



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BEHÇET HASTALIĞINA BAĞLI ÜVEİTİ OLAN
HASTALARDA İNTERFERON ALFA-2A TEDAVİSİNİN
T REGÜLATUAR HÜCRELER ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Aylin KOÇ

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2009



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BEHÇET HASTALIĞINA BAĞLI ÜVEİTİ OLAN
HASTALARDA İNTERFERON ALFA-2A TEDAVİSİNİN
T REGÜLATUAR HÜCRELER ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Aylin KOÇ

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Haluk KAZOKOĞLU

İSTANBUL-2009

Tezimin planlanma, yürütülme ve yazılma aşamalarında benden yardım ve desteğini esirgemeyen; bilgisi, deneyimleri ve kişiliği ile her zaman örnek aldığım Sayın Doğ Dr. Sumru nal'a; eğitimim süresince olduğu gibi tez aşamamda da önemli katkıları bulunan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Haluk Kazokoğlu'na ve tezimde desteği bulunan Prof Dr. Tayfun Bavbek, Prof. Dr. şule Yavuz, Prof. Dr. Haner Direskeneli ve Prof. Dr.Emel Ekşialp'e; ekip arkadaşım Aysin Tulunay'a sonsuz teşekkürü borę bilirim.

İÇİNDEKİLER

Önsöz	
Kısaltmalar.....	3
Özet.....	6
İngilizce Özet.....	8
I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	10
II. GENEL BİLGİLER	
2.1 Behçet Hastalığı.....	13
2.1.1 Etyopatogenez.....	13
2.1.2 Hüresel ve Humoral İmmünite.....	14
2.1.2.1 Behçet Hastalığı ve T Regülatuar Hücreler.....	15
2.1.2.2 Behçet Hastalığı ve Sitokinler.....	21
2.2 Klinik Bulgular	30
2.3 Behçet Hastalığına Bağlı Üveitin Tedavisi.....	33
III. GEREÇ VE YÖNTEMLER	
3.1 Hasta Seçimi.....	42
3.2 Verilerin Toplanması.....	42
3.3 Kan Örneklerinin Toplanması.....	46
3.3.1 Tedavi Öncesi Kan Örneklerinin Toplanması.....	46
3.3.2 Tedavi Altında Üveit İnaktif İken Kan Örneklerinin Toplanması.....	46
3.3.3 Kan Örneklerinin Değerlendirilmesi.....	47
3.4 İstatistiksel Değerlendirme.....	53
IV. BULGULAR.....	54
V. TARTIŞMA.....	63
VI. SONUÇLAR.....	68
VII. KAYNAKLAR.....	69
VIII. EKLER.....	83

KISALTMALAR

ADA: Adenozindeaminaz

AECA: Antiendotel hücre antikoru

ALPS: Otoimmün lenfoproliferatif sendrom, 'Autoimmune lymphoproliferative syndrome'

ANCA: Antinötrofil sitoplazmik antikor

ASH: Antijen sunan hücre

AOPP: İleri oksidasyon protein ürünü

BH: Behçet hastalığı

BSA: Bovine serum albumin

C: Kompleman

CD: Demet diferansiasyon numarası

CTLA-4: Sitotoksik T lenfosit antijen-4

DC2 (pDC): Plazmasitoid dendritik hücre

ET-1: Endotelin-1

FSC: Önden saçılım, 'Forward Scatter'

Foxp3: forkhead/winged-heliks protein

H²O²: Hidrojen peroksit

γδT: Gama-delta-pozitif T

GITR: Tümör nekroz faktör reseptör ailesi ilişkili protein

GM-CSF: Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör, 'Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor'

GVDH: Graft versus host disease

HLA: Human lökosit antijeni

HSV-I: Herpes simpleks virüsü tip I

ICAM-1: Adezyon molekülü-1

IFNα-2a: İnterferon alfa-2a

IFN-γ: İnterferon gamma

IgA: İmmünglobülin-A

IgG: İmmünglobulin-G

IL: İnterlökin

IL-2R α : İnterlökin-2 reseptör alfa zinciri
IŞP: Isı şok proteinleri
KS: Kortikosteroid
LAG-3: Lenfosit aktivasyon geni-3
LPS: Lipopolisakarit
MFI: Ortalama floresin yoğunluğu, 'mean fluorescence index'
MHC: Major-Histocompatibility-Complex
MICA: MHC sınıf I bağlantılı gen
MPO: Miyeloperoksidaz
MS: Mültipl skleroz
NK hücre: Doğal öldürücü hücre, 'Natural Killer'
NKT: Doğal öldürücü T, 'Naturel Killer T'
O 2^- : Süperoksit anyonu
PKMH: Periferik kan mononükleer hücre, 'Periferal Blood Mononuclear Cell'
PBS: Fosfat tampon çözeltisi, 'Phosphate Buffered Saline'
PHA: Fitohemaglütinin, 'Phytohemagglutinin'
PNL: Polimorfonükleer lökosit
PÖS: Periferik ön sineşi
RA: Romatoid Artrit
RBC: Kırmızı kan hücresi, 'Red Blood Cell'
SLE: Sistemik Lupus Eritematosus
SSC: Yandan saçılım, 'Side Scatter'
TCR: T hücre reseptörü, 'T Cell Receptor'
TGF- β : Dönüştürücü büyüme faktörü- β , 'Transforming growth factor- β '
TNF- α : Tümör nekroz faktörü- α
Th1: T yardımcı 1, 'T hepler 1'
Th2: T yardımcı 2, 'T hepler 2'
Th3: T yardımcı 3, 'T helper 3'
Th17: T yardımcı 17, 'T helper 17'
Treg: T regülatuar (düzenleyici) hücre
Ts: T baskılayıcı hücre
TNFR: Tümör nekrozis faktör reseptör

TAT: Trombin-antitrombin III kompleksi

VCAM-1: Vasküler hücre adezyon molekülü-1

VEGF: Vasküler endoteliyal büyüme faktörü

vWF: von Willebrand faktör

ÖZET

Amaç: Bu çalışma Behçet hastalığına (BH) bağlı aktif panüveiti olan hastalarda interferon alfa-2a (IFN α -2a) tedavisinin CD4+CD25+ Tregülatuar (Treg) hücreleri üzerine fenotipik ve fonksiyonel etkisini incelemek amacı ile gerçekleştirildi.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, üvea biriminde takipli ve BH'na bağlı aktif panüveit nedeni ile azatioprin veya IFN α -2a tedavisi başlanan hastalar ile kontrol grubu olarak Behçet dışı panüveiti olan hastalar ile sağlıklı bireyleri içeren hasta grupları oluşturuldu. Sağlıklı kontrol, Behçet dışı panüveit ve BH'na bağlı panüveit saptanan ve azatioprin veya IFN α -2a tedavisi başlanan hastalardan tedavi öncesi üveit aktif iken kan örnekleri toplandı. BH'a bağlı panüveit saptanan ve azatioprin veya IFN α -2a tedavisi başlanan hastalardan ikinci kan örnekleri tedavi altında üveit inaktif iken alındı. Tüm gruplarda CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg lenfosit oranı ve CD4+CD25+ Treg hücrelerinin salgıladıkları "IL-4, IL-10, IL-17, IL-18, TNF- α ve INF- γ " sitokin seviyeleri süpernatanda incelendi.

Bulgular: Sağlıklı kontrol (n=5) , BH dışı panüveit (n=5) ile BH'na bağlı panüveiti olan ve azatioprin tedavisi (n=6) öncesi CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonlarının süpernatantları karşılaştırıldığında CD4+CD25+ Treg hücrelerinin transkripsiyon faktörü olan Foxp3'ün sağlıklı kontrollere göre BH'na bağlı panüveit grubunda miktarca farklı saptanmamıştır. BH'na bağlı panüveit hastalarında IFN α -2a tedavisi sonrası CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg hücrelerinde IFN α -2a tedavisi öncesine göre anlamlı olarak düşüş saptandı (p=0,04). Yine BH'na bağlı panüveiti olan hastalarda IFN α -2a tedavi sonrasında IL-18 sitokin seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı azalma izlendi (p=0,04). Ek olarak BH'na bağlı panüveiti olan hastalarda IFN α -2a tedavisi sonrasında istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmasa da IL-4 ve IL-10 seviyesinin arttığı gözlemlendi. Azatioprin tedavisi öncesi ve sonrası CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg lenfosit yüzdesi ve CD4+CD25+ Treg hücrelerinin salgıladıkları "IL-4, IL-10, IL-17, IL-18, TNF- α ve INF- γ " sitokin seviyelerinde anlamlı fark saptanmadı.

Sonuç: CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg hücre popülasyonu, sağlıklı kontrol grubuna göre BH'na bağlı panüveiti olan hastalarda aktif dönemde miktarca farklı saptanmamış ve IFN α -2a tedavisi ile fonksiyonel olarak defektif olduğunu düşündüğümüz bu hücre

popülasyonunda azalma veya fonksiyonunda düzelme gözlenmiştir. Yine IFN α -2a tedavisi sonrası meydana gelen bu azalma Th1/Th2 dengesinde IL-4 ve IL-10'un artışı ve IL-18'in azalması ile gösterilen Th1 yolağı lehine değişime yol açmıştır.

SUMMARY

Objective: This study was designed to evaluate the phenotypical and functional impact of interferon alpha-2a (IFN α -2a) treatment on peripheral blood CD4+CD25+ T regulatory (Treg) cells in patients with active panuveitis secondary to Behçet's disease (BD).

Materials and Method: In the study, the patients, receiving azathioprine or IFN α -2a, due to panuveitis, secondary to BD, monitored in uvea service and control groups, consisting of patients with non-Behçet panuveitis and healthy individuals, have been formed. Blood samples were collected from healthy control, non-Behçet panuveitis and BD related panuveitis patients, who are on azathioprine or IFN α -2a, before the treatment when the uveitis was active. The second blood samples from patients with BD-related panuveitis, who are on azathioprine or IFN α -2a treatment, have been obtained during the treatment when the uveitis was inactive. In all groups, CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg lymphocyte values and "IL-4, IL-10, IL-17, IL-18, TNF- α and INF- γ " cytokine levels, produced by CD4+CD25+ Treg cells, have been assessed in the supernatant.

Findings: When the supernatants of healthy control (n=5), non-BD panuveitis (n=5) patients and patients with BD-related panuveitis, who receive azathioprine (n=6) are compared, no difference has been seen in the quantity of Foxp3, which is the transcription factor of CD4+CD25+ Treg cells. In BD-related panuveitis patients, a meaningful decrease has been seen in the CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg cells, following IFN α -2a treatment, compared to the pre-treatment levels (p=0.04). Also in BD-related panuveitis patients, a statistically significant decrease has been seen in IL-18 cytokine levels following IFN α -2a (p=0.04). In addition in BD-related panuveitis patients, it has been observed that there were increases in IL-4 and IL-10 levels following IFN α -2a treatment, although not statistically meaningful. No meaningful differences in pre- and post-azathioprine treatment CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg lymphocyte values and "IL-4, IL-10, IL-17, IL-18, TNF- α and INF- γ " cytokine levels, produced by CD4+CD25+ Treg cells, have been seen.

Conclusion: CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg cell population has not been determined with a different quantity in patients with BD-related panuveitis, in the active term

compared to the control group and with IFN α -2a a decrease in this cell population, which is believed to be defective, and recovery of function have been observed. Also, this decrease following IFN α -2a treatment has caused a change against Th1 pathway, indicated with the increase of IL-4 and IL-10 and the decrease of IL-18, in Th1/Th2 balance.

I.GİRİŞ VE AMAÇ

BH birçok sistemi aynı anda ve birlikte etkileyen kronik ve nedeni bilinmeyen bir hastalıktır. Pek çok organda birlikte bulunabilen bulguların temelinde kronik tıkayıcı tipte vaskülit ve buna bağlı komplikasyonlar yatmaktadır (1). Sistemik inflamatuvar bir hastalık olan BH'nın etyopatogenezi belirsizdir. Çok sebepli bir patogeneze sahip olduğu düşünülen BH'nda genetik yatkınlık ile birlikte immünolojik mekanizmalar ve infeksiyöz ajanlar suçlanmaktadır (2).

Günümüzde BH'nın immünopatogenezi ile ilgili çalışmalar hücresel immünite üzerinde yoğunlaşmıştır ve patogeneizde T lenfositlerin merkezi bir rol oynadığını düşündürmektedir (2). Başlıca patolojik bulgusu immün aracılıklı oklüzif vaskülit olan BH'nda hem periferik kanda hem de doku örneklerinde T hücre aktivasyonu gözlenmesi (3), İnsan lökosit antijeni, 'Human Leukocyte Antigen'(HLA)-B51'in bağladığı antijeni yalnızca sitotoksik T hücrelerine sunabilmesi, Th1 sitokin sunumunun hastalık aktivitesi ile ilişkili olması, BH olan bireylerin T hücrelerinin çeşitli viral ve bakteriyel antijenlere aşırı duyarlı olması, paterji reaksiyonunun geç döneminde T hücrelerinden zengin infiltrasyon izlenmesi ve siklosporin-A gibi T lenfosit fonksiyonlarını baskılayan ilaçların BH'nda etkili olması, BH'nın patogenezinde T lenfositte bağlı immün yanıtın önemli olduğunu desteklemektedir (4,5). BH'nda immün cevapta Th1 ile Th2 lenfosit komponentleri arasındaki dengesizlik ile birlikte çeşitli sitokin profilleri ve lenfosit popülasyonlarında artış gösterilmiş ve aktif hastalıkta T hücre dengesizliğinin Th1 lenfosit cevabı yönünde olduğuna işaret edilmiştir (2,6,7).

Son zamanlarda otoimmüniteyi kontrol eden bilinen mekanizmalara ek olarak periferde belirli bir grup baskılayıcı T hücresinden söz edilmektedir. Aktif olarak oto-reaktif hücreleri baskılayan bu hücre grubu T regülatuar hücre (T düzenleyici-Treg) olarak da adlandırılmaktadır. Baskılayıcı işlevleri bulunan bu T hücrelerinin hem CD4+ hem de CD8+ alt gruplarının yanı sıra, gama delta T hücreleri ($\gamma\delta$ T), doğal öldürücü (NK) ve doğal öldürücü T (NKT) baskılayıcı hücre alt gruplarının olduğu da bilinmektedir (8). CD4+ Treg hücreleri fenotipik olarak İnterlökin-2 reseptör alfa zinciri (IL-2R α) olan CD25 ve Foxp3 (forkhead/winged-heliks protein) ifade edilmeleri ile ayırt edilirler. Otoimmün hastalıklarda yapılan çalışmalarda bu

hücre popülasyonlarının azaldığı ya da baskılayıcı işlevlerinin yetersiz olduğu belirlenmiştir (9). BH'nda CD4+CD25+ Treg hücre düzeyinin sağlıklı bireylere göre yüksek olduğu gözlemlenmiştir (10).

BH ile ilgili yapılan çalışmalarda, antijen sunan hücrelerin (ASH) de patogeneizde yer alabileceğini göstermiştir. IL-12 başlıca ASH'den salgılanan ve Th1 cevabını yönlendiren bir sitokindir. Aynı şekilde IL-18'de ASH'de ifade edilmekte ve özellikle IL-12 varlığında Th1 polarizasyonuna neden olmaktadır. Behçet hastalarında Th1 polarizasyonuna IL-12'nin eşlik etmesi, IL-18'in düzeyinde artış olması ve IL-1 ve IL-18 genlerinde polimorfizm saptanması ASH'nin de patogeneizde önemli olabileceğini düşündürmektedir (5).

Nedeni tam olarak bilinmeyen BH'nın oküler tutulumunun tedavisinde, son dönemlerde, konvansiyonel immüsupresiflerin kullanımı ile oküler prognozda düzelme gösterilmiştir (11). Ancak, Behçet üveitli bir grup hastada konvansiyonel immüsupresiflere yanıtızsızlık gözlenmektedir (12). Son yıllarda Behçet üveitinin tedavisinde biyolojik ajanların kullanımı gündeme gelmiştir. Yapılan az sayıda çalışmada, konvansiyonel immüsupresiflere cevapsız Behçet üveitinin tedavisinde IFN α -2a'nın başarı ile kullanıldığı bildirilmiştir (13-20).

Antiviral, antiproliferatif ve immünstimülatör olduğu bilinen IFN α -2a'nın immünstimülatör etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (21). Kanda IFN- α salgılayan hücreler en önemli ASH'den biri olan plazmasitoid dendritik hücrelerdir (pDC) (22). IFN- α 'nın majör üreticisi olan pDC fonksiyonunda hasar geliştiğinde IFN- α cevabının yetersiz olabileceği düşünülmektedir. Kan pDC hücrelerin fonksiyon ve sayısında sebat eden bir azalma HIV+ hastalarda gösterilmiştir (23). Benzer şekilde kronik aktif hepatitli hastalarda da pDC'in sayısında ve fonksiyonunda bozukluk izlenmiştir (24-26). Ayrıca sistemik lupus eritematosus (SLE) ve dermatomyozit gibi otoimmün hastalığı olan hastalarda da pDC'in fonksiyonunda bozukluk gözlenmiştir (24-29)

pDC sayısında ve fonksiyonundaki defektin sebep olduğu T hücre regülasyon yetersizliğinin otoimmün cevabın kontrolünde bozukluğa yol açabileceği gösterilmiştir. Bu nedenle, IFN α -2a tedavisi ile dendritik hücrelerin IFN- α ile T hücreleri üzerindeki düzenleyici etkilerinin sağlanabileceği düşünülmüştür. Bu tedavi

ile görmeyi tehdit eden intraoküler inflamasyona sahip hastalarda yanıt alınabileceği varsayılmıştır.

Çalışmamızda, IFN α -2a'nın etki mekanizmasını anlayabilmek için, BH patogeneğinde sorumlu olduğu düşünölen CD4+CD25+ Treg lenfositlerde Foxp3 molekülö ekspresyonu ve bu hücrelerin salgıladıkları sitokinlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, BH'na bağlı posterior veya panüveiti olan olgularda IFN α -2a tedavisi öncesi ve sonrasında kanda dolaşan CD4+CD25+ Treg lenfositlerde Foxp3 molekülö ekspresyonunun gösterilmesi ve bu hücrelerin salgıladıkları "IL-4, IL-10, IL-17, IL-18, TNF- α , INF- γ " sitokin seviyelerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

II. GENEL BİLGİLER

2.1 Behçet Hastalığı

Ortalama 2450 yıl önce Hipokrat'ın Behçet Hastalığına (BH) benzer klinik tabloları yazılarında göstermesine karşın bu hastalık ilk kez 1937 yılında Ord. Prof. Dr. Hulusi Behçet tarafından hipopiyon, iritis ve orogenital aftözden oluşan üçlü semptom kompleksi şeklinde tanımlanmıştır (30). BH, alevlenme ve remisyonla seyreden, ven ve arterleri tutabilen, kronik, inflamatuvar, multisistemik bir hastalıktır. Başlangıçta tekrarlayıcı oral ülser, genital ülser ve hipopiyonlu üveitten oluşan üçlü semptom kompleksi olarak tanımlanan hastalığın yıllar içinde kardiyovasküler, solunum, lökomotor, gastrointestinal ve merkezi sinir sistemi de dahil olmak üzere alevlenme ve remisyonla seyreden tutulumları olduğu organlarda geçici ve kalıcı işlev bozukluklarına yol açtığı anlaşılmıştır (31).

2.1.1 Etyopatogenez

Hastalığın etyolojisi kesin olarak bilinmemektedir. Hastalığın aralıklı seyreden doğası ve tedaviye cevabın sürekli olmaması altta yatan etiyolojiyi tanımlamada zorluk yaratmaktadır. Patogeneizde genetik faktörler, infeksiyöz ajanlar, stres proteinleri, hücrel ve humoral immünite, otoantikolar, endotelial ve pıhtılaşma faktörlerinin sorumlu tutulduğu hipotezler ileri sürülmüştür ancak tam olarak rolleri açıklanamamıştır (32). Günümüzde genetik olarak bu hastalığa duyarlı bir bireyde, uygun çevresel faktörlerin etkisiyle immün sistemin tetiklendiği ve bu süreçte endotel harabiyetinin oluştuğu ve BH'nın klinik bulgularının ortaya çıktığı kabul edilmektedir (33). Etiyolojisi tam olarak aydınlatılamayan BH'ında araştırılan birtakım konuların başlıkları ve referansları Tablo 1' de sunulmuştur.

Tablo 1. BH’nda araştırılan konuların başlıkları ve referansları

Genetik ve HLA tipi ile Hastalık İlişkisi ^{8,34-42}
İnfeksiyöz ajanlar
Herpes simpleks virüs (HSV) ⁴³⁻⁴⁵
Streptokok Türleri ^{44,46-49}
Stres (Isı) Şok Proteinleri ^{2,5,36,50-54}
$\alpha\beta$ Kristalinler ^{2,5}
Öz (Self) Antijenler ^{2,5}
İmmünglobulinler, İmmünkompleksler ve Antikardiyolipin ^{2,54-60}
Nötrofiller, Monositler ve Kompleman (C3-C9) ^{2,5,54,61-64}
Endotel hücreleri, Nitrik Oksit ve İlişkili Yeni İnflamatuar Moleküller ^{54,65-75}
Oksidatif Stres, Antioksidatif Savunma ve Eser Elementler ²
Koagülasyon ve Fibrinolizis ^{2,4,54,76,77}
Hiperhomosisteinemi ^{2,54,73,78,79}

2.1.2 Hücresel ve Humoral İmmünoloji

BH’de hem periferik kanda hem de doku örneklerinde T hücre aktivasyonu gözlenmektedir (3). HLA-B51’in bağladığı antijeni yalnızca sitotoksik T hücrelerine sunabilmesi, BH’nda $\gamma\delta$ +T hücrelerinin artması, Th1 sitokin sunumunun hastalık aktivitesi ile ilişkili olması, ayrıca T hücrelerinin çeşitli viral ve bakteriyel antijenlere aşırı duyarlı olması, paterji reaksiyonunun geç döneminde T hücrelerinden zengin infiltrasyon izlenmesi ve siklosporin-A gibi T lenfosit fonksiyonlarını baskılayan ilaçların özellikle BH’nda etkili olması BH’nın patogenezinde T lenfosit bağli immün yanıtın önemli olduğunu göstermektedir (4,5). BH’nda immün cevapta Th1 ile Th2 lenfosit komponentleri arasındaki dengesizlik ile birlikte çeşitli sitokin profilleri ve lenfosit popülasyonlarında artış gösterilmiş ve aktif hastalıkta T hücre dengesizliğinin Th1 lenfosit cevabı yönünde olduğuna işaret edilmiştir (2,6,7).

BH ile ilgili yapılan çalışmalar, ASH’in patogenezde yer alabileceğini göstermiştir. IL-12, özellikle ASH’den salgılanan ve Th1 cevabını yönlendiren bir sitokindir. Aynı şekilde IL-18’de ASH’den ifade edilmekte ve özellikle IL-12 varlığında Th1 polarizasyonuna neden olmaktadır. Behçet hastalarında Th1

polarizasyonuna IL-12'nin eşlik etmesi, IL-18'in düzeyinde artış olması ve IL-1 ve IL-18 genlerinde polimorfizm saptanması ASH'nin de patogeneizde önemli olabileceğini düşündürmektedir (5).

2.1.2.1 Behçet Hastalığı ve T Regülatuar hücreler

Yaşamın temel prensiplerinden biri olan enfeksiyondan korunma, mikroorganizmalara karşı hem doğal ('innate') hem de adaptif mekanizmalarla yanıt veren immün sistem aracılığı ile gerçekleşmektedir. İmmün sistemin enfeksiyon kontrolünde kullandığı efektör mekanizmalar; pro-inflamatuar sitokin ve kemokinlerin üretilmesi, enfeksiyon bölgesine inflamatuvar hücrelerin toplanması, enfekte olan hücreleri parçalayan sitotoksik T lenfositler ve NK hücrelerin aktivasyonudur (80,81).

Bütün immün yanıtlar belirli sınırlar içinde gerçekleşmektedirler. Antijenik bir uyarıdan sonra antikör konsantrasyonu ve efektör T hücre sayısı aşamalı olarak artar, ancak kısa zamanda belli bir miktara erişerek azalmaya başlar. Başka bir deyişle, çoğu immün yanıt nicelik ve nitelik bakımından optimal bir cevap oluşturmak üzere adapte olur (8). Patojenin ortadan kaldırılmasına ya da yayılmasının yavaşlatılmasına yardımcı olan bu immün yanıt eğer etkili bir şekilde kontrol edilmezse şiddetli inflamasyona ve doku hasarlarına neden olabilmektedir. Ancak immün sistem, doğada çok çeşitlilikte bulunan mikrobiyal antijenlere yanıt verirken, bir yandan yeterli mikrobiyal yanıtı sağladıktan sonra öze zarar verebilecek yıkıcı reaksiyonlarını zayıflatarak söndürmek diğer yandan da yanıt sırasında kendi "oto-antijen"lerini tanıyarak onlara karşı reaksiyon vermemek zorundadır. Bu özellik, başka bir deyişle "self-tolerans/öz-tolerans", 20. yüzyılın başlarında tanımlandığından beri immün sistemin en büyük bulmacalarından biri olmuştur.

Self Toleran/Öz Toleransın Sağlanması: 1905'de Ehrlich ve Morgenroth çalışmalarında immün sistemin, kendinden olanı ve olmayanı ayırt etme özelliği olduğunu, "self-tolerans" ile kendinden olana yanıtızsız kalarak otoimmüniteyi engellediğini iddia etmişlerdir. Ehrlich'in bu fikrine dayanarak "klonal seleksiyon" hipotezi ortaya çıkmıştır (82,83). Klonal seleksiyon teorisinin modern yorumuna

göre, timusta antijene spesifik reseptörler aracılığı ile antijene bağlanan T hücreleri, MHC molekülünün oto-peptidlere bağlanma şekline göre seleksiyona uğrarlar. Timusta, kemik iliği prekürsörleri olan ve çeşitli aşamalarla olgun T hücrelerine dönüşen “timositler” bulunmaktadır. Oto-antijenlere yüksek affinite taşıyan timositler, timik farklılaşma esnasında “negatif seleksiyon” denilen bir apoptotik mekanizma ile santral olarak elimine edilirler. Oto-reaktif olma potansiyeli olan timositlerin negatif seleksiyon ile elenmeleri ile, öz-toleransa sahip bir periferik T hücre repertuarı oluşmaktadır. Öz-toleransın bozulduğu durumlarda ise otoimmünite oluşmaktadır (82,85).

Ancak, oto-reaktif T hücrelerinin timustaki klonal delesyonu, toleransı açıklayan tek mekanizma değildir. Fareler ile yapılan çalışmalarda (86-89), otoimmün hastalığa sahip olmayan farelerin neonatal timektomiden sonra otoimmün hastalık geliştirdikleri gözlemlenmiştir.

