

108267

Marmara Üniversitesi

Tıp Fakültesi

BEHÇET HASTALIĞI ÜVEİTİNDE RETİNAL-S ANTİJENİ İLE ÇAPRAZ
REAKSİYON VEREN HLA-B KÖKENLİ BİR PEPTİDE (B27PD) KARŞI T HÜCRE
YANITI

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

(Yan Dal Uzmanlık Tezi)

Dr.Şule Kurhan Yavuz

(İstanbul-2001)

Bu çalışmanın her kademesinde büyük desteğini gördüğüm sayın Doç. Dr. Haner Direskeneli'ye ve çalışmanın oftalmolojik değerlendirme kısmındaki değerli katkılarından dolayı sayın Dr. Nesrin Bozkurt, Doç. Dr. Tayfun Bavbek ve Prof. Dr. Haluk Kazokoęlu'na saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

I. KISALTMALAR	1
II. GİRİŞ	2
III. ABSTRACT	3
IV. GENEL BİLGİLER	4
V. MATERYEL ve METHOD	10
VI. SONUÇLAR	12
VII. TARTIŞMA	14
VIII. KAYNAKLAR	17
IX. TABLOLAR	24

KISALTMALAR

BH : Behçet Hastalığı

AU: Anterior (ön) üveit

PU : Posterior (arka) üveit

SK: Sağlıklı kontroller

Ret-S Ag: Retinal-S antijeni

PDS: Retinal-S antijeni peptidi

B27PD: HLA-B51/27 ortak dizi peptidi

GİRİŞ

Behçet hastalığı (BH), tekrarlayan oral ve genital ülserlerin ön planda olduğu, sebebi bilinmeyen sistemik bir vaskülitir. Üveit, %10-20 sıklıkla körlüğe neden olması yüzünden Behçet hastalığının en önemli morbidite sebeplerindendir. BH'nın özellikle genç erkek hastalarda daha ağır seyrettiğini gösteren gözlemler nedeniyle arka üveitlerin tedavisi ayrıca önem kazanmıştır. Üveitin ana formlarının HLA sınıf I grubu antijenlerle ilişkisi bilinmektedir. (Ankilozan spondilit HLA-B27 , BH HLA-B51 ilişkisi gibi) Son yıllarda HLA-B dizisi üzerinde HLA-B27 ve B51'de ortak olan bir dizinin retinal otoantijenlerden olan retinal S antijeniyle çapraz reaksiyon verdiği ve buradan sentezlenen peptidin deney hayvanında üveiti indükleyebildiği gösterilmiştir.

Bu amaçla biz de, BH'da retinal otoantijenlerden retinal S antijenine (Ret-S Ag), retinal-S peptidine (PDS) ve HLA-B51/27 (B27PD) peptidine olan T hücre yanıtını inceledik.

Bu çalışmada, tekrarlayan arka üveiti olan 32 BH'lu hasta, BH dışı sebeplere bağlı ön üveiti olan 14 hasta, BH tanısı alan HLA-B51+ ancak üveiti olmayan 15 hasta ile 23 sağlıklı kişinin periferik kan mononükleer hücrelerinin (PKMH) yukarıdaki antijen ve peptidlere olan yanıtını inceledik.

Arka üveiti olan BH'da ret-S Ag , PDS ve B27PD peptidine yanıtın sağlıklı ve hasta kontrollere oranla anlamlı derecede arttığını saptadık.

Sonuçlarımız, BH bağlı üveit etyopatogenezinde HLA-B51 kaynaklı peptide hücrel immun yanıtın rolü olabileceğini düşündürdü

Anahtar Kelimeler: Behçet hastalığı, HLA-B51 peptidi, hücrel yanı

ABSTRACT

Immune response to retinal autoantigens may play a central role in the pathogenesis of uveitis. A synthetic peptide from a common sequence of various HLA-B molecules associated with uveitis such as HLA-B27 and 51 (B27PD), which shares amino acid homologies with a retinal -S antigen derived peptide (PDS) was shown to be immunogenic in human and experimental uveitis.

In this study, we investigated T cell responses to these 2 synthetic peptides in Behçet's disease patients with posterior uveitis (BD-PU, n=33) and compared with non-Behçet anterior uveitis (AU, n=14), HLA-B51+BP patients without uveitis (BD, n=15) and healthy controls (HC, n=32) in a 6-day proliferation assay.

BD-PU patients had higher responses (stimulation index, SI: 2.8 ± 1.2) than AU (SI: 1.5 ± 0.4) and HC (SI: 1.1 ± 0.6) for BPD ($p < 0.0001$). Responses PDS were also higher in BD patients (SI: 3.3 ± 1.7) than AU (SI: 1.5 ± 0.4) and HC (1.1 ± 0.6) ($p < 0.0001$). A significant correlation between the responses to PDS and B27PD was also observed ($r = 0.6$, $p < 0.001$).

