

T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

BEHÇET HASTALIĞINDA IL-17'NİN ROLÜ

Nurten SAYIN EKİNCİ

Yüksek Lisans Tezi

Antalya,2009

T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

BEHÇET HASTALIĞINDA IL-17’NİN ROLÜ

Nurten SAYIN EKİNCİ

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Olcay YEGİN

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.
(Proje No:2007.02.0122007)

“Tezimden Kaynakça Gösterilerek Yararlanılabilir”

Antalya,2009

Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma, jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'na bağlı İmmünoloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. .../.../2009

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Olcay YEGİN
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Ender TERZİOĞLU
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Erkan ALPSOY
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Dermatoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Ayşen BİNGÖL BOZ
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Sadi KÖKSOY
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirtilen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih vesayılı kararıyla kabul edilmiştir. .../.../2009

Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL
Enstitü Müdürü

ÖZET

Behçet hastalığı (BH) mukokutanöz, göz, eklem, vasküler ve santral sinir sistemi tutulumları ile multisistemik bir hastalıktır. Yeni çalışmalar BH'da inflamasyonun immünpatogenezinde, sitokin profillerinin önemli rol oynadığını göstermektedir. Son yıllarda bilinen bu T hücre alt gruplarına proinflamatuvar, ayrıca nötrofil hiperfonksiyonunu arttırdığı bilinen IL-17 sitokinini üreten Th 17 alt grubu eklenmiştir. Th 17 hücreleri ve IL-17 sitokininin deneysel hayvan modellerinde collagen induced arthritis (CIA), experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), autoimmune uveitis, ve inflammatory bowel disease (IBD) gibi otoimmün inflamatuvar hastalıkların patogenezinde ve hücre dışı patojenlere karşı konak savunmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir. İnsanlarda multiple sclerosis (MS), uveitis ve rheumatoid arthritis (RA) hastalarının synovial sıvılarında IL-17 seviyesinin arttığı gösterilerek bu hastalıklarda IL-17 sitokini ve Th 17 hücrelerinin önemli olduğu gösterilmiştir. Biz bu çalışmamızda, Behçet'li hastalarda; daha çok Th 17 hücrelerinin ürettiği ama bu hücrelerin yanı sıra NK hücrelerinin, CD8+ hücrelerinin ve nötrofillerinde üretebildiği düşünülen IL-17 sitokininin rolünü değerlendirdik. Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Dermatoloji ve Venoroloji Anabilimdalı, Dermatoloji Polikliniğine başvuran, Uluslararası Çalışma Grubu'nun tanı kriterlerine göre Behçet Hastalığı tanısı almış, toplam 45 hasta çalışmaya alındı. Kontrol grubu olarak sağlıklı gönüllüler ve hastane personelinden oluşan, yaş ve cinsiyeti hasta grubu ile uyumlu 33 kişi seçildi. Behçet hastaları çalışma anındaki bulgularına göre aktif ve inaktif olmak üzere iki gruba ayrıldılar. Aktif ve inaktif hastalar tutulum durumlarına göre üveiti olan olmayan şeklinde belirlendi. IL-17 serum seviyeleri ELISA testi ile ölçüldü. BH, Psöriasis hastalarının ve sağlıklı kontrollerin periferik kan mononükleer hücrelerinin bazı uyarılara karşı IL-17 yanıtları in vitro ELISPOT testi ile belirlendi. BH ve sağlıklı kontrollerin periferik kan Th 17 seviyeleri hücre içi sitokin boyama metoduyla flowcytometri ile ölçüldü. Verilerin değerlendirilmesinde, SPSS for Windows 10,0 istatistik paket programı kullanıldı. Karşılaştırmalarda student's t, mann whitney u, kruskal wallis test kullanıldı. P<0.05 anlamlı kabul edildi.