Oto-antijenlere düşük ya da orta derecede affiniteleri olan T hücreleri timustaki negatif seleksiyondan kaçarak perifere geçmektedirler. Burada, oto-peptidler ile aktivasyonları sonucunda proliferasyon olarak patojenik efektör hücrelere dönüşebilirler. Dolayısıyla, bu oto-reaktif hücrelerin gelişimlerini ve işlevlerini düzenleyen mekanizmalar aynı zamanda otoimmün hastalıkların oluşumlarını ve ilerleyişlerini de kontrol etmektedir. Bu fikirlerin sonucu olarak, otoimmün hastalıkların oluşma nedeni oto-peptidlere yüksek affiniteli hücrelerin eliminasyonundaki yetersizliklerin yanı sıra periferdeki oto-reaktif hücre klonlarıdır. Çalışmalar (82-84,90), sağlıklı insanlarda da zararlı olma potansiyeli olan oto-reaktif lenfositlerin periferde bulduklarını göstermiştir. Sağlıklı hayvanların kuvvetli adjuvantlarla beraber kendilerinden olan moleküller ile immünize edilmeleri sonucunda T hücre aracılıklı otoimmün doku hasarları görülmüştür (91).

Periferik tolerans çeşitli mekanizmalarla işlemektedir. Bunlardan en kolay anlaşılana oto-antijenlerin yok sayılmasıdır. Bu yok saymanın nedeni oto-antijenin kan ve lenf ile taşınan immün sistem hücrelerinin ulaşamayacağı yerlerde bulunmaları ya da antijenin T hücre yanıtı başlatacak eşik değerine ulaşmamasıdır (93). T hücre sinyalinin işlevsel olması THR (T hücre reseptörü)’nün MHC-peptid kompleksi ile bağlanma gücüne ve süresine bağlıdır. T hücrelerinin optimal aktivasyonları ve farklılaşmaları için belli bir eşik değeri gerekmesinin yanı sıra çok

yüksek affiniteli THR'ler apoptotik yolların başlamasına neden olarak aktivasyonla uyarılmış hücre ölümüne 'AICD: activation-induced cell death' yol açarlar (82).

Aynı zamanda, T hücreleri periferde oto-antijen ile karşılaştıklarında anerjik hale dönüşebilirler. Anerji, antijen ile karşılaşmadan sonra lenfositin işlevsel olarak inaktive olması ancak yine de bu durumdayken canlılığını sürdürdüğü bir tolerans mekanizması olarak tanımlanmıştır (94). ASH tarafından kostimülasyonun yetersiz ya da olmadığı durumlarda, düşük affiniteli bir ligand ile THR sinyali yollanması ile, IL-2 gibi büyüme faktörü sitokinlerin sınırlı olduğu durumlarda veya IL-10 gibi anti-inflamatuar sitokinlerin varlığında tam olarak aktive olmayan T hücreleri, antijene karşı kısmen ya da tamamen yanıtız kalmaktadırlar (94,95). Anerjik hücrelerin aynı zamanda baskılayıcı hücrelerin oluşumunda da rol oynadıkları düşünülmektedir (96). Bu pasif oto-tolerans mekanizmalarının yanı sıra oto-reaktif T hücrelerini aktif olarak baskılayan T hücre alt grupları bulunmaktadır (81).

T hücrelerinin aktivitesinin, düzenleyici işlevleri olan farklı T hücre popülasyonları tarafından kontrol edilebileceği düşüncesi toleransın açıklanmasında büyük bir gelişmeye neden olmuştur. Baskılayıcı, başka bir deyişle T regülatuar (Treg) hücrelerinin iki şekilde oluştukları düşünülmektedir. Timus tarafından sürekli üretilen, doğal olarak bulunan Treg hücrelerinin yanı sıra periferde "tolerojenik" hücrelerle karşılaşarak sonradan oluşan adaptif Treg hücreleri bulunmaktadır (81,93). Doğal olarak bulunan Treg hücreleri, timusta fetal ve neonatal gelişimin erken evrelerinde oluşurlar. Farklı çeşitlilikteki THR'ler ile poliklonal oldukları ve bu sayede de çok çeşitli oto-antijenleri tanıyabildikleri düşünülmektedir. Bu hücrelerin timusta oluşumunu açıklayan mekanizmalardan biri olarak, timusta klonal delesyona neden olacak kadar yeterli seviyede bulunmayan oto-proteinlerin, ASH'ler tarafından CD4+ T hücrelerine sunulmaları ile bu bölgelerde lokal olarak Treg hücrelerini oluşturdukları görüşü ileri sürülmektedir (97).

Doğal olarak bulunan ve baskılayıcı aktiviteye sahip bu hücreler ilk olarak, Sakaguchi ve diğ. (98,99), T hücreleri olmayan farelerde (atimik nude fare) yaptıkları çalışmada ortaya çıkmış ve CD4+CD25+ Treg hücreleri olarak adlandırılmışlardır. Bu çalışmalarda (98,99), IL-2 reseptörünün α zincirini ifade etmeyen (CD25); CD4+ (CD4+CD25-) T hücre grubu normal BALB/c farelerden alınarak 6 haftalık sinjenik atimik nude farelere transfer edildiğinde, timektomiden 3

gün sonra çeşitli organlarda otoimmün hastalık paternine benzer inflamatuvar lezyonlar görülmüştür. Alıcı farelerden bazılarında sistemik otoimmün hastalıklara da rastlanmıştır. CD25+ T hücrelerinin farelere tekrar transfer edilmeleri sonucunda otoimmünitenin engellendiği görülmüştür. Doğal olarak oluşan CD4+CD25+ Treg hücrelerinin varlığı, timusun periferik toleransı kontrol etmesinde klonal seleksiyon dışında da rolü olduğunu göstermiştir (84).

Shevach ve diğ. (100,101) timusta üretildikten sonra, hücrelerin periferik dokulara taşınarak antijene yanıt olarak çoğalmak yerine, diğer T hücrelerinin proliferasyonlarını baskıladıklarını ortaya koymuşlardır. Bu baskılanmanın sitokin gibi çözünebilir faktörler ya da ASH'deki değişimler aracılığı ile değil de hücre-hücre teması ile olduğu gösterilmiştir. Bu hücrelerin timusta üretildiklerinden otoantijenlere özgül oldukları düşünülmektedir (97).

Timusta oluşan CD4+ Treg hücreler, periferdeki CD4+ Treg hücrelerinin %5-10'u kadarını oluşturur (102). Fenotipik olarak yüksek seviyede CD25 ve Foxp3 ifade edilmeleri ile ayırt edilirler. Bildiğimiz diğer efektör T hücrelerinin aksine bu hücreler, CD25'i aktivasyon sonrasında geçici olarak değil de sürekli ifade ederler (97).

Son 10 yıl içerisinde bu hücreleri efektör CD4+ T hücrelerinden ayırıcı bir belirteç bulmak amacı ile birçok çalışma yapılmıştır. Sitotoksik T lenfosit antijen-4 (CTLA-4), glukokortikoid ile oluşan TNF (Tümör nekroz faktörü) reseptör ailesi ilişkili protein (GITR), lenfosit aktivasyon geni-3 (LAG-3) bu belirteçlerden başlıcalarıdır (103,104). Treg hücreler ile ilişkili birçok belirteç belirlense de bulunan belirteçlerden birçoğunun sadece bu hücrelere özgü olmadığı ortaya çıkmıştır.

Foxp3 transkripsiyon faktörünün doğal olarak oluşan Treg hücrelerinin gelişim ve fonksiyonları için gerekli olduğunu (105,106), Foxp3 genindeki mutasyonun Treg hücrelerinin fonksiyonlarını bozarak otoimmün hastalıklara yol açtığını gösteren (107) çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca Foxp3'ün CD4+ hücrelerde ektopik olarak ifade edilmesi, fare CD4+ T hücrelerini Treg hücrelere dönüştürmüştür (107).

Foxp3 hali hazırda en çok kabul gören Treg hücre belirteci olsa da yıllar içerisinde, Foxp3'ün daha çok fare Treg hücrelerine özgü bir belirteç olduğu, insanda fareler ile aynı ifade edilme paternlerine sahip olmadığı ortaya çıkmıştır. İlk olarak

2003 yılında (108) aktive olan insan efektör CD4+CD25- T hücrelerinin de Foxp3 ifade etmeye başladıkları gösterilmiştir. Hücre nükleusunda bulunan bir transkripsiyon faktörü olan Foxp3 için akım sitometrik antikorların geliştirilmesi ile bu gözlem başka laboratuvarlar tarafından da onaylanmış, takip eden çalışmalarda (109,110), anti-CD3 ve alloantijenler ile uyarılan, antijene özgü uyarım ile aktive olan bütün T hücrelerinin geçici olarak Foxp3 ifade ettiği bulunmuştur.

CD25 ve Foxp3'ün yanı sıra CTLA-4, GITR ve LAG-3 gibi diğer Treg hücre belirteci olduğu ileri sürülen moleküller de baskılayıcı özellikleri bulunmayan, aktive olmuş efektör T hücrelerinde ifade edilmektedir. Yine de timustan çıkan ve bu doğal olarak bulunan CD4+ Treg hücrelerinin oto-antijene özgü oldukları, bu nedenle periferde sürekli olarak oto-antijenler ile karşılaştıkları; dolayısı ile bu belirteçleri, klasik efektör CD4+ T hücrelerinin aksine geçici değil de, devamlı olarak ifade ettikleri görüşü kabul görmektedir (97).

Timusta doğal olarak bulunan Treg hücrelerinin yanı sıra periferik dokularda inflamatuvar yanıt esnasında, olgun T hücrelerinin farklılaşmaları-dönüşümleri ile meydana gelen, baskılayıcı işlevli regülatör T hücre gruplarına adaptif Treg hücreleri adı verilmektedir.

IL-10 varlığında olgun T hücrelerinin alloantijenler ile tekrarlanan uyarımları sonucunda T regülatör 1 "Tr1" olarak tanımlanan, baskılama işlevini IL-10 sitokini ile yapan adaptif regülatör CD4+ T hücre alt grubu oluşmaktadır (111). Yine aynı şekilde, TGF (dönüştürücü büyüme faktörü, 'transforming growth factor')-β sitokin salınımı ile diğer immün sistem hücreleri baskılayan T yardımcı 3 (Th3) hücreleri deneysel olarak oluşturulmuşlardır (112).

Adaptif olarak oluşan bu Treg hücreleri, timusta oluşan Treg hücrelerden farklı olarak Foxp3 eksprese etmezler. Doğal olarak oluşan Treg hücrelerinden bir diğer farkları ise bu hücrelerin baskılayıcı işlevlerini hücre-hücre teması yolu ile değil de çözünebilir faktörler, başlıca IL-10 ve TGF-β gibi sitokinler ile yapmalarıdır.

Fare efektör T hücrelerinin TGF-β ve retinoik asit varlığında CD103+ dendritik hücreler ile uyarımları sonucu mukozal lenfoid dokularda adaptif Treg hücreleri oluşmaktadır (113). Periferde ise baskılayıcı sitokin sinyal 3 (SOCS3)'den

yoksun dendritik hücrelerin bu hücrelerin oluşumunu sağladığı düşünülmektedir (114).

Dendritik hücreler dışında ortamda bulunan sitokinlerin de bu hücrelerin oluşumlarını sağladığı, T hücrelerinin kaderlerini belirlediğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. TGF- β 'nin varlığının, otoimmüniteyi ve doku hasarını engelleyen adaptif Treg hücrelerinin gelişimi için şart olduğu düşünülür (112). Ancak TGF- β ile beraber IL-6'nın ortamda bulunmasının ise inflamatuvar yanıtta görev yapan ve doku hasarına neden olabilen yardımcı T 17 (Th17) hücrelerinin oluşumunu sağladığı ileri sürülmektedir (115).

Doğal olarak oluşan ve adaptif Treg hücreleri, mekanizmaları bakımından birbirlerinden ayrılmaktadır. Çalışmalar (116,117), adaptif Treg hücrelerinin TGF- β ve IL-10 gibi sitokinler üreterek immünespresif özellik gösterdiklerini ortaya koymuştur. Bunun aksine doğal olarak oluşan Treg supresyonunun, sitokinden bağımsız bir mekanizmayla, ASH ya da diğer T hücreleri ile hücre-hücre teması ile sağlanmaktadır. Adaptif regülatör hücrelerin sitokine bağlı bir mekanizmayla baskılama yaptıkları bilinse de hücre-hücre temasının yine de immünespresif özellik gösterebilmeleri için gerekli olabileceği düşünülmektedir (97).

Timusta doğal olarak oluşan Treg hücrelerinin oluşumunu sağlayan sinyaller tam olarak bilinmemektedir. Yapılan araştırmalar (103,118) CD28 kostimülasyonunun, doğal olarak bulunan Treg hücrelerinin hem timusta oluşumlarını hem de periferik yaşam süreçlerini kontrol ettiğini göstermiştir. Doğal olarak oluşan Treg hücrelerinin aksine adaptif Treg hücrelerinin oluşumları ve işlevleri için kostimülasyon gerekmemektedir (97). Blazar ve diğ. araştırmalarında (119), CD28 kostimülasyonu olmadan da alloantijen spesifik Tr1 hücreleri oluşturarak, CD28'den bağımsız bir yolla graft versus host disease (GVHD)'yi engellediğini göstermişlerdir.

Çeşitli otoimmün hastalıklarda, farelerde CD4+CD25+ Treg hücrelerin kaybını gösteren çalışmalar çok olsa da insanda bu çalışmalar sınırlı sayıdadır. Otoimmün hastalarda yapılan çalışmalarda bu hücre popülasyonlarının azaldığı ya da baskılayıcı işlevlerinin yetersiz olduğu belirlenmiştir (9). Multipl skleroz (MS) (120) ve romatoid artrit (RA) (121) hastalarında bu hücre popülasyonları sağlıklılardan miktarca farklı bulunmazken işlevlerinde bozulmalar olduğu bildirilmiştir. Kawasaki

hastalığı (122), tip 1 diyabet (123) ve otoimmün lenfoproliferatif sendrom (autoimmune lymphoproliferative syndrome: ALPS)'ye (124) sahip bireylerde, CD4+CD25+ Treg hücre oranının sağlıklı bireylere göre azalmış olduğu gözlemlenmiştir.

Oküler komplikasyonu olan ve olmayan Behçet hastalarında CD4+CD25+ Treg hücre düzeyleri üzerine yapılan ilk çalışmada oküler komplikasyonu olan Behçet hastalarında oküler atak öncesi Treg hücre düzeylerinin oküler atak sonrasında karşılaştırıldığında anlamlı olarak düştüğü gösterilmiştir (125). Aynı çalışmada inaktif oküler komplikasyonu olan Behçet hastalarında ve oküler komplikasyonu olmayan Behçet hastaları, sarkoidoz, sistemik sklerozis ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda Treg hücre düzeyleri normal olarak izlenmiştir (125). Hamzaoui ve diğ. (10) yaptığı bir çalışmada remisyonda olan Behçet hastaları ve sağlıklı kontrol grubu, aktif fazda olan Behçet hastaları ile karşılaştırıldığında CD4+CD25+ Treg hücreleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Remisyonda olan Behçet hastaları ile sağlıklı kontrol grubu kendi arasında karşılaştırıldığında CD4+CD25+ Treg hücreleri açısından fark bulunmamıştır (10). Ek olarak aktif Behçet hastalarında Foxp3 için mRNA ve CTLA-4 ifadesi, kontrol grubu ve remisyonda olan Behçet hastalarından daha fazla olduğu görülmüştür (10). Her üç grupta TGF- β ekspresyonu açısından farklılık izlenmemiştir (10).

2.1.2.2 Behçet Hastalığı ve Sitokinler

Pre-timositler T hücrelerin öncüleridir. Timusa girdiklerinde bu hücreler yüzey antijenleri CD2 ve CD7 ifade etmeleri ile ayırt edilebilen genç timositlere dönüşürler. Bu hücreler ne CD4 ne de CD8 antijeni içerdiklerinden çift negatif olarak tarif edilirler. Olgunlaşmanın sonraki evresinde hücre yüzeyinde CD3 antijen kompleksi ve yüzey antijeni CD1 yer alır. Gerçek T hücrelerinde CD1 kaybolur ve hücreler ya CD4 ya da CD8 antijeni içeren iki ayrı hücre popülasyonu oluşturmak üzere bölünürler. CD4 antijeni T-yardımcı (Th) hücre popülasyonunun, CD8 antijeni de T-sitotoksik (Ts) hücre popülasyonunun karakteristiğidir. Hücreler şimdi tek pozitifdir. Tüm olgun T hücrelerinin %99' u yüzeyde TH α/β taşırlar, geri kalanında ise TCR γ/δ bulunur (126,127).

Farklı antijenlerle ilk temastan sonra birçok Th hücresi, makrofajlar, NK hücreler ve mast hücreleri gibi immün sistemin nonspesifik elemanları ile karşılaşır. Nonspesifik defans hücrelerince oluşturulan antijen işlevi, immün cevabın sonradan gelişen seyri üzerinde kararlı bir etki yapan bir sitokin ortamı meydana getirir. Etkin sitokin ortamı ve antijen sunumunun (dendritik hücreler) farklı şekillerine bağlı olarak orijinal kararsız T yardımcı hücre (Th0) ya Th1 ya da Th2 hücresine dönüşür (126,127). Bu CD4 T hücreleri farklı tipte sitokin profili ile immünetede farklı yanıtların oluşumu sağlarlar. Th1 gecikmiş tip hipersensitivite/hücre aracılıklı immüniteden, Th2 allerjik/hümmoral immüniteden sorumludur (126,127). Ayrıca her alt grup kendi gelişimine katkıda bulunurken diğer alt grubun oluşumunu engeller. Th1'in oluşumunu sağlayan sitokinler Th2'yi, Th2'nin oluşumunu sağlayan sitokinler Th1'i baskılar. Bu immünolojide yeni bir anlayışın oluşmasına neden olmuştur (126,127).

Th1 hücreler başlıca IL-2, IFN γ , TNF- β ve GSM-CSF salgılar. Özellikle Th1 hücreleri IFN γ üretimleri ile tanımlanırlar. IFN γ makrofaj aktivasyonu sağlayan ve bu sayede belirli intrasellüler patojenlerin temizlenmesinde rol oynayan bir sitokindir (126,127). Th2 hücreler başlıca IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-14 meydana getirirler. Th2 hücreleri özellikle IL-4 ve IL-5 üretimleri ile tanımlanırlar ve IgG1 ve IgE sınıf dönüşümünü ve eozinofillerin toplanmasını sağlarlar (126,127). Daha sonra Th2 hücrelerinin IL-13 üretimleri de gösterilmiştir. IL-13, IgE sınıf değişiminde rol oynamasının yanı sıra mukozal aktivasyonda da önemlidir. Th2 hücrelerinin ürettikleri sitokinler aynı zamanda helmintlerin temizlenmesinde de önemlidirler (126,127).

Th1–Th2 hipotezi farklı patojenlerin tipine göre farklı tip immün yanıtın oluşmasını açıklamışlardır. Daha sonra, Th1 ve Th2 efektör T hücrelerinin normal T hücre havuzunda az miktarda buldukları, gelişimleri için naif T hücre prekürsörlerinin antijen ile uyarılması ve klonal genişlemeye gitmeleri gerektiği anlaşılmıştır. Th2 efektör hücrelerin IL-4'e bağımlı bir yolla oluştuğu ortaya çıkmıştır. Efektör hücreler tarafından üretilen IL-4 diğer efektörlerin de aynı fenotipi kazanmalarını sağlarlar. Th1 gelişimde ise IL-12, IFN- γ ile beraber rol oynar. IL-12 NK hücrelerinin IFN- γ üretimlerini sağlar. Böylelikle doğal ve adaptif immünitelerin

beraber sitokin üretimleri sayesinde birbirlerinin etkilerini arttırarak patojenin temizlenmesini sağlarlar.

Sitokinler: Hücresel ve sıvısal bağışıklık yanıtları, sitokinler olarak adlandırılan protein ve glikoprotein yapısındaki maddeler tarafından düzenlenmekte olup interlökinler (IL-1-18), interferonlar (IFN α , β , γ), granüosit koloni stimülan faktör (G-CSF), monosit koloni stimülan faktör (M-CSF) ve granüosit monosit koloni stimülan faktör (GM-CSF) gibi koloni stimülan faktörler, tümör nekroz faktörü α , β ve γ (TNF α , β , γ), transforming growth faktör β (TGF- β , dönüştürücü büyüme faktörü) ailesi, eritropoetin, nöron gelişim faktörü, epidermal gelişim faktörü, fibroblast gelişim faktörleri, insülin benzeri gelişim faktörleri ve trombositlerden elde edilen gelişim faktörü gibi büyüme faktörleri sitokin sınıfı içerisinde yer almaktadır (128). Lökositler arasındaki haberleşmeyi düzenlemede görev yapan monositler, doku makrofajları ve lenfositler tarafından üretilen moleküllere, 1979 yılında İsviçre’de yapılan II. Uluslararası Lenfokin kongresinde “İnterlökin” adı verilmiştir (127,128). Doğal ve kazanılmış immünitede rol oynayan bu protein ailesi, genel olarak düşük molekül ağırlıklıdır ve tek bir zincirden oluşurlar. Hücre büyümesi, hücre aktivasyonu, inflamasyon, immünite, doku onarımı, fibröz ve morfogenez gibi önemli biyolojik süreçleri düzenlerler. Herhangi bir uyarı sonucu aktive olan hücreden salınan sitokin diğer hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlanır ve bu bağlantı sonucu oluşan sinyal iletimi biyolojik etkiler olarak kendini gösterir. Sitokinlerin hedef hücreleri; salındıkları hücre (otokrin etki), yakınındaki hücre (parakrin etki) veya dolaşıma girmiş sitokinlerle uyarılan uzaktaki bir hücredir (endokrin etki) (129).

Lenfosit ve immün sistemin diğer hücreleri efektör fonksiyonlarını sitokin sentezleyerek ve salgılayarak gösterirler. Doğuştan edinilmiş bağışıklıkta, sitokinler; makrofajlar ve NK hücreleri tarafından üretilir ve mikroplara karşı erken inflamatuvar yanıtı başlatır. Bu sitokinler; TNF α , IL-1, kemokinler, IL-12, tip 1 İnterferonlar (IFN- α , IFN- β), IL-10, IL-6, IL-15, IL-18’ dir.

TNF- α : TNF- α esas olarak makrofajlardan üretilir. Proinflamatuvar bir sitokindir. Düşük konsantrasyonda iken endotel hücreleri tarafından adezyon moleküllerinin üretilmesini arttırır ve yardımcı T hücreleri tarafından lenfokin sentezini arttırır ve B hücrelerinin üremesini uyarır. Yüksek konsantrasyonda iken,

endotoksin ile uyarılan septik şokun önemli bir aracısıdır. Yağ dokusunda lipoprotein lipazı inhibe etmesi ve böylece yağ asitlerinin kullanımını azaltmasından ötürü kaşektin de denir. Bu etki kaşeksiye neden olur. Deney hayvanlarında bazı tümörlerde ölüm ve nekroza neden olur. Bu etkisini tümör dokusunda enfarktüse yol açmak üzere damar içi pıhtılaşmayı kamçılayarak gösterebilir. TNF- α otoimmün reaksiyonlarda inflamasyonun başlaması ve sürmesinde önemli bir rol oynar (130). “Behçetojenik” gen kabul edilen HLA-B51 genine komşu gen lokasyonlarında TNF polimorfizmlerine rastlanmıştır (2,131). Aktif Behçet hastalarında lenfositlerden spontan TNF- α , IL-6 ve IL-8 salgılandığı tespit edilmiştir (6). Hastaların serum ve aköz hümoründe TNF- α düzeyleri yüksek bulunmuştur (132). TNF- α ile beraber IFN- γ nitrikoksit üreterek vasküler endotelial hücreler üzerinde sitotoksik etki yaratır (133). Oklüzif vaskülit ile giden Behçet üveitinde TNF- α ile beraber IFN- γ ’nın intraoküler seviyelerinin artmış olarak bulunması Behçet üveitindeki vasküler endotelial hücre hasarını açıklayabilmektedir. Aközde TNF- α ile beraber IFN- γ artışı, Behçet üveitinde monositlerin intraoküler infiltrasyonundaki artışı açıklayabileceği bildirilmiştir (134).

Çözülebilir TNF reseptör-75 düzeylerinin yüksek ve hastalık aktivasyonu ile uyumlu bulunması, TNF- α üreten hücrelerin sayısının aktif dönemlerde artması ve deneysel modellerde TNF- α ’nın üveit gelişiminde rolü olduğunun gösterilmesi, anti-TNF ajanlarının BH tedavisinde kullanılmasını gündeme getirmiştir (135). Majör proinflamatuvar bir molekül olan TNF- α ’nın BH’nda anahtar bir role sahip olabileceği anti-TNF ajanların hastalıkta başarıyla kullanılmasıyla da desteklenmiştir (131).

IL-10: IL-10, makrofajlardan ve T hücrelerinden (T düzenleyici hücreler ve Th2) salgılanan, konak immün yanıtı inhibe eden bir sitokindir (antiinflamatuvar). Aktive makrofajların ve dendritik hücrelerin inhibitörüdür. Bu nedenle doğuştan edinilmiş bağışıklık reaksiyonlarını ve hücre aracılığı ile olan bağışıklığı kontrol eder. Aktive makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından IL-12 üretimini inhibe eder. IL-12, IFN- γ salınımının önemli bir uyarıcı ve hücre içi mikroplara karşı bağışıklık yanıtlarının önemli bir uyarıcıdır. IL-10 bu reaksiyonların tümünü bloke eder. Makrofajlarda ve dendritik hücrelerde sınıf II MHC moleküllerinin ifade edilmesini inhibe eder. Böylece T hücre aktivasyonunu inhibe eder ve hücre aracılığı ile bağışıklık yanıtı sonlandırır. Yapılan bir çalışmada IL-10 düzeyinin spesifik olmayan

ön üveit hastalarında azaldığı, Fuchs heterokromik iridosiklitinde yükseldiği bildirilmiştir (136). Mantas ve diğ. 24 Behçetli hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, aktif ve inaktif Behçetli hastaların serum IL-4 ve IL-10 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulamamışlardır (137). Benzer şekilde aktif üveit tanısı konan 41 hasta ile remisyonda olduğu tespit edilen 20 hasta ve 18 sağlıklı birey arasında serum IL-4, IL-10, IL-2 düzeyleri arasında anlamlı fark bulamamışlardır (138). Diğer bir çalışmada, Behçet üveiti olan olguların aköz hümör ve serumlarında tespit edilemeyecek derecede az IL-10 düzeylerinin olduğu ve deprese olmuş IL-10 düzeylerinin Behçet üveitindeki sebat eden intraoküler inflamasyonun bir parçası olduğu bildirilmiştir (139-141).