These results suggest that cellular immunity to cross-reactive Rets-S Ag and HLA-B derived peptides might play a role in the pathogenesis of posterior uveitis in BD

Key Words: Behçet's disease, HLA-B51- derived peptide, cellular immunity

GENEL BİLGİLER

Behçet Hastalığı ve İmmün Patogenez

BH, tekrarlayan orogenital ülserlerin ön planda olduğu, cilt, göz, eklem, damar ve santral sinir sistemi tutulumlarının da eşlik ettiği sistemik bir vaskülitir. Hastalığın gelişiminden genetik olduğu kadar infeksiyöz, immunolojik ve hormonal faktörler de sorumlu tutulmaktadır (1).

Etyopatogeneze yönelik yapılan çalışmalarda genel olarak humoral ve hücrel immunitenin normal olduğu gösterilmişse de T lenfositlerinin, nötrofillerin ve bazı sitokinlerin kompleks bir immün mekanizma içinde hastalığa sebep oldukları düşünülmektedir (2-5). BH'da hem periferik kan hem de doku örneklerinde T hücre aktivasyonu gösterilmiştir. T hücre alt gruplarının incelendiği çalışmalarda CD4+ T (yardımcı) hücrelerinde hafif azalma ile beraber CD8+ (supresör/sitostatik) T hücrelerinde artış saptanmıştır.(6-10). Ayrıca, CD8+/CD45RA+ (baskılayıcı-indükleyici) hücrelerinin sayıca azalıp, CD4+/CD29+ (yardımcı-indükleyici) hücrelerin artması gibi fonksiyonel T hücre değişiklikleri de bildirilmiştir (11). Ancak T hücrelerindeki en önemli bulgulardan biri $\gamma\delta$ hücre reseptörü taşıyan hücrelerdeki artıştır (10). Bu hücreler erken aktivasyon göstergesi olan CD29 ve CD69 taşırlar. Bundan başka, BH'dan elde edilen $\gamma\delta$ + T hücre klonlarının artmış oranda Th1 sitokinlerden INF- γ ,TNF- α ve β ve IL-8 ürettikleri gösterilmiştir (12,13). Periferik kanda oligoklonal paternde V β alttipi (T hücre reseptörü) taşıyan T hücrelerinin artmış

bulunması etyolojide antijen sorumlu mekanizmaların rol aldığını düşündürmekle beraber, hastalar arası kişisel farklılıkların çok yoğun olması tek bir antijenin sorumlu olduğunu düşünmeyi imkansız kılmıştır (14).

Nötrofiller , doğal immun yanıtın önemli hücrelerindendir. BH'nun tipik cilt lezyonları sayılan püstüler folikülit, hipopiyon ve paterji reaksiyonunda yoğun nötrofil infiltrasyonun bulunması etyopatogeneizde nötrofillerin de araştırılmasına yol açmıştır. BH'da nötrofillerin kemotaksisi artmıştır (15,16). Bundan başka fagositozun, süperoksit yapımının ve nötrofil-endotel adezyonunun artmış bulunması BH'da nötrofillerin aktif olduğunu düşündürmektedir (17). BH'da nötrofiller, primer olarak defektli olabilirler .HLA-B51 transgenik fare ve HLA-B51 taşıyan hastalarla yapılan çalışmalardaki veriler bu hipotezi desteklemekle beraber aksini düşündürür çalışmalar da vardır (18). Diğer bir hipoteze göre ise BH'nın serumunda yahut lezyonlu bölgede artmış olan pro-inflamatuar sitokimler (IL-1,TNF- α ,IL-6) veya kemokinler (IL-8, GRO- α ,RANTES) gözlenen nötrofil hiperaktivitesinden sorumlu olabilirler.

Hastalığa genetik predispozisyonun sebep olabileceğini düşündürür bulgular vardır. BH prevalansı İpek Yolu kuşağındaki ülkelerde 1:250-1:10000 olarak bildirilmesine karşılık Amerika veya Kuzey Avrupa' da sıklık 0.3-1:100.000' dir. Çeşitli genetik belirleyicilerden bir doku grubu antijeni olan HLA-B51 sıklığının, Japon ve Türk Behçet hastalarında topluma göre artmış sıklıkta olduğu bildirilmiştir . Değişik serilerde bu belirleyicinin varlığının hastalığa yakalanma sıklığını 1.5 ile 16 kat arttırdığı bildirilmiştir (19). Burada kritik olan sorunlardan biri, HLA-B51 varlığının hastalığa yatkınlığı mı yoksa hastalığın şiddetini mi arttırdığıdır. HLA-B51 varlığının BH'nın sadece %50-60'ında olması hastalığa yatkınlığı arttırmadığını düşündürmektedir. BH'da kesin tanımlanmış şiddet skorlaması olmamakla beraber

hastalığın ciddi klinik bulgularından sayılan (morbidite ve mortalite açısından) göz ve damarsal tutulumunun HLA-B51 ile ilişkisi araştırılmıştır. Değişik çalışmalarda BH' da HLA-B51 ile üveitin birlikteliği bildirilmiştir (20,21).İran'da yapılan bir çalışmada, B51 varlığının üveiti olan BH'da körlükle ciddi bir korrelasyonunun olduğu gösterilmiştir. Buna karşılık Gül ve ark. yaptığı çalışmada HLA-B51 varlığının hastalıkla artmış ilişkisi olduğu gösterilmiş ancak hastalık şiddeti yahut spesifik semptomlarla ilişki bulunmamıştır (22).