Çalışmamızda şu gözlemler yapılmıştır; Behçet hastalarının serum IL-17 sağlıklı kontrollerden yüksektir. Aktif dönem Behçet hastalarının serum IL-17 düzeyleri inaktif dönem Behçet hastalarından ve sağlıklı kontrollerden yüksektir. İnaktif dönemdeki hastaların IL-17 düzeyleri kontrollerden farklı bulunmamıştır. Üveiti olan Behçet hastalarının serum IL-17 düzeyleri üveiti olmayan Behçet hastalarından farklı değildi. Ancak aktif üveiti olan Behçet hastalarının serum IL-17 düzeyi inaktif üveiti olan Behçet hastalarından ve sağlıklı kontrollerden yüksektir. Streptococcus sangius, E.coli ve PHA ile uyartım sonrasında BH, Psöriasis ve sağlıklı kontrollerin Periferik kan mononükleer hücreleri IL-17 sitokinini üretmektedir. BH ve Psöriasis hastalarında Streptococcus sangius, E.coli ve PHA ya karşı IL-17 yanıtı sağlıklı kontrollerden yüksektir. BH hastalarında Streptococcus sangius, E.coli ve PHA ya karşı üretilen toplam IL-17, CD4+IL-17+ ve CD4-IL-17+ T hücre yüzdesi sağlıklı kontrollerden yüksektir. Sonuç olarak IL-17 sitokin seviyesi ve yanıtı BH da yüksektir ve bizim bulgularımıza göre Th 17 hücrelerinin ürettiği IL-17 sitokini Behçet hastalığının patogenezinde önemli bir role sahiptir.

Anahtar kelimeler: Behçet Hastalığı, Th 17 hücreleri, IL-17 sitokini

ABSTRACT

Behçet's disease (BD) is a multisystemic inflammatory disease, vasculitic lesions attacks mucocutaneous sites, eye, joint and central nerve system. New studies at BD shows that cytokine profiles play important role in immune pathogenesis. Recently a proinflammatory Th17, subtype of helper T cells - which produces IL-17 cytokine family has been described. Th17 cells is known to increase neutrophil activity and recruitment to inflammation site. Th17 cells and IL-17 have been shown to play important roles in defence against extracellular pathogens and also in the pathogenesis of several autoimmune inflammatory conditions, such as collagen induced arthritis (CIA), experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), autoimmune uveitis, and inflammatory bowel disease (IBD) in experimental models. In humans increased IL-17 levels were reported in multiple sclerosis (MS), uveitis and synovial fluid of rheumatoid arthritis (RA) patients suggesting that this cytokine and Th17 cells also have an important role in these diseases. In this study we evaluated the role of IL-17 cytokine - which is mainly produced by Th 17 cells, but NK cells, CD8+ cells and probably neutrophils can also produce these cytokines- in patients with Behçet's Disease. Fortyfive patients who have being followed up at Akdeniz University department of dermatology and veneorology, and diagnosed as BD according to International Work Group diagnosis criterias , were enrolled to the study. Thirtythree healthy volunteers and hospital staff compatible with patient group by sex and age, was chosen as a control group. BD patients were separated into two groups during the study according to their symptoms as active and inactive. Active and inactive patients were subdivided according to their clinical conditions , having or not having uveitis. We determined the IL - 17 serum level with ELISA in BD groups which show different symptoms -who have or don't have uveitis,- and in activation or remission periods and compared with healthy controls. The invitro IL-17 response of mononuclear cells eluted from peripheric blood of BD, Psoriasis patients and healthy controls to several stimulus were evaluated by ELISPOT method. The level of Th 17 cells in peripheric blood in BD and healthy controls were investigated by flowcytometry with intracellular cytokine staining method. For evaluating the outputs SPSS for Windows 10,0, statistics package programme was used. When comparing student's t, Mann Whitney u, kruskal wallis tests were used. $P < 0.05$ was accepted significant.

We observed that serum IL-17 levels were significantly higher than healthy control group. Active phase BD patients' level of serum IL-17 is higher than inactive phase BD patients' and healthy control group. BD patients who have active uveitis have higher level of serum IL-17 than BD patients who have inactive uveitis. Statistically higher IL-17 responses were observed in BD and Psoriasis patients in comparison to healthy controls after stimulation with Streptococcus sangius, E.coli and PHA. Total percentage of IL-17, CD4+IL-17+ ve CD4-IL-17+ T cells after Streptococcus sangius, E.coli ve PHA stimulation were found to be higher in BD patients than healthy control group. In conclusion IL-17 cytokine producing Th17 cells, IL-17 serum levels and IL-17 response were significantly higher in BD. Our findings suggests that IL-17 and Th17 cells have an important role in BD pathogenesis.

