesis of the autoimmune disorders, is still unclear. In-vivo interaction of testosterone and IL-2R expression at lymphocyte level has not yet been investigated. Therefore, in the present study, we report the preliminary results of our ongoing study regarding the effects of conventional gonadotrophin therapy on lymphocyte subgroups and its relation with IL-2R expression in patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism (IHH).

Materials and Method: Peripheral venous blood samples were obtained from 10 patients with IHH (Mean age 25.6 ± 7.1 years) and 10 age- and sex-matched healthy volunteers (Mean age 27.1 ± 3.9 years). Patients were treated for 12 months (3 days a week) with hCG and hMG. Lymphocyte subtype levels including CD3, CD4, CD8, CD16 and CD19 were analyzed by flow cytometry. Quantitative Real-Time RT-PCR was used to examine the expression of IL-2R (target gene) and beta-actin (reference gene) in peripheral mononuclear blood cells (PMBCs) derived from patients and controls.

Results: In the patient group, before treatment total lymphocyte count was significantly high and the mean CD4 percentage was significantly low when compared to the results of healthy controls ($P<0.05$). Following gonadotrophin treatment, lymphocyte count and CD4 levels were significantly normalized ($P<0.05$). Baseline IL-2R mRNA level was 273 ± 50 % in the patient group and a significant decrease in IL-2R mRNA level was found after treatment (93 ± 13 %) ($P<0.05$).

Conclusion: In-vivo interaction between sex hormone and cytokine receptor in patients with IHH was shown for the first time in the literature. Both lymphocyte subtypes and IL-2R expression are affected in IHH patients and the increase in serum testosterone levels normalizes these changes.

Key Words: **Hypogonadism, hypogonadotropic; Lymphocyte Subsets ;Testosterone; Receptors, Interleukin**

Giriş

Gonadotropin-releasing hormon tip-1 (GnRH-I) hipofizer gonadotropilerden GnRH reseptörü (GnRHR) aracılığıyla FSH/LH salınımını sağlayan ve klasik olarak reproduktif sistem fonksiyonları bilinen decapeptit yapıda bir nörohormondur (1). Hayvan çalışmalarında GnRH ve GnRHR ekspresyonunun santral sinir sistemi ile sınırlı olmadığı ve meme, over ve prostat dokularında eksprese edildiği gösterilmiştir (2). İnsan periferik T hücrelerinde de (CD4+, CD8+) immünreaktif ve bioaktif GnRH gösterilmiştir (3,4). Bütün bu bulgular insanda klasik hipotalamo-pitüiter-gonadal aksın (HPG aks) yanısıra immün sistem düzeyinde bir "lokal HPG aksın" varlığının göstergesidir (5).

Son yıllara kadar organizmada tek GnRH izoformunun olduğu düşünülüyordu ancak White ve ark. tarafından tüm vertebralılarda korunan ve GnRH-I ile %70 homoloji gösteren GnRH-II'yi insanda klonlandı (6). GnRH-II'nin özellikle ekstrapitüiter bölgede eksprese edilmesi ve yaygın doku dağılımı olması önemli fizyolojik fonksiyonlarının olduğunu düşündürmektedir. İnsanda immün sistemde ve özellikle periferik T ve B lenfositlerde GnRH-I ve GnRH-II'nin ekspresyonu ve peptidlerin varlığı gösterilmiştir (7,8). Deneysel çalışmalardan elde edilen veriler her iki nöropeptidin potansiyel immün etkilerinin olduğunu ve otoimmün hastalıkların patogenezinde klinik önemini olabileceğini göstermektedir.