Behçet Hastalığında Üveit

Üveit BH'nın en ciddi klinik bulgularından olup, bazı toplumlarda edinsel körlük nedenlerinin % 10-15'ini kapsamaktadır. Göz tutulumu BH'nın ilk semptomu olmasa bile birçok hastanın doktora başvurmasını sağlayan semptomdur. Sıklığı ve şiddeti değişken olmakla beraber genellikle akut başlangıçlı ön ve/veya arka segmenti tutan tekrarlayıcı üveit atakları ve retinal vaskülit hastalığın temel klinik bulgularındandır. Tekrarlayan atakların yol açabileceği kümülatif harabiyet ve optik sinir ve retina damarlarının vaskülitik tutulumu kalıcı görme kaybına yol açabilmektedir. Hastaların %6.3-10.3 da üveitin hiçbir klinik bulgusu olmadan da flöresein anjiyografik patoloji bulunması ve vitreus flörofotometre ile yapılan araştırmalarda kan-aköz ve kan-retina bariyerlerinin bozuk olduğu gösterilmiştir(23,24).

Üveitin özellikle arka üveitin etyopatogenezinde aktif T lenfositlerinin rolü olduğuna dair önemli kanıtlar vardır (23). Son dönem arka üveitli hastalarda yapılan immunhistokimyasal incelemelerde aktif enflamasyon sahalarında CD4+ T lenfositlerinin ön planda olduğu gösterilmiştir (23,25). Selektif bir T hücresi inhibitörü olan siklosporin A'nın hastalığın gidişini duraklatması da aktive CD4+ T lenfositlerinin üveit oluşmasında önemli rol oynadığı fikrini güçlendirmektedir.

1970'li yıllarda gözün fotoreseptör katında retinal S antijen diye adlandırılan 50-55 kDa'luk proteinin izolasyonu ile üveit patogenezi için hipotezler yeniden değerlendirilmiştir. Bu protein başlıca "immün korunmuş bölge" (immune-privileged) kabul edilen retinada bulunur ve buna karşı immün yanıtın üveit gibi doku yıkımı sonrası geliştiği gösterilmiştir. Ayrıca, bu proteinin hayvanlarda üveit oluşturduğu gösterilmiştir (25,26,27). Bu model dışında 65kDa'luk ısı-şoku proteinleriyle ve interfotoreseptör bağlayıcı proteinle de üveit oluşturulduğuna dair çalışmalar mevcuttur. De Smet ve ark. retinal antijenler ve peptidlerine karşı hücre immün yanıtın en çok Behçet ve birdshot retinopatisinde görüldüğünü bildirmişlerdir (25). İmmün yanıt hücresel düzeyde tek bir T hücre soyunun yanıtı tarzında başlamaktadır. Bu nedenle retinal antijenlere spesifik, T hücre soylarının izolasyonu ve karakterizasyonu, bu antijenlere gelişen otoimmün mekanizmaların aydınlatılmasında yararlı bilgiler sağlayabilir. Bu şekilde yapılan bir çalışmada, bir Behçet hastasında S-Ag'ne özgü T hücre soyları elde edilerek hem antijenin kendine hem de üveitogenik olduğu bilinen peptidlerine olan yanıt incelenmiştir (27). S-Ag spesifik soyların hem $\alpha\beta$, hem de $\gamma\delta$ T hücre reseptörünü taşıdıkları, antijenle etkin şekilde çoğalmalarına rağmen M ve G peptidine karşı yanıtlarının zayıf olduğu gösterilmiştir (27).

Araştırılan diğer bir soru da HLA ilişkisidir. Genel anlamda HLA-sınıf I antijenler özellikle hücre içi (endojen) kaynaklı peptidleri CD8+T hücrelerine sunar. Ancak henüz bu nitelikte üveitogenik bir peptide karşı gelişen CD8+ T hücre soyu gösterilememiştir. Bu nedenle HLA'nın buradaki rolü antijen sunumunda yer almaktan çok kendisinin antijen olarak sunulması olabilir. Son yıllarda HLA sınıf II üzerinde, önemli miktarda HLA-sınıf I kaynaklı küçük peptidlerin bulunması, sınıf I antijenlerinde HLA-sınıf II ile sunulabildiğini düşündürmüştür (28). Nitekim çeşitli çalışmalarda enflamasyon

nedeniyle ters yahut fazla eksprese edilen HLA sınıf I kökenli peptidelerin, endoplazmik retikulumda indirgindikten sonra HLA sınıf II moleküllerince sunulabildiği gösterilmiştir (28,29).