Key words: Behcet Disease, Th 17 cells, IL-17A

TEŞEKKÜR

Bu alıŐmanın gerekleŐmesinde, üstün fikirleriyle ufkumu genişleten ve hatalarımı hoşgörüp desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım canım hocam Prof. Dr. Olcay YEGİN' e, hasta klinik verilerinin ve hasta kanlarının eldesinde Prof.Dr. Erkan ALPSOY' a, Prof.Dr. Cemil APAYDIN'a, Yrd. Doç.Dr. AyŐe AKMAN ve Dr.Senem BÜYÜKKARA'ya, bilgileriyle yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Sadi Köksoy' a, laboratuvar gereçleri ve deney bilgileri konusunda yardımcı ile Msc. Tıbbi. Bio. Nilgün SALLAKÇI' ya, Flow cytometry laboratuvar çalıŐanlarına, birlikte çalıŐmaktan her zaman mutluluk duyduğum, tezimin hazırlanması esnasında da yardımcı olan ve gönüllü kontrol grubuna katılan bütün arkadaşlarıma, tezimin tamamlanmasını sağlayan tüm Behçet Hastalarına, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim eŐim, ailem ve İmmünoloji yüksek lisans programındaki arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii- ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi-xii
GİRİŞ ve AMAÇ	1-2
GENEL BİLGİLER	3-23
2.1. Behçet Hastalığının Epidemiyolojisi	3-4
2.2. Behçet Hastalığının Patogenezi	4-12
2.3. Behçet Hastalığının Histopatolojisi	13
2.4. Th 17 Hücreleri	14-15
2.5. IL-17 Sitokin Ailesi	15-16
2.6. IL-17A' nin Biyolojik Aktiviteleri	16-18
2.7. IL-17 Reseptörleri ve Sinyal İletimi	19
2.8. Th 17 Hücre Farklılaşması	20
2.9. Th 17 Hücrelerinin Negatif Düzenlenmesi	20-21
2.10. IL-17 nin Hastalıklarla İlişkisi	21-23
MATERYAL VE METOT	24-29
3.1. Periferik Kan Mononükleer Hücre (PBMC) Ayrılması	24
3.2. ELISPOT(Enzyme-Linked Immunosorbent Spot) Yöntemi	25
3.3. Streptococ sangius ve Eschericha coli ekstraktı Eldesi	26
3.4. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi	26-27
3.5. Hücre içi sitokin boyama Yöntemi	27-28
3.6. Kullanılan laboratuvar malzemeleri	28
3.7. İstatistik	29
BULGULAR	30-55
4.1. ELISA	30-37
4.2. ELISPOT	37-46
4.3. Hücre İçi Sitokin Boyama	47-55
TARTIŞMA	56-59
SONUÇLAR	60
KAYNAKLAR	61-76
ÖZGEÇMİŞ	77

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µl	: Mikrolitre
ACA	: Anti-cardiolipin antibody
ADA	: Adenozine deaminaz
AECA	: Anti-endothelial cell antibody
ANA	: Anti-nuclear antibody
ANCA	: Anti-neutrophil cytoplasmic antibody
CCR	: Kemokin reseptörü
CD	: Cluster designation
CTLA	: Cytotoxic T-lymphocyte Antigen
E.Coli	: Escherichia coli
EACA	: Endothelial anticardiolipin antibody
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ELISPOT	: Enzyme-Linked Immunosorbent Spot
EN	: Eritema nodozum
eNOS	: Endothelial NO synthase
foxp	: forhead box p3
G-CSF	: Granülosit uyarıcı faktör
GM-CSF	: Granülosit monosit uyarıcı faktör
GRO	: Growth related ontogene
GÜ	: Genital Ülser
HLA	: Human Lökosit antijeni
Hsp	: Heatshock protein
HSV	: Herpes simpleks virüs
ICAM-1	: İntercellular adhesion molecule 1
ICOS	: Inducible T-cell costimulator
IFN-γ	: İnterferon gamma
Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin
IL-17R	: İnterlökin 17 reseptörü
IŞP	: Isı şok protein
kd	: kilo dalton
LD	: Linkage disequilibrium
LFA-1	: Lymphocyte function associated antigen-1
mAb	: Monoklonal Antikor
MEF	: Mediterranean fever
MHC	: Major Histocompatibility Complex
MIC	: MHC class I chain-related gene
ml	: Mililitre
MMP	: Matrix metalloproteinase
MUC	: Mucus protein
NF-κB	: Nüklear faktör κB
NK	: Natural killer
NO	: Nitrit oksid