İnterlökin-2 (IL-2), IL-2 reseptör (IL-2R) kompleksi yoluyla lenfosit aktivasyon ve proliferasyonunda anahtar rol oynar, ve lenfosit altgrup değişiminde de etkili faktörlerden birisidir. İnsan ve ratlarda yapılan in-vitro çalışmalarda fonksiyonel önemi bilinmemekle birlikte, GnRH'nın periferik lenfositlerde IL-2R ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (9,10). Ancak insanda henüz lokal HPG aks ve IL-2/IL-2R ilişkisi halen tam aydınlatılamamıştır. Erkek ve kadındaki major seks steroidlerinden olan testosteron ve östrojen'in IL-2 veya IL-2R üzerine regüle edici etkileri çeşitli deneysel çalışmalarda gösterilmekle birlikte; immün sistem fizyolojisinde önemli olabilecek seks steroidleri ile IL-2/IL-2R ekspresyonunun lenfosit düzeyindeki fonksiyonel ilişkisi insanda in-vivo ortamda incelenmemiştir (11-13).

Bilindiği gibi immün sistem cinsiyete bağlı olarak çeşitli farklılıklar göstermekte ve otoimmün ve/veya romatolojik hastalıklar kadınlarda ve hipogonadizimli erkeklerde daha sık görülmektedir. Seks steroidleri ve immün sistem ilişkisinin varlığı klinik olarak insanda gösterilmekle

birlikte bu ilişkinin mekanizmaları halen açık değildir (5,14,15). Hipogonadizimli erkeklerde lenfosit alt guruplarında (CD3, CD4, CD8, CD19 düzeyleri) ve serum IL-2 düzeylerinde değişiklikler olabileceğini gösteren az sayıda klinik çalışma vardır; ancak bu çalışmalarda mekanizma ile ilgili yeterli bilgi yoktur ve farklı sonuçlar rapor edilmiştir (15,16). Seks steroidlerin immün sistem üzerine olan etkilerinin anlaşılması, gerek otoimmün hastalıkların patogenezi gerekse de seks hormonlarının bu hastalıklarda potansiyel kullanımını yönünden klinik olarak çok önemlidir ve son yıllarda ilgi konusu olmuştur.

Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı seks steroidleri ve lokal HPG aks arasındaki fonksiyonel ilişkiyi in-vivo ortamda ortaya koymak amacıyla testosteron eksikliğinin en iyi klinik modeli olan idiyopatik hipogonadotropik hipogonadizimli (İHH) hastalarda çok yönlü bir araştırma projesi planladık. İHH'li hastalarda testosteron eksikliği ve tedavi ile düzeltilmesinin lenfosit alt gurupları; serum IL-2, IL-4 ve soluble IL-2R düzeyleri; ve periferik mononükleer hücrelerde (PMBC) GnRH-I, GnRH-II ve IL-2R ekspresyonu üzerine olan etkileri araştırılmaktadır.

Bu çalışmada ise İHH'li hastalarda konvansiyonel gonadotropin tedavisinin lenfosit alt gurupları ve PMBC'lerdeki IL-2R ekspresyonu üzerine etkileriyle ilgili ön çalışma sonuçlarını sunacağız.

Hasta ve Metod

Hasta özellikleri ve çalışma planı: Çalışmaya endokrinoloji polikliniğine başvuran, İHH tanısı alan 10 erkek hasta (ortalama yaş 25.6 ± 7.1) ve yaş/cinsiyet eşleştirilmiş 10 sağlıklı kontrol (ortalama yaş 27.1 ± 3.9) alınmıştır. Çalışma Erciyes Üniversitesi etik kurulu tarafından onaylanmıştır (proje no: TA-O3-25).

İHH tanısı için kriter olarak, 18 yaşından sonra spontan püberte bulguları olmaması, ve serum testosterone, FSH ve LH düzeylerinin normalin alt sınırda olması alınmıştır. MR ile hipofizer ve hipotalamik kitleler ekarte edilmiştir, ve hastaların hiçbirinde anosmi ve aile hikayesi yoktur.

Hastalar 12 ay boyunca haftada 3 gün; hCG (Profasi HP 2000 IU) ve human postmenopozal gonadotropin (Pergonal 75 IU FSH ve 75 IU LH) ile tedavi edilmiştir. Tedavide etkinlik kriteri olarak serum total ve serbest testosteron düzeylerindeki artış alınmıştır. Kan örnekleri hastalarda tedavi öncesi ve tedaviden 12 ay sonra alınmıştır. Kontrollerin de kanları çalışmanın başında alınmıştır, ve detayları aşağıda bahsedilen immünolojik ve genetik parametreler araştırılmıştır.