Wildner ve ark.retinal S antijenin bir peptidi (aa.342-355) ile aminoasit homolojisi içeren HLA-B molekülü dizisinden derive bir peptid (aa.125-138) tanımlamışlardır. Bu HLA-B derivesi peptidin hayvanlarda üveit oluşturduğu gösterilmiştir (29). Ayrıca retinal S Ag ve S-Ag peptide T hücre çoğalması gösteren üveit hastalarının bu HLA-B kaynaklı peptide de T hücre yanıtı gösterdiği bildirilmiştir (29,30). Buradan yola çıkılarak HLA-B üzerindeki bir bölgeye karşı CD4+ T hücrelerince otoimmün bir yanıt gelişimi olabileceği düşünülebilir. Kendi MHC-peptidine karşı gelişen bu T lenfositleri timik seleksiyondan kaçarak periferde sessiz kalabilirler. Bir kostimulatör uyarı varlığında aktif hale geçen T lenfositleri, immun korunmuş bölgelerden olan kan-retina bariyerini aşarak otoimmunitiyi başlatabilir.

Bu literatür ışığında, ilk kez üveitli Behçet hastalarında HLA-B51/27 (aa.125-38) ve retinal-S kökenli peptide (aa.342-55) karşı gelişen T hücre yanıtına bakarak, HLA sınıf I antijenlerle, organ spesifik antijenler arasındaki ilişkinin varlığını araştırdık.

MATERYAL ve METOD

Hasta ve Kontroller

Çalışmamızda Marmara ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göz ve Romatoloji Klinikleri tarafından izlenen 33 arka üveitli Behçet hastasının (PU-BH) periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH) çalışıldı. Tüm hastalar uluslararası çalışma grubu kriterlerini doldumaktaydı (31). Hastaların 23'ü erkek, 10'u kadındı (ortalama yaş: 26 ± 7 ve ortalama hastalık süresi 39 ± 51 ay). Hastaların 15'i siklosporin ve azothioprine kombine, 7'si yalnız azothioprine, 4'ü yalnız siklosporin, 4'ü siklofosfamid ve 3'ü oral steroid almaktaydı. Tüm hastalar çalışma sırasında üveit atağı geçirmekteydiler. Kontrol grubu olarak Behçet dışı üveiti olan 14 ön üveitli hasta (AU) (Kadın:erkek 10:4 ve ortalama yaş: 30 ± 9), HLA-B51+ hiç göz bulgusu olmayan 15 Behçet hastası (BH; Kadın:erkek 9:6 ortalama yaş: 35 ± 3) ve 32 sağlıklı bireyin (SK; kadın:erkek 8:24, ortalama yaş: 30 ± 8) PKMH çalışıldı. HLA-B51+ BD hastaları üveit konusunda deneyimli göz uzmanlarınca hiç üveit atağı geçirmemiş olarak değerlendirilen hastalardı. Sağlıklı kontroller, ailesinde Behçet hastalığı öyküsü olmayan, üveit geçirmemiş hastane personelinden gönüllü olanlar arasından seçildi.

Antijenler

Sığır gözünden elde edilen retinal soluble antijen (Ret-S Ag), Ret-S peptidi (PDS) ve HLA-B51/27(B27PD) kökenli peptid Münih Göz Hastanesinden, Dr.Thurau ve Dr. Wildner tarafından sağlandı.

Lenfosit Çođalma Deneyleri

Heparinize kandan, lenfositler Ficoll gradyenti ile ayrılıp RPMI 1640 medyum varlığında 20µg/ml Ret-S Ag, PDS ve B27PD ile inkübe edildi. B27PD ile aynı diziyi 1aa. farkı ile taşıyan B7PD, negatif kontrol peptidi olarak kullanıldı. Altı günlük inkübasyon sonrası son 16 saat H³ – timidinile inkübasyon yapıldı. Kültürler daha sonra hücre toplayıcı ile yıkandı ve beta-sayacında sıvı sintilasyonu ile ölçümleri değerlendirildi.

Sonuçlar uyarı indeksi (SI : antijenli kuyularda cpm/ antijensiz kuyularda cpm) olarak verildi.

Ayrıca üveiti olan 9 behçet hastası ile 5 sağlıklı bireyin çoğalma deneyinin 48. ve 96. saatlerindeki kültür üst sıvıları toplanarak burada IL-2, TNF-α düzeyleri ELISA ile tesbit edildi.

İstatistik Deđerlendirme

Gruplar arası değerlendirme non-parametrik olarak Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

Sonuçlar arası ilişki Spearman korelasyon testi ile değerlendirildi. Deđerlendirmeler SPSS 5.0 ile yapıldı. P<0.05 anlamlılık sınırı olarak kullanıldı.

SONUÇLAR

Otuzüç arka üveiti olan Behçet hastasının, 8'l kadın ve 25'l erkek hastalardı.

Ortalama yaş: 26 ± 7 ve ortalama hastalık süresi 39 ± 51 aydı.

Ön üveiti bulunan hastaların 12 tanesi HLA-B27+ ankilozan spondilit tanısıyla diğer 2 hasta ise idyopatik üveit olarak izlenmekteydi.