OÜ	: Oral Ülser
PBMC	: Peripheral blood mononuclear cell
PBS	: Phosphate buffered saline
PHA	: Phytohemagglutinin
PMNL	: Polymorphonuclear leucocytes
PPL	: Papulopustular lezyon
RAS	: Rekürren aftöz stomatit
ROR	: Retinoid-related orphan reseptör
S	: Streptococcus
SEFİR	: Similar expression to fibroblast growth factor genes IL-17Rs
SOD	: superoxide dismutase
STAT	: Signal transducer and activator of transcription
TARC	: Thymus and activation regulated chemokine
TGF-β	: Transforming growth faktör- β
Th	: T helper
TM	: Transmembran
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör- α
VCAM	: Vascular Cell adhesion molecule
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Behçet Hastalığının patogenezi.	10
Şekil 2.2. Hücrelerin çeşitli tiplerinde IL-17 nin aktiviteleri	18
Şekil 4.1.1. BH ve sağlıklı kontrollerin serum IL-17 düzeyi.	33
Şekil 4.1.2. Aktif ve inaktif dönem BH, Sağlıklı kontrollerin IL-17 serum düzeyleri.	34
Şekil 4.1.3. Üveiti olan ve üveiti olmayan BH, Sağlıklı kontrollerin IL-17 serum düzeyleri.	36
Şekil 4.1.4. Aktif ve inaktif üveiti olan BH, Sağlıklı kontrollerin IL-17 serum düzeyleri.	37
Şekil 4.2.1. IL-17 ELISPOT için optimal hücre sayısı.	38
Şekil 4.2.2. IL-17 ELISPOT optimal inkübasyon süresi.	39
Şekil 4.2.3. Streptococcus sanguis'a karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtları.	44
Şekil 4.2.4. Escherichia coli' ye karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtları.	45
Şekil 4.2.5. Phytohemaglutinin 'e karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtları.	46
Şekil 4.3.1. Behcet hastalarının ve Sağlıklı bireylerin uyarım sonrası PBMC hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 yüzdeleri.	50
Şekil 4.3.2. Behcet hastalarının ve Sağlıklı bireylerin uyarım sonrası PBMC hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ hücre yüzdeleri.	52
Şekil 4.3.3. Behcet hastalarının ve Sağlıklı bireylerin uyarım sonrası PBMC hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ hücre yüzdeleri.	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 4.1.1. Behcet hastalarının yaş, tanı serum IL-17 düzeyleri	30-31
Çizelge 4.1.2. Kontrol amaçlı çalışılan sağlıklı bireylerin yaş ve serum IL-17 düzeyleri	32
Çizelge 4.1.3. Sağlıklı bireylerin ve hastaların ortalama, SD, min-max IL-17 değerleri	33
Çizelge 4.1.4. Aktif ve inaktif dönemdeki BH ortalama, SD, min-max IL-17 değerleri.	34
Çizelge 4.1.5. Üveiti olan ve üveiti olmayan BH, sağlıklı bireylerin ortalama, SD, min-max IL-17 değerleri	36
Çizelge 4.1.6. Aktif ve inaktif üveiti olan BH, Sağlıklı kontrollerin ortalama, SD, min-max IL-17 değerleri	37
Çizelge 4.2.1. Sağlıklı bireylerin yaş, medium, S.sangius, E.coli ve PHA ya karşı IL-17 spot sayısı	40
Çizelge 4.2.2. Behcet hastalarının yaşları, S.sangius, E.coli ve PHA ya karşı IL-17 spot sayısı	41
Çizelge 4.2.3. Psöriasis hastalarının yaşları, S.sangius, E.coli ve PHA ya karşı IL-17 spot sayısı	42
Çizelge 4.2.4. Streptococcus sangiusa karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtlarının ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) verileri.	43
Çizelge 4.2.5. Escherichia coli ye karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtlarının ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) verileri.	44
Çizelge 4.2.6. PHA' ya karşı BH,Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtlarının ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) verileri.	46
Çizelge 4.3.1. Behcet hastalarının yaşı ve tanıları	47
Çizelge 4.3.2. Sağlıklı kontrollerin yaşları	47

Çizelge 4.3.3. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Streptococcus sanguis ile uyarımdan sonra hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max , p değerleri	48
Çizelge 4.3.4. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Escherichia coli ile uyarımdan sonra hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max , p değerleri	48
Çizelge 4.3.5. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Phytohemagglutinin ile uyarımdan sonra hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max , p değerleri	49
Çizelge 4.3.6. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Streptococcus sanguis ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max , p değerleri	50
Çizelge 4.3.7. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Escherichia coli ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max , p değerleri	51
Çizelge 4.3.8. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Phytohemagglutinin ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max, p değerleri	52
Çizelge 4.3.9. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Streptococcus sanguis ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max , p değerleri	53
Çizelge 4.3.10. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Escherichia coli ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4 IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama SD, min ve max, p değerleri	53
Çizelge 4.3.11. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Phytohemagglutinin ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama, SD,min ve max, p değerleri	54