IL-18: IL-18, IL-12 ile birlikte hücre aracılı immünitinin uyarıcısı olarak etkinlik gösteren ve makrofajlar tarafından lipopolisakarid ve diğer mikrobiyal maddelere karşı yanıtta salgılanan bir sitokindir. NK hücrelerden ve T hücrelerinden IL-12 ile beraber IFN- γ üretimini uyarır ve IL-18'in aşırı üretilmesi şiddetli inflamatuvar hastalıklara neden olabilir (142). IL-12, IL-18, periferik CD4+ ve CD8+ T hücrelerinden salınan ve otokrin etki ile T hücre çoğalmasımı ve antijen ile aktifleşmiş T hücrelerinin apoptotik ölümünü arttıran IL-2, periferik CD4+ ve CD8+ T hücrelerinden salınan IFN- γ düzeyleri BH'nda yüksek bulunmuştur (143-145). Behçet hastalarında IL-18'in artmış serum düzeylerinin hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (146,147). IL-18 yetersizliği olan farelerde kollajenin tetiklediği artrit, deneysel otoimmün ensefalomyelit, deneysel diyabet gibi Th1 ile ilişkili immün hastalıkların şiddetinde ve sıklığında azalma gösterilmiştir. Çeşitli immün ve immün olmayan hastalıklarda IL-18 seviyesinin arttığını gösteren çalışmalar, inflamatuvar hastalıklar ile IL-18 promoter -607C/A veya -137 G/C polimorfizmi arasında ilişki olasılığına yönlendirmektedirler. Yapılan bir çalışmada Behçet hastalarında -607 CC genotip sıklığı ve -607C allel sıklığında anlamlı bir artış izlenmiş olup, aynı hasta grubunda yapılan haplotip analizinde Behçet hastalarında -607A/-137G haplotip ve -607A/-137G homozigot haplotipin kontrol grubuna göre anlamlı derecede az olduğu gösterilmiştir (148). -607 C/-137G homozigot haplotipin anlamlı derecede yüksek olduğu Behçet hastalarında, polimorfizm ile hastalığın kliniği ve bulguları arasında ilişki olmadığı, bu polimorfizmin hastalığın başlama

yaşı ile ilişkili olduğu ve IL-18 promoter geninin Behçet hastalığında şüpheli bir gen olabileceği bildirilmiştir (148).

Sonradan edinilmiş bağışıklıkta rol alan sitokinler, Th1' den salgılanan IL-1, IFN- γ , TNF β ile Th2' den salgılanan IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-14'dür.

IL-4: IL-4 esas olarak CD4+ T hücrelerinin Th2 alt grubu tarafından yapılan bir sitokindir. IL-4'ün fonksiyonları arasında, naif CD4+ prekürsörlerinden Th2 hücrelerin farklılaşmasını sağlamak, B hücrelerinden IgE yapımını uyarmak ve IFN- γ bağımlı makrofaj fonksiyonlarının baskılanmasıdır. Behçet hastalarında IFN- γ /IL-4 oranında yükselme gözlenmiştir (149,150-152).

IL-8: IL-8 damar endotel hücrelerinden salınan, inflamatuvar reaksiyonda dolaşımında bulunan lökositlerin damar endotel hücrelerine tutunmasında aktif rol oynayan bir sitokindir. BH'nda lokal immünkompleks ve kompleman birikimi ve IL-8 etkisiyle nötrofil granülositlerin toplanmasına bağlı olarak nekrotizan lökositoklastik vaskülit gelişir. Bir C-X-C kemokini olan ve nötrofillerin aktivasyonunu sağladığı bilinen IL-8'in BH'nda artmış olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (62,153,154). IL-8 değişik nedenlere bağlı üveit olgularının vitreus örneklerinde artmış olarak tespit edilmiş ve doku hasarına çok önemli bir katkısı olduğu vurgulanmıştır (155). Behçet dışı idyopatik ön üveitli olguların aköz örneklerinde de IL-8, MCP-1, IP-10, RANTES ve MIP-1'in aktif dönemde arttıkları gösterilmiştir (156). Yapılan bir diğer çalışmada BH'nda TNF- α , IL-6, sIL-2R ve IL-8 serum seviyelerinde artış olduğu, bu sitokinlerin hastalık aktivitesiyle ilişkili olduğunu bildirilmiştir (157). Bozkurt ve diğ. tarafından yapılan bir çalışmada GRO- α , MCP-1 ve RANTES düzeyleri aktif ve inaktif Behçet üveitli hastalarda, behçet dışı aktif üveitli hastalarda ile sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (158). IL-8 düzeyleri ise aktif ve inaktif Behçet üveitli hastalar ile Behçet dışı aktif üveiti olan hastalarda, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (158).

IFN- γ : IFN- γ esas olarak yardımcı T hücrelerinin Th1 alt grubu tarafından üretilen bir sitokindir. Bu madde makrofaj, NK hücreleri ve nötrofillerin fagositik etkinliğinin en güçlü etkinleştiricilerinden biridir. Genel olarak immün yanıtta efektör bir sitokin olarak görev yapan IFN- γ , nitrik oksit ve reaktif oksijen ara

ürünlerinin sentezini uyararak makrofajların mikrobiyal fonksiyonlarını arttırır. ASH üzerinde sınıf I ve sınıf II MHC moleküllerinin ifade edilmesini uyarır. Vasküler endotelial hücrelerinin aktivatörüdür, TNF- α 'nın endotelial hücreler üzerine birçok etkisini arttırır, böylece T lenfositlerin adezyonu ve infeksiyon bölgesine göçü kolaylaştırır. B hücrelerini bazı IgG alt sınıflarının oluşumu için indükler. IFN- γ ile indüklenen IgG altgrupları fagositlerin üzerindeki Fc γ reseptörlerine bağlanır ve kompleman aktivasyonuna neden olur. Bu mekanizmalar opsonize mikropların fagositozunu hızlandırır. CD4+ T hücrelerin Th1 alt gruplarına farklılaşmasını indüklerken Th2 hücrelerine farklılaşmasını engeller. Araştırmalara göre Th1 baskınlığı gözlenen BH'da IFN- γ /IL-4 oranında artış saptanmıştır (149,150-152). Yapılan bir çalışmada tedavi edilmemiş aktif Behçet hastalarının CD4+ ve CD8+ kaynaklı IL-2 ve IFN- γ düzeyleri inaktif olanlara göre yüksek saptanmıştır (147). Ayrıca tedavi edilmemiş aktif Behçet hastaları, tedavi edilmemiş inaktif Behçet hastaları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, CD4+ ve CD8+ kaynaklı IL-4 düzeyleri arasında fark saptanmıştır (145). İmmünesupresif tedavi altında (siklosporin-A ve FK-506) olan aktif Behçet hastalarına göre tedavi altında olan inaktif Behçet hastalarında CD4+ ve CD8+ kaynaklı IL-2 ve IFN- γ düzeylerinde azalma izlenmiştir (145). BH'nda kullanılan immünesupresif olan FK-506 ile siklosporin-A IL-2 ve diğer sitokinleri kodlayan genlerin ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (159). İmmünesupresyon altında 1. aylarında başarılı şekilde tedavi edilen Behçet hastalarında IL-2 seviyelerinin azaldığı ve bu durumun tedaviden sonra 6. aya kadar devam ettiği gösterilmiştir (145).

IL-2: IL-2, antijenle uyarılan T lenfositler için bir büyüme faktörüdür ve antijenle etkileştikten sonra T hücrelerinin çoğalmasından (klonal genişleme) sorumludur. Üretildiği hücre üzerine etkindir (otokrin büyüme faktörü). Hamazaoui ve diğ. aktif BH olan hasta grubunda çözülebilir (soluble) IL-2 reseptörlerinin (IL-2R) arttığını göstermiştir (160). Yosipovitch ve diğ. yaptığı bir çalışmada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Behçet hastalarında serum çözünebilir IL-2R ve çözünebilir IL-1 β seviyelerinin arttığını bildirmiştir (161).

IL-17: Adaptif immünitinin göz alıcı özelliklerinden biri de lenfosit öncüllerinin (prekürsörlerinin) antijen sayesinde farklılaşarak efektör hücrelere dönüşmeleridir. Naif hücreler, efektör hücrelere dönüştüklerinde yeni sitokin

profilleri kazanırlar. Aynı zamanda bu efektör hücreler, patojen ile aktive olmuş doğal immün sistem hücrelerinin ürettikleri sitokinler tarafından da yönlendirilirler. Efektör T hücre gelişimi ve fonksiyonları hakkında bildiklerimiz sitokinler ile ilişkilidir. Th1-Th2 paradigmasının yanı sıra son zamanlarda CD4 efektör T hücrelerinin yeni bir dizisi Th17 hücreleri tanımlanmış durumdadır (162). Th1 hücreleri daha çok intrasellüler patojenlerin temizlenmesinde, Th2 hücreleri parazitik helminthlerin temizlenmesinde görevli iken Th17 hücrelerinin ise ekstrasellüler bakteriler ve bazı mantarlardan korunmada görev yaptıkları düşünülmektedir (163). Th17 hücreler, Th1 ve Th2'lerden sonra tanımlan CD4 efektör hücreler olsalar da IL-17 ile ilişkili tek hücre grubu değildir. IL-17 aile üyeleri, CD8 T hücreleri, NK hücreleri, $\gamma\delta$ T hücreleri ve granüositler tarafından da üretilebilirler (164). IL-17 sitokin ailesinin şu an IL-17A (CTLA-8) , IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (IL-25), IL-17F olmak üzere 6 üyesi olduğu bilinmektedir (165-169). Yeni bulunan bu ailenin, adaptif ve doğal immünite kordinasyonunu sağladığı düşünülmektedir. 1995'de ilk bulunan üye IL-17A'dır ve fare sitotoksik T lenfositinden izole edildiğinden dolayı cytotoxic T lymphocyte associated-8 (CTLA-8) olarak adlandırılmıştır (170,171). IL-17E'ye ise IL-25 de denilmektedir.

Sitokinlerin çoğunluğu omurgalı evrimi ile oluşmuştur. IL-1R ile ilişkili moleküller (örn: TLR) ve TGF- β dışında omurgasızlarda sitokinlere rastlanmamaktadır. IL-17 ailesi homologlarına bakılan bütün omurgalılarda rastlanmıştır. IL-17R homologuna çok eski bir çenesiz balıkta rastlanmıştır. Bu da oluşan ilk sitokin ailesi olduklarını düşündürmektedir. IL-17 ekspresyonu TGF- β ve IL-1 ailesi üyeleri ile düzenlemektedir. Bunlar doğal immünitenin ilkel bileşenleridir. Bu nedenle IL-17'nin doğal ve adaptif immünite arasında geçişi sağladığı düşünülmektedir.

IL-17 ailesi üyelerinin hücrel kaynaklarının her biri farklıdır. IL-17A ve IL-17F başlıca hafıza CD4 T hücrelerinden salgılanmaktadır, bunun yanı sıra CD8 T hücreleri (172,173), $\gamma\delta$ T hücreleri (174), NK hücreleri, eozinofil (175), monosit (176) ve nötrofillerin (172) de bu sitokinleri salgıladıkları gösterilmiştir. Her iki sitokin de birbiri ile uyumlu olarak salgılanmaktadır (163). Bunun nedeni olarak genomik açıdan yakın olmalarının yanı sıra efektör T hücre gelişimi sırasında beraber iş yapmaları gösterilmektedir. IL-17D dinlenme halindeki CD4 T

hücrelerinden ve düşük düzeyde B hücrelerinden salgılandığı düşünülmektedir ve fonksiyonu bilinmemektedir. IL-17B ve IL-17C lenfosit ürünü değıllerdir. Ancak indirekt olarak IL-17A ve IL-17F tarafından ortama toplandıkları düşünölmektedir ve bu sitokinler ile ortak fonksiyonları vardır. IL-17E (IL-25) Th2 yanıtı ile bağlantılıdır ve Th2 dizileri tarafından oluşturulmaktadır.

IL-17A ve IL-17F çok sayıda hücreden çok sayıda proinflamatuvar sitokin ve kemokin ekspresyonunu sağlamaktadır (163). IL-17RA'nın dokularda geniş ekspresyonu vardır. İlk çalışmalarda IL-17A'nın fibroblastlarda IL-6 ve IL-8 (CXCL8) oluşumunu sağladığı gösterilmiştir. İlerleyen çalışmalar çok sayıda hücreye proinflamatuvar etki ettiğini göstermiştir. Bu hücreler; epitelyal ve endotelyal hücreler, fibroblastlar, osteoblastlar, monosit/makrofajlardır. Hedef hücre popölasyonuna göre IL-17A ve IL-17F CSF'lerin (örn: GM-CSF ve G-CSF), CXC kemokinlerin (örn: CXCL8, CXCL1 ve CXCL10), metalloproteinazların, IL-6'nın, antimikrobiyal peptidlerin, akut faz proteinlerinin (CRP), müsünlerin ifade edilmesini sağlamaktadırlar (163). Bu sayede nötrofilleri harekete geçirip, toplanmalarını ve aktivasyonlarını uyarmaktadırlar. T hücrelerinden salgılanan IL-17A ve IL-17F nötrofil havuzunun oluşumunu ve nötrofillerin toplanmalarını sağlayarak adaptif immüitenin doğal immüiteni kordine etmesini sağlamaktadır. IL-17E (IL-25), IL-17A ve IL-17F'den farklı olarak CC kemokinlerinden CCL5(RANTES) ve CCL11(Eotaxin 1) ifade edilmesini sağlamaktadır ve bu kemokinler eozinofillerin toplanmasında ve Th2 sitokinlerin ifade edilmesinde önemlidirler (177). Yeni çalışmalarda IL-25'in Th2 tipi alerjik yanıtlarda doğal immüiteni hücrelerini hedef aldıklarını göstermiştir. Yani IL-17 ailesi üyelerinin PMN lökositleri düzenlemede önemli görevleri vardır. IL-17A ve IL-17F ile nötrofil yanıtını, IL-25 ile eozinofil ve bazofil yanıtını düzenlemektedir. Th17 hücrelerinin fonksiyonu tam olarak bilinmese de ekstrasellüler patojenlere karşı savunmada rol oynadıkları düşünölmektedir. Th1 ve Th2 tip immüitenin tam olarak temizleyemediğı ekstrasellüler patojenleri bu hücreler temizlemektedirler. Efektör hücre tipleri patojenlerin temizlenmesini sağlarlarken, bu hücrelerin düzensiz ekspansiyonları immün patolojiye neden olmaktadır Fazla Th1 yanıtı çeşitli otoimmün ve inflamatuvar bozukluklara, Th2 yanıtının fazlalığı ise alerji ve astım gibi atopik hastalıklara, Th17 hücrelerin ise yüksek derecede proinflamatuvar özelliğe sahip oldukları, hayvan modellerinde ise

oto-antijenlere spesifik olan Th17 hücrelerinin şiddetli otoimmün hastalıklara neden olduğu gösterilmiştir.

Otoimmün hastalıklarda önemli rolleri oldukları düşünülmektedir. Romatoid artrit, inflamatuvar barsak hastalığında, multiple skleroziste, BH ve Vogt-Koyanagi-Harada hastalığına bağlı üveitlerde önemli bir proinflamatuvar sitokin olan IL-17'nin hastalık süresince hedef dokularda ifade edilmelerinin arttığı saptanmıştır (62,178,179,180-182). Yapılan bir başka çalışmada IL-23p19 mRNA, IL-23, IL-17 ve IFN- γ ekspresyonlarının BH'na bağlı aktif üveit hastalarında belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir (183). Ek olarak BH'na bağlı aktif üveit bulgusu olmayan hastalardan ve kontrol grubundan farklı olarak BH'na bağlı aktif üveiti olan hastalarda IL-17 salgılayan CD4+CD45RO⁺ ve CD8CD45RO⁺ T hücrelerinin sıklığında artış izlenmiştir (183). IL-2 ailesi üyesi olan IL-23'ün ise bazı inflamatuvar otoimmün hastalıkların oluşmasında önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Hem insan çalışmalarında hem de hayvan modellerinde IL-23'ün, IL-17 üretimini arttırdığı gözlemlenmiştir (183). Bu çalışmalara göre IL-23/IL-17 yolunun BH'nın gelişmesinde rol oynadığı düşünülmektedir.

2.2 Klinik Bulgular

2.2.1 Göz Tutulumu:

Behçet hastalarının yaklaşık %70'inde inflamatuvar göz bulguları mevcuttur (184). Göz bulguları, hastaların %10'unda BH'nın ilk bulgusu olarak ortaya çıkabilmektedir (185). Fakat hastalık başladıktan sonra göz tutulumu için en riskli dönem ilk iki yıl olarak bilinmektedir. BH'nın başlangıcından 5 yıl sonra oküler bulguların izlenmesi oldukça nadirdir. Hastalık sıklıkla bilateral tutulum göstermekle birlikte hastaların %6'sında unilateral tutulum izlenmektedir (186). Göz tutulumu izlenen erkeklerin %70'inin yaş ortalaması yirmibeşin altındadır.

Hastalığın belki de en ağır bulguları gözde izlenmekte ve görme kayıpları ile birlikte hem hastalar hem de çevresi için önemli sorunlar oluşmaktadır. 1980'lerde, semptomlar başladıktan sonra 5 yıl içinde hastaların %20-50 gibi yüksek bir oranında

körlük geliştiği bildirilmiştir (187). Behçet hastalarında izlenen göz tutulumu sıklıkla tıkayıcı tipte nekrotizan retinal vaskülit ile beraber tekrarlayıcı non-granülatöz üveit şeklinde olmaktadır. Göz bulguları tek taraflı, ön üveayı etkileyen tutulum şeklinde başlamakta (%50-87), fakat zaman içinde hastalarda iki taraflı kronik tekrarlayan posterior veya panüveit atakları şeklinde devam etmektedir (%75). Literatürde yer alan en geniş hasta serisinde BH'na bağlı oküler tutulumu olan 880 hastanın 1567 gözü değerlendirilmiş ve en sık rastlanan üveit tipleri sırasıyla panüveit (%60.2), posterior üveit (%28.8), ve ön üveit (%11.7) şeklinde bulunmuştur (11). En sık üveit tipleri olan posterior veya panüveit bu hastalığın ciddi bulgularındandır ve etkili bir tedaviye rağmen tekrarlayan ataklara bağlı olarak şiddetli ve kalıcı görme azalmasına neden olabilmektedirler. Bu nedenle hastalığın klinik bulgularının tanınması ve tedavi edilmesi çok önemlidir.

Ön Segment Tutulumu: Behçet hastalarının yaklaşık %10'unda yalnız ön üveit bulguları olabilmektedir. En dramatik bulgusu hipopiyonlu iridosiklittir (188). BH'nın ilk tanımlandığı yıllarda yoğun olarak bildirilen bu bulgu gelişen yeni tedavi seçenekleri ile birlikte giderek daha az görülmektedir. Ön kamarada inflamasyon non-granülatöz karakterdedir. En sık başvuru şikâyetleri kızarıklık, göz ve çevresinde ağrı, fotofobi ve bulanık görmedir. Biyomikroskopik muayenede konjonktival kızarıklık, siliyer enjeksiyon, ön kamarada hücre, bulanıklık ve keratik presipiteler tespit edilmektedir. Hastalarda ön üveit tespit edilse bile hipopiyon eğer az ise kolaylıkla gözden kaçabilir, çünkü buradaki hücreler serbest ve hareketlidir, baş hareketleri ile kolaylıkla yer değiştirebilir ve hipopiyon açıda saklanabilir. Hastalık sürecinde kronik inflamasyon görülmemektedir. İnflamasyon hızlı ve patlayıcı tarzda ortaya çıkmaktadır. Ön segmentte tekrarlayan inflamasyon arka sineşi, iris atrofi ve periferik ön sineşi (PÖS) gibi kalıcı yapısal değişikliklere neden olabilmektedir. Çok nadiren episklerit, sklerit, subkonjonktival kanama, filamenter keratit, konjonktival ülserler ve korneal immün halka da görülebilmektedir (188).

Arka Segment Tutulumu: BH'nda arka segment tutulumunun en önemli bulguları vitritis ve retinal perivaskülitir (özellikle venlerde periflebit, daha nadir olarak arterlerde periarterit şeklinde). BH'nda izlenen vaskülit, küçük ve orta boy arterleri ve venleri etkileyen tıkayıcı, nekrotizan bir vaskülitir. Aktif periflebit damar etrafını yama tarzında saran ve düzensiz çıkıntılar şeklinde uzanan beyaz yapılar

şeklinde görülmektedir ve maküler iskemiye yol açan damar tıkanmasıyla sonuçlanabilmektedir (189). Venlerde kılınma arterlerden önce başlamaktadır. Preflebit ilerleyip tromboanjitis obliterans şekline dönüştüğünde retinada ödem (%10-20) ve eksudalar oluşmaktadır. Retina ödemi oluştuğunda sıklıkla makula bölgesinde yerleşmektedir ve makula ödemi (%16-45) BH'ında en sık rastlanan arka segment bulgularından biridir. Tıkayıcı tipte vaskülitte bağlı olarak gelişen periferik iskemiye ikincil periferik retinal neovaskülarizasyon gelişimi yanı sıra optik disk neovaskülarizasyonu, vitreus kanamaları, traksiyonel dekolman gibi komplikasyonlar da gelişebilmektedir (189). Behçet hastalarının %25'inde optik sinir inflamasyonu mevcuttur ve optik diskin sınırları bulanık ve/veya hiperemik olarak izlenebilmektedir. Optik sinir ödemi nadirdir ve genellikle optik sinir arteriollerinin akut mikrovaskülit sonucunda oluşmaktadır. Hastalığın ilerleyen döneminde optik sinir demiyelinizasyonu ortaya çıkmakta ve optik atrofi gelişebilmektedir. Diğer bir bulgu retinada yüzeysel yerleşimli tek veya çok odaklı, beyaz-sarı renkli, özellikle erkek hastalarda damar tıkanıklığına neden olabilen retinit odaklarıdır.

Oküler komplikasyonlar: BH'nın en sık oküler komplikasyonu hastaların %44.5'inde görülen kistoid makula ödemidir. Tedaviyle gerilemekte veya yapısal değişikliklere neden olarak kalıcı maküler hasara yol açabilmektedir. Retina içi kistoid yapılar parsiyel veya tam kat maküler delik (%2.6) oluşumuna neden olabilmektedir (190). Behçet hastalarında göz içi basıncı (GİB), aköz sekresyonunun azalmasına bağlı düşebilir veya inflamatuvar hücrelerin trabeküler ağı tıkanması, trabekülit, posterior sineşi-seklüzyo pupilla, PÖS, neovasküler glokom, uzun süreli steroid kullanımı nedeniyle artabilmektedir (191). Hastaların %11'inde ikincil glokom gelişimi görülebilmektedir (192). İkincil glokom gelişen hastalarda patogeneze yarısında steroid kullanımı veya inflamasyona bağlı açık açılı glokom, ¼'ünde PÖS'e bağlı parsiyel açı kapanması glokomu, 1/5'inde pupiller blok ve PÖS'nin eşlik ettiği açı kapanması glokomu ve %10'unda ise neovasküler glokom şeklinde olabilmektedir (2).

Katarakt gelişimi (%36) oküler inflamasyon veya uzun süreli topikal veya sistemik steroid kullanımına bağlı olarak gelişmektedir. Çoğunlukla arka kapsüler katarakt izlenmesine rağmen ön subkapsüler katarakt veya kortikal katarakt da görülebilmektedir.

İleri hastalarda, periflebite bağı damar tıkanması (ven dal tıkanıklığı (%6.6) gibi), gliotik damar kılıflanması, iris deformitesi veya atrofisi, maküla dejenerasyonu (%19.4), epiretinal membran oluşumu (%17), retinal iskemi, disk ödemi, papillit, optik atrofi (%23.6), iris, retina veya optik diskte neovaskularizasyon (%4.3), intravitreal kanama (%2.3), traksiyonel retina dekolmanı (%1.4) da gelişebilmektedir (193-195).

Hastalığın son döneminde tekrarlayan ataklara ve komplikasyonlara bağı optik atrofi, damarlarda incelme, daralmış, skleroze olmuş, kılıflanmış beyaz tel, sicim görünümlü damarlar, çeşitli derecelerde koryoretinal atrofi ve skarlaşmanın eşlik ettiği difüz retinal atrofi gelişmektedir. Bazı hastalarda tedavi edilmezse ftizis bulbi meydana gelir, enükleasyon gerekebilmektedir (193-195)

2.3 Behçet Hastalığına Bağı Üveitin Tedavisi

BH'ında tedavi planlanırken dikkat edilmesi gereken ana hedefler, ağrının kontrol edilmesi, fonksiyonel bozukluğu düzeltmesi, aktif inflamasyonu kontrol altında tutması, atakların sayısı ve ağırlığını azaltması ve hedef organ hasarını önlemesinden oluşmaktadır.

Üveitin tedavisi; topikal tedavi ve sistemik tedaviden oluşmaktadır. BH'nda uygulanan tedaviler içerisinde topikal ve sistemik kortikosteroidler (196,197), topikal midriyatik ve sikloplejik ajanlar (198), antimetabolitler, alkilleyici ajanlar, T-hücre inhibitörleri ve biyolojik ajanlar bulunmaktadır.

2.3.1 İmmüsupresif ajanlar

İmmüsupresif ilaçlar 1960'lı yıllardan itibaren BH'ına bağı üveitin tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. İlacın göz inflamasyonunu kontrol altına almakta ve ünilateral hastaların bilateral hale gelmesini önlemekte etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu ajanların kullanımı ile sistemik kortikosteroid dozu da azaltılabilmektedir. Oküler bulgusu olan BH'nda kullanılan immüsupresif ajanlar; azatioprin, klorambusil, siklofosfamid, metotreksat, siklosporin A, takrolimus ve mikofenolat mofetildir.

2.3.1.1 Azatioprin

Pürin sentezini inhibe ederek, hücrel ve humoral immüneyi baskılar ve antiinflamatuvar etki gösterir. Bu ilaçla ilgili ilk plasebo kontrollü, çift kör çalışma 1990 yılında yayınlanmıştır (199). Göz, oral ve genital ülser, artrit ve tromboflebit tedavisinde etkilidir. İlaç dozu 2 veya 3 mg/kg/gün şeklindedir. Bu dozda tek başına veya diğer immünsüpresif ajanlarla kombine kullanıldığında oküler inflamasyonu baskıladığı, görme kaybını ve hastalık ilerlemesini engellediği, artrit ve orogenital lezyonlar üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (199). Özellikle göz tutulumu başlangıcından itibaren ilk 2 yıl içinde başladığında görme prognozu üzerinde daha iyi etkileri olduğu gösterilmiştir (199). Azatioprin-kortikosteroid kombinasyonunun, pulmoner arteryal anevrizmanın radyolojik ve klinik açıdan gerilemesinde etkin olduğu gösterilmiştir (200). Mukokutanöz bulguların baskın olduğu hastalıkta azatioprin tek olarak kullanılması nadir olmakla birlikte papülopüstüler lezyonlara etkili değildir (199). Kemik iliği süpresyonu, hepatoksisite, ikincil malignansi, gastrointestinal rahatsızlık gibi yan etkileri mevcut olduğu için her ay tam kan sayımı, üç ayda bir de karaciğer fonksiyon testleri monitorize edilmelidir.

2.3.1.2 Siklosporin A

Bu ajanın esas etkisi güçlü immünmodulatuvar ve antiinflamatuvar olmasından kaynaklanır. Behçet üveitinde tercih edilen bir ilaçtır. Primer etkisi T lenfosit aktivasyonu inhibe etmektir. Kortikosteroid ve azatioprin gibi konvansiyonel immünsüpresiflere dirençli görmeyi tehdit edici oküler tutulumu olan Behçet hastalarında tercih edilmektedir (202). Akut atak ve nükslerin önlenmesinde 3-5 mg/kg/gün dozlarında tek başına veya kortikosteroid ve azatioprin ile kombine edilerek kullanılabilir. Siklosporin-A tedavisinde, doz azaltılması ve kesilmesi esnasında inflamasyon tekrarlayabilmektedir (rebound etki). Bu nedenle hastaların uzun süre tedaviye devam etmesi gerekebilmektedir. Fakat uzun süre siklosporin A tedavisi sonucunda nörolojik yan etkiler, hirsutizm, gingival

hiperplazi, gastrointestinal rahatsızlık, hiperglisemi, hepatotoksisite, nefrotoksisite, hipertansiyon izlenebilir (202). Bu nedenle kan basıncı, tam kan sayımı, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri 6 hafta aralıklarla monitorize edilmelidir. Nörotoksik yan etkileri nedeniyle de nörobeçet hastalarında kullanımı önerilmemektedir (203).