HLA-B51+ BH grubundaki hastaların 6'sı erkek, 9'u kadındı. Hastaların hiçbirinde ne öyküde ne de oftalmolojik muayenede üveit veya üveit sekeli yoktu.

Peptidlere karşı T hücre yanıtı

Ret-S Ag'ye yanıt PU-BH grubunda 3.1 ± 1.7 bulundu. Bu yanıt AU (1.1 ± 0.4), BH (1.1 ± 0.5) ve SK (1.4 ± 0.7) 'e göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.0001$).

PDS'e olan yanıt PU-BH grubunda 3.3 ± 1.6 , AU grubunda 1.5 ± 0.4 , BH grubunda 1.2 ± 0.3 ve SK' da 1.1 ± 0.6 bulundu ($p < 0.00001$).

B27PD peptidine olan yanıtta benzeri şekilde PU-BH grubunda (2.8 ± 1.3), AU (1.5 ± 0.5), BH (1.1 ± 0.4) ve SK (1.1 ± 0.6)'e göre istatistiksel anlamlılıkta ($p < 0.0001$) bulundu. B7PD' ye grupların hiçbirinde anlamlı yanıt gösterilemedi.

B27PD ve PDS' e olan yanıtın ($r=0.6$, $p < 0.001$) anlamlı korelesyon gösterdiği gözlemlendi. Sonuçlar ile yaş, cins ve hastalık süresi arasında anlamlı ilişki bulunmadı .

Peptidlerle uyarı sonrası kültür süpernatantlarında IL-2 ve TNF- α düzeyi

B51PD ile uyarı sonrası toplanan kültür üst sıvılarında 9 BD-PU grubundan hastanın 6' sında TNF- α seviyeleri artmış bulundu. 2 hastada ise PDS veya Ret-S ile uyarı sonrası TNF- α sekresyonu gözlemlendi. TNF- α için uyarı öncesi yüksek düzey yalnız bir hastada gözlemlendi.

İlginç olarak BD-PU grubundaki hastaların 5'inde uyarı öncesi IL-2 seviyesi yüksek bulundu. Bu hastaların uyarı sonrası IL-2 düzeyinde daha fazla artma olmadı (Tablo 2).

TARTIŞMA

Bu çalışmada Behçet hastalarında, üveit etyopatogenezinde rolü olabileceği düşünülen ve bir retinal antijenle aminoasit homolojisi gösteren HLA –B51/27PD (B27PD)'ne karşı T hücre yanıtını inceledik. PU-BD hastalarının hepsi, bir selektif T lenfosit inhibitörü olan siklosporin de dahil çeşitli immunsüpresif ilaç tedavisi altında olmalarına karşılık, sonuçlarımız bu hastaların Ret-S Ag, PDS ve B27PD peptidlerine artmış T hücre yanıtı olduğunu gösterdi. Bu yanıt, hasta kontrol olarak kullandığımız BH dışı ön üveitli bulunan hastalardan ve sağlıklı kontrollerden elde edilen T hücre yanıtından istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahipti.

Bundan önce çeşitli çalışmalarda, HLA-B27+ ön üveitli hastalarda Ret-S Ag' ye karşı artmış hücresel immun yanıtın varlığı gösterilmiştir (25,26,27). Bizim çalışmamızda ise ön üveitli hastalarda, peptidlere karşı hafif bir yanıt gözlemleniyse de bu, BH'na bağlı arka üveiti olan hastalarda gözlenen düzeylere ulaşmadı. Bu bulgu şaşırtıcı olmakla beraber BH' da arka üveit varlığında oluşan ciddi retinal damar hasarlanmasının ki - retinal otoantijen spesifik T hücrelerinin uyarılmalarını artırır- ön üveitte bulunmamasıyla açıklanabilir. Üveitsiz Behçet grubundaki hastaların bu peptidlere olan yanıtı da , ciddi uvea hasarının ve PDS-Ag'le uyarılan T hücrelerinin varlığının anti-B27PD cevabı için gerekli olduğunu desteklemektedir.

Üveit ile HLA-sınıf I antijenler arası ilişkinin ne şekilde olduğu henüz kesin değildir. Ancak enflamasyon bölgesindeki hücrelerin CD8+T lenfositleri yerine ağırlıklı olarak CD4+T lenfositlerinden oluşması HLA-sınıf I antijenlerinin buradaki rolünün antijen sunumundan daha farklı olabileceğini düşündürmektedir. Bu birkaç şekilde olabilir. HLA antijenlerinin timik seçimdeki görevleri kendisine yüksek affinite ve avidite ile

bağlanan peptidleri negatif seçime uğratarak organizmayı korumaktır. B27PD'nin doğal yolla işlenen ve HLA sınıf II tarafından sunulan bir bölgesinin olduğu bilinmektedir (28). HLA-B ile ortak dizi taşıyan B27/51PD peptidi timik seçim sırasında self gibi algılanarak bu negatif seçimden korunmuş olabilir. Böylece periferde sessiz durumda iken başka bir etken varlığında otoreaktif hale geçip inflamasyonu başlatabilirler(28-30). Moleküler taklit (molecular mimicry) diye adlandırılan bu mekanizma yakın zamanda ankilozan spondilit (32) ve multiple skleroz (30) gibi hastalıklarda da tanımlanmıştır.