GİRİŞ ve AMAÇ

Behçet hastalığı (BH), mukokutanöz, göz, eklem, vasküler ve santral sinir sistemi tutulumları ile giden multisistemik bir hastalıktır (1). Hastalığın etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, infeksiyöz ajanlar, damar endotel patolojileri, immünolojik ve çevresel faktörler, hormonlar ve pıhtılaşma faktörleri, genetik yapı gibi birçok neden suçlanmıştır (2). Patogenezde 3 büyük patofizyolojik değişiklik rol oynar; nötrofil hiperfonksiyonu, vaskülit ve otoimmün cevap (3). Yeni çalışmalar BH' da inflamasyonun immünpatogenezinde, sitokin üreten hücrelerin önemli rol oynadığını göstermektedir. BH' da immün cevap oluşumunda, Th1/Th2 hücre tiplerinin farklı sitokin profillerinin, önemli olduğu düşünülmektedir (4). Bu hastalıkta CD4+ T (yardımcı) hücrelerinin önemli olduğu, hastaların serumunda proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1, IL-8, IL-6 ve TNF alfa'nın) yüksek bulunduğu bildirilmiştir (5). Son yıllarda bilinen CD4+ T hücrelerine ek olmak üzere düzenleyici hücreler (T reg), IL-10 ve / veya TGF- beta yapan Th 3 hücrelerinin (6) ve son olarak ta IL-17 sentez eden Th 17 tipi alt grupların gösterilmesi ile bağışıklık sisteminin ajana özgü immün reaksiyonu nasıl oluşturduğu daha iyi anlaşılmıştır (7).

IL-17 üreten Th 17 hücreleri, Th 0 hücrelerinden özellikle TGF beta, TNF alfa, IL-1, IL-6 sitokinlerinin varlığında oluşmakta ve yine bu sitokinlerin yapımını uyarmaktadır. Hafıza Th17 hücrelerinin çoğalma ve aktif hale geçmesinde ise IL-23 önemli rol oynamaktadır. Th 0 dan Th 17' ye farklılaşmanın ROR gamma-t ve STAT-3 yolağına bağlı olduğu anlaşılmıştır (8). Yukarıda özetlenen bilgiler Th17 nin Th1 ve Th2 gibi farklı bir yardımcı T hücresi alt grubu olduğunu göstermektedir. Bu gelişim sonrasında Th 17 hücrelerince üretilen IL-17 sitokini 150 aminoasit uzunluğunda, 30-35 kDa ağırlığında bir glikoproteinin disülfüt bağlı homodimeri olarak salgılanmaktadır. Bu sitokinin altı üyesinin IL-17A-17F bulunduğu gösterilmiştir. IL-17F IL-17A' ya benzer şekilde primer olarak aktif T hücrelerince, IL-17B, IL-17C, IL-17D ve IL-17E ise bir çok dokuda expresse edilmektedir (9). Günümüzde IL-17 sitokininin bir çok biyolojik fonksiyonu tanımlanmıştır. Endotel hücreler, sinoviyal hücreler, T hücreleri, dendritik hücreleri ve makrofajları içeren hücre tiplerinin geniş bir alanında hücre adezyon moleküllerinin, kemokinlerin ve proinflamatuvar sitokinlerin expressiyonunu aktive etmesi ve nötrofil aktivasyonunu artırarak yaralanma ve enfeksiyonun erken yanıtının kontrolünde önemlidir. Böylece doku nekrozunun ve sepsisin sınırlanmasına neden olduğu bilinmektedir (10). Th-17 hücrelerinin bazı otoimmün / otoinflamatuvar hastalıkların; Romatoid Artritis (RA) (11), Sistemik Lupus Erythematosus (SLE) (12), Behçet hastalığı (13), Allograft Rejeksiyon (14), Nefritik Sendrom (15), Asthma (16), Multiple Skleroz (MS) (17) v.b etiyopatogenezinde önemli rol oynadığını gösteren araştırmalar yayınlanmıştır. Deneysel hayvan modellerinde otoimmün-ensefalomyelit (18), kollajenle oluşan artrit (19) ve otoimmün miyokarditiste (20) IL-17' nin önemli rolü olduğu ve bu sitokinin monoklonal antikorlar ya da VLP (Virus benzeri partiküller) lerle birlikte verilen IL-17 ile durdurulmasının, yangıyı durdurucu etkisi olduğu bildirilmiştir.