2.3.1.3 Siklofosfamid

Hızlı etkili alkilleyici bir ajandır. Gerek oral olarak gerekse intravenöz yüksek doz şeklinde BH'nın tedavisi için kullanılmış, özellikle sistemik vaskülit ve gözdeki inflamasyonu kontrol etmekte etkili olduğu bildirilmiştir. İlaç 2-3 mg/kg/gün dozlarında veya 750-1000 mg/m²/ay olarak yüksek doz pulse şeklinde kullanılır. Siklosporin A ile intravenöz siklofosfamid tedavisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada özellikle tedavinin ilk 6 ayda siklosporin-A Behçet üveitini kontrol altına almakta daha etkili bulunmuş ancak uzun dönemde her iki ilaç arasında bir farklılık belirlenmemiştir (204). Pulmoner fibrozis, renal toksisite, hemorajik sistit gibi yan etkileri olması ve mesane kanseri riski çok yüksek olduğundan kullanımı oldukça azalmıştır (2).

2.3.1.4 Klorambusil

Yavaş etkili alkilleyici bir ajandır. 2 mg/gün dozunda başlanır, 5-12 mg/gün dozlarına kadar çıkarılır. Azatioprin gibi kortikosteroidlerle kombine edildiğinde uzun dönemde görme prognozunu oldukça artırır. Özellikle santral sinir sistemi tutulumunda ve göz tutulumunda kortikosteroidlerle kombine kullanılabilir (194). Fakat siklofosfamid gibi yan etkileri nedeniyle kullanımı oldukça azalmıştır. Kısa süreli klorambusil kullanımı ile refrakter Behçet üveitli hastaların %75'inde hastalığın kontrol altına alındığı bildirilmiştir (205).

2.3.1.5 Takrolimus

Tacrolimus (FK506), siklosporin gibi T lenfosit aktivasyonu inhibe etmektedir. Japon FK506 çalışma grubunun yaptığı bir çalışmada, inatçı üveiti olan 53 hastanın 40'ında

(%75) tatminkar sonuçlar izlendiği ve bu hastaların 41'inin üveiti BH'na bağlı olduğu rapor edilmiştir. Siklosporin tedavisine dirençli posterior üveit bulgusu bulunan Behçet hastalarında, tacrolimus tedavisinin başarılı şekilde kullanılabileceği belirtilmiştir (206). Takrolimusa bağlı yan etkilerin görülmesi doz ve tam kan konsantrasyonuna bağlıdır. Böbrek fonksiyonlarında bozukluk, yüksek tansiyon, insomnia, hiperglisemi, ellerde ve ayaklarda uyuşukluk ve karıncalanma, tremor, baş ağrısı gibi yan etkileri mevcuttur.

2.3.2 Biyolojik ajanlar

2.3.2.1 İnterferon α -2a

İnterferonlar insan ve diğer hayvan hücreleri tarafından viral enfeksiyondan sonra üretilen heterojen bir grup glikoproteindir. Bunlar viral protein yapımını bloke ederek virusların üremesini inhibe etmektedir. İnterferonlar, lökosit, fibroblast ve lenfosit gibi kaylandıkları hücreye göre 3 gruba ayrılmaktadır. Bunlara sırasıyla alfa, beta ve gama interferon da denilmektedir.

Alfa interferon (IFN- α), doğal ve adaptif immünite arasında köprü görevi gören başlıca sitokindir. IFN- α , pDC, lenfosit, monosit, makrofajlar, nöron ve glia hücrelerinden salgılanır. Başlıca kaynağı ASH'dir ve özellikle pDC'den immün yanıtın erken aşamalarında salgılanmaktadır. Th1, CD8+ sitotoksik T hücrelerinin ve NK'in viral enfeksiyon ile savaşmalarını sağlamaktadır. Ayrıca IFN- α 'nın T hücreleri üzerinde antiproliferatif ve preapoptotik etkileri olduğunda gösterilmiştir. IFN- α 'nın antiinflamatuvar sitokinlerin uyarılması yolu ile inflamasyonu baskıladığı bilinse de inflamatuvar sitokinlerin de salınımını arttırdığı gösterilmiştir. Virüslerin temizlenmesinde etkin olan interferonlar aynı zamanda otoimmünitede de rol oynayabilmektedir. pDC'ler otoimmünitenin baskılanmasını sağlayan Treg hücrelerinin oluşumunu da sağlamaktadır. Dolayısıyla viral enfeksiyon sırasında pDC'lerin aktivasyonu, Treg hücrelerinin sayılarının ve fonksiyonlarının atırılması ve organa özgü otoimmünitenin engellenmesine katkıda bulunur.

Antiviral, antineoplastik ve immünomodülatör etkiye sahip olan bu biyolojik ajan, konvansiyonel immünsupresiflere cevapsız Behçet üveitinin tedavisinde son yıllarda kullanılmaya başlanmıştır (13-20). Fakat halen kullanım dozu konusunda görüş birliği yoktur. IFN α -2a tedavisi ile ilgili ilk ve en geniş seri Kötter ve diğ. tarafından bildirilmiştir (13). IFN α -2a tedavisinin Behçet üveitli hastalarda uzun dönem etkinliğini gösterdikleri bu çalışmaya 50 hasta dahil edilmiştir. Monoterapi olarak veya en fazla 10mg/gün prednizon ile kombine edilerek, IFN α -2a 6 milyon internasyonal ünite (MİÜ) dozunda 28 gün kullanıldıktan sonra (indüksiyon) klinik seyire göre IFN α -2a dozu arttırılmakta veya azaltılmaktadır. Ortalama 36 aylık gözlem süresinde, hastaların %90'dan fazlasında iyi cevap alınmış, %82'sinde atakların tamamen baskılandığı ve %40'ında tedavi kesildikten sonra da remisyonun korunduğu bildirilmiştir (13). Tugal-Tutkun ve diğ., Kötter ve diğ. tarafından bildirilen interferon tedavi protokolü uygulayarak yaptıkları çalışmada, 44 hastanın retrospektif değerlendirilmesinde, hastaların %91'inde tam ve kısmi yanıt alındığı, %36'sında tedavi sırasında atak görülmediği, %20'sinde tedavi kesildikten sonra remisyonun korunduğu, atakların tam olarak baskılanamaması durumunda bile şiddetin azalması nedeniyle görmenin korunabildiği bildirilmiştir (15). Bodaghi ve diğ. BH ve diğ. üveit antiteleri için uyguladıkları interferon tedavisi sonucunda, BH'na bağlı üveitlerin %82.6'sında, diğ. hastalıklara bağlı üveitlerin %59'unda üveitin kontrol altına alındığını bildirmişlerdir (207). Ortalama 30.6 ay sonra hastaların %50'sinde remisyon izlenmiştir (207). Retrospektif bir çalışmada, Wechsler ve diğ. 8 hastaya ait erken sonuçlarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada tedavinin başından itibaren IFN α -2a, 3 MİÜx haftada 3 kez dozunda uygulanmıştır. 22 hafta boyunca takip edilen hastaların tümünün oküler inflamasyonu kontrol altına alındığı ve görme keskinliğinde artış izlendiği bildirilmiştir (16). Yine yakın zamanda yapılan bir çalışmada Gueudry ve diğ. ağır Behçet üveitinin kontrolünde düşük doz IFN α -2a kullanımını rapor etmişlerdir. Burada IFN α -2a haftada 3 kez 3 milyon ünite dozunda kullanılmıştır. Üveitin kontrolünü sağlamakla birlikte bu tedavi dozunun ancak bazı hastalarda uzun dönem remisyon sağladığı rapor edilmiştir (18). Benzer şekilde kliniğimiz tarafından yapılan bir çalışmada Önal ve diğ. ağır Behçet üveitinin kontrolünde düşük doz IFN α -2a kullanımını rapor etmişlerdir (19,20). Monoterapi olarak veya en fazla 8mg/gün prednizon ile kombine

edilerek, IFN α -2a 3 MİÜ/ gün (indüksiyon) 14 gün kullanıldıktan sonra tedaviye 3MİÜ haftada 3 kez devam edilmektedir. Gueudry ve diğ. aksine IFN α -2a dozu sabit tutulmamakta ve her bir üveit nüksü için sırasıyla 4.5, 6, 9 MİÜ haftada 3 kez dozuna çıkarılmaktadır. Üveit kontrolünün tüm hastalarda sağlandığı bu protokol ile hastaların %56.6'sında görme keskinliğinde düzelme ve tedavi sırasında atak sıklığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendiği bildirilmiştir. Çalışmaya alınan 16 hastanın %50'sinde 3MİÜx haftada 3 kez dozu idame tedavisi olarak yeterli bulunmuştur. Tugal-Tutkun ve diğ. Behçet üveitine bağlı neovaskularizasyon (NVE ve NVD) gelişen hastalarda yaptığı bir diğer çalışmada, IFN α -2a ile disk neovaskularizasyonunun gerilediği bildirilmiş ve ajanın antianjiyojenik etkisi üzerinde durulmuştur (208). Yapılan bir çalışmada Behçet hastalarına uygulanan cerrahi prosedürlerin (1 tane pars plana vitrektomi, 6 tane katarakt, 1 tane trabekülektomi cerrahisi), IFN α -2 tedavisi altında daha güvenilir ve emniyetli olduğunu bildirilmiştir (209). Sekiz gözün 7'sinde bu cerrahilerden sonra sık gözlenmesine rağmen intra-veya perioperatif inflamasyon nüksü gözlenmemiştir.(209).

İnterferon tedavisi başlangıcında görülen ateş, şiddetli baş ağrısı ve kas ağrıları ile karakterize grip benzeri semptomlar sadece birkaç gün sürmektedir. İnterferon tedavisi ile ilgili sonuçlar çok olumlu görünse de ilacın pahalı olması, depresyona yol açabilmesi, halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı, alopesi, kas ağrıları gibi hastanın yaşam kalitesini bozabilen yan etkiler kullanımını kısıtlamaktadır. Kötter ve diğ. çalışmasında; tüm hastalarda ilk hafta grip benzeri hastalık ve enjeksiyon yerinde reaksiyon izlenmiştir. Gözlenen diğer yan etkiler ise lökopeni (%40), alopesi (%24), depresyon (%8), fibromiyalji(%10) olarak bildirilmiştir. Ayrıca hastaların %16'sında ANA (antinükleer antikor) geliştiği, hiçbir hastada anti-IFN α -2a gelişmediği bildirilmiştir (13). Tugal-Tutkun ve diğ. yaptığı çalışmada ise yan etki olarak hastaların %10'unda lökopeni, %27'sinde karaciğer enzimlerinde artış izlenmiş olup, tedavi dozunun azaltılması veya tedavinin sonlandırılmasıyla bu yan etkilerin düzeldiğini bildirilmiştir (15).

2.3.2.2 Tümör Nekroz Faktör (TNF)- α inhibitörü (Anti-TNF)

Hastaların serum ve aköz hümor TNF- α düzeylerinin yüksek bulunması, çözünebilir TNF reseptör düzeylerinin yüksek ve hastalık aktivasyonu ile uyumlu bulunması, TNF- α üreten hücrelerin sayısının aktif dönemlerde artması ve deneysel modellerde TNF- α 'nın üveit gelişiminde rolü olduğunun gösterilmesi anti-TNF ajanlarının BH ve Behçet üveitinin tedavisinde kullanılmasını gündeme getirmiştir (135). Major proinflatuvar bir molekül olan TNF- α 'nın BH'nda anahtar bir role sahip olabileceği anti-TNF ajanların hastalıkta başarıyla kullanılmasıyla da desteklenmiştir (131). TNF- α antagonistleri anti-şimerik bir monoklonal antikor olan infliksimab, TNF- α reseptörü füzyon proteini olan etanersept ve tümüyle humanize bir monoklonal anti-TNF- α antikor olan adalimumabdır.

BH tedavisinde en çok kullanılan anti-TNF ajanı infliksimabtır. Bir insan-fare şimerik anti-TNF IgG1 monoklonal antikor olan infliksimab çözünebilir ve membrana bağlı TNF- α 'ya bağlanarak TNF- α aktivitesini nötralize etmektedir. Komplemanı fikse eder ve antikor aracılı sitotoksitesiteyi uyararak membrana bağlı TNF- α ifade eden hücrelerin lizisine neden olur. Ayrıca IFN- γ salgılayan hücrelerin sayısını arttırmaktadır ve böylece TNF salınımında azalmayla birlikte Th1 hücrelerinin fonksiyonel aktivitesini de düzenlemektedir (185). İnfliksimab göz tutulumu başta olmak üzere santral sinir sistemi tutulumu, gastrointestinal sistem tutulumu, mukokutanöz bulgular, vasküler tutulum ve artrit tedavisi için de kullanılmıştır. Sfikakis ve diğ. 5mg/kg infliximab infüzyon tedavisinin oküler inflamasyonu 24 saat içerisinde, vitritis ve retinit 7. günde, retinal vaskülit ve kistoid maküla ödemi 28. günde baskıladığını bildirmiştir (210). İnfliksimab nüks sıklığını azaltmakta ve görme keskinliğini arttırmakta da etkili bulunmuştur (210). Tuğal-Tutkun ve diğ. kortikosteroid, azatioprin ve siklosporin tedavisine dirençli hastalarda yaptıkları çalışmada, 5 mg/kg dozda 0., 2., 6., 14. haftalarda infliksimab infüzyonları uygulamışlar ve tedavi süresince atak sıklığının azaldığını, görme keskinliğinin arttığını ve kortikosteroid dozunun azaltılabildiğini bildirmişlerdir (211). Randomize ve prospektif olan bu çalışmada, 4 kez uygulanan infliksimab infüzyonları sırasında bu olumlu etkilerin gözlenmesine karşılık, tedavi sonlandırıldıktan sonraki takipte 13 hastanın 12'sinde atakların tekrarladığını rapor etmişlerdir. Ebu el Asrar ve diğ. 0.,

2., 6. haftalarında ve sonrasında 8. haftada bir 5 mg/kg infliksimab infüzyonu uygulamışlar ve 16.-36. aylarda bu tedavinin BH'na bağlı üveitin uzun dönem kontrolünde etkili olduğunu bildirmişlerdir (212).

Bu tedavinin en önemli dezavantajı, uygulandığı sürece etkili olması, tedavi sonlandırıldığında atakların tekrarlaması olarak bilinmektedir. Ayrıca ciddi infüzyon reaksiyonu gelişme riski olduğundan infüzyonların hastane şartlarında yakın gözetim altında uygulanması gerekmektedir. Fare proteini içeren şimerik antikor olması nedeniyle anti-şimerik antikorlar gelişerek infliksimab tedavisine direnç geliştirebilmektedir. Anti-şimerik antikor gelişimini baskılamak amacıyla sıklıkla bir immünespresif ajanın, örneğin azatioprin, tedaviye eklenmesi tercih edilmektedir. BH'na bağlı üveitin kontrol edilmesinde (immünespresif tedavi altında iken atak geçiren hastalar dahil) çok hızlı bir etkiye sahiptir. Bu etki 24 saat içinde ortaya çıkmaktadır. BH'na bağlı ağır üveitin kontrolünde ve hastalığın ekstraoküler bulgularının da kontrol edilmesinde etkili bulunmuştur (211,213-216).

İnfliksimabın 5mg/kg dozunda tek bir infüzyon şeklinde verilmesi BH'na bağlı akut bilateral arka segment tutulumunda ve görme keskinliğini 0.1 altına düşüren ve/veya maküla tutulumu olan unilateral üveitte önerilmektedir. Nüks gelişen veya refrakter Behçet üveitli hastalarda ise 5mg/kg dozunda aralıklı infüzyonlar şeklindeki bir tedavinin iki yıl süre ile kombinasyon tedavisine intoleransı olan veya yılda 2 veya daha fazla atak geçiren hastalarda uygulanması önerilmektedir (213).

İlacın yan etkileri arasında ilaca bağlı lupus, kronik kalp yetmezliği, trombotik olaylar, neoplazi, latent tüberküloz enfeksiyonunun reaktivasyonu ve demiyelinizan hastalık gelişimi yer alır. Tüberküloz enfeksiyonunun reaktivasyonu riski nedeniyle deri tüberkülin testi 5mm'den fazla olan hastalarda profilaktik isoniazid tedavisi gerekebilmektedir.

İnfliksimaba direnç gelişmesi nedeniyle, humanize monoklonal anti-TNF- α antikorları olan adalimumab tedavisine geçiş literatürde bildirilmiştir (217,218). Bu çalışmalarda, dirençli Behçet üveiti olan 9 hastada infliksimab ile başlanan ve adalimumab ile devam edilen tedaviyle bazı semptomların hızla ve kalıcı şekilde düzeldiğini rapor etmişlerdir. Adalimumab, BH ve Behçet üveiti tedavisinde en az tecrübe edilmiş anti-TNF ajanıdır. BH'nda adalimumab kullanıma bağlı en önemli

yan etkiler, tedaviye dirençli oral aft, kutanöz lokositoklastik vaskülit ve artriti bulunan bir hastada 40 mg/2 hafta dozunda verilen 3. ve 4. uygulamalar sonrasında gelişen ürtiker ve anjionörotik ödemdir (219).

Etanercept, infliksimab'dan farklı olarak komplemanı fikse etmez, antikor bağımlı sitotoksositeye yol açmaz ve T hücre apoptozisini tetiklemez. Etanercept'in BH'na bağılı göz tutulumunda kullanımıyla ilgili yayınlanmış veri bulunmamaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hasta seçimi

Çalışmaya başlamadan önce Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurul onayı (02-05-2008 tarihli MAR-YÇ-2008-00105 protokol nolu) alındı. Çalışmaya Ocak-2009 ile Nisan-2009 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Hastanesi Göz Hastalıkları Üvea birimine ilk kez başvuran veya takipli hastalar alınmıştır. Çalışmaya katılan tüm hastalar çalışmanın içeriği hakkında bilgilendirildi (Hasta Bilgilendirme Formu, EK-1) ve tüm hastalardan çalışmaya katılmayı kabul ettiklerine dair aydınlatılmış onay formu alındı (EK-2).

Prospektif ve kontrollü olarak planlanan bu çalışmaya 4 hasta grubu dahil edildi. Çalışmaya alınan hasta grupları aşağıda belirtildiği şekilde oluşturuldu:

1. Grup 1: Göz polikliniğine başvuran refraksiyon kusuru harici oküler ve sistemik patolojisi olmayan yaş ve cinsiyet açısından aşağıdaki hasta grupları ile uyumlu sağlıklı bireyler
2. Grup 2: Behçet dışı posterior veya panüveiti olan hastalar
3. Grup 3: Behçet hastalığı bağlı posterior veya panüveiti olan ve azatioprin tedavisi başlanan hastalar
4. Grup 4: Behçet hastalığına bağlı posterior veya panüveiti olan ve IFN α -2a tedavisi başlanan hastalar

Behçet hastalığı tanısı konulmasında uluslararası çalışma grubu kriterleri kullanıldı (184).

3.2 Verilerin Toplanması

Çalışmaya alınan hastalara ait demografik ve klinik veriler önceden oluşturulan hasta takip formu kullanılarak toplandı (EK-3). Bu formda hastalara ait demografik veriler olarak yaş, cinsiyet, BH süresi (tanı anından çalışmanın yapıldığı güne kadar geçen zaman), Behçet üveiti süresi (ilk göz tutulumundan çalışmanın yapıldığı güne kadar geçen zaman), Behçet dışı üveit süresi, göz tutulumu yaşı ve takip süresi bilgileri toplandı.

Rutin muayene için önceden programlanan günde ardışık olarak Üvea polikliniğine muayeneye gelen Behçet hastalarına tam oftalmolojik muayene uygulanmasından sonra hastanın üveitinin aktif olduğuna karar verilmesi halinde hastalar çalışmaya alındı. Uygulanan tam oftalmolojik muayene sağ ve sol düzeltilmiş görme keskinliği muayenesi, biyomikroskopik muayene, göz içi basıncı ölçümü ve farmakolojik dilatasyon sonrası ayrıntılı fundus muayenesinden oluşmaktadır.

Behçet üveitinin anatomik sınıflamasının yapılmasında “Standardization of Uveitis Nomenclature” (SUN) çalışma grubunun belirlediği sınıflama kullanıldı. Üveit aktivite değerlendirmesi yine SUN çalışma grubunun sınıflama kriterlerine göre yapıldı (220). Buna göre ön kamarada 0.5 (+) veya altında hücre mevcudiyetinde ön kamaradaki inflamasyon inaktif olarak kabul edildi (220). Vitritis varlığı vitrede hücre bulunması olarak değerlendirildi ve vitreus bulanıklığı değerlendirmeye alınmadı. Vitreus hücresi 0’dan 4’e kadar derecelendirildi ve 0.5 (+) veya altında hücre varlığında vitreus inflamasyonu inaktif olarak kabul edildi (196). BH bağlı posterior üveitin arka segment inflamasyonu bulguları olarak retinal vaskülit, retinit, kistoid maküla ödemi ve papillit varlığı değerlendirildi ve oftalmolojik muayenede bu bulguların bulunmaması arka segment inflamasyonunun inaktif olması olarak kabul edildi. Yukarıda ön kamara, vitreus ve arka segment için tanımlanan durumların aksi üveitin aktif olması olarak kabul edildi.

Rutin muayene için önceden programlanan günde ardışık olarak Üvea polikliniğine muayeneye gelen ve BH dışı posterior veya panüveiti olan hastaların üveitlerinin aktif olması durumunda hastanın çalışmaya alınmasına karar verildi. Ön segment ve vitreustaki üveit aktivitesi yukarıda Behçet üveiti için tanımlandığı şekilde yapıldı. Arka segment üveit aktivitesinin değerlendirilmesinde retinal vaskülit, retinit, kistoid maküla ödemi, koroidit ve papillit bulguları arandı ve bu bulguların bulunmaması inaktivite ve en az birinin bulunması aktif arka segment inflamasyonu olarak kabul edildi. Bu grupta yer alan hastaların çalışmaya alınması için değerlendirme anında immünsupresif tedavi almıyor olması kriteri alındı.

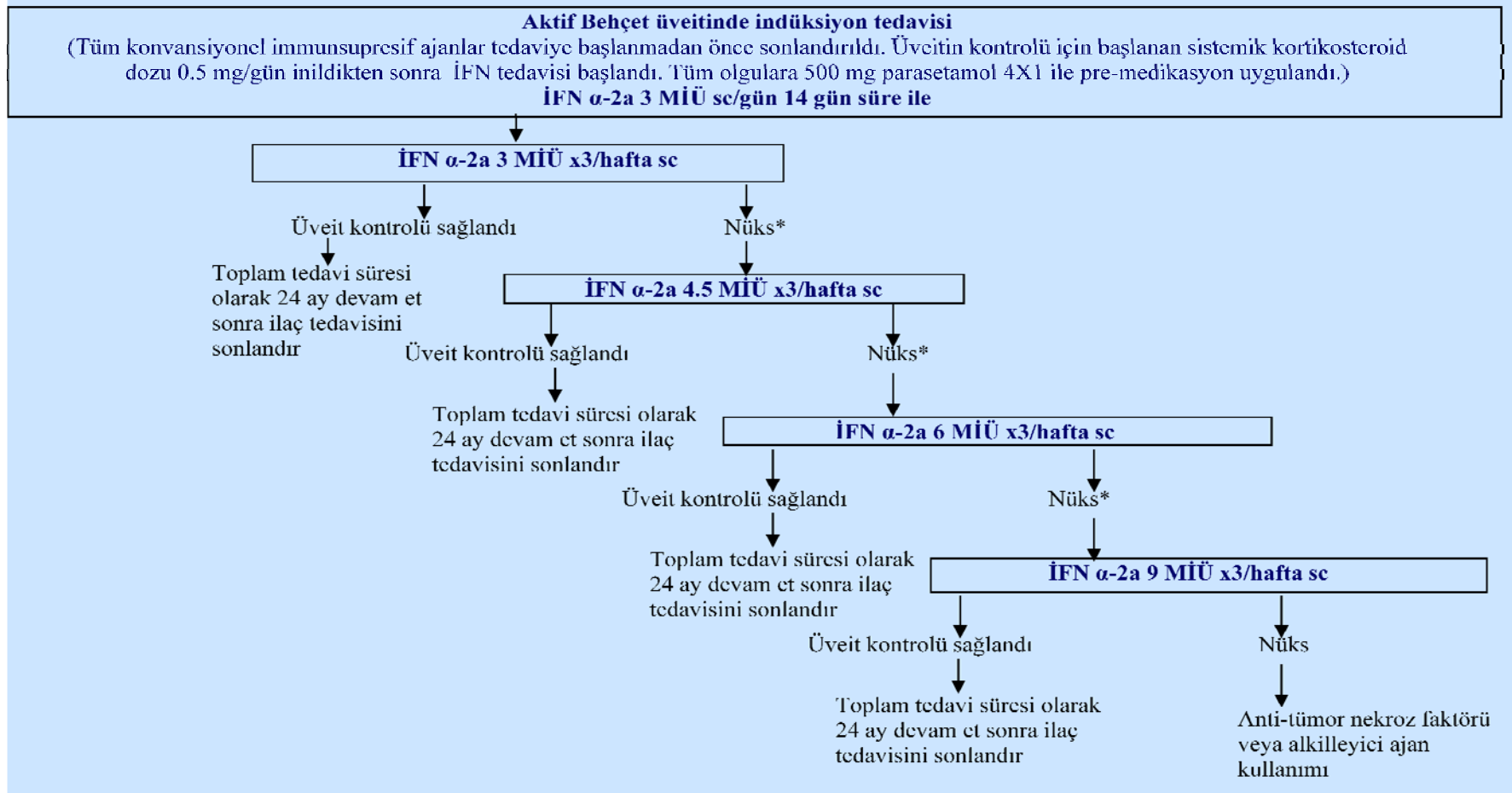
Çalışmaya alınmasına karar verilen Behçet hastalığına bağlı aktif posterior veya panüveiti olan hastalardan daha önce tedavi almamış olanlarına azatioprin (İmuran[®], GlaxoSmithKline) tedavisi başlandı. Hastanın daha önce konvansiyonel

immünespresif tedavi alıyor olması ve buna rağmen atak geçiriyor olması durumunda (immünespresife dirençli) ise hastalar çalışmanın IFN α -2a (Roferon[®]-A, Roche Pharmaceuticals, USA) koluna dahil edildi.

Azatioprin koluna dahil edilen Behçet üveitli hastalara azatioprin kiloya 2-3 mg olacak şekilde başlandı. Azatioprin tedavisi altında üveitin kontrolünün sağlanması ile sistemik kortikosteroid dozu minimum etkin doza indirildi (≤ 8 mg/gün metil-prednizolon) veya ideal olarak tamamen kesildi.