İmmünolojik parametreler: Tam kan sayımı otoanalizör ile merkez biyokimya laboratuvarında yapılmıştır. Serum total ve serbest testosteron düzeyleri immünoradyometrik assay metodu ile nükleer tıp laboratuvarında ölçülmüştür.

Lenfosit alt guruplarından CD3, CD4, CD8, CD16 ve CD19 yüzdeleri monoklonal antikorlar kullanılarak flow sitometri metodu ile immünoloji laboratuvarında ölçülmüştür. Ayrıca serum immünglobülin (Ig), C3c ve C4 düzeyleri de rutin kullanılan metod ile analiz edilmiştir.

Periferik Mononükleer Hücre (PMBC) ekstraksiyonu ve Real-Time RT-PCR ile IL-2R ekspresyonunun tespiti Sağlıklı kontrollerden ve hastalardan (tedavi öncesi ve sonrası) PMBC izolasyonu için standart metod olan Ficoll-Hypaque metodu kullanılmıştır .

Elde edilen PMBC'lerden total RNA hazır kit kullanılarak izole edilmiştir (RNeasy midi kit, Qiagen). Total RNA'dan (2µg) komplementer DNA (cDNA) eldesi için First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, Life Sciences) kullanılarak revers transkripsiyon (RT) yapılmıştır.

Quantitative real-time PCR "Bio-Rad İCycler IQ" sistemi kullanılarak yapılmıştır. Sağlıklı kontrollerden ve hastalardan (tedavi öncesi ve sonrası) elde edilen cDNA'larda intron-spanning primerler kullanılarak IL-2R (hedef gen) ve beta-aktin (referans gen) ekspresyonu analiz edilmiştir. Primer dizeleri : IL-2R (sense 5'-CCAGGACCCACGGGAACCCA-3' ve anti sense 5'-GGTGGGAATTCGGGGCATCG-3') ve beta-aktin (sense 5'-TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA-3' ve anti sense 5'-CAGCGGAACCG CTCATTGCCAATGG -3') olarak seçilmiştir.

Kalıp cDNA'lar (2 µl); 25 l IQ SYBR Green Supermix ve her bir primerden 50 pmol içeren 50 µl'lik PCR reaksiyonunda çoğaltılmıştır. Hedef ve referans genin her ikisine de 35 döngü PCR reaksiyonu uygulanmış; denatürasyon 94°C'de 1 dk, annealing 61°C 'de 40 sn, ekstensiyon 72°C'de 1 dk, ve son siklustan sonra final ekstensiyon için 72°C'de 120 sn. Florasan data 585 nm dalga boyunda ve her siklusun 72°C'lik ekstensiyon fazında Real-Time PCR optik sistemi tarafından kaydedilmiştir. Ürünlerin spesifitesi " melt curve analysis" ve agaroz jel elektroforezde koşturarak test edilmiştir. Ekspresyon oranları hesaplanırken "Bio-Rad İCycler IQ" tarafından sağlanan özel yazılım programı kullanılmıştır.

Sağlıklı kontrollerden rasgele seçilen bir örnek kullanılarak hem hedef gen hem de referans gen için farklı standart

eğri elde edildi (1 üniteden 1/16 üniteye kadar 5 konsantrasyon kullanıldı). Standart eğriler üzerinden her örneğin eşik siklusu (C_T) kullanılarak hedef ve referans genlerin ünite cinsinden relatif konsantrasyonlar hesaplandı. Örnekler arasındaki RNA kalite ve kantite farklılıklarını düzeltmek için IL-2R relative konsantrasyonu, beta aktin relatif konsantrasyonuna bölünerek normalize oranlar elde edildi. Elde edilen normalize oranlar kontrol ve hastaların (tedavi öncesi ve sonrası) PMBC'lerindeki IL-2R ekspresyonu olarak değerlendirildi.