Bu yeni tanımlanan yardımcı T hücresi alttipinin (Th17) BH daki durumuna yönelik detaylı bir çalışma yayınlanmamıştır, bugüne kadar üretilen bilgiler BH da Th17 lerin ve IL-17 nin önemli rolü olabileceğine işaret etmektedir:

1. BH da nötrofil hiperaktivasyonu olduğu bilinmektedir, tanımlanan yardımcı T altipleri içinde nötrofil aktivasyonu etkisi en belirgin olan Th17 dir(10).
2. Hamzaoui ve arkadaşları (13) tarafından yapılan araştırmada Behçet hastalarının serumlarında IL-17 düzeyinin arttığı bildirilmiştir.
3. BH en önemli bulgularından olan Uveitis te IL-17 düzeyinin arttığı gösterilmiştir.(21)
4. Behçet hastalarında belirgin olarak arttığı bilinen IL-6, IL-1ve TNF alfa 'nın aynı zamanda Tho hücrelerinin Th 17 'ye farklılaşımında rol oynadığı bilinmektedir (8).
5. BH deri lezyonlarında IL-23 ekspresyonunun arttığı saptanmıştır (22).

Bu araştırmanın temel hipotezi Th17 hücrelerinin ve IL-17 nin BH da sağlıklı kontrollere oranla farklı düzeyde olduğu veya aktivite gösterdiği şeklindedir. Bu bağlamda bu araştırmada biz;

- a. BH farklı semptom, bulgu gösteren gruplarında (Göz tutulumu olan olmayan v.b.) ve aktivasyon ve remisyon dönemlerinde IL-17 serum düzeyini incelemeyi,
- b. BH, sağlıklı kontroller ve BH na benzer şekilde Nötrofil aktivasyonunun belirgin olduğu, Psoriasis hastalarının periferik kanından ayrıştırılan mononükleer hücrelerin değişik uyaranlara invitro IL-17 yanıtını ölçmeyi,
- c. BH ve sağlıklı kontrollerde periferik kanda Th17 hücrelerinin düzeyini, incelemeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Behcet Hastalığı, mukokutanöz, göz, eklem, vasküler ve santral sinir sistemi tutulumları gibi çok sayıda organı tutabilen ataklarla birlikte kronik bir seyir gösteren sistemik bir hastalıktır (23). Behcet hastalığı dünyada ilk kez 1937 yılında bir Türk dermatolog olan Prof. Dr. Hulusi Behcet tarafından; tekrarlayan oral aft, genital ülser ve hipopiyonlu üveitten oluşan üç semptomlu bir kompleks hastalık olarak tanımlanmıştır (24). Hulusi Behcet 1924 yılında rekürren aftöz stomatit (RAS), genital ülser, eritama nodozum ve görme bozukluğu olan bir hasta görmüş, 1930'da ikinci, 1936'da üçüncü hastasına rastladıktan sonra bu bulguların özgün bir hastalığa bağlı olduğunu öne sürmüştür. Bu düşüncesini 1937'de "Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi" ve "Dermatologische Wochenschrift" dergisinde yazmış, aynı yıl Paris Dermatoloji Derneği'nin toplantısında açıklamıştır. Bu sendrom 1947 yılında Behcet Sendromu, Morbus Behcet veya Behcet hastalığı olarak tıp literatürüne geçmiştir. (25,26,27). Başlangıçta üçlü semptom kompleksi olarak tanımlanan hastalığın, yıllar içinde yapılan çalışmalarda bu üç bölge ile sınırlı kalmayıp artiküler, pulmoner, gastrointestinal, kardiyak, vasküler ve nörolojik tutulumlar gibi çok sayıda organı tutabilen kronik bir hastalık olduğu görülmüştür (3,29-32).