Çalışmanın IFN α -2a koluna alınan Behçet hastalığına bağlı posterior veya panüveiti olan hastalara uygulanan IFN α -2a protokolü Şekil 1’de gösterilmiştir. Buna göre tedavinin yükleme evresinde IFN α -2a 3 MİÜ/gün dozunda subkutan olarak 14 gün süre ile uygulandıktan sonra idame tedavisine geçildi. İdame tedavisi sırasında IFN α -2a 3 milyon İÜ dozunda haftada 3 gün uygulandı. İdame tedavisi sırasında üveit atağı gelişmesi durumunda ilacın dozu her bir atak için sırası ile 4.5, 6, 9 MİÜ haftada 3 kez dozuna arttırıldı. İdame tedavisi sırasında üveitin kontrolünün sağlanması ile sistemik kortikosteroid dozu minimum etkin doza indirildi (≤ 8 mg/gün metil-prednizolon) veya ideal olarak tamamen kesildi. İndüksiyon aşamasında gelişebilecek grip benzeri semptomları engellemek için parasetamol ile premedikasyon uygulandı.

Şekil 1. İnterferon alfa-2a tedavisi protokolü



(*): Üveit nüksünün tedavisinde perioküler veya sistemik kortikosteroid (1 mg/kg/gün) kullanıldı ve IFNα-2a dozu arttırıldı.

3.3 Kan Örneklerinin Toplanması

3.3.1 Tedavi Öncesi Kan Örneklerinin Toplanması

Çalışmaya alınan Behçet hastalığına bağlı aktif posterior veya panüveiti olan hastalardan tedaviye başlamadan önce 10cc kan örneği alındı. Kan örneği üveitin kontrol edilmesi için rutin olarak başlanan sistemik (oral/pulse) kortikosteroidlerin verilmesinden önce alındı. IFN α -2a tedavisi kolunda yer alan hastaların sistemik immüsupresifleri kesildikten sonra 10cc kan örneği alındı.

BH dışı aktif posterior veya panüveiti olan hastaların kan örnekleri alındı. Kan örneği üveitin kontrol edilmesi için rutin olarak başlanan sistemik (oral/pulse) kortikosteroidlerin ve gerekli ise immüsupresif tedavi verilmesinden önce alındı.

Ek olarak rutin poliklinik muayenesi için başvuran ve daha önce özellikleri belirtilen sağlıklı kontrol grubundan da 10 cc kan örneği alındı.

3.3.2 Tedavi Altında Kan Örneklerinin Toplanması

Behçet hastalığına bağlı posterior veya panüveiti olan ve azatioprin kolunda yer alan hastaların ilaç tedavisi başladıktan sonra yapılan takip muayenelerinde ilacın beklenen etki etme süresi olan minimum 3 ay sonrasında üveitin aktivitesi dikkate alınmaksızın ikinci kan örneği alındı.

Behçet hastalığına bağlı posterior veya panüveiti olan ve çalışmanın IFN α -2a koluna dahil edilen hastaların IFN α -2a tedavisi altında takip muayenelerinde klinik olarak inaktif olduğuna karar verilmesi halinde hastalara flöresein anjiyografi uygulandı. Flöresein anjiyografik olarak patolojik bulgu saptanmayan hastalar inaktif kabul edilerek romatoloji bilim dalına sistemik değerlendirme için gönderildi. Sistemik olarak da BH aktivitesi olmadığına karar verilen hastaların ikinci kez 10 cc olmak üzere tedavi altında (tedavi protokolümüze göre inaktivite sağlayan IFN α -2a dozuna getirildikten sonra) kan örnekleri alındı. Tablo 2’de Behçet hastalığına bağlı posterior veya panüveiti olan ve çalışmanın IFN α -2a koluna dahil edilen hastaların IFN α -2a tedavisi altında inaktif olması için beklenen süre (ay) ve kan örneklerinin alındığı andaki IFN α -2a tedavi dozları sunulmuştur.

Tablo 2. Behçet hastalığına bağlı posterior veya panüveiti olan ve çalışmanın IFN α -2a koluna dahil edilen hastaların IFN α -2a tedavisi altında inaktif olması için beklenen süre (ay) ve kan örneklerinin alındığı andaki IFN α -2a tedavi dozları

Kan örnekleri		
Hasta n:7	IFNα-2a tedavisi alan hastaların inaktif olması için beklenen süre (ay)	Kan örneği alındığı andaki IFNα-2a dozu
1*	5	4.5 MİÜ
2*	4	3 MİÜ
3*	3	3 MİÜ
4*	4	4.5 MİÜ
5*	3	3MİÜ
6	5	3 MİÜ
7	6	6 MİÜ

***: Azatioprin ile inaktif duruma getirilemeyen ve çalışmanın IFN α -2a koluna kaydırılan hastalar**

3.3.3 Kan Örneklerinin Değerlendirilmesi

3.3.3.1 Periferik Kan Mononükleer Hücre İzolasyonu

3.3.3.1.1 Lizat ile Periferik Kan Mononükleer Hücre İzolasyonu

Periferik kan mononükleer hücre (PKMH), EDTA'lı kandan amonyum bazlı bir lizat solusyonu (0.155M NH₄CL, 0.01M KHCO₃, 0.127M EDTA) kullanılarak elde edildi. 2cc venöz kana 40ml lizat solusyonu ilave edilerek oda ısısında 10 dakika bekletildi. 800 rpm'de, oda ısısında 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırılarak pellet, fosfat tampon çözeltisi (PBS; 0.005M K₂HPO₄, 0.005M KH₂PO₄, 0.14M NaCl; pH=7.3) ile oda ısısında 1500rpm'de 10 dakika yıkandı.

3.3.3.1.2 Yoğunluk Gradyent Santrifüjü ile Periferik Kan Mononükleer Hücre İzolasyonu

Manyetik ayırım ve kültür yapılmak üzere heparinize kandan, PKMH steril şartlarda Ficoll (d: 1077, Sigma-Aldrich Inc.) yoğunluk gradyent santrifüjü ile ayrıldı. Bu amaçla her bireyden 6 cc kan alındı ve 2:1 oranında serum fizyolojik ile dilüe edildi. Ficoll üzerine yayılarak oda ısısında 2000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında hücreler gradyent farkına göre, eritrositler en dipte, PKMH'lerin bulunduğu interfaz tabakası ortada ve plazma en üstte bulunacak şekilde ayrıldı. İnterfazdan toplanan PKMH'lere PBS eklenerek oda ısısında 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve hücre sayım cihazı ile (Counter T660, Beckman Coulter Inc.) sayımları yapıldı.

3.3.3.2 Periferik Kan Mononükleer Hücre Yüzey Molekül Ekspresyonu Tayini

Kontrol ve hasta gruplarından alınan kandan amonyum bazlı lizat solusyonu ile elde edilen PKMH'ler, yüzey molekülü ekspresyonu için flöresan işaretli izotipik kontroller ve monoklonal antikolar; CD4 FITC, CD25 APC (BD Biosciences) ile boyandı. Bu amaçla 100µl hücre süspansiyonu üzerine araştırılacak antikolar uygun dilüsyonda eklenerek oda ısısında, 15 dakika karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon sonrası hücrelere PBS eklenerek oda ısısında 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

3.3.3.3 Hücre İçi Foxp3 Ekspresyonu Tayini

CD4 ve CD25 yüzey antikoları ile PKMH yüzey antikoları boyandıktan sonra Foxp3 Buffer Set (BD Biosciences) kullanılarak hücre içi Foxp3 ekspresyonları flow sitometri ile analiz edildi. Kısaca, yüzey antikoları CD4 ve CD25 fiksasyonu için 2ml Foxp3 Buffer A eklenerek 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. PBS ile 2 kez 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek Buffer A uzaklaştırıldı. Hücre permeabilizasyonun sağlanması için Buffer C uygun konsantrasyonda dilüe edilerek hücre süspansiyonlarına 0.5 ml eklenip, 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. PBS ile yıkama yapıldıktan sonra hücreler PE işaretli Foxp3 mAb (BD Bioscience)

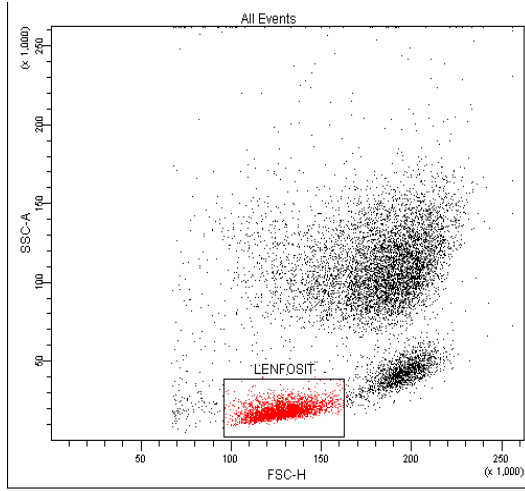
ve izotipik kontroller ile boyandı. 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Flow sitometri ile (FACSCanto, Diva software) değerlendirildi.

3.3.3.4 Flow Sitometrik Analiz

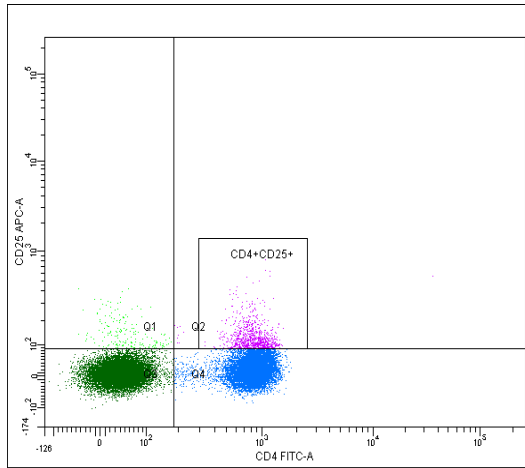
Flow sitometri, tek hücre seviyesinde, hızlı çok parametrelili analiz imkanı sağlayan bir yöntemdir. Flow sitometride temel prensip, bir süspansiyon halindeki hücre ya da partiküller lazer ışığı ile aydınlatılmakta olan bir bölmeden geçirilerek; hücrelerin ışığın önünden geçerken verdikleri sinyaller toplanarak analiz edilmesidir. Oluşan sinyallerin kaynağı, hücrenin büyüklük, granülarite gibi fiziksel özellikleri olabildiği gibi; hücreye bağlanan çeşitli florokromlar da olabilir.

Flow sitometride çeşitli fotodetektörler kullanılarak kompleks hücre süspansiyonunda multiparametrik analizler yapılabilmektedir. Bunlardan FSC (önden saçılım, 'Forward Scatter') hücrelerin büyüklüklerine göre, SSC (yandan saçılım, 'Side Scatter') hücrelerin granüler yapılarına göre sınıflandırılmalarını sağlar. Direkt veya indirekt metodlar kullanılarak işaretlenen örneklerin floresan yoğunlukları, elektriksel sinyallere çevrilip, amplifiye olarak analiz edilmektedir. Bu çalışmamızda, hücre içi Foxp3 ekspresyonlarını incelemek için büyüklük ve granüler yapılarına göre lenfosit kapısı alındıktan sonra CD4 ve CD25 monoklonal antikorları ile işaretlenmiş lenfositlerde tekrar CD4+CD25+ kapısına alındı. CD4+CD25+ lenfositlerde Foxp3 molekülünün ekspresyonu yüzdesi ve ortalama floresans yoğunluğu (MFI, "mean fluorescence index") analiz edildi.

Şekil 2. Elde ettiğimiz PKMH'lerde ilk olarak lenfosit kapısının alınması



Şekil 3. Lenfosit kapısında, CD4+CD25+ Treg hücre kapısının alınması



3.3.3.5 Manyetik İşaretleme ile CD4+CD25+ Hücrelerin Saflaştırılması:

İmmünoloji alanındaki teknolojik gelişmeler sayesinde hücrelerin çeşitli yüzey reseptörleri manyetik boncuklarla işaretlenmekte ve istenilen hücreler izole edilmektedir. Bu şekilde farklı boncuklar kullanılarak insan, fare, sıçan ve maymunlardan çeşitli immünolojik hücreler (T-hücre ve alt kümeleri, dendritik hücre, B hücresi ve alt kümeleri, monositler, antijen sunan hücreler), kök hücreler, sitokin salgılayan hücreler izole edilebilmektedir. “Magnetic cell sorting and separation (MACS)” sistemiyle manuel veya otomatik (automacs) olarak yapılabilmektedir. Bu şekilde izolasyon tekniğindeki prensip aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- Sistem 50 nm çapında süper paramanyetik özellikteki mikroboncuklar, manyetik alanın hücreler üzerine daha fazla etki etmesini sağlamak amacıyla kullanılan kolon ve manyetik alanı oluşturan seperatöre dayanmaktadır.
- Hücre seperasyonu kolon içerisinde gerçekleşir. Kolon, seperatör içerisinde iken, güçlü manyetik alan dolayısıyla mikroboncuklar ile işaretli hücreler kolon içerisinde tutulur ve işaretli hücreler elde edilir.
- Kolon manyetik alandan uzaklaştırıldığında ise mikroboncuklar ile işaretli hücreler elde edilebilir.
- Bu şekilde işaretli ve işaretli hücreler elde edilir.
- Elde edilen hücreler ileri analizler için kullanılabilir.

Ficoll yoğunluk santrifüjü ile steril koşullarda elde edilen PKMH'den önce CD4+ T hücreleri negatif seleksiyon ile, daha sonra CD25+ T hücre popülasyonu pozitif seleksiyon ile manyetik tabanlı hücre ayırma yöntemi (MACS, Miltenyi Biotec.) kullanılarak izole edildi. CD4+ T hücrelerinin negatif seleksiyonları için 1×10^7 PBMC 90 µl tampon solusyonda (100 mlPBS, 0.074 gr EDTA 2mM, 0.5 gr BSA) resuspende edilmiştir. 10 µl biotin antikor kokteyli (anti-CD8, anti-CD14, anti-CD16, anti-CD19, anti-CD36, anti-CD56, anti-CD123, TCRγ/δ ve CD235a (Glycophorin A) biotin konjuge mAb kokteyli) eklenerek 4⁰C'de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra 20 µl anti-biotin mikro boncuklar eklenerek 4⁰C'de 15 dakika inkübe edildi. Hücreler tampon solusyonda ile yıkanarak LD kolonlarından geçirilerek kolonun dışında kalan CD4+ T hücreleri negatif seleksiyon ile izole edildi.

Elde edilen CD4+ hücreler, CD25+ popülasyonun izolasyonu için CD25 mikroboncuklar ile 4⁰C'de 15 dakika inkübe edildi. Hücreler yıkanarak MS kolonlarından geçirildi. Kolonlardan pozitif seleksiyon ile CD4+CD25+ Treg hücreleri toplandı.

İzole edilen hücrelerin saflıkları yüzey boyamaları yapılarak flow sitometri ile kontrol edildi. CD4+ popülasyonların saflığı yaklaşık %95, CD4+CD25+ Treg popülasyonların saflığı yaklaşık %50 olarak belirlendi (221).

3.3.3.6 Hücrelerin PHA ile Uyarılması

Manyetik tabanlı hücre izolasyon yöntemi ile izole edilen CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonu uyarılarak sitokin salgılamaları için, mitojenik etkili olan fitohemaglutinin (PHA: Phytohemaglutinin) kullanıldı. 10 µg/ml konsantrasyonundaki PHA ile hücreler 72 saat süresince 37⁰C, %5 CO₂'li ortamda kültüre alındılar. Kültür süpernatantları toplanarak ELISA yöntemi ile sitokin seviyeleri belirlene kadar -80⁰C'de muhafaza edildi.

3.3.3.7 Kültür süpernatantlarından ELISA ile sitokin Tayini

PHA ile uyarılarak kültür edilmiş olan CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonunun süpernatantında IFN-γ, TNF-α, IL-4, IL-17, IL-18 ve IL-10 (pg/ml) belirlenmesi için insan ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) kitleri (Biosource international, INC., CA, USA) kullanıldı. ELISA, antijen-antikor ilişkisini, antikora bağlanmış bir enzimin aktivitesini araştırmak temeline dayanan kantitatif ölçüm yöntemidir. Antijene karşı antikor ya da antikora karşı antijen aramak mümkündür. Antikor aramak için aşağıdaki aşamalar uygulanmaktadır;

1. Bilinen antijen plastik bir yüzeye yapıştırılır. Mikro-Elisa sisteminde bu antijen her hasta için kullanılmak üzere yapılan çukurların yüzeyine kaplanır. Antikor aranacak hasta serumu ya da hücre kültür süpernatantları bu çukurlara konur. Bir süre beklenir ve yıkanır. Eğer serumda uygun antikor varsa antijenle birleşir.
2. Bir enzim ile işaretlenmiş insan globülini antiserumu eklenir. Bir süre beklenir ve yıkanır. İncelenmekte olan serumda antijene uygun antikor var ise antijene bağlanmış olacağından bu son eklenen enzim ile işaretlenmiş insan antiglobülini de bağlayacak ve yıkama ile uzaklaştırılmayacaktır.
3. Enzime uygun bir kromojen substrat eklenir. Sisteme bağlanmış enzim bu substratı parçaladığında ortaya çıkan renk, yapılacak kolorimetrik yöntemlerle ölçülerek bağlanmış olan enzim dolayısıyla bağlanmış olan antikor hakkında fikir verecektir.

3.4 İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme SPSS (versiyon 13.0) kullanılarak geręekleřtirildi. Verilerin analizi parametrik olmayan testler kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart deviasyon (SD), Ortanca \pm ortalamanın standart hatası [“Standard error of mean”, (SEM)] olarak verildi. Alt grupların verileri tek değişkenli analizler (Kruskal Wallis ve Wilcoxon) ile karşılaştırıldı. Post hoc testi olarak Dunn’s testi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Demografik ve klinik veriler

Çalışmaya dahil edilen gruplara ait yaş ve cinsiyet verileri Tablo 3’de sunulmaktadır.

Tablo 3. Çalışma gruplarına ait yaş ve cinsiyet

Gruplar*	Yaş	Cinsiyet
	Ortalama±SD Aralık	K:E
Grup 1 n=5	28,8±2,5 [†] 26-32	2:3
Grup 2 n=5	49,2±8,2 35-55	3:2
Grup 3 n=6	28,8±12,2 [†] 19-52	4:2
Grup 4 n=7	28,1±11,6 [†] 19-52	3:4

(*): Grup 1: Sağlıklı kontrol, Grup 2: BH dışı panüveiti olan hastalar, Grup 3: BH’na bağlı panüveiti olan ve azatioprin tedavisi başlanan hastalar, Grup 4: BH’na bağlı panüveiti olan ve IFN α -2a tedavisi başlanan hastalar

†: Kruskal Wallis, p>0.05

BH grubundaki hastalara ait BH süresi, Behçet üveiti süresi, göz tutulumu yaşı ve takip süresi bilgileri Tablo 4’de verilmektedir.

Tablo 4. Çalışma gruplarına ait BH süresi, Behçet üveiti süresi, göz tutulumu yaşı ve takip süresi

Parametreler	Gruplar	
	Grup 3 n=6	Grup 4 n=7
BH süresi (ay)	63,0±95,6 9-276	65,8±94,0 10-276

Behçet üveiti süresi (ay)	22,7±20,4 8-60	25,5±19,6 8-60
Göz tutulum yaşı	24,2±4,8 19-32	24,5±5,6 18-32
Takip süresi (ay)	14,7±10,2 8-36	15,5±9,7 8-36

Grup 3: BH'na bağlı panüveiti olan ve azatioprin tedavisi başlanan hastalar, Grup 4: BH'na bağlı panüveiti olan ve IFN α -2a tedavisi başlanan hastalar

Azatioprin koluna randomize edilen ve tedavi başladıktan sonra 3. ayda tedavi altında kan örnekleri toplanan 6 hastanın 5'i üveitin azatioprin ile inaktif duruma getirilememesi (klinik ve/ veya flöresein anjiyografik olarak) nedeni ile çalışmanın IFN α -2a koluna dahil edildi. Bu hastaların azatioprin tedavi sonrası kan örnekleri aynı zamanda IFN α -2a tedavi öncesi kan örnekleri şeklinde değerlendirildi.

BH dışı posterior veya panüveiti olan hastalara ait klinik tanıları Tablo 5'de görülmektedir.

Tablo 5. BH dışı posterior veya panüveiti olan hastalara ait klinik tanıları

Grup 2	Tanı	Üveitin anatomik lokalizasyonu
n=5		
1. Hasta	İdyopatik panüveit	Panüveit
2. Hasta	İdyopatik retinal vaskülit	Panüveit
3. Hasta	İdyopatik retinal vaskülit	Panüveit
4. Hasta	İdyopatik retinal vaskülit	Panüveit
5. Hasta	İdiopatik panüveit	Panüveit

Grup 2: BH dışı posterior veya panüveiti olan hastalar

BH dışı posterior veya panüveit grubuna dahil edilen tüm hastalarda üveitin anatomik lokalizasyonu panüveit olduğundan bu grupta yer alan hasta grubuna (Grup 2) bu noktadan BH dışı panüveit grubu adı verilecektir. Aynı şekilde çalışmaya alınan ve grup 3 veya 4'e randomize edilen hastalarda üveitin anatomik

lokalizasyonu incelendiğinde tüm olgularda BH'ya bağlı panüveit bulunduğundan bu grupların adlandırılmasında da panüveit ibaresi kullanılacaktır.

BH dışı panüveitli hastalara ait üveit süresi, göz tutulumu yaşı ve takip süresi Tablo 6'da verilmektedir.

Tablo 6. BH dışı panüveiti olan hastalara ait üveit süresi, göz tutulumu yaşı ve takip süresi

Parametreler	Grup 2
	Ortalama±SD Aralık n=5
Üveiti süresi (ay)	119,2±99,3 36-276
Göz tutulum yaşı	39,4±9,7 27-51
Takip süresi (ay)	28,2±24,0 11-79

Grup 2: BH dışı panüveiti olan hastalar

CD4+CD25+ Treg lenfositlerde Foxp3 molekülü ekspresyonu ve CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonu süpernatantında IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-17, IL-18 ve IL-10 sitokin seviyeleri ve karşılaştırmaları

Sağlıklı kontrol, BH dışı panüveit, BH'na bağlı panüveiti olan ve azatioprin veya IFN α -2a tedavileri başlanan hastalara ait CD4+CD25+ Treg lenfosit Foxp3 molekülü ekspresyonu ve CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonu süpernatantında IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-17, IL-18 ve IL-10 sitokin seviyeleri Tablo 7'de sunulmuştur.

Tablo 7. Çalışmaya dahil edilen tüm gruplara ait CD4+CD25+ Treg lenfosit Foxp3 molekülü ekspresyonu ve CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonu süpernatantında sitokin seviyeleri

Parametreler	Gruplar					
	Grup 1	Grup 2	Grup 3		Grup 4	
			Azatioprin tedavisi öncesi	Azatioprin tedavisi sonrası	IFN α -2a tedavisi öncesi	IFN α -2a tedavisi sonrası
	n=5	n=5	n=6	n=6	n=7	n=7
Foxp3 (%)	4,10 \pm 2,70	12,22 \pm 11,48	8,36 \pm 8,92	3,95 \pm 6,01	3,80 \pm 5,46	1,34 \pm 1,66
	5,10 \pm 1,20	10,20 \pm 5,13	4,45 \pm 3,64	1,40 \pm 2,45	1,80 \pm 2,06	0,80 \pm 0,628
	0,70-7,20	3,20-32,00	0,90-22,40	0,30-15,90	0,30-15,90	0,50-5,10
Foxp3 MFI	454,40 \pm 73,47	578,60 \pm 170,48	546,00 \pm 162,27	381,66 \pm 172,30	399,14 \pm 142,69	448,14 \pm 62,99
	473,00 \pm 32,85	519,00 \pm 76,24	527,00 \pm 66,24	334,50 \pm 70,34	340,00 \pm 53,93	439,00 \pm 23,80
	345,00-544,00	418,00-805,00	364,00-792,00	215,00-680,00	248,00-680,00	347,00-518,00
IFN-γ (pg/ml)	8,86 \pm 3,64	6,28 \pm 1,85	8,54 \pm 17,24	2,07 \pm 1,55	2,86 \pm 2,82	2,34 \pm 1,41
	7,50 \pm 1,62	6,19 \pm 0,83	1,75 \pm 7,04	2,03 \pm 0,63	2,17 \pm 1,06	2,59 \pm 0,53
	5,89-15,20	4,30-8,98	0-43,70	0,13-4,45	0,13-8,24	0,13-4,74
TNF-α (pg/ml)	13,47 \pm 19,96	3,77 \pm 4,68	2,53 \pm 2,33	5,27 \pm 8,13	5,81 \pm 7,36	4,49 \pm 4,61
	6,30 \pm 8,92	1,99 \pm 2,09	1,72 \pm 0,95	2,16 \pm 3,32	2,90 \pm 2,78	2,56 \pm 1,74
	1,99-48,90	1,02-12,10	0,52-6,43	0,82-21,80	0,82-21,80	1,34-13,90

IL-4 (pg/ml)	26,50±6,50	26,08±9,72	22,43±11,19	17,26±3,71	15,61±2,86	19,07±7,27
	23,40±2,90	24,20±4,35	20,00±4,57	17,00±1,51	15,70±1,08	17,70±2,74
	21,40-36,60	15,20-39,00	14,00-44,20	12,40-22,90	11,70-19,40	9,99-29,40
IL-17 (pg/ml)	4,93±8,37	8,52±10,41	11,43±10,43	4,34±4,13	5,33±5,82	8,04±6,41
	1,54±3,74	5,50±4,65	11,18±4,26	3,44±1,68	3,44±2,20	7,67±2,42
	0-19,70	0-24,80	0-27,50	0-12,30	0-14,70	0-19,70
IL-18 (pg/ml)	3,25±3,37	4,59±6,75	1,88±1,31	3,18±2,17	3,57±1,96	1,10±0,85
	1,62±1,51	1,83±3,01	1,72±0,53	3,68±0,88	3,68±0,74	1,17±0,32
	0,16-7,43	0,44-16,60	0,16-4,07	0,16-6,15	0,16-6,15	0-2,26
IL-10 (pg/ml)	2,11±1,00	1,21±1,25	0,91±0,93	1,31±0,88	1,42±0,83	1,74±1,42
	1,98±0,44	1,30±0,56	0,77±0,38	1,30±0,36	1,43±0,31	1,84±0,53
	0,89-3,63	0-2,14	0-2,11	0-2,52	0-2,52	0-3,91

Grup1: Sağlıklı kontrol, Grup 2: BH dışı panüveit, Grup 3: BH'na bağlı panüveiti olan ve azatioprin tedavisi başlanan hastalar, Grup 4: BH'na bağlı panüveiti olan ve IFN α -2a tedavisi başlanan hastalar

Sağlıklı kontrol, BH dışı panüveit ile BH'na bağlı panüveiti olan ve azatioprin tedavisi başlanan hastaların azatioprin tedavisi öncesinde CD4+CD25+ Treg lenfosit Foxp3 molekülü ekspresyonu ve CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonu süpernatantında IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-17, IL-18 ve IL-10 sitokin seviyelerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 8).