İstatistik: Veriler ortalama ve standart hata (mean ± sem) veya median (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. Kontrol ve hastaların tedavi öncesi değerleri Mann-Whitney U testi ile, ve hastaların tedavi öncesi ve sonrası değerleri Wilcoxon testi ile karşılaştırıldı. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Hormonal ve immünolojik parametreler

Hastaların tedavi öncesi ve sonrası, ve sağlıklı kontrollerin ortalama testosteron düzeyleri ve immünolojik parametreleri Tablo I'de özetlenmiştir.

Tedavi öncesinde hastaların ortalama total ve serbest testosteron düzeyleri kontrollerden anlamlı olarak düşük bulundu ($P < 0,05$). Hastalarda tedavi öncesi ve sonrası testosteron düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yükselme saptandı ($P < 0,05$).

Hasta gurubunda tedavi öncesi total lenfosit sayısı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek ve ortalama CD4 yüzdesi ise anlamlı olarak düşüktü ($P < 0,05$). Tedavi sonrasında hastalarda lenfosit sayıları azaldı ve CD4 düzeyleri ise normalize oldu ($P < 0,05$). Hastaların bazal ortalama immünglobulin düzeyleri, kompleman aktivitesi, CD4 dışındaki diğer lenfosit alt gurupları ve CD4/CD8 oranı kontrollerden farklı değildi ve tedavi sonrasında da anlamlı bir değişiklik saptanmadı.

Periferik Mononükleer Hücrelerde (PMBC) Quantitative

Real-Time RT-PCR ile IL-2R ekspresyon düzeyleri

Hasta gurubu (tedavi öncesi ve sonrası) ve sağlıklı kontrollerde, IL-2R'nin ekspresyon düzeylerini belirlemek için hedef ve referans genlerin standart eğrilerden elde edilen relatif miktarlarının oranlanmasıyla (hedef gen miktarı / referans gen miktarı) elde edilen, normalize oranlar kullanıldı. IL-2R mRNA düzeyleri kontrolün yüzdesi (ortalama ± SEM) olarak ifade edildi (Şekil 1).

Hastaların ortalama bazal IL-2R mRNA düzeyi % 273.3 ± 50 olarak bulundu ve kontrole göre anlamlı olarak yüksekti (Şekil 1). Tedavi sonrasında ise IL-2R mRNA düzeyi anlamlı olarak azaldı (%93 ± 13, $P < 0,05$).

Tartışma

Çalışmamızda İHH'li hastalarda immünolojik parametrelerden sadece total lenfosit sayısı ve CD4 (Yardımcı T hücreleri, T_H) yüzdesindeki değişiklik dışında kontrol guruba göre anlamlı fark bulunamamıştır. Ancak mononükleer hücre düzeyinde incelediğimiz IL-2R ekspresyon oranı testosteron eksikliğinde belirgin olarak artmıştır, ve gonadotropin tedavisi sonrasında testosteron düzeylerinin yükselmesiyle IL-2R ekspresyon oranı normalize olmuştur.