2.1. Behcet Hastalığının Epidemiyolojisi

BH Japonya, Güneydoğu Asya, Orta Doğu ve Güney Avrupa'da sık görülmesine rağmen (33,34), Kuzey Avrupa, Amerika ve Britanya'da seyrek olarak görülür. İpek yolu üzerinde bulunan bölgelerde yaşayanlarda hastalığa yakalanma sıklığının daha yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Ülkemizde ilk epidemiyolojik çalışma 1981 yılında Demirhindi ve arkadaşları (35) tarafından yapılmış ve BH'nın sıklığı 8/10.000 olarak bulunmuştur. Daha sonra Yurdakul ve arkadaşları (36,37) Ordu ili ve çevresinde yaptıkları alan taramasında hastalığın sıklığını 37/10.000 olarak bulmuşlardır (35,36,37). Amerika'da, İngiltere'de ve Kuzey Avrupa ülkelerinde yaşayanlarda ve siyah ırkta çok daha az oranda görülmektedir (1/300.000) ve Amerika yerlilerinde hemen hiç rastlanmamaktadır (31). Yapılan çalışmalarda Japonya'da hastalığın sıklığı 1/10.000 iken İngiltere'de 1/100.000'den daha az saptanmıştır (24). Genellikle ikinci on yılın sonlarında başlayan hastalık en sık olarak 20-40 yaşlarında görülmektedir. Hastalığa çocukluk çağında nadir rastlanır ve 50 yaşın üstündekilerde hastalığın başlaması nadirdir (31). Çocuklarla ilgili serilerde erişkinlerdekine benzer klinik ancak daha fazla ailevi birliktelik olduğu gösterilmiştir (28,38-41). Türkiye ve Japonya kaynaklı çalışmalarda hastalık erkeklerde daha sık bildirilmişse de, son yirmi yıl içindeki araştırmalar hastalığın neredeyse her iki cinsten eşit olarak görüldüğüne işaret etmektedir. Günümüzde yalnızca Arap Ülkelerinde erkek hâkimiyeti göze çarpmaktadır. Bunda bilinen din kuralları ve sosyal etkenler (kadın hastaların erkek doktora muayene olmaması) rol oynuyor olabilir (24). BH'da ailevi vakalar da bildirilmiştir, ama genel olarak sabit bir kalıtım biçimi bulunmamıştır (42). Ailevi geçiş şekli kesin olarak ortaya konamasa da birçok ailevi olgu vardır veya hastaların ailesinde tekrarlayan oral aft hikâyesi saptanabilir (43,44). Toplumda tekrarlayan oral aft prevalansı % 5 -% 60 arasındadır. Bir veya birden fazla görülebilen ve hafta veya aylar içinde tekrarlayan ağrılı oral aftlar Behcet hastalığının habercisi olabilir (3,45). Ailevi vakalar hastalıkta genetik faktörleri akla getirmekte; coğrafi dağılım ise çevresel etkenlerin rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Almanya'da yaşayan Türklere sıklık beklenildiği gibi diğer ırklara

oranla daha fazla saptanmış ancak Türkiye’de yaşayan ırkdaşlarına göre daha az risk altında oldukları görülmüştür. Benzer şekilde hastalığın Japonya’da sık olduğu bildirilirken buradan Havai ve Amerika’ya göç edenlerde daha az oranda görülmüştür (45). Son yıllarda Japon toplumunda görülen yeni vaka sayısı giderek azalmaktadır (46).

2.2. Behçet Hastalığının Patogenezi

Behçet hastalığında immünolojik faktörlerin, enflamasyon mediatörlerinin, streptokok ve herpes gibi enfeksiyon ajanlarının, organik fosfat yapısındaki pestisitlerin patogenezi de rol aldığı savunulmuş ancak tam olarak rolleri açıklanamamıştır. Birçok sistemi tutabildiği için hastalığın oluşumunda altta yatan immünolojik bozukluğun rolü olabileceği düşünülmektedir. Bugün için üzerinde durulan hipotez; genetik yatkınlığı olan kişilerde bazı mikrobiyal veya çevresel etkenler sonucunda immün sistemde değişikliklerin olduğu ve gelişen immünolojik değişikliklerin hastalıkta gözlenen klinik semptomlara neden olduğu yönündedir (47–49). Patogenezi de rol alan bu etkenler aşağıda açıklanmıştır.

Genetik özellikler: BH’da genetik yatkınlık HLA haplotipleri ile yapılan çalışmalar sonucu ortaya çıkmıştır (50). İpek yolu üzerindeki ülkelerde yapılan çalışmalarda Behçet hastalarında belirgin HLA-B51 pozitifliği saptanmış, ancak batı ülkelerinde bu ilişki saptanamamıştır. HLA-B51 pozitif kişilerde negatiflere göre hastalık çıkma olasılığı Türkiye’de: 13.3, Japonya’da: 6.7, Amerika Birleşik Devletleri’nde: 1.3 tür (51,52). HLA-B51’in hastalığa yatkınlık mı oluşturduğu yoksa hastalığın şiddetine mi etkili olduğu konusu tartışmalıdır. HLA-B51 pozitifliği posterior üveitli ve santral sinir sistemi tutulumu olanlarda oran olarak daha yüksektir. Günümüzde HLA-B5101, HLA-B5102, HLA-B5108, HLA-B5109 allelleri etkileri tam net olmasa da Behçet hastalığına yatkınlık oluşturan genler olarak kabul edilmektedir (53). HLA-DR1 ve HLA-DQw1 pozitif kişilerde ise Behçet hastalığına karşı direnç olduğu düşünülmektedir (49, 54,55).