Tablo 8. Sağlıklı kontrol, BH dışı panüveit ile BH'na bağlı panüveiti olan ve azatioprin tedavisi başlanan hastaların azatioprin tedavisi öncesinde CD4+CD25+ Treg lenfosit Foxp3 molekülü ekspresyonu ve CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonu süpernatantında sitokin seviyelerinin karşılaştırılması

Parametreler	Gruplar			P*
	Grup 1	Grup 2	Grup 3 tedavi öncesi	
	Ortalama \pm SD Ortanca \pm SEM Aralık	Ortalama \pm SD Ortanca \pm SEM Aralık	Ortalama \pm SD Ortanca \pm SEM Aralık	
	n=5	n=5	n=6	
Foxp3 (%)	4,10 \pm 2,70 5,10 \pm 1,20 0,70-7,20	12,22 \pm 11,48 10,20 \pm 5,13 3,20-32,00	8,36 \pm 8,92 4,45 \pm 3,64 0,90-22,40	0,34
Foxp3 MFI	454,40 \pm 73,47 473,00 \pm 32,85 345,00-544,00	578,60 \pm 170,48 519,00 \pm 76,24 418,00-805,00	546,00 \pm 162,27 527,00 \pm 66,24 364,00-792,00	0,51
IFN-γ (pg/ml)	8,86 \pm 3,64 7,50 \pm 1,62 5,89-15,20	6,28 \pm 1,85 6,19 \pm 0,83 4,30-8,98	8,54 \pm 17,24 1,75 \pm 7,04 0-43,70	0,06
TNF-α (pg/ml)	13,47 \pm 19,96 6,30 \pm 8,92 1,99-48,90	3,77 \pm 4,68 1,99 \pm 2,09 1,02-12,10	2,53 \pm 2,33 1,72 \pm 0,95 0,52-6,43	0,21
IL-4 (pg/ml)	26,50 \pm 6,50 23,40 \pm 2,90 21,40-36,60	26,08 \pm 9,72 24,20 \pm 4,35 15,20-39,00	22,43 \pm 11,19 20,00 \pm 4,57 14,00-44,20	0,40
IL-17 (pg/ml)	4,93 \pm 8,37 1,54 \pm 3,74 0-19,70	8,52 \pm 10,41 5,50 \pm 4,65 0-24,80	11,43 \pm 10,43 11,18 \pm 4,26 0-27,50	0,52

IL-18 (pg/ml)	3,25±3,37	4,59±6,75	1,88±1,31	0,86
	1,62±1,51	1,83±3,01	1,72±0,53	
	0,16-7,43	0,44-16,60	0,16-4,07	
IL-10 (pg/ml)	2,11±1,00	1,21±1,25	0,91±0,93	0,23
	1,98±0,44	1,30±0,56	0,77±0,38	
	0,89-3,63	0-2,14	0-2,11	

Grup 1: Sağlıklı kontrol, Grup 2: BH dışı panüveiti olan hastalar, Grup 3: BH'na bağlı panüveiti olan ve azatioprin tedavisi başlanan hastalar, Grup 4: BH'na bağlı panüveiti olan ve IFN α -2a tedavisi başlanan hastalar
 (*): Kruskal-Wallis

BH'na bağlı panüveiti olan ve azatioprin tedavisi başlanan hastaların azatioprin tedavisi öncesi ve sonrası CD4+CD25+ Treg lenfosit Foxp3 molekülü ekspresyonu ve CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonu süpernatantında IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-17, IL-18 ve IL-10 sitokin seviyelerinin karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 9).

Tablo 9. BH'na bağlı panüveiti olan ve azatioprin tedavisi başlanan hastaların azatioprin tedavisi öncesi ve sonrası CD4+CD25+ Treg lenfosit Foxp3 molekülü ekspresyonu ve CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonu süpernatantında sitokin seviyelerinin karşılaştırılması

Parametreler	Grup 3		P*
	Azatioprin tedavisi		
	öncesi n=6	sonrası n=6	
Foxp3 (%)	8,36±8,92	3,95±6,01	0,20
	4,45±3,64	1,40±2,45	
	0,90-22,40	0,30-15,90	
IFN-γ (pg/ml)	8,54±17,24	2,07±1,55	0,60
	1,75±7,04	2,03±0,63	
	0,00-43,70	0,13-4,45	
TNF-α (pg/ml)	2,53±2,33	5,27±8,13	0,34
	1,72±0,95	2,16±3,32	

	0,52-6,43	0,82-21,80	
IL-4 (pg/ml)	22,43±11,19	17,26±3,71	0,34
	20,00±4,57	17,00±1,51	
	14,00-44,20	12,40-22,90	
IL-17 (pg/ml)	11,43±10,43	4,34±4,13	0,17
	11,18±4,26	3,44±1,68	
	0,00-27,50	0,00-12,30	
IL-18 (pg/ml)	1,88±1,31	3,18±2,17	0,24
	1,72±0,53	3,68±0,88	
	0,16-4,07	0,16-6,15	
IL-10 (pg/ml)	0,91±0,93	1,31±0,88	0,46
	0,77±0,38	1,30±0,36	
	0-2,11	0-2,52	

Grup 3: BH'na bağlı posterior veya panüveiti olan ve azatioprin tedavisi başlanan hastalar
(*): Wilcoxon

BH'na bağlı panüveiti olan ve IFN α -2a tedavisi başlanan hastaların tedavi öncesi ve sonrası CD4+CD25+ Treg lenfosit Foxp3 molekülü ekspresyonu ve CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonu süpernatantında IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-17, IL-18 ve IL-10 sitokin seviyelerinin karşılaştırılması sonucunda Foxp3 ve IL-18 dışında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 10). IFN α -2a tedavi sonrasında Foxp3 (Şekil 4) ve IL-18' in anlamlı olarak azaldığı izlenmiştir.

Tablo 10. BH'na bağlı panüveiti olan ve IFN α -2a tedavisi başlanan hastaların tedavi öncesi ve sonrası CD4+CD25+ Treg lenfosit Foxp3 molekülü ekspresyonu ve CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonu süpernatantında sitokin seviyelerinin karşılaştırılması

Parametreler	Grup 4		P*
	Ortalama±SD Ortanca±SEM Aralık		
	IFN α -2a tedavisi öncesi n=7	IFN α -2a tedavisi sonrası n=7	
Foxp3 (%)	3,80±5,46	1,34±1,66	0,04[†]

	1,80±2,06	0,80±0,628	
	0,30-15,90	0,50-5,10	
IFN-γ (pg/ml)	2,86±2,82	2,34±1,41	0,73
	2,17±1,06	2,59±0,53	
	0,13-8,24	0,13-4,74	
TNF-α (pg/ml)	5,81±7,36	4,49±4,61	0,73
	2,90±2,78	2,56±1,74	
	0,82-21,80	1,34-13,90	
IL-4 (pg/ml)	15,61±2,86	19,07±7,27	0,61
	15,70±1,08	17,70±2,74	
	11,70-19,40	9,99-29,40	
IL-17 (pg/ml)	5,33±5,82	8,04±6,41	0,50
	3,44±2,20	7,67±2,42	
	0,00-14,70	0,00-19,70	
IL-18 (pg/ml)	3,57±1,96	1,10±0,85	0,04[‡]
	3,68±0,74	1,17±0,32	
	0,16-6,15	0,00-2,26	
IL-10 (pg/ml)	1,42±0,83	1,74±1,42	0,86
	1,43±0,31	1,84±0,53	
	0-2,52	0-3,91	

Grup 4: BH'na bağlı panüveiti olan ve IFN α -2a tedavisi başlanan hastalar
 (*): Wilcoxon

şekil 4. Bir hastanın IFN α -2a tedavi öncesi ve sonrası CD4+CD25+Treg hücrelerindeki Foxp3 ekspresyonu

V. TARTIŞMA

BH, tekrarlayan oral, genital ülserler ve hipopiyonlu üveitten oluşan üçlü semptom kompleksiyle tanımlanmış ve hastalık sürecinde solunum, lökomotor, gastrointestinal ve merkezi sinir sistemi tutulumları gelişen, alevlenmeler ve remisyonlarla seyreden sistemik bir hastalıktır (222). BH' nın patogenezinin açıklanabilmesi için pek çok immünolojik ve genetik çalışma yapılmasına rağmen bu konudaki mekanizmalar yeterince aydınlatılamamıştır (223).

Tutulan organlarda geçici ve kalıcı işlev bozukluklarına yol açan ve oküler tutulumu körlükle sonuçlanabilen bu hastalığın tedavisinde (11), son dönemlerde, konvansiyonel immüsupresiflerin kullanımı ile oküler prognozda düzelme gösterilmiştir (11). Ancak, Behçet üveitli bir grup hastada konvansiyonel immüsupresiflere yanıtızsızlık gözlenmektedir (12). Son yıllarda bu hastaların tedavisinde biyolojik ajanların kullanımı gündeme gelmiştir. Yapılan az sayıda çalışmada, konvansiyonel immüsupresiflere cevapsız Behçet üveitinin tedavisinde IFN α -2a başarı ile kullanıldığı bildirilmiştir (13-20). Ancak bu çalışmalarda, IFN α -2a tedavisinin BH'ndaki etki mekanizması net açıklanamamıştır.

BH'nda hem periferik kanda hem de doku örneklerinde T hücre aktivasyonu gözlenmektedir (3). Yapılan çalışmalarda, serumda IL-2 (224), IFN- γ (225) ve pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-1 β , IL-6, TNF- α ve IL-8) düzeylerinde artış saptanması (164,226), intrasellüler sitokin boyamasıyla IFN- γ ve IL-2 sitokinlerinde artış görülmesi (144), paterji reaksiyonunun geç döneminde T hücrelerinden zengin infiltrasyon izlenmesi ve BH'nda izlenen mukokutanöz lezyonlarda Th1 tip immün yanıtın direkt rol oynadığının gösterilmesi (149), BH'nın patogenezinde Th1 lenfosit bağılı immün yanıtın önemli olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Yine bu bulguları destekler şekilde BH'na bağılı üveit hastalarının ön kamara sıvısında IFN- γ ve IL-4 düzeyi incelemesinde IFN- γ / IL-4 oranında artma saptanması (227) BH'nda immün cevapta Th1 ile Th2 lenfosit komponentleri arasındaki dengesizliği işaret etmektedir.

Son dönemlerde yapılan çalışmalarda, başka bir T hücre grubu olan, doğal olarak vücutta bulunan ve baskılayıcı aktiviteye sahip hücrelerden söz edilmektedir. IL-2 reseptörünün α zincirini ifade etmeyen (CD25)⁻; CD4⁺ (CD4⁺CD25⁻) T hücre

grubu normal BALB/c farelerden alınarak 6 haftalık sinjenik atimik nude farelere (timusu olmayan fare) transfer edildiğinde organlarda otoimmün hastalık paternine benzer inflamatuvar lezyonlar görülmüştür. Alıcı farelerden bazılarında sistemik otoimmün hastalıklara da rastlanmıştır. CD25+ T hücrelerinin farelere tekrar transfer edilmeleri sonucunda otoimmünitenin engellendiği izlenmiştir (98,99). Fenotipik olarak yüksek seviyede CD25 ve Foxp3 ifade edilmeleri ile ayırt edilen bu hücrelerin CTLA-4, GITR, LAG-3 gibi belirteçleri de mevcuttur (103,104). Otoimmün hastalığı olan hastalarda yapılan çalışmalarda bu hücre popülasyonlarının azaldığı ya da baskılayıcı işlevlerinin yetersiz (defektif) olduğu belirlenmiştir. Multipl skleroz (MS) ve romatoid artrit (RA) hastalarında bu hücre popülasyonları sağlıklılarından miktarca farklı bulunmazken işlevlerinde bozulmalar olduğu bildirilmiştir. SLE, Kawasaki hastalığı, tip 1 diyabet ve otoimmün lenfoproliferatif sendrom sahip bireylerde, CD4+CD25+ Treg hücre oranının sağlıklı bireylere göre azalmış olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda, etyopatogenezde hücre sel immünitenin sorumlu olduğu düşünülen BH'na bağlı üveitte CD4+CD25+ Treg lenfositlerinin olası rolünün ve IFN α -2a'nın bu hücreler üzerine olan olası etkisinin anlaşılması amaçlanmıştır. Bu nedenle CD4+CD25+FoxP3⁺ Treg lenfositlerinin oranı ve CD4+CD25+Treg hücrelerinin mitojenik etkili olan fitohemaglutinin uyarısıyla süpernatanda salgıladıkları sitokin seviyeleri incelenmiştir. Tedavinin fark yaratıp yaratmadığını değerlendirmek amacıyla, BH'na bağlı panüveiti olan olgularda IFN α -2a tedavisi öncesi ve sonrasında kanda dolaşan CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg lenfosit yüzdesi ve CD4+CD25+ Treg hücrelerinin salgıladıkları "IL-4, IL-10, IL-17, IL-18, TNF- α ve INF- γ " sitokin seviyeleri süpernatanda değerlendirmeye alınmıştır.

CD4+CD25+ Treg hücrelerinin transkripsiyon faktörü olan Foxp3'ün üveit atağı sırasında sağlıklı kontrolle karşılaştırıldığında miktarca farklı bulunmamıştır (Tablo 8). Başka bir otoimmün hastalık olan SLE ile ilgili bir metaanaliz çalışmasında (228); aktif dönemde sağlıklı kontrollere göre CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg hücre yüzdesinin belirgin olarak azaldığını ya da arttığını gösteren çalışmalar üzerinde durulmuş ve yayınlarda CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg hücre yüzdesi artışının SLE aktivitesi ile korelasyon gösterdiği izlenmiştir. Yine metaanalizde incelenen

yayınlar içinde CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg hücre yüzdesinin sağlıklı bireyler ile aynı kaldığını da gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Hamzaoui ve diğ. (10) yaptığı bir çalışmada Behçet hastaları ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında aktif fazda olan Behçet hastalarında CD4+CD25+ Treg hücrelerini anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve remisyonda olan Behçet hastaları ile sağlıklı kontrol grubu kendi arasında karşılaştırıldığında CD4+CD25+ Treg hücreleri açısından fark bulunmamıştır. BH'nın aktif olduğu hastalarda CD4+CD25+ Treg hücre artışı reaktif bir yanıtı düşündürmektedir. Ancak reaktif yanıt olarak artış gösteren bu hücre popülasyonunun fonksiyonunun defektif (disfonksiyonel) olduğu da aşikardır. Ek olarak aktif Behçet hastalarında Foxp3 için mRNA ve CTLA-4 ifadesinin, kontrol grubu ve remisyonda olan Behçet hastalarına oranla fazla olduğu görülmüştür ve disfonksiyonel CD4+CD25+ Treg hücrelerinin düzeyindeki artışın düzenleyici etkisi ile efektör hücreleri baskılamak amaçlı olduğu şeklinde yorumlamışlardır.

Chen ve diğ. (229) yaptığı bir çalışmada cilt, işitme ve santral sinir sistemi bulguları gibi ekstraoküler tutulumun da eşlik ettiği kronik bilateral granülomatöz panüveit ile karakterize Vogt-Kayagani-Harada hastalığında aktif hastalık döneminde CD4+CD25+ Treg hücre sıklığında ve Foxp3 yüzdesinde azalma izlemişler ve düzenleyici olan bu hücre grubunun azalmasının (hücre yetersizliği) VKH'da izlenen aktif üveit ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bizim sonucumuza göre CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg hücrelerinde atak öncesi sağlıklılardan miktarca farklı olmadığını izlememiz (Tablo 8) bu hücrelerin defektif (disfonksiyonel) olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg hücrelerinin BH'na bağlı üveit etyopatogenezinde oynadığı rol IFN α -2a tedavisinden sonra CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg yüzdesindeki anlamlı düşme (Tablo 10) ile birlikte Th1/Th2 yolağında Th1 lehine sitokin dengesinde değişiklik (IL-18 istatistiksel olarak anlamlı azalma) gözlenmesiyle de desteklenmektedir. Bu bulgu IFN α -2a tedavisi sonrası defektif olabileceği düşünülen CD4+CD25+ Treg hücrelerinin azaldığına veya fonksiyonlarında düzelme olduğuna işaret etmektedir. Bunun yanı sıra, Foxp3'ün regülatör olmayan hücrelerde de geçici olarak ifade edilmesinin, T hücre aktivasyonunun bir belirteci olduğunu gösteren araştırmalar da (108, 109, 110) IFN α -2a tedavisinden sonraki Foxp3 ekspresyonundaki düşüşü açıklamakta, tedavinin

hastalığın patogenizinde rol oynayan aktive T hücrelerini baskıladığı görüşünü desteklemektedir. Hali hazırda Foxp3 dışında Treg hücrelerine özgü bir belirtecin bulunamamış olması, IFN α -2a tedavisinden sonra otoimmüniteye neden olan IL-18 üretimindeki azalmanın, defektif Treg'ler nedeni ile mi yoksa otoreaktif T hücrelerinin aktivasyonlarının azalmasından dolayı mı olduğunun anlaşılmasını güçleştirmektedir.

BH'na bağlı üveit ve diğer üveit antitelerinde, CD4+CD25+Foxp3+ Treg hücrelerinin yüzdesini inceleyen yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu hücrelerle yapılan çalışmalarda CD4+CD25+ Treg hücre fenotipinin hem aktive olmuş hücreler hem de regülatuar hücreler tarafından eksprese edilmeleri ve bu hücrelere tam olarak has, belirleyici bir molekülün bulunmaması araştırmaları zorlaştırmaktadır. Baskılayıcı aktiviteleri olan bu hücrelerin, BH'ndaki rolleri ilgi uyandırmakta ve düzeyleri ve fonksiyonları açısından daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Öte yandan azatioprin grubunda yer alan BH'na bağlı panüveit hastalarında tedavi ile CD4+CD25+Foxp3+ Treg yüzdesinde anlamlılık seviyesine ulaşmayan bir azalma gözlenmesine karşın bu azalmanın etkisi anlamlılığa varan sitokin değerleri ile desteklenememiştir (Tablo 9).

BH'na bağlı panüveiti olan hastalarda IFN α -2a tedavi sonrasında IL-18'in istatistiksel olarak anlamlı azaldığı izlenmiştir (Tablo 10). BH ile ilgili yapılan çalışmalar, pDC'nin patogeneizde yer alabileceğini göstermiştir. IL-12, özellikle pDC'den salgılanan ve Th1 cevabını yönlendiren bir sitokindir. Aynı şekilde IL-18'de pDC'den ifade edilmekte ve özellikle IL-12 varlığında Th1 polarizasyonuna neden olmaktadır. Çalışmalarda, Behçet hastalarında sağlıklı kontrol ile karşılaştırıldığında pDC yüzdesinde azalma (230) , Behçet hastalarında IL-18'in düzeyinde artış izlenmiştir. Behçet hastalarında IL-18'in artmış serum düzeylerinin hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir (146,147). IFN- α , pDC'lerden immün yanıtın erken aşamalarında salgılanmakta olup T hücreleri üzerinde antiproliferatif ve preapoptotik etkileri olduğu anlaşılan bir sitokindir ve bu sitokini tedavi şeklinde BH'nda başarılı şekilde kullanmamız pDC'lerin bu hastalarda bozuk olabileceğini akla getirmektedir. Otoimmünitinin baskılanmasını sağlayan Treg hücrelerin oluşumunu sağlayan bir hücre grubu olan pDC'lerin bozuk olması durumunda Treg hücrelerinin de fonksiyonunda veya sayısında yetersizlikle

karşımıza çıkabileceğini ve Th1 yolağını aktive eden bir sitokin olan IL-18'in de yüksek olmasına neden olabileceğini düşündürmektedir.

Bir diğer bulgu olarak, BH'na bağlı panüveiti olan hastalarda IFN α -2a tedavisi sonrasında IL-10 seviyesinde istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmasa da artış saptanmıştır (Tablo 10). IL-10, makrofajlardan ve T hücrelerinden (düzenleyici T hücreler ve Th2) salgılanan, konak immün yanıtı inhibe eden bir sitokindir (antiinflamatuvar). Özellikle adaptif Treg'ler diğer immün sistem hücrelerini baskılayıcı işlevlerini IL-10 salgılayarak gerçekleştirir. IL-10'un, Behçet üveiti olanların hem ön kamara sıvısında hem de serumunda azaldığı gösterilmiştir (227). IFN α -2a tedavisi ile IL-10 seviyesinde artış izlememiz, tedavi öncesi defektif olan CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonunun işlevlerinin düzeldiğine veya defektif olanlarının azaldığına işaret etmektedir. Benzer şekilde IFN α -2a tedavi sonrası IL-4 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış izlenmesi tedaviyle Th2 tip immün yanıtı doğru dengenin kaydığına işaret etmektedir (Tablo 10).

Th17 hücrelerinden salgılanan ve nötrofil aktivasyonuna sebep olan IL-17 proinflamatuvar özellikte olup çalışmalarda BH'nın etyopatogenezinde sorumlu sitokinler içerisinde yer almaktadır. Çalışmamızda IL-17 anlamlı sonuca ulaşmasa da IFN α -2a tedavisi sonrası ile arttığını izledik. CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonunun süpernatantında IL-17 düzeyinde artış izlememize rağmen hastalarda aktif inflamasyon bulgusu görmememiz, bu hücrelerden IL-17 salınımindaki artışın, inflamasyonu tetikleyici konsantrasyona erişemediğini düşündürebilir. IL-17 düzeyindeki bu artışı efektör hücre düzeyinde de değerlendirmek uygun olabilir.

Çalışmamızın zayıf noktası olarak tartışılan bazı bulguların istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmaması çalışma gruplarında yer alan hasta sayılarının düşüklüğü ile ilişkili olabileceği kanısındayız. Ek olarak BH patogenezinde sorumlu olduğu düşünülen pDC hücre popülasyon süpernatantında sitokin salınımlarını inceleyen bir çalışma ile çalışmamızın desteklenebileceği görüşündeyiz. Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalarda (231,232), TGF- β 'nin naif CD4+ T hücrelerini programlayarak, CD4+CD25+Foxp3+ Treg'lerin oluşmasına neden olduğu hatta fonksiyonunda rolü olmadığı üzerinde durulmaktadır. TGF- β 'nin T hücre gelişimdeki fonksiyonu pleiotropiktir. Treg hücre gelişiminde rol oynamasının yanı sıra BH patogenezinde sorumlu olduğu düşünülen IL-17 üreten CD4+ T hücrelerinin (Th17)

oluşumunu da bu sitokin sağlamaktadır (233,234). Bu nedenle, IFN α -2a tedavisi ile hem Treg hem Th17 oluşumundaki değişimleri gözlemek açısından TGF- β sitokin seviyelerinin de ilerleyen çalışmalarda incelenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak çalışmamızda; BH'na bağlı panüveiti olan hastalarda aktif dönemde defektif CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg hücre popülasyonunda sağlıklı kontrol grubuna göre miktarca farklı saptanmamıştır. IFN α -2a tedavisi ile defektif olan CD4+CD25+Foxp3⁺ Treg hücre popülasyonunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir. Yine IFN α -2a tedavisi sonrası defektif olan CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonunda meydana gelen azalma bu hücrelerin işlevsel özelliklerini geri kazandığını, IL-10 üretimlerini arttırarak Th1/Th2 dengesinde IL-4 artışı ve IL-18'in azalması ile gösterilen Th1 yolağı lehine değişime yol açmıştır. IFN α -2a tedavisinden sonra Th1 sitokin üretiminin Th2 sitokin üretimine doğru kayması, bu tedavinin azatioprin tedavisine göre daha etkin olabileceğini düşündürmektedir.

VI. SONUÇLAR

1. BH'na bağılı panüveiti olan hastalarda aktif dönemde defektif CD4+CD25+Foyp3⁺ Treg hücre popülasyonunda sağılıklı kontrol grubuna göre miktarda farklı saptanmamıştır. .
2. IFN α -2a tedavisi ile defektif olan CD4+CD25+Foyp3⁺ Treg hücre popülasyonunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir.
3. IFN α -2a tedavisi sonrası defektif olan CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonunda meydana gelen azalma Th1/Th2 dengesinde IL-4ve IL-10 artışı ve IL-18'in azalması ile gösterilen Th1 yolağı lehine değışime yol açmıştır.