Çalışmamızda ilginç diğer bir gözlem de sitokin düzeyleri çerçevesinde oldu. IL-2 hastaların bir kısmında uyarı öncesi de yüksekti. Bu hastaların uyarı sonrası IL-2 düzeyleri daha yükselmedi. Sugi-Ikai ve ark. tarafından aktif Behçet hastalarında IL-2 ve INF- γ salgılayan T hücrelerinin arttığı bildirilmiştir (33). Aktif dönemdeki hastalarda IL-2 nin basal olarak yüksek bulunup, uyarı sonrası bunun daha fazla artmaması aktif durumda bulunan T hücrelerinin daha fazla uyarılamaması ile açıklanabilir (34,35).

TNF- α ise 9 hastanın 6'sında B51PD ile uyarı sonrası yüksek bulundu. Uyarı öncesi sadece bir hastada hafif yüksekti. TNF- α bir proinflamatuvar sitokindir ve T lenfositleri dışında makrofajlar ve doğal katil hücreler (NK, natural killer cells) tarafından salınır. TNF- α 'nın birçok otoimmün hastalıkta (romatoid artrit, multiple skleroz, deneysel ve muhtemelen insan otoimmün üveiti gibi) anahtar rolü olduğu düşünülmektedir (36) ve tedavide önemli bir hedef olmaya adaydır. TNF- α 'nın MHC sınıf I ve II moleküllerinin ekspresyonunu arttırdığı ve IL-2R arttırdığı bilinmektedir. Ayrıca Behçet hastalarında spontan olarak fazla salındığı ve hastalığın aktif olduğu dönemlerde bu salınımın arttığı gösterilmiştir (37-41). Son zamanlarda çeşitli çalışmalar, bazı sitokinlerin etkisiyle veya başka bir nedenle fazla eksprese edilen ve endoplasmik retikulum

yahut sitoplazmada degradasyona uğrayan HLA-sınıf I antijenlerinin HLA-sınıf II'lerce otoreaktif CD4+T lenfositlerine sunulabileceğini göstermiştir (29,30,42).

Bu bağlamda sonuçlarımızı değerlendirdiğimizde, herhangi bir sebeple hasarlanmış gözde, artmış Th1-tipi sitokinlerin ve TNF- α 'nın MHC antijenlerinin salınımının artmasına ve bu yolla üveite neden olan B27PD spesifik T hücrelerinin aktivasyonuna yol açtığı söylenebilir. Bununla, HLA-B51+ ancak üveiti olmayan hastalarda niçin B27PD' ye yanıt görülmediği açıklanabilir. Bu peptid aynı zamanda, üveit patogenezinde önemli rol oynayan TNF- α 'nın sekresyonunu arttırarak olayın devamlılığını sağlıyor olabilir.

Sonuç olarak, bulgularımız bize BH üveitinde HLA-B51/27 (B27PD) ile retinal -S Ag kaynaklı peptidlerin patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürdü. Yanıt veren hücre karakterinin bilinmesi (Th₁ veya Th₂) ve fonksiyonel özelliklerinin tanımlanması Behçet hastalığının etyopatogenezinde önemli yararlar sağlayacağı gibi daha az toksik olduğu düşünülen ve yapılan ön çalışmalarada başarılı gibi gözükten otoantijenlerle immün tolerans oluşturma (43-46) gibi yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine de katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- 1- Yazıcı H, Yurdakul S, Hamuryudan V. Behçet's Syndrome. In: Klippel JH, Dieppe PA, eds. Rheumatology, London: Mosby, , 7: 26: 1998
- 2- Ergun T, Gürbüz O, Harvell J, et al. The histopathology of Pathergy: A chronological study of skin hyperreactivity in Behçet's disease, Int J Dermatology 1998 (in press).
- 3- Gül A, Esin S, Dilten N, et al. Immunohistology of skin pathergy reaction in Behçet's disease, British J Dermatology 132: 901-7: 1995
- 4- Poulter LW, Lehner T. Immunohistology of oral lesions from patients with reccurent oral ulcers and Behçet 's syndrome. Clin Exp Immunol ;78:189-95: 1989
- 5- Charteris DG, Barton K, Mc Cartney ACE et al. CD4+ lymphocyte involvement in ocular Behçet's disease. Autoimmunity;12:201-16: 1992
- 6- LİM SD, Haw CR, Kim NI et al. Abnormalities of T cell subsets in Behçet's syndrome. Arch dermatol 1983;119:307-10
- 7- Kahan A, Hamzaoui K, Ayed K et al. Abnormalities of T cell subsets in Behçet's disease demonstrated with anti-CD45RA and anti-CD29 monoclonal antibodies. J Rheumatol 1992;19:742-6
- 8- Esin S, Gül A, Hodara V, et al. Peripheral blood T cell expansions in patients with Behçet's disease. Clin Exp Immunol;107: 520-27: 1997