Son yıllarda BH için çok sayıda gen polimorfizmi değerlendirilmiştir. Bu genler içerisinde HLA B51’e yakın komşuluk gösterenlerden özellikle tümör nekroz edici faktör (TNF) ve MIC (“MHC class I chain-related gene”) genleri ile ilgili polimorfizmler üzerinde daha yoğun olarak durulmuştur. TNF- α geni, 6. kromozomun kısa kolunda class 3 MHC genlerinden HLA-B’ye 200 kb yakınlığında bir yerleşim gösterir. İngiliz toplumunda yapılan bir çalışmada TNF- α -1031T/C promoter polimorfizminin, HLA-B51’den bağımsız olarak hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (56). Toplumumuzda yapılan yakın tarihli bir çalışma da TNF- α -1031T/C polimorfizminin HLA B51’den bağımsız bir risk faktörü olabileceğini desteklemektedir. Çalışmada ayrıca, CC genotipli hastalarda TNF- α üretiminin ve IFN- γ yanıtının arttığı da gösterilmiştir (57). Bu sonuç, TNF- α -1031T/C gen polimorfizminin fonksiyonel bir görev üstlenerek hastalığın patogenezi de rol oynayabileceğini düşündürmektedir. MIC-A geninin hastalık için aday gen olabileceği fikri üzerinde çokça durulmuştur. Epitelyal hücrelerde ısı şok proteini ile uyarılan gösterimi ve bazı T hücreler için ligand olarak immün yanıtta görev alması da bunda rol oynamıştır. Mizuki ve arkadaşları (58) yaptıkları bir çalışma sonucunda MIC-A geni TM alanında mikrosatellit polimorfizmi saptamışlardır. Ancak diğer toplumlarda yapılan çalışmalar bu ilişkiyi ya düşük bulmuş ya da benzer bir ilişkiye rastlamamışlardır (58). Daha sonra yapılan çalışmalarda MIC-A009 ve hastalık arasında güçlü bir ilişki Japon, Filistin ve Ürdün kökenli hastalarda bildirilmiştir. Ancak hastalık için esas şüpheli antijenin HLA-B51 olduğu, MIC-

A009'un ise HLA-B51 ile güçlü bir LD("Linkage disequilibrium"=LD) gösterdiği anlaşılmıştır (59,60).

Interlökin (IL) gibi yangı sürecinde rol alan moleküllerin yapısında bulunan ve bu moleküllerin işlevini etkileyen farklılıkların (gen mutasyonları, gen polimorfizmleri) inflamatuvar sürece katkıda buldukları ve BH'ye yakınlıkla ilişkili oldukları konusunda birçok veri vardır. Yapılan çalışmalarda, özellikle IL-1 α ve β , IL-8, IL-12 gibi birçok sitokin geni ve immün yanıtta önemli rolleri olan CTLA-4, VEGF, ICAM-1, eNOS gen polimorfizmleri ile BH arasında ilişki kuran sonuçlar bildirmiştir (61-71). BH ile benzer epidemiyolojik ve klinik özelliklere sahip olan ailevi Akdeniz ateşi ile ilişkilendirilen ve MHC dışı genler içerisinde yer alan MEFV genlerindeki çeşitli mutasyonlar son yıllarda BH için de bildirilmiştir. Hastaların en azından bir bölümünde bu genlerdeki mutasyonların hastalığa yakınlıkta ve hatta vasküler tutulum gibi şiddetli klinik görünümünün ortaya çıkmasında rol oynayabileceği bildirilmektedir (69,70).

Mikrobiyal etkenler: Behçet hastalığında viral etiyoloji ilk olarak Prof. Dr. Hulusi Behçet tarafından ileri sürülmüştür. Prof. Dr. Hulusi Behçet, hastalığı ilk tanımladığında viral bir hastalık olabileceği üzerinde durmuştur (72). Bunun üzerine yapılan bazı çalışmalarda göz ve beyin dokularında virüs izole edildiği bildirilmiş ancak sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda benzer sonuçlar alınamamıştır (3,73). Günümüze