VII. KAYNAKLAR

1. **Yazıcı H.** Behçet's disease. In: Klippel JH, Dieppe PA, eds. Rheumatology. St Louis: Mosby 1998;26:1-2.
2. **Everekliöglu C.** Current concepts in the etiology and treatment of Behçet disease. *Surv Ophthalmol* 2005;50:297-350.
3. **Direskeneli H.** Behçet's disease: infectious aetiology, new autoantigens, and HLAB51. *Ann Rheum Dis* 2001;60:996-1002.
4. **Doganavsargil E, Keser G.** Behçet hastalığı. *T Klin J Int Med Sci* 2005;1:80-91.
5. **Pay S.** Behçet hastalığı: etiyoloji ve patogenezi. *T Klin J Int Med Sci* 2005;1:10-18.
6. **Zierhut M, Mizuki N, Ohno S, Inoko H, Gul A, Onoe K, Isogai E.** Immunology and functional genomics of Behçet's disease. *Cell Mol Life Sci* 2003;60:1903-1922.
7. **Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F, Bessioud M, Hazma M, Ayed K.** Cytokine profile in Behçet's disease patients. *Scand J Rheumatol* 2002;31:205-210.
8. **Bach JF.** Regulatory T cells under scrutiny. *Nat Rev Immunol* 2003;3:189-198.
9. **Baecher-Allan C, Hafler DA.** Suppressor T cells in human diseases. *J Exp Med* 2004;200:273-276.
10. **Hamzaoui K, Hamzaoui A, Houman H.** CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in patients with Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 2006;24:71-78.
11. **Tugal-Tutkun I, Onal S, Altan-Yaycioglu R, Altunbas HH, Urgancioglu M.** Uveitis in Behçet disease: an analysis of 880 patients. *Am J Ophthalmol* 2004;138:373-380.
12. **Ando K, Fujino Y, Hijikata K, Izawa Y, Masuda K.** Epidemiological features and visual prognosis of Behçet's disease. *Jpn J Ophthalmol* 1999;43:312-7.
13. **Kötter I, Zierhut M, Eckstein A, Vonthein R, Ness T, Günaydin I, Grimbacher B, Blaschke S, Peter HH, Kanz L, Stübiger N.** Human recombinant interferon alfa-2a for the treatment of Behçet's disease with sight threatening posterior or panuveitis. *Br J Ophthalmol* 2003;87:423-431.
14. **Kötter I, Günaydin I, Zierhut M, Stübiger N.** The use of interferon alpha in Behçet disease: Review of the literature. *Semin Arthritis Rheum* 2004;33:320-335.
15. **Tugal-Tutkun I, Guney-Tefekli E, Urgancioglu M.** Results of interferon-alfa therapy in patients with Behçet uveitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244:1692-1695.
16. **Wechsler B, Bodaghi B, Huong DL, Fardeau C, Amoura Z, Cassoux N, Piette JC, LeHoang P.** Efficacy of interferon alfa-2a in severe and refractory uveitis associated with Behçet's disease. *Ocul Immunol Inflamm* 2000;8:293-301.
17. **Hamuryudan V, Ozyazgan Y, Fresko I.** Interferon alfa combined with azathioprine for the uveitis of Behçet's disease: an open study. *Isr Med Assoc J* 2002;4:928-930.
18. **Guedry J, Wechsler B, Terrada C, Gendron G, Cassoux N, Fardeau C, Lehoang P, Piette JC, Bodaghi B.** Long-term efficacy and safety of low-dose interferon alpha-2a therapy in severe uveitis associated with Behçet disease. *Am J Ophthalmol* 2008;146:837-844.
19. **Onal S, Kazokoglu H, Direskeneli H, Yavuz S.** Low-dose interferon alfa-2a

- therapy in severe uveitis associated with Behçet disease. *Am J Ophthalmol* 2009;147:1109-1110.
20. **Onal S, Kazokoglu H, Koc A, Akman M, Bavbek T, Direskeneli H, Yavuz S.** Low dose and dose escalating therapy of interferon alfa-2a in the treatment of refractory and sight-threatening Behçet's uveitis. *Clin Exp Rheumatol* 2009;27:113-114.
 21. **Plskova J, Greiner K, Muckersie E, Duncan L, Forrester JV.** Interferon- α : a key factor in autoimmune disease? *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:3946–3950.
 22. **Siegal FP, Fitzgerald-Bocarsly P, Holland BK, Shodell M.** Interferon-alpha generation and immune reconstitution during antiretroviral therapy for human immunodeficiency virus infection. *Aids* 2001;15:1603–1612.
 23. **Chehimi J, Campbell DE, Azzoni L, Bacheller D, Pappasavvas E, Jerandi G, Mounzer K, Kostman J, Trinchieri G, Montaner LJ.** Persistent decreases in blood plasmacytoid dendritic cell number and function despite effective highly active antiretroviral therapy and increased blood myeloid dendritic cells in HIV-infected individuals. *J Immunol* 2002;168:4796–4801.
 24. **Wertheimer AM, Bakke A, Rosen HR.** Direct enumeration and functional assessment of circulating dendritic cells in patients with liver disease. *Hepatology* 2004;40:335–345.
 25. **van der Molen RG, Sprengers D, Binda RS, de Jong EC, Niesters HG, Kusters JG, Kwekkeboom J, Janssen HL.** Functional impairment of myeloid and plasmacytoid dendritic cells of patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2004;40:738–746.
 26. **Ulsenheimer A, Gerlach JT, Jung MC, Gruener N, Wächtler M, Backmund M, Santantonio T, Schraut W, Heeg MH, Schirren CA, Zachoval R, Pape GR, Diepolder HM.** Plasmacytoid dendritic cells in acute and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2005;41:643–651.
 27. **Greenberg SA, Pinkus JL, Pinkus GS, Burleson T, Sanoudou D, Tawil R, Barohn RJ, Saperstein DS, Briemberg HR, Ericsson M, Park P, Amato AA.** Interferon-alpha/beta-mediated innate immune mechanisms in dermatomyositis. *Ann Neurol* 2005;57:664–678.
 28. **Båve U, Nordmark G, Lövgren T, Rönnelid J, Cajander S, Eloranta ML, Alm GV, Rönnblom.** Activation of the type I interferon system in primary Sjogren's syndrome: a possible etiopathogenic mechanism. *Arthritis Rheum* 2005;52:1185–1195.
 29. **Means TK, Latz E, Hayashi F, Murali MR, Golenbock DT, Luster AD.** Human lupus autoantibody-DNA complexes activate DCs through cooperation of CD32 and TLR9. *J Clin Invest* 2005;115:407–417.
 30. **Behçet H.** Über rezidiverende, apthöse durch ein Virus verursachte Geschwüre am Mund, am Auge und an der Genitalen. *Dermatol Wochenschr* 1937;105:1152–1157.
 31. **Ustun C.** A famous Turkish dermatologist, Dr. Hulusi Behçet. *Eur J Dermatol.* 2002;12: 469–470.
 32. **Onder M, Gurer MA.** The multiple faces of Behçet's disease and its aetiological factors. *J Eur Acad Dermatol Venereal* 2001;15:126–136.
 33. **Zouboulis CC, May T.** Pathogenesis of Adamantiades-Behçet's disease. *Adv Exp Med Biol* 2003;528:161-171.
 34. **Verity DH, Marr JE, Ohno S, Wallace GR & Stanford MR.** Behçet's disease,

- the Silk Road and HLA-B51: historical and geographical perspectives. *Tissue Antigens* 1999;54:213–220.
35. **Plotkin GR**: Triple symptom complex (classic triad). In: Plotkin GR., Calabro JJ., O'Duffy JD., eds. Behçet's disease: a contemporary synopsis. Mount Kisco: Futura, 143-178. 1998.
 36. **Shimizi T, Ehrlich GE, Inaba G, Hayashi K**. Behçet disease (Behçet syndrome). *Semin. Arthritis Rheum* 1979;8:223-260.
 37. **Mizuki N, Inoko H, Sugimura K**. RFLP analysis in the TNF- β gene and the susceptibility to alloreactive NK cells in Behçet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:3084-3090.
 38. **Mizuki M, Ohno S, Sato T**. Mikrosatellite polymorphizim between the tumor necrosis factor and HLA-B genes in Behçet's disease. *Hum Immunol* 1995;43:129-135.
 39. **Mizuki N, Ohno S**. Immunogenetic studies of Behçet's disease. *Rev Rhum Engl Ed* 1996;63:520–527.
 40. **Bahram S, Bresnahan M, Geraghty DE, Spies T**. A second lineage of mammalian major histocompatibility complex class I genes. *Proc Natl Acad Sci* 1994;91:6259–6263
 41. **Bahram S, Mizuki N, Inoko H, Spies T**. Nucleotide sequence of the human MHC class I MICA gene. *Immunogenetics* 1996;44:80–81.
 42. **Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, Lanier LL, Spies T**. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science* 1999;285:727–729.
 43. **Sezer F**. The isolation of a virus as the cause of of Behçet's disease. *Am J Ophtalmol* 1953;36:301-306.
 44. **Lehner T**. The role of heat shock protein, microbial and autoimmune agents in the aetiology of Behçet's disease. *Int Rev Immunol* 1997;14:21–32.
 45. **Sohn S, Lee ES, Bang D**. Behçet's disease-like symptoms induced by the Herpes simplex virus in ICR mice. *Eur J Dermatol* 1998;8:21–23.
 46. **Calgüneri M, Ertenli I, Kiraz S, Erman M, Celik I**. Effect of prophylactic benzathine penicillin on mucocutaneous symptoms of Behçet's disease. *Dermatology* 1996;192:125–128.
 47. **Isogai E, Ohno S, Takeshi K, Yoshikawa K, Tsurumizu T, Isogai H, Yokota K, Kotake S, Sakamoto Y, Shimizu H, Matsuda H, Yamaguchi M, Oguma K**. Close association of *Streptococcus sanguis* uncommon serotyps with Behçet's disease. *Bifidobacteria Microflora* 1990;9:27-41.
 48. **Hirohata S, Oka H, Mizushima Y**. Streptococcal-related antigens stimulate production of IL-6 and interferon- γ by T cells from patients with Behçet's disease. *Cell Immunol* 1992;140:410–419.
 49. **Direskeneli H, Ekşioğlu-Demiralp E, Yavuz S, Ergun T, Shinnick T, Lehner T, Akoglu T**. T cell responses to 60/65 kDa heat shock protein derived peptides in Turkish patients with Behçet's disease. *J Rheumatol* 2000;27:708–713.
 50. **Direskeneli H, Saruhan-Direskeneli G**. The role of heat shock proteins in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 2003;21:844-848.
 51. **Young DB**. Heat shock proteins: immunity and autoimmunity. *Curr Opinion In Immunolog* 1992;4:396-400.
 52. **DeNagel DC, Pierce SK**. Heat-shock proteins and immune responses. *Critical Reviews In Immunology* 1993;13:71-81.

53. **Lehner T.** Immunopathogenesis of Behcet's disease. *Ann Med Interne* 1999;150:483-487.
54. **Boyyat A.** Behçet hastalığının etiyopatogenezi. *T Klin J Dermatol* 2004;1415 1421.
55. **Ozen S.** Vasculopathy, Behçet's syndrome, and familial Mediterranean fever. *Curr Opin Rheumatol* 1999;11:393-398.
56. **Matsui T, Kurokawa M, Kobata T.** Autoantibodies to T cell costimulatory molecules in systemic autoimmune diseases. *J Immunol* 1999;162:4328-4335.
57. **Batioglu F, Atmaca LS, Karabulut HG, Beyza SD.** Factor V Leiden and prothrombin gene G20210A mutations in ocular Behcet disease. *Acta Ophthalmol Scand* 2003;81:283-285.
58. **Direskeneli H, Keser G, D'Cruz D, Khamashta MA, Akoğlu T, Yazici H, Yurdakul S, Hamuryudan V, Ozgün S, Goral AJ.** Anti-endothelial cell antibodies, endothelial proliferation and von Willebrand factor antigen in Behçet's disease. *Clin Rheumatol* 1995;14:55-61.
59. **Verity DH, Wallace GR, Seed PT.** Soluble adhesion molecules in Behçet's disease. *Ocul Immunol Inflamm* 1998;6:81-92.
60. **Lee KH, Chung HS, Kim HS, Oh SH, Ha MK, Baik JH, Lee S, Bang D.** Human alpha-enolase from endothelial cells as a target antigen of anti-endothelial cell antibody in Behcet's disease. *Arthritis Rheum* 2003;48:2025-2035.
61. **Sahin S, Lawrence R, Direskeneli H, Hamuryudan V, Yazici H, Akoğlu T.** Monocyte activity in Behçet's disease. *Br J Rheumatol* 1996;35:424-429.
62. **Sahin S, Akoglu T, Direskeneli H, Sen LS, Lawrence R.** Neutrophil adhesion to endothelial cells and factors affecting adhesion in patients with Behçet's disease. *Ann Rheum Dis* 1996;55:128-133.
63. **Yazici C, Kose K, Calis M.** Increased advanced oxidation protein products in Behcet's disease: a new activity marker? *Br J Dermatol* 2004;151:105-111.
64. **Haznedaroglu E, Karaaslan Y, Buyukasik Y, Koşar A, Ozcebe O, Haznedaroglu C, Kirazli E, Dündar SV.** Selectin adhesion molecules in Behçet's disease. *Ann Rheum Dis* 2000;59:61-63.
65. **Farrell AJ, Blake DR.** Nitric oxide. *Ann Rheum Dis* 1996;55:7-20.
66. **Duygulu F, Evreklioglu C, Calis M, Borlu M, Cekmen M, Ascioğlu O.** Synovial nitric oxide concentrations are increased and correlated with serum levels in patients with active Behcet's disease: a pilot study. *Clin Rheumatol* 2005;24:324-330.
67. **Evreklioglu C, Turkoz Y, Er H, Inaloz HS, Ozbek E, Cekmen M.** Increased nitric oxide production in patients with Behcet's disease: is it a new activity marker? *J Am Acad Dermatol* 2002;46:50-54.
68. **Parks DJ, Cheung MK, Chan CC, Roberge FG.** The role of nitric oxide in uveitis. *Arch Ophthalmol* 1994;112:544-546.
69. **Gunduz K, Ozturk G, Sozmen EY.** Erythrocyte superoxide dismutase, catalase activities and plasma nitrite and nitrate levels in patients with Behçet disease and recurrent aphthous stomatitis. *Clin Exp Dermatol* 2004;29:176-179.
70. **Karasneh JA, Hajeer AH, Silman A.** Polymorphisms in the endothelial nitric oxide synthase gene are associated with Behçet's disease. *Rheumatology* 2005;44:614-617.
71. **Yildirim M, Baysal V, Inaloz HS, Doguc D.** The significance of serum nitric oxide levels in Behçet's disease and recurrent aphthous stomatitis. *J Dermatol* 2004;31:983-988.

72. **Yilmaz G, Sizmaz S, Yilmaz ED, Duman S, Aydin P.** Aqueous humor nitric oxide levels in patients with Behcet disease. *Retina* 2002;22:330-335.
73. **Er H, Evereklioglu C, Cumurcu T, Türköz Y, Ozerol E, Sahin K, Doganay S.** Serum homocysteine level is increased and correlated with endothelin-1 and nitric oxide in Behçet's disease. *Br J Ophthalmol* 2002;86:653-657.
74. **Ikeda U, Ikeda M, Minota S, Shimada K.** Homocysteine increases nitric oxide synthesis in cytokine-stimulated vascular smooth muscle cells. *Circulation* 1999;99:1230-1235.
75. **Evereklioglu C, Inaloz HS, Kirtak N, Doganay S, Bulbul M, Ozerol E, Er H, Ozbek E.** Serum leptin concentration is increased in patients with Behcet's syndrome and is correlated with disease activity. *Br J Dermatol* 2002;147:331-336.
76. **Espinosa G, Font J, Tàssies D, Vidaller A, Deulofeu R, López-Soto A, Cervera R, Ordinas A, Ingelmo M, Reverter JC.** Vascular involvement in Behçet's disease: relation with thrombophilic factors, coagulation activation, and thrombomodulin. *Am J Med* 2002;112:37-43.
77. **Gul A, Ozbek U, Ozturk C, Inanc M, Konice M, Ozelik T.** Coagulation factor V gene mutation increases the risk of venous thrombosis in Behcet's disease. *Br J Rheumatol* 1996;35:1178-1180.
78. **Aksu K, Turgan N, Oksel F, Keser G, Ozmen D, Kitapcioglu G, Gumusdis G, Bayindir O, Doganavsargil E.** Hyperhomocysteinaemia in Behcet's disease. *Rheumatology* 2001;40:687-690.
79. **Yesilova Z, Pay S, Oktenli C, Musabak U, Saglam K, Sanisoglu SY, Dagalp K, Erbil MK, Kocar IH.** Hyperhomocysteinemia in patients with Behcet's disease: is it due to inflammation or therapy? *Rheumatol Int* 2005;25:423-428.
80. **Artavanis-Tsakonas K, Tongren JE, Riley EM.** The war between the malaria parasite and the immune system: Immunity, immunoregulation and immunopathology. *Clin Exp Immunol* 2003;133:145-152.
81. **Mills KH.** Regulatory t cells: Friend or foe in immunity to infection? *Nat Rev Immunol* 2004;4:841-855.
82. **Jiang H, Chess L.** An integrated view of suppressor t cell subsets in immunoregulation. *J Clin Invest* 2004;114:1198-1208.
83. **Sakaguchi S.** Naturally arising CD4+ regulatory t cells for immunologic self tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2004;22:531-562.
84. **Schwartz RH.** Natural regulatory t cells and self-tolerance. *Nat Immunol* 2005;6:327-330.
85. **Palmer E.** Negative selection-clearing out the bad apples from the t-cell repertoire. *Nat Rev Immunol* 2003;3:383-391.
86. **Bagavant H, Thompson C, Ohno K, Setiady Y, Tung KS.** Differential effect of neonatal thymectomy on systemic and organ-specific autoimmune disease. *Int Immunol* 2002;14:1397-1406.
87. **Miyasato F, Manaligod J, Pietra GG, Pollak VE.** Effects of neonatal thymectomy on spontaneous murine autoimmune disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967;125: 1180-1183.
88. **Myozaki M, Kamiyasu M, Miura T, Watanabe Y, Nakanishi T, Yamashita U.** Induction of autoimmune hepatitis and autoantibodies to liver antigens by neonatal thymectomy in mice. *Clin Exp Immunol* 1996;104:133-143.
89. **Nishizuka Y, Sakakura T.** Thymus and reproduction: Sex-linked dysgenesis of

- the gonad after neonatal thymectomy in mice. *Science* 1969;166:753-755.
90. **Guerder S, Picarella DE, Linsley PS, Flavell RA.** Costimulator b7-1 confers antigen-presenting-cell function to parenchymal tissue and in conjunction with tumor necrosis factor alpha leads to autoimmunity in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:5138-5142.
91. **Jiang H, Zhang SI, Pernis B.** Role of CD8+ t cells in murine experimental allergic encephalomyelitis. *Science* 1992;256:1213-1215.
92. **Oliveira-dos-Santos AJ, Ho A, Tada Y, Lafaille JJ, Tonegawa S, Mak TW, Penninger JM.** CD28 costimulation is crucial for the development of spontaneous autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 1999;162:4490-4495.
93. **Walker LS, Abbas AK.** The enemy within: Keeping self-reactive t cells at bay in the periphery. *Nat Rev Immunol* 2002;2:11-19.
94. **Schwartz RH.** T cell anergy. *Annu Rev Immunol* 2003;21:305-334.
95. **Von Herrath MG, Harrison LC.** Antigen-induced regulatory t cells in autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2003;3:223-232.
96. **Roncarolo MG, Levings MK.** The role of different subsets of t regulatory cells in controlling autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2000;12:676-683.
97. **Bluestone JA, Abbas AK.** Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2003;3:253-257.
98. **Asano M, Toda M, Sakaguchi N, Sakaguchi S.** Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a t cell subpopulation. *J Exp Med* 1996;184:387-396.
99. **Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M.** Immunologic self tolerance maintained by activated t cells expressing il-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995;155:1151-1164.
100. **Shevach EM.** Regulatory t cells in autoimmunity. *Annu Rev Immunol* 2000;18:423-449.
101. **Thornton AM, Shevach EM.** Suppressor effector function of CD4+CD25+ immunoregulatory t cells is antigen nonspecific. *J Immunol* 2000;164:183-190.
102. **Haribhai D, Lin W, Relland LM, Truong N, Williams CB, Chatila TA.** Regulatory T cells dynamically control the primary immune response to foreign antigen. *J Immunol* 2007;178:2961-2972.
103. **Salomon B, Lenschow DJ, Rhee L, Ashourian N, Singh B, Sharpe A, Bluestone JA.** B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4+CD25+ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. *Immunity* 2000;12:431-440.
104. **Shimizu J, Yamazaki S, Takahashi T, Ishida Y, Sakaguchi S.** Stimulation of CD25(+)CD4(+) regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance. *Nature immunology* 2000;3:135-142.
105. **Fontenot J, Gavin DMA, Rudensky YA.** Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nature immunology* 2003;4:330-336.
106. **Hori S, Nomura T, Sakaguchi S.** Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003;299:1057-1061.
107. **Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, Paepers B, Clark LB, Yasayko SA, Wilkinson JE, Galas D, Ziegler SF, Ramsdell F.** Disruption of a new

- forkhead/winged-helix protein, scurfin, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nature genetics* 2001;27:68-73.
108. **Walker MR, Kaspirowicz DJ, Gersuk VH, Benard A, Van Landeghen M, Buckner JH, Ziegler SF.** Induction of FoxP3 and acquisition of T regulatory activity by stimulated human CD4+CD25- T cells. *The Journal of clinical investigation* 2003;112:1437-1443.
109. **Roncador G, Brown JP, Maestre L, Hue S, Martinez-Torrecuadrada JL, Ling KL, Pratap S, Toms C, Fox BC, Cerundolo V, Powrie F, Banham AH.** Analysis of FOXP3 protein expression in human CD4+CD25+ regulatory T cells at the single-cell level. *European journal of immunology* 2005;35:1681-1691.
110. **Pillai V, Ortega SB, Wang CK, Karandikar NJ.** Transient regulatory T-cells: a state attained by all activated human T-cells. *Clinical immunology* 2007;123:18-29.
111. **Barrat FJ, Cua DJ, Boonstra A, Richards DF, Crain C, Savelkoul HF, de Waal-Malefyt R, Coffman RL, Hawrylowicz CM, O'Garra A.** In vitro generation of interleukin 10-producing regulatory CD4+ T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (Th1)- and Th2-inducing cytokines. *The Journal of experimental medicine* 2002;195:603-616.
112. **Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, McGrady G, Wahl SM.** Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *The Journal of experimental medicine* 2003;198:1875-1886.
113. **Mucida D, Park Y, Kim G, Turovskaya O, Scott I, Kronenberg M, Cheroutre H.** Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. *Science* 2007;317:256-260.
114. **Matsumura Y, Kobayashi T, Ichiyama K, Yoshida R, Hashimoto M, Takimoto T, Tanaka K, Chinen T, Shichita T, Wyss-Coray T, Sato K, Yoshimura A.** Selective expansion of foxp3-positive regulatory T cells and immunosuppression by suppressors of cytokine signaling 3-deficient dendritic cells. *J Immunol* 2007;179:2170-2179.
115. **Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK.** Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441:235-238.
116. **Kingsley CI, Karim M, Bushell AR, Wood KJ.** CD25+CD4+ regulatory t cells prevent graft rejection: Ctla-4- and il-10-dependent immunoregulation of alloresponses. *J Immunol* 2002;168:1080-1086.
117. **Nakamura K, Kitani A, Strober W.** Cell contact-dependent immunosuppression by CD4(+)/CD25(+) regulatory t cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor beta. *J Exp Med* 2001;194:629-644.
118. **Tai X, Cowan M, Feigenbaum L, Singer A.** CD28 costimulation of developing thymocytes induces foxp3 expression and regulatory t cell differentiation independently of interleukin 2. *Nat Immunol* 2005;6:152-162.
119. **Taylor PA, Friedman TM, Korngold R, Noelle RJ, Blazar BR.** Tolerance induction of alloreactive t cells via ex vivo blockade of the CD40:CD40l costimulatory pathway results in the generation of a potent immune regulatory cell. *Blood* 2002;99:4601-4609.
120. **Viglietta V, Baecher-Allan C, Weiner HL, Hafler DA.** Loss of functional suppression by CD4+CD25+ regulatory t cells in patients with multiple sclerosis. *J Exp Med* 2004;199:971-979.

121. **Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A, Moore S, Warnes G, Isenberg DA, Mauri C.** Compromised function of regulatory t cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-tnfalpa therapy. *J Exp Med* 2004;200:277-285.
122. **Furuno K, Yuge T, Kusahara K, Takada H, Nishio H, Khajoe V, Ohno T, Hara T.** CD25+CD4+ regulatory t cells in patients with kawasaki disease. *J Pediatr* 2004;145:385-390.
123. **Kukreja A, Cost G, Marker J, Zhang C, Sun Z, Lin-Su K, Ten S, Sanz M, Exley M, Wilson B, Porcelli S, Maclaren N.** Multiple immuno-regulatory defects in type-1 diabetes. *J Clin Invest* 2002;109:131-140.
124. **Blesing JJ, Brown MR, Straus SE, Dale JK, Siegel RM, Johnson M, Lenardo MJ, Puck JM, Fleisher TA.** Immunophenotypic profiles in families with autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Blood* 2001;98:2466-2473.
125. **Nanke Y, Kotake S, Goto M, Ujihara H, Matsubara M, Kamatani N.** Decreased percentages of regulatory T cells in peripheral blood of patients with Behçet's disease before ocular attack: a possible predictive marker of ocular attack. *Mod Rheumatol* 2008;18:354-358.
126. **Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, Özgür M, Diker KS.** İmmünoloji, Medisan Yayınevi, Medisan Yayın Serisi No: 13, Ankara,(1994).
127. **Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS.** Cellular and molecular immunology: Philadelphia: W.B. Saunders Company, (1991).
128. **Trotta PP.** Cytokines: An Overview. *Am J Repro Immunol* 1991;25:137-141.
129. **Akyol G, Şengil Z, Baysal B.** İnterlökinler. *S Ü Tıp Fak Derg* 1994;10:117-123.
130. **Vassalli P.** The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol* 1992;10:411-452.
131. **Arayssi T, Hamdan A.** New insights into the pathogenesis and therapy of Behcet's disease. *Curr Opin Pharmacol* 2004;4:183-188.
132. **Lacomba SM, Marcos MC, Gallardo GJM, et al.** Aqueous humor and serum tumor necrosis factor- α in clinical üveitis. *Ophthalmic Res* 2001;33:251-255.
133. **Yamaoka J, Kabashima K, Kawanishi M, Toda K, Miyachi Y.** Cytotoxicity of IFN- γ and TNF- α for vascular endothelial cell is mediated by nitric oxide. *Biochem Biophy Res Commun* 2002;291:780-786.
134. **Yu HG, Lee DS, Seo JM.** The numbers of CD8+ T cells and NKT cells increases in the aqueous humor of patients with Behçet's uveitis. *Clin Exp Immunol* 2004; 137:438-443.
135. **Pipitone N, Olivieri I, Cantini F, Triolo G, Salvarani C.** New approaches in the treatment of Adamantiades-Behcet's disease. *Curr Opin Rheumatol* 2006;18:3-9.
136. **Muhaya M, Calder V, Towler HMA.** Charecterization of T cells and cytokines in the aques humour in patients with Fuchs' heterochromic cyclitis and idiopathic anterior uveitis. *Clin Exp Immunol* 1998;111:123-128.
137. **Mantas C, Direskeneli H, Eksioğlu-Demiralp E, Akoglu T.** Serum levels of Th2 cytokines IL-4 and IL-10 in Behçet's Disease. *J Rheumatol* 1999;26:510-512.
138. **Humeric V, Erdem U, Inal A, Bayraktar MZ.** Üveitli olgularda sitokin profilinin karşılaştırılması. *Gülhane Tıp Dergisi* 2006;48:151-156.
139. **Lacomba MS, Martin CM, Chamond RR, Galera JM, Omar M, Estevez EC.** Aqueous and serum interferon- γ , interleukin (IL) 2, IL-4, and IL-10 in patients with üveitis. *Arch Ophthalmol* 2000;118:768-772.
140. **Ongkosuwito JV, Feron EJ, van Doornik CE, Van der Lelij A, Hoyng CB,**

- La Heij EC, Kijlstra A.** Analysis of immunoregulatory cytokines in ocular fluid sample from patients with uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:2659-2665.
141. **Calder VL, Shaer B, Muhaya M, Mclauchlan M, Pearson RV, Jolly G, Towler HM, Lightman S.** Increased CD4+ expression and decreased IL-10 in the anterior chamber in idiopathic uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:2019-2024.
142. **Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H.** Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001;12:53-72.
143. **Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F, Bessioud M, Hamza M, Ayed K.** Cytokine profile in Behçet's disease patients. Relationship with disease activity. *Scand J Rheumatol* 2002;31:205-210.
144. **Frassanito MA, Dammacco R, Cafforio P, Dammacco F.** Th1 polarization of the immune response in Behçet's disease: a putative pathogenetic role of interleukin-12. *Arthritis Rheum* 1999;42:1967-1974.
145. **Sugi-Ikai N, Nakazawa M, Nakamura S, Ohno S, Minami M.** Increased frequencies of interleukin-2 and interferongamma producing T cells in patients with active Behçet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:996-1004.
146. **Musabak U, Pay S, Erdem H, Simsek I, Pekel A, Dinc A, Sengul A.** Serum interleukin-18 levels in patients with Behçet's disease. Is its expression associated with disease activity or clinical presentations? *Rheumatol Int* 2006;26:545-550.
147. **Oztas MO, Onder M, Gurer MA, Bukan N, Sancak B.** Serum interleukin 18 and tumour necrosis factor-alpha levels are increased in Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol* 2005;30:61-63.
148. **Lee YJ, Kang SW, Park JJ, Bae YD, Lee EY, Lee EB, Song YW.** Interleukin 18 promoter polymorphisms in patients with Behçet's disease. *Human Immunology* 2006;67:812-818.
149. **Ben Ahmed M, Houman H, Milled M, Dellagi K, Louzir H.** Involvement of chemokines and Th1 cytokines in the pathogenesis of mucocutaneous lesions of Behçet's disease. *Arthritis Rheum* 2004;50:2291-2295.
150. **Houman H, Hamzaoui A, Ben Ghorbal I.** Abnormal expression of chemokine receptors in Behçet's disease: relationship to intracellular Th1/Th2 cytokines and to clinical manifestations. *J Autoimmun* 2004;23:267-273.
151. **Imamura Y, Kurokawa MS, Yoshikawa H, Nara K, Takada E, Masuda C, Tsukikawa S, Ozaki S, Matsuda T, Suzuki N.** Involvement of Th1 cells and heat shock protein 60 in the pathogenesis of intestinal Behçet's disease. *Clin Exp Immunol* 2005;139:371-378.
152. **Saruhan-Direskeneli G, Yentur SP, Akman-Demir G, Isik N, Serdaroğlu P.** Cytokines and chemokines in neuro-Behçet's disease compared to multiple sclerosis and other neurological diseases. *J Neuroimmunol* 2003;145:127-134.
153. **Wang LM, Kitteringham N, Mineshita S, Wang JZ, Nomura Y, Koike Y, Miyashita E.** The demonstration of serum interleukin-8 and superoxide dismutase in Adamantiades-Behçet's disease. *Arch Dermatol Res* 1997;289:444-447.
154. **al-Dalaan A, al-Sedairy S, al-Balaa S.** Enhanced interleukin 8 secretion in circulation of patients with Behçet's disease. *J Rheumatol* 1995;22:904-907.
155. **de Boer JH, Hack CE, Verhoeven AJ, Baarsma GS, de Jong PT, Rademakers AJ, de Vries-Knoppert WA, Rothova A, Kijlstra A.** Chemoattractant and neutrophil degranulation activities related to interleukin-8 in