- 9- Kansu E, Unal S, Karacadağ S, et al. T-lymphocyte subsets in Behçet's disease. Royal Society of Medicine conference on Behçet's disease, London, 13:1985
- 10- Fortune F, Walker J, Lehner T. The expression of $\gamma\delta$ T cell receptor and the prevalence of primed, activated and IgA-bound T cells in Behçet's syndrome. Clin Exp Immunol; 82: 326-32: 1990
- 11- Kahan A, Hamzaoui K, Aayed K. Abnormalities of T lymphocyte subsets in Behçet's disease demonstrated with anti-CD45RA and anti-CD29 monoclonal antibodies. J Rheumatol; 19: 742-46; 1992
- 12- Fuji N, Minagawa T, Nakane A. Spontaneous production of gamma interferon in culture of T lymphocytes obtained from patients with BD. J Immunol;1983: 1301683-6
- 13- Mochizuki M, Suzuki N, Takeno M et al. Fine antigen specificity of $\gamma\delta$ T cell lines established by repetitive stimulation with a serotype of a gram positive bacterium, Streptococcus Sanguis. Eur J Immunol;24:1536-43:1994
- 14- Direskeneli H, Ekşioğlu-Demiralp E, Kibaroğlu A, Yavuz S et al. Oligoclonal T cell expansions in patients with Behçet's disease. Clin Exp Immunol;117:166-70: 1999
- 15- Sobel JD, Haim S, Obedeian VM et al. Polymorphonuclear leukocyte function in Behçet's disease. J Clin Pathol ;30:250-3:1977
- 16- Jorizzo JL, Hudson RD, Schmalsteig FC et al. Behçet's syndrome:immune regulation,circulating immune complexes, neutrophil migration and colchicine therapy. Am Acad Dermatol. 10:254:14:1984

- 17- Pahin P, Akoğlu T, Direskeneli H et al. Neutrophil adhesion to endothelial cells and factors affecting adhesion in patients with Behçet's disease. *Ann Rheum Dis.* 55:128-133:1996
- 18- Ekpiođlu-Demiralp E, Direskeneli H, Kibarodlu A, Yavuz S et al. Neutrophil activation in Behçet's Disease. *Clin Exp Rheumatol.* (in press)
- 19- Verity DH, Marr JE, Ohno S et al. Behçet's disease, silk road and HLA-B51:historical and geographical perspectives. *Tissue Antigens* 54:213-220;1999
- 20- Sakamoto M, Akazawa K, Nishioka Y et al. Prognostic factors of vision in patients with Behçet's disease. *Ophthalmology*;102:317-21: 1995
- 21- Soylu M, Ersöz TR, Erken E. The association between HLA-B5 and ocular involvement in Behçet's disease in southern Turkey. *Acta Ophthalmol*;70:786-9: 1992
- 22- Gül A, Uyar FA, Inanc M et al. HLA-B51 heterozygosity and homozygosity has no prominent effect on the severity of Behçet's disease (abst).9th International Conference on Behçet's Disease. *Yonsei Med J*;41:supp:L20,P13.2000
- 23- Forrester JV. Uveitis :pathogenesis. *Lancet*;338:1498-1501): 1991
- 24- Atmaca LS.Fundus changes associated with Behçet's disease. *Arch Clin Exp Ophtalmol*.227;340-44:1989
- 25- De Smet MD, Yamamoto JH, Mochizuki M, et al. Cellular immune responses of patients with uveitis to retinal antigens and their fragments. *Am J Ophthalmol*; 110: 135-42: 1990

- 26- Yamamoto JH, Minami M, Inaba G et al. Cellular autoimmunity to retinal specific antigens in patients with Behçet's disease. *Br J Ophthalmol.*; 77:584-9: 1993
- 27- Yamamoto JH, Fujino Y, Lin C et al. S-antigen specific T cell clones from a patient with Behçet's disease. *Br J Ophthalmol*;78:927-32: 1994
- 28- Chicz RM, Urban RG, Gorga JC et al. Specificity and promiscuity among naturally processed peptides bound to HLA-DR alleles. *J Exp Med*;178:27-47 : 1993
- 29- Wildner G, Thureau SR. Cross-reactivity between an HLA-B27-derived peptide and a retinal autoantigen peptide: a clue to major histocompatibility complex association with auto-immune disease. *Eur J Immunol*; 24: 2579-2585: 1994
- 30- Baum H, Davies H and Peakman M. Molecular mimicry in the MHC: hidden clues to autoimmunity?. *Immunol Today*;17:64-70: 1996
- 31- International Study Group for Behçet's Disease: Criteria for diagnosis of Behçet's disease. *Lancet* 335:1078-80;1990
- 32- Marker-Hermann E, Meyer zum Buschenfelde KH, Wildner G. HLA B-27-derived peptides as autoantigens for T lymphocytes in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*; 11: 2047-5: 1997
- 33- Sugi-Ikai N, Nakazawa M, Nakamura S et al. Increased frequencies of interleukin-2 and interferon γ producing T cells in patients with active Behçet's disease. *Invest Ophthal*;39:996-1004: 1998
- 34- Feron EJ, Calder VL, Lightman SL. Distribution of IL-2R and CD45RO expression on CD4+ and CD8+ T lymphocytes in the peripheral blood of patients with posterior uveitis. *Cur Eye Resarc*;11:167-72: 1992