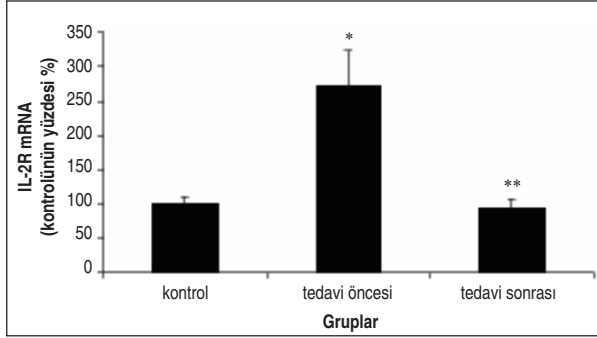
Otoimmün hastalıkların cinsiyetler arasında farklılık göstermesi ve kadınlarda immün cevabın erkeklerden farklı olması bilim adamlarını seks steroidlerin immün sistem üzerine etkilerini incelemeye yöneltmiştir. Seks steroidlerin immün sistem etkisini inceleyen birçok deneysel çalışma yapılmıştır. İmmün sistem organlarında (timus, dalak, lenf bezi, kemik iliğinde) hem östrojen reseptörü hem de androjen reseptörünün varlığı gösterilmiştir (17). Ancak matür T ve B lenfositlerde androjen reseptörü gösterilememiştir ve bu hücrelere olan androjen etkisinin dolaylı veya non-genomik olabileceği öne sürülmüştür (18). İn-vitro ve farede yapılan in-vivo deneysel çalışmaların çoğunda, testosteronun CD4/CD8 oranını azalttığı, östrojenin ise CD4/CD8 oranını artırdığı gösterilmiştir (5). Çalışmamızda ise testosteron replasmanının CD4 düzeylerini artırarak normalize ettiğini saptadık. Deneysel çalışmalardan farklı olarak testosteron replasmanının CD4 üzerine etkisini östrojene benzer şekilde bulduk. İn-vivo ve in-vitro arasındaki bu farklılık erkeklerde testosteronu periferik dokularda östrojene çeviren aromataz aktivitesi ile açıklanabilir (19-21). İHH'li hastalarımızın tedavi öncesindeki estradiol düzeylerinin düşük olup gonadotropin tedavisi ile yükselmesi (tedavi öncesi $21,7 \pm 4,4$; tedavi sonrası $71,9 \pm 7,4$) aromataz aktivitesini dolaylı olarak göstermekte ve hipotezimizi desteklemektedir. Ancak aromataz aktivitesinin direkt ölçümü ve erkeklerde lenfositlerdeki ekspresyonunun gösterilmesi ile östrojenin erkeklerde immün regülasyondaki önemi anlaşılabilir.

Literatürde İHH'li hastalarda immün parametrelerin incelendiği iki in-vivo insan çalışması yapılmıştır (15,16). Yesilova ve ark. İHH'li hastalarda Ig düzeyleri, CD3

yüzdeleri, CD19 yüzdeleri ve CD4/CD8 oranını kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulmuştur ve tedavi ile bu değerler düzelmiştir (15). Kiess ve ark. ise aynı hasta gurubundaki immün parametrelerde kontrole göre fark bulamamış ve testosteron replasmanının etkisini gösterememiştir (16). Bizim çalışmamızda ise lenfosit sayısı ve CD4 düzeyindeki hafif değişiklikler dışında, İHH'li hastalarda tedavi öncesi ve sonrasında lenfosit alt gurupları ve Ig düzeylerinde anlamlı farklılık saptayamadık. Elde ettiğimiz bulgular İHH'li hastalardaki bilinen artmış immün reaktivitenin tek başına lenfosit alt gurup yüzde değişiklikleri ile açıklanamayacağını göstermektedir.

T_H (CD4) lenfositler salgıladıkları sitokinlere göre TH1 ve TH2 altgurupları olarak ayrılırlar. TH1 lenfositler IL-2 ve TNF-alfa salgılayıp hücrel immüniteyi destekler, TH2 lenfositler ise IL-4 ve IL-10 salgılayarak humoral immüniteyi destekler. Son yıllarda otoimmün hastalıkların gelişiminde ve immün cevapta TH1/TH2 dengesinin önemi anlaşılmıştır (22). Çalışmamızda tedavi öncesi İHH'li hastaların mononükleer hücrelerinde IL-2R ekspresyonunu yaklaşık olarak üç kat artmış olarak bulduk. Böylelikle elde ettiğimiz veriler testosteron eksikliğindeki TH1/TH2 dengesindeki bozulmanın hipogonadizmdeki immün disregülasyonun önemli nedenlerinden birisi olduğunu düşündürmektedir. İHH'li hastalarda tedavi öncesinde gösterdiğimiz artmış hücrel immün reaktivite, testosteron replasmanı ile normalize olmaktadır (Şekil 1). Bulgularımızı destekleyen bir in-vivo deneysel çalışmada, yanık hasarına maruz bırakılan erkek farelerde testosteron reseptör blokajının IL-2 ve IL-2R ekspresyonunu artırarak hücrel immün sistemi yeniden yapılandırdığı rapor edilmiştir (12). IL-2R ekspresyonundaki testosterona bağlı değişikliklerin mekanizması ve PMBC'lerdeki GnRH-I ve/veya GnRH-II ekspresyonu ile ilişkisinin ileri in-vivo ve in-vitro çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada literatürde ilk defa İHH'de in-vivo olarak seks hormonu ile sitokin reseptörünün ilişkisi lenfosit düzeyinde gösterilmiş oldu. İHH'li hastalardaki gerek lenfosit alt tiplerinde gerekse de daha belirgin olarak IL-2R ekspresyonunda normale göre farklılıklar bulunmakta ve testosteron düzeyinin artmasıyla bu değişiklikler düzelmektedir. İmmün sistem ve endokrin sistem etkileşiminin gelecek çalışmalarla anlaşılması birçok otoimmün hastalığın patogenezinin çözülmesini ve yeni tedavi seçeneklerinin gelişmesini sağlayacaktır.