- vitreous fluid in uveitis and vitreoretinal disorders. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:3376-3385.
156. **Verma MJ, Rager H, Strieter R, Kunkel S, Taub D, Wakefield D.** Chemokines in acute anterior uveitis. *Curr Eye Res* 1997;16:1202-1208.
157. **Evereklioglu C, Er H, Turkoz Y, Cekmen M.** Serum levels of TNF- α , sIL-2R, IL-6 and IL-8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behçet's disease. *Mediators of Inflammation* 2002;11:87-93.
158. **Bozkurt N, Kazokoglu H, Yavuz S, Bavbek T, Direskeneli H.** Elevated serum chemokine levels in Behçet's disease with uveitis. *Rheumatol Int* 2003;23:268-269.
159. **Schreiber SI, Crabtree GR.** The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today* 1992;13:136-142.
160. **Hamazaoui K, Hamza M, Ayed K.** Soluble IL-2 receptor in patients with Behçet's disease. *J Rheumatol* 1989;16:852-853.
161. **Yosipovitch G, Shohat B, Bshara J.** Elevated serum interleukin 1 receptors and interleukin 1B in patients with Behçet's disease: correlations with disease activity and severity. *Isr Med Sci* 1995;31:345-348.
162. **Fossiez F, Djossou O, Chomar P, Flores-Romo L, Ait-Yahia S, Maat C, Pin JJ, Garrone P, Garcia E, Saeland S, Blanchard D, Gaillard C, Das Mahapatra B, Rouvier E, Golstein P, Banchereau J, Lebecque S.** T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J Exp Med* 1996;183:2593-2603.
163. **Ochs HD, Mohamed O, Torgerson TR.** Th17 cells and regulatory T cells in primary immunodeficiency diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:977-983.
164. **Kolls JK, Linden A.** Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 2004;21:467-476.
165. **Li H, Chen J, Huang A, Stinson J, Heldens S, Foster J, Dowd P, Gurney AL, Wood WI.** Cloning and characterization of IL-17B and IL-17C, two new members of the IL-17 cytokine family. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:773-778.
166. **Starnes T, Broxmeyer HE, Robertson MJ, Hromas R.** Cutting edge: IL-17D, a novel member of the IL-17 family, stimulates cytokine production and inhibits hemopoiesis. *J Immunol* 2002;169:642-646.
167. **Lee J, Ho WH, Maruoka M, Corpuz RT, Baldwin DT, Foster JS, Goddard AD, Yansura DG, Vandlen RL, Wood WI, Gurney AL.** IL-17E, a novel proinflammatory ligand for the IL-17 receptor homolog IL-17Rh1. *J Biol Chem* 2001;276:1660-1664.
168. **Starnes T, Robertson MJ, Sledge G, Kelich S, Nakshatri H, Broxmeyer HE, Hromas R.** Cutting edge: IL-17F, a novel cytokine selectively expressed in activated T cells and monocytes, regulates angiogenesis and endothelial cell cytokine production. *J Immunol* 2001;167:4137-4140.
169. **Shi Y, Ullrich SJ, Zhang J, Connolly K, Grzegorzewski KJ, Barber MC, Wang W, Wathen K, Hodge V, Fisher CL, Olsen H, Ruben SM, Knyazev I, Cho YH, Kao V, Wilkinson KA, Carrell JA, Ebner R.** A novel cytokine receptor-ligand pair. Identification, molecular characterization, and *in vivo* immunomodulatory activity. *J Biol Chem* 2000;275:19167-19176.
170. **Rouvier E, Luciani MF, Mattei MG, Denizot F, Golstein P.** CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene. *J Immunol* 1993;150:5445-5456.

171. **Yao Z, Timour M, Painter S, Fanslow W, Spriggs M.** Complete nucleotide sequence of the mouse CTLA8 gene. *Gene* 1996;168:223–225.
172. **Ferretti S, Bonneau O, Dubois GR, Jones CE, Trifilieff A.** IL-17, produced by lymphocytes and neutrophils, is necessary for lipopolysaccharide-induced airway neutrophilia: IL-15 as a possible trigger. *J Immunol* 2003;170:2106–2112.
173. **Shin HC, Benbernou N, Esnault S, Guenounou M.** Expression of IL-17 in human memory CD45RO+ T lymphocytes and its regulation by protein kinase A pathway. *Cytokine* 1999;11:257–266.
174. **Lockhart E, Green AM, Flynn JL.** IL-17 production is dominated by gammadelta T cells rather than CD4 T cells during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol* 2006;177:4662–4669.
175. **Molet S, Hamid Q, Davoine F, Nutku E, Taha R, Pagé N, Olivenstein R, Elias J, Chakir J.** IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:430–438.
176. **Zhou Q, Desta T, Fenton M, Graves DT, Amar S.** Cytokine profiling of macrophages exposed to *Porphyromonas gingivalis*, its lipopolysaccharide, or its FimA protein. *Infect Immun* 2005;73:935–943.
177. **Fort MM, Cheung J, Yen D, Li J, Zurawski SM, Lo S, Menon S, Clifford T, Hunte B, Lesley R.** IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. *Immunity* 2001;15:985–995.
178. **Ziolkowska M, Koc A, Luszczkiewicz G, Ksiezopolska-Pietrzak K, Klimczak E, Chwalinska-Sadowska H, Maslinski W.** High levels of IL-17 in rheumatoid arthritis patients: IL-15 triggers in vitro IL-17 production via cyclosporin A-sensitive mechanism. *J Immunol* 2000;164:2832–2838.
179. **Fujino S, Andoh A, Bamba S.** Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003;52:65–70.
180. **Kurasawa K, Hirose K, Sano H, Endo H, Shinkai H, Nawata Y, Takabayashi K, Iwamoto I.** Increased interleukin-17 production in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2000;43:2455–2463.
181. **Amadi-Obil A, Yu C, Liu X.** TH17 cells contribute to uveitis and scleritis and are expanded by IL-2 and inhibited by IL-27/STAT1. *Nat Med.* 2007;13:711–718.
182. **Chi W, Yang P, Li B, Wu C, Jin H, Zhu X, Chen L, Zhou H, Huang X, Kijlstra A.** Interleukin-23 promotes CD4+ T cells to produce interleukin-17 in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119:1218–1224.
183. **Chi W, Zhu X, Yang P, Liu X, Lin X, Zhou H, Huang X, Kijlstra A.** Upregulated IL-23 and IL-17 in Behçet patients with active uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:3058–3064.
184. International Study Group for Behçet’s Disease. Criteria for diagnosis of Behçet’s disease. *Lancet* 1990;335:1078–1080.
185. **Dilsen N, Konice M, Aral O.** Risk factors for vital organ involvement in Behçet’s disease. In: Godeau P, Wechsler B, eds. *Behçet’s disease*. Paris: Elsevier, 1993:165–169.
186. **Imai Y.** Studies on prognosis and symptoms of Behçet’s disease in long-term observation. *Jpn J Clin Ophthalmol* 1971;25:661–694.
187. **Kötter I, Durk H, Saal JG, et al.** Therapy of Behçet’s disease. *Ger J Ophthalmol* 1996;5:92–97.
188. **Ramsay A, Lightman S.** Hypopyon uveitis. *Surv Ophthalmol.* 2001;46: 1–18.

189. **Harper SL, Chorich LJ, Foster CS.** Adamantiades- Behçet disease. In: Foster CS, Vitale AT, eds. *Diagnosis and treatment of uveitis*. Philadelphia PA: Saunders, 2002: 632-652.
190. **Sheu SJ, Yang CA.** Macular hole in Behçet's disease. *Kaohsiung J Med Sci* 2004;20:558–562.
191. **Yalvac IS, Sungur G, Turhan E.** Trabeculectomy with mitomycin-C in uveitic glaucoma associated with Behçet disease. *J Glaucoma* 2004;13:450–453.
192. **Elgin U, Berker N, Batman A.** Incidence of secondary glaucoma in Behçet disease. *J Glaucoma* 2004;13:441–444.
193. **Lee LA.** Behçet's disease. *Semin Cutan Med Surg* 2001;20:53–57.
194. **Nussenblatt RB.** Uveitis in Behçet's disease. *Int Rev Immunol* 1997;14:67–79.
195. **Sakamoto M, Akazawa K, Nishioka Y, Sanui H, Inomata H, Nose Y.** Prognostic factors of vision in patients with Behçet's disease. *Ophthalmology* 1995;102:317–321.
196. **Harper SL, Chorich LJ, Foster CS.** Principles of diagnosis and therapy. In: Foster CS, Vitale AT, eds. *Diagnosis and treatment of uveitis*. Philadelphia PA: Saunders, 2002: 79-103.
197. **Toker E., Kazokoglu H., Acar N.** High dose intravenous steroid therapy for severe posterior segment uveitis in Behçet's disease. *Br. J.Ophthalmol.* 2002;86:521–523.
198. **Nussenblatt RB, Whitcup SM, Palestine AG.** Behçet's disease. *Uveitis: Fundamentals and Clinical practice*, 2 nd ed. St. Louis, Mosby, 1996, 334-353.
199. **Yazici H, Pazarli H, Barnes CG, Tuzun Y, Ozyazgan Y, Silman A, Serdaroglu S, Oguz V, Yurdakul S, Lovatt GE.** A controlled trial of azathioprine in Behçet's syndrome. *N Engl J Med* 1990;322:281-285.
200. **Acican T, Gukan OU.** Azathioprine-steroid combination therapy for pulmonary arterial aneurysms in Behçet's disease. *Rheumatol Int* 2001;20:171–174.
201. **Sullu Y, Oge I, Erkan D, Arıturk N, Mohajeri F.** Cyclosporine-A therapy in severe uveitis of Behçet's disease. *Acta Ophthalmol Scand* 1998;76:96–99.
202. **Kotake S, Higashi K, Yoshikawa K, Sasamoto Y, Okamoto T, Matsuda H.** Central nervous system symptoms in patients with Behçet's disease receiving cyclosporine therapy. *Ophthalmology* 1999;106:586–589.
203. **Kötter I, Günaydin I, Batra M, Vonthein R, Stübiger N, Fierlbeck G, Melms A.** CNS involvement occurs more frequently in patients with Behçet's disease under cyclosporine A (CSA) than under other medications—results of a retrospective analysis of 117 cases. *Clin. Rheumatol.* 2006;25:482–486.
204. **Ozyazgan Y, Yurdakul S, Yazıcı H.** Low dose cyclosporin A versus pulsed cyclophosphamide in Behçet's syndrome: A single masked trial. *Br J Ophthalmol* 1992;76:241- 243.
205. **Mudun BA, Ergen A, Ipcioglu SU, Burumcek EY, Durlu Y, Arslan MO.** Short-term chlorambucil for refractory uveitis in Behçet's disease. *Ocul Immunol Inflamm* 2001;9:219-229.
206. **Sloper CM, Powell RJ, Dua HS.** Tacrolimus (FK506) in the treatment of posterior uveitis refractory to cyclosporine. *Ophthalmology* 1999;106:723-728.
207. **Bodaghi B, Gendron G, Wechsler B, Terrada C, Cassoux N, Le ThiHuong D, Lemaitre C, Fardeau C, LeHoang P, Piette J.C.** Efficacy of interferon alpha in the treatment of refractory and sight-threatening uveitis: a retrospective monocentric study of 45 patients. *Br J Ophthalmol* 2007;91:335–339.

208. **Tugal-Tutkun I, Onal S, Altan-Yaycioglu R, Kir N, Urgancioglu M.** Neovascularization of the Optic Disc in Behçet's Disease. *Jpn J Ophthalmol* 2006;50:256–265.
209. **Krause L, Altenburg A, Bechrakis NE, Willerding G, Zouboulis CC, Foerster MH.** Intraocular surgery under systemic interferon-alpha therapy in ocular Adamantiades-Behçet's disease. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:1617–1621.
210. **Sfikakis PP, Kaklamanis PH, Elezoglou A, Katsilambros N, Theodossiadis PG, Papaefthimiou S, Markomichelakis N.** İnfliksimab for recurrent, sight-threatening ocular inflammation in Adamantiades-Behçet disease. *Ann Intern Med* 2004;140:404-406.
211. **Tugal-Tutkun I, Mudun A, Urgancioglu M, Kamali S, Kasapoglu E, Inanc M, Gül A.** Efficacy of infliximab in the treatment of uveitis that is resistant to treatment with the combination of azathioprine, cyclosporine, and corticosteroids in Behçet's disease. *Arthritis Rheum.* 2005;52:2478–2484.
212. **Abu El-Asrar A.M., Abboud E.B., Aldibhi H., Al-Arfaj A.** Long-term safety and efficacy of infliximab therapy in refractory uveitis due to Behçet's disease. *Int. Ophthalmol.* 2005;26:83–92.
213. **Sfikakis PP, Markomichelakis N, Alpsyoy E, Assaad-Khalil S, Bodaghi B, Gul A, Ohno S, Pipitone N, Schirmer M, Stanford M, Wechsler B, Zouboulis C, Kaklamanis P, Yazici H.** Anti-TNF therapy in the management of Behçet's disease: review and basis for recommendations. *Rheumatology* 2007;46:736–741.
214. **Niccoli L, Nannini C, Benucci M, Chindamo D, Cassarà E, Salvarani C, Cimino L, Gini G, Lenzetti I, Cantini F.** Long-term efficacy of infliximab in refractory posterior uveitis of Behçet's disease: a 24-month follow-up study. *Rheumatology* 2007;46:1161–1164.
215. **Accorinti M, Pirraglia MP, Paroli MP, Priori R, Conti F, Pivetti-Pezzi P.** Infliximab treatment for ocular and extraocular manifestations of Behçet's disease. *Jpn J Ophthalmol* 2007;51:191–196.
216. **Ohno S, Nakamura S, Hori S, Shimakawa M, Kawashima H, Mochizuki M, Sugita S, Ueno S, Yoshizaki K, Inaba G.** Efficacy, safety, and pharmacokinetics of multiple administration of infliximab in Behçet's disease with refractory uveoretinitis. *J Rheumatol* 2004; 31:1362–1368.
217. **Mushtaq B, Saeed T, Stunayeke RD, Murray PI.** Adalimumab for sight threatening uveitis in Behçet's disease. *Eye* 2007;21:824-825.
218. **Van Laar JM, Missotten T, van Daele PLA, Jamnitski A, Baarsma GS, van Hagen PM.** Adalimumab; a new modality for Behçet's disease? *Ann Rheum Dis* 2007;66:565-566.
219. **Sanchez-Cano D, Callejas-Rubio JL, Ortego-Centeno N, Ruiz- Villaverde R.** Urticaria and angioedema in a patient with Behçet's disease treated with adalimumab. *Clin Exp Rheumatol* 2006;24(5 Suppl 42):S 128.
220. **Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT.** Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509 –516.
221. **Akkoc T.** Astım Allerji İmmünoloji 2007;5(2):95-96.
222. **Yazıcı H.** Behçet syndrome: an update. *Curr Rheumatol Rep* 2003;5:195-199.
223. **Direskeneli H.** Autoimmunity vs. autoinflammation in Behçet's disease: do

- weover-simplify a complex disorder? *Rheumatology* 2006;45:1461-1465.
224. **Sayinalp N, Ozcebe OI, Ozdemir O, Haznedaroglu IC, Dundar S, Kirazli S.** Cytokines in Behçet's disease. *J Rheumatol* 1996;23:321-322.
225. **Bacon TH, Ozbakir F, Elmas CA, Denman AM.** Interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells from patients With Behçet's syndrome. *Clin Exp Immunol* 1984;57:541-547.
226. **Mege JL, Dilsen N, SanguedolceV.** Overproduction of monocyte derived tumor necrosis factor alpha, interleukin (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* 1993;20:1544-1549.
227. **Ahn JK, Yu HG, Chung H, Park YG.** Intraocular cytokine environment in active Behçet uveitis. *Am J Ophthalmol* 2006;142:429-434.
228. **Kuhn A, Beissert S, Krammer PH.** CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in human lupus erythematosus. *Arch Dermatol Res* 2009;301:71-81.
229. **Chen L, Yang P, Zhou H, He H, Ren X, Chi W, Wang L, Kijlstra A.** Diminished frequency and function of CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells associated with active uveitis in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:3475-3482.
230. **Pay S, Simsek I, Erdem H, Pekel A, Musabak U, Sengul A, Dine A.** Dendritic cell subsets and type 1 interferon system in Behçet's disease: does functional abnormality in plasmacytoid dendritic cells contribute to Th1 polarization? *Clin Exp Rheumatol* 2007;25:34-40
231. **Prochazkova J, Fric J, Pokorna K, Neuwirth A, Krulova M, Zajicova A, Holan V.** Distinct regulatory roles of transforming growth factor-β and interleukin-4 in the development and maintenance of natural and induced CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells. *Immunology* 2009;128:670-678.
232. **Chen WJ, Konkel JE.** TGF-β and 'Adaptive' Foxp3⁺ regulatory T cells. *Journal of Molecular Cell Biology* 2009;1-7.
233. **Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK.** IL-17 and Th17 cells. *Annu Rev Immunol* 2009;27:485-517.
234. **Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT.** Transforming growth factor-β induces development of the TH17 lineage. *Nature* 2006;441:231-234.

VIII. EKLER

EK-1

HASTA BİLGİLENDİRME FORMU

ÇALIŞMANIN ADI

‘Behçet hastalığına bağlı üveiti olan hastalarda interferon alfa-2a tedavisinin T regülatuar hücreler üzerine etkisi’

Size Behçet hastalığı tanısı konulmuştur. Behçet hastalığı kronik seyirli ve birden fazla organı etkileyen bir hastalıktır. Behçet hastalığı gözde üveit denilen bir iltihaba neden olabilmektedir. Bu hastalığın nedenine yönelik hala çalışmalar yapılmaktadır. Behçet hastalığında tedavinin amacı iltihabı kontrol altına almak, sizde yol açacağı rahatsızlıkları ve fonksiyon kayıplarını en aza indirmeye çalışmaktır. Konvansiyonel immunsupresif tedavilere dirençli olan bir grup hastada immünomodülatuar ajanlar kullanılmaktadır. Bu ajanlar ile iyi sonuçların elde edildiği çeşitli yayınlarda rapor edilmiş ve günümüzde kullanımı popüler hale gelmiştir. Son dönemlerde özellikle diğer ilaçlara dirençli olgularda etkinliği rapor edilmiş immünomodülatuar bir ajan ile tedavi edileceksiniz. Piyasa adı ‘Roferon A’ olan interferon α -2a size başlanacak olan ilacımızdır. Sistemik inflamatuvar bir hastalık olarak düşünülen Behçet hastalığının patogeneğinde iltihaptan sorumlu bazı moleküller (sitokinler) ve kanda dolaşan bazı hücreler (CD4+CD25+ T regülatuar (düzenleyici) lenfosit) suçlanmaktadır. Hem Behçet hastalığının nedenine hem tedavinin etkinliğine ışık tutabilmek için bu sitokinlerin araştırılması gerekmektedir. İnterferon alfa-2a kullanımıyla kanda bulunan bu iltihaptan sorumlu moleküllerin (sitokinler) ve kanda dolaşan bazı hücrelerin (CD4+CD25+T regülatuar (düzenleyici) lenfosit) düzeylerindeki değişikliğin belirlenmesi için 3 heparinize tüpe, 1 hemogram tüpüne, 1 kuru tüpe iki kereye mahsus yaklaşık 20 cc kan alınması gerekmektedir. Kan tetkiki için herhangi bir ödeme yapmanız gerekmemektedir. Çalışmaya katılan şahısların kimliği saklı tutulacaktır.

EK-2

HASTA ONAY FORMU

ÇALIŞMANIN ADI

'Behçet hastalığına bağlı üveiti olan hastalarda interferon alfa-2a tedavisinin T regülatuar hücreler üzerine etkisi'

HASTA ONAY FORMU

Araştırma hakkında verilmesi gereken hasta bilgilendirme formunu okudum. Kendi isteğimle hiçbir baskı altında kalmadan çalışmaya katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün

Adı Soyadı:

İmza:

Tarih:

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı Soyadı:

İmza:

Tarih:

EK-3

BEHÇET HASTALIĞI GÖZ TUTULUMU HASTA TAKİP FORMU

‘Behçet hastalığına bağlı üveiti olan hastalarda interferon alfa-2a tedavisinin T regülatuar hücreler üzerine etkisi’

HASTA TAKİP FORMU

Hastanın Adı Soyadı Cinsiyeti Başvuru Yaşı Protokol No Uvea dosya No Telefon

Tedavi öncesi: Kan alındı : Tarih: Tedavi başladıktan sonra: Kan alındı: Tarih:
--

	Pozitif <input type="checkbox"/>	Negatif <input type="checkbox"/>
HLA-B51	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Oral Aft	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Genial Ülser	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Eritema nodosum	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Püstüller lezyonlar	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Folikülit/akneiform lezyonlar	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Paterji	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Subkutanöz tromboflebit	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Artrit	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Artralji	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Vaskülit/tromboflebit	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Derin ven trombozu	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Santral sinir sistemi lezyonları	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
Orşiepididimit	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>
AİLE ÖYKÜSÜ	Var <input type="checkbox"/>	Yok <input type="checkbox"/>

KLİNİK

Behçet hastalığına bağlı üveiti olan hastalarda interferon alfa-2a tedavisinin T regülatuar hücreler üzerine etkisi'

Tutulum: Unilateral (R/L) Bilateral
Toplam Atak Sayısı

GÖRME KESKİNLİĞİ	Sağ	Sol
Giriş görme keskinliği (tedavi öncesi)		
Son görme keskinliği (tedavi sonrası)		

ÖN SEGMENT BULGULARI	
Hipopiyon	<input type="checkbox"/>
Siliyer injeksiyon	<input type="checkbox"/>
Keratik presipite	<input type="checkbox"/>
Hücre	()+
Flare	<input type="checkbox"/>

ARKA SEGMENT BULGULARI	
Retinal vaskülit	<input type="checkbox"/>
Retinit	<input type="checkbox"/>
Makula ödemi	<input type="checkbox"/>
Vitrit	<input type="checkbox"/>
Papillit	<input type="checkbox"/>

KOMPLİKASYONLAR			
Persistan arka sineşi	<input type="checkbox"/>	NVE	<input type="checkbox"/>
GİB artışı	<input type="checkbox"/>	NVD	<input type="checkbox"/>
Katarakt	<input type="checkbox"/>	Retina dekolmanı	<input type="checkbox"/>
ERM	<input type="checkbox"/>	Makulada pigmenter değişiklikler	<input type="checkbox"/>
Vitre içi kanama	<input type="checkbox"/>	Optik atrofi	<input type="checkbox"/>

TEDAVİ	Evet	Dönem
Sistemik Kortikosteroid		
Kolşisin		
Azathioprine		
Siklofosfamid		
Siklosporin		
Anti-TNF- α		
İnterferon α -2a		

EK-4

Tüm hastalara ait CD4+CD25+ Treg lenfositlerde Foxp3 molekülü ekspresyon yüzdesi, ortalama floresan indeksi (MFI) ve CD4+CD25+ Treg hücre popülasyonu süpernatantında sitokin seviyeleri

Grup 1:

Foxp3	MFI	İFN- γ	TNF- α	IL4	IL17	IL18	IL10
1,90	430	7,500	6,300	23,400	3,440	1,620	2,390
5,60	480	5,890	1,990	21,400	< 0	0,696	1,980
0,70	345	15,200	48,900	29,400	19,700	6,340	3,630
7,20	544	8,240	7,840	36,600	< 0	7,430	0,899
5,10	473	7,500	2,330	21,700	1,540	0,169	1,700

Grup 2:

Foxp3	MFI	İFN- γ	TNF- α	IL4	IL17	IL18	IL10
3,20	418	6,190	1,990	39,000	24,800	1,620	< 0
32,00	805	4,880	12,100	32,700	5,500	16,600	< 0
10,40	442	4,300	1,340	15,200	< 0	1,830	1,840
10,20	519	8,980	2,440	19,300	12,300	2,470	2,940
5,30	709	7,060	1,020	24,200	< 0	0,444	1,300

Grup 3 (Tedavi öncesi):

Foxp3	MFI	İFN- γ	TNF- α	IL4	IL17	IL18	IL10
1,50	398	2,880	0,523	22,300	< 0	1,170	0,120
5,30	543	1,340	4,200	20,500	7,670	1,620	1,700
3,60	511	43,700	1,340	44,200	14,700	1,830	0,120
16,50	792	1,200	2,100	14,000	17,200	2,470	2,110
22,40	668	< 0	0,620	14,100	1,540	0,169	< 0
0,90	364	2,170	6,430	19,500	27,500	4,070	1,430

Grup 3 (Tedavi sonrası):

Foxp3	MFI	İFN- γ	TNF- α	IL4	IL17	IL18	IL10
1,80	340	1,890	2,220	12,400	3,440	4,260	1,430
1,00	329	2,170	21,800	14,900	3,440	3,680	1,980
4,10	478	3,020	3,250	18,300	12,300	6,150	2,520
15,90	680	4,450	0,820	15,700	< 0	0,169	< 0
0,30	248	0,125	2,100	19,400	3,440	3,680	1,170
0,60	215	0,789	1,450	22,900	3,440	1,170	0,767

Grup 4 (Tedavi öncesi):

Foxp3	MFI	İFN-γ	TNF-α	IL4	IL17	IL18	IL10
15,90	680	4,450	0,820	15,700	< 0	0,169	< 0
1,00	329	2,170	21,800	14,900	3,440	3,680	1,980
1,80	340	1,890	2,220	12,400	3,440	4,260	1,430
4,10	478	3,020	3,250	18,300	12,300	6,150	2,520
0,30	248	0,125	2,100	19,400	3,440	3,680	1,170
1,5	396	0,125	7,580	11,700	< 0	2,050	0,899
2	323	8,240	2,900	16,900	14,700	5,030	1,980

Grup 4 (Tedavi sonrası):

Foxp3	MFI	İFN-γ	TNF-α	IL4	IL17	IL18	IL10
5,1	514	4,740	13,900	29,400	19,700	2,260	3,910
0,8	347	1,340	2,560	14,400	3,440	< 0	1,840
0,7	437	2,590	2,100	27,500	12,300	2,050	2,660
0,9	439	0,125	7,320	17,700	5,500	0,169	2,390
0,6	486	2,730	2,560	9,990	7,670	1,170	1,430
0,5	396	2,590	1,660	20,900	< 0	1,170	< 0
0,8	518	2,310	1,340	13,600	7,670	0,936	< 0