- 35- BenEzra D, Maftzir G, Kalichman I et al. Serum levels of IL-2R in ocular Behçet's disease. Am J Ophthal;115:26-30: 1993
- 36- Nakamura S, Yamakawa T, Sugita M et al. The role of tumor necrosis factor-alpha in the induction of experimental autoimmune uveoretinitis in mice. Invest Ophthal; 35:3884-9: 1994
- 37- Verity DH, Holland-Gladwish J, Kanawati C, Ayeshe I, Adas F, Zakari H, Stanford M, Wallace G. TNF production by peripheral blood monocytes in arabic patients with Behçet's disease from Israel and Jordan. Rev Rheum; 7-8; 529, A03: 1996
- 38- Akoğlu TF, Direskeneli H, Yazıcı H, et al. TNF- α , soluble-IL-2 and soluble CD-8 in Behçet's Disease, J Rheumatol,; 17, 1107-8: 1990
- 39- Mege JL, Dilsen N, Sanguedolce V, et al. Overproduction of monocyte derived TNF-a, IL-6, IL-8 and increased neutrophil superoxide generation in Behçet's Disease. A comparative study with familial Mediterranean fever and healthy subjects. J Rheumatol; 20: 1544-49: 1993
- 40- Mizuki N, Inoko H, Sugimura K, et al. RFLP analysis in the TNF-b gene and the susceptibility to alloreactive NK cells in Behçet's Disease. Invest Ophthalmol Vis Sci; 33: 3084-90: 1992
- 41- Sartani G, Silver PB, Rizzo LV et al. Anti-tumor necrosis factor alpha therapy suppresses the induction of experimental autoimmune uveoretinitis in mice by inhibiting antigen priming. Invest Ophthal;37:2211-8: 1996
- 42- Wells AD, Rai SK, Salvato MS, Band H, Malkovsky. Restoration of MHC class I surface expression and endogenous antigen presentation by a molecular chaperone. Scan J Immunol; 45: 605-12: 1997

- 43- Thureau SR, Diedrichs-Möhring M, Fricke H, Arbogast S, Wildner G. Molecular mimicry as a therapeutic approach for an autoimmune disease: oral treatment of uveitis patients with an MHC-peptide crossreactive with autoantigen –first results. *Immunology Letters*; 57: 193-201: 1997
- 44- Thureau SR, Chan CC, Suh E et al. *J Autoimmun*; 507-16: 1991
- 45- Nussenblatt RB, Gerry I, Weiner H et al. Treatment of uveitis by oral administration of retinal antigens: results of a phase I/II randomized masked trial. *American J Ophthalmol*;123:583-92: 1997
- 46- Wildner G, Hünig T, Thureau SR. Orally induced, peptide - specific $\gamma\delta$ TCR+ cells suppress experimental autoimmune uveitis. *Eur J Immunol*;26:2140-8: 1996

TABLO 1. Retinal-S ANTİJENİ İLE AMİNOASİT HOMOLOJİSİ İÇEREN HLA-B51

PEPTİDİ VE HAYVANDA ÜVEİT OLUŞTURMA İNSİDENSLERİ

Source of peptides	Designation	Aminoacid sequence	Incidence of uveitis in rats
S-Ag aa 342-355	PDSAg	FLGE LT SS EV ATEV	22/24 = 92%
HLA-B51 aa 125-138	B51/27 (BPD)	ALNE DLS SWTA ADT	27/33 = 82%
HLA-B7 aa 125-138	B7PD	ALNE DLR SWTA ADT	0/14 =0%

TABLO 2. PEPTİDLERLE UYARI ÖNCESİ VE SONRASI SİTOKİN SALINIMI

	-IL 2-				- TNFα-			
	Unst.	Ret-S	PDS	B27PD	Unst.	Ret-S	PDS	B27PD
Üveit	*	*	*	37	51	15	*	48
Üveit	*	*	*	116	15	36	*	21
Üveit	*	37	154	89	*	*	558	181
Üveit	186	197	318	37	*	*	302	205
Üveit	173	154	*	*	*	*	*	16
Üveit	*	*	*	67	*	*	*	*
Üveit	167	279	75	296	*	17	179	307
Üveit	746	64	29	24	*	*	*	*
Üveit	38	*	*	*	*	43	*	*
SK	*	*	26	*	*	85	43	25
SK	*	69	46	*	*	*	*	*
SK	*	*	*	116	*	*	*	*
SK	17	*	*	*	*	*	*	*
SK	*	*	*	*	*	*	*	*

*<15pg/ml