* kontrol ve tedavi öncesi $P < 0,05$

** tedavi öncesi ve tedavi sonrası $P < 0,05$

Şekil 1: İHH'li hastalarda IL-2R ekspresyonunun tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin kontrol gurubu ile karşılaştırılması (IL-2R mRNA düzeyleri kontrolün yüzdesi (ortalama SEM) olarak ifade edildi).

Tablo 1: Hata ve kontrol gurubunda analiz edilen hormonal ve immünolojik parametreler

Parametreler	Kontrol Gurubu	Hasta Gurubu	
		Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası
Total testosteron (ng/dL)	431 (222-1341)*	31 (12-99)	708 (439-1069) **
Serbest testosteron (pg/mL)	15 (10-26)*	0.86 (0.01-2.24)	25 (10-36)**
Ig G (mg/dL)	1200 (983-1410)	1200 (998-1510)	1195 (995-1550)
Ig A (mg/dL)	203 (96-269)	202 (96-418)	234 (78-964)
Ig M (mg/dL)	106 (56-165)	94 (74-260)	102 (62-268)
Ig E (IU/dL)	66 (0.3-224))	44 (0.3-250)	22 (0.4-147)
C3c (mg/dL)	131 (65-179)	131 (83-213)	114 (66-163)
C4 (mg/dL)	16 (11-46)	19 (13-39)	17 (9-31)
Lenfosit (mm^3)	2090 (1500-3770)*	2350(1900-3500)	2245 (1830-2800) **
CD4 ⁺ (%)	44 (30-50)*	34 (19-50)	41 (21-56) **
CD8 ⁺ (%)	27 (19-38)	31 (23-50)	32 (23-56)
CD3 ⁺ (%)	72 (54-79)	70 (48-85)	70 (65-88)
CD16 ⁺ (%)	13 (8-15)	18 (2-26)	14 (6-22)
CD19 ⁺ (%)	11 (7-19)	13 (3-77)	13(7-17)
CD4 ⁺ / CD8 ⁺	1,55 (0,95-2,56)	1,17 (0,49-1,48)	1.24 (0,38-2,03)

median (minimum-maksimum)

* kontrol ve tedavi öncesi $P < 0,05$

** tedavi öncesi ve tedavi sonrası $P < 0,05$

Kaynaklar

1. Conn PM, Crowley WF Jr. Gonadotropin-releasing hormone and its analogues. *N Engl J Med* 1991; 324:93-103.
2. Kakar SS, Musgrove LC, Devor DC, Sellers JC, Neill JD. Cloning, sequencing, and expression of human gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;189:289-295.
3. Azad N, La Paglia N, Jurgens KA, et al. Immunoactivation enhances the concentration of luteinizing hormone-releasing hormone peptide and its gene expression in human peripheral T-lymphocytes. *Endocrinology* 1993;133:215-223.
4. Azad N, LaPaglia N, Kirsteins L, et al. Jurkat cell proliferative activity is increased by luteinizing hormone-releasing hormone. *J Endocrinol* 1997; 153:241-249.
5. Tanriverdi F, Silveira LF, MacColl GS, Bouloux PM. The hypothalamic-pituitary-gonadal axis: immune function and autoimmunity. *J Endocrinol* 2003;176:293-304.
6. White RB, Eisen JA, Kasten TL, Fernald RD. Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:305-309.
7. Chen A, Ganor Y, Rahimpour S, Ben-Aroya N, Koch Y, Levite M. The neuropeptides GnRH-II and GnRH-I are produced by human T cells and trigger laminin receptor gene expression, adhesion, chemotaxis and homing to specific organs. *Nat Med* 2002;8:1421-1426.
8. Tanriverdi F, Gonzalez-Martinez D, Silveira LF, et al. Expression of Gonadotropin-Releasing Hormone Type-I (GnRH-I) and Type-II (GnRH-II) in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells (PMBCs) and Regulation of B-Lymphoblastoid Cell Proliferation by GnRH-I and GnRH-II. *Exper Clin Endocrinol & Diabetes* 2004;112:587-594.
9. Batticane N, Morale MC, Gallo F, Farinella Z, Marchetti B. Luteinizing hormone-releasing hormone signaling at the lymphocyte involves stimulation of interleukin-2 receptor expression. *Endocrinology* 1991;129:277-286.
10. Chen HF, Jeung EB, Stephenson M, Leung PC. Human peripheral blood mononuclear cells express gonadotropin-releasing hormone (GnRH), GnRH receptor, and interleukin-2 receptor gamma-chain messenger ribonucleic acids that are regulated by GnRH in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:743-750.
11. Barak V, Mordel N, Zajicek G, Kalichman I, Treves AJ, Laufer N. The correlation between interleukin 2 and soluble interleukin 2 receptors to oestradiol, progesterone and testosterone levels in periovulatory follicles of in-vitro fertilization patients. *Hum Reprod* 1992;7:926-929.
12. Messingham KA, Messingham KA, Shirazi M, et al. Testosterone receptor blockade restores cellular immunity in male mice after burn injury. *J Endocrinol* 2001;169:299-308.
13. Pasma E, Moes H, Heineman MJ, Faas MM. The effect of testosterone on cytokine production in the specific and non-specific immune response. *Am J Reprod Immunol* 2004;52:237-243.
14. Kocar IH, Yesilova Z, Ozata M, Turan M, Sengul A, Ozdemir I. The effect of testosterone replacement treatment on immunological features of patients with Klinefelter's syndrome. *Clin Exp Immunol* 2000;121:448-452.
15. Yesilova Z, Ozata M, Kocar IH, Turan M, Pekel A, Sengul A et al. The effects of gonadotropin treatment on the immunological features of male patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:66-70.
16. Kiess W, Liu LL, Hall NR. Lymphocyte subset distribution and natural killer cell activity in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1991;124:399-404.
17. Olsen NJ, Kovacs WJ. Gonadal steroids and immunity. *Endocr Rev* 1996;17:369-384.
18. Olsen NJ, Kovacs WJ. Effects of androgens on T and B lymphocyte development. *Immunol Res* 2001;23:281-288.
19. Berstein LM, Santner SJ, Brodie AM, Koos RD, Nafolin F, Santen RJ. Pseudoaromatase in circulating lymphocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993;44:647-649.
20. Berstein LM, Larionov AA, Poroshina TE, Zimarina TS, Leenman EE. Aromatase (CYP19) expression in tumor-infiltrating lymphocytes and blood mononuclears. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128:173-176.
21. Brodie A, Inkster S, Yue W. Aromatase expression in the human male. *Mol Cell Endocrinol* 2001;178:23-28.
22. Huang WT, Lu HK, Chou HH, Kuo MY. Immunohistochemical analysis of Th1/Th2 cytokine profiles and androgen receptor expression in the pathogenesis of nifedipine-induced gingival overgrowth. *J Periodont Res* 2003; 38:422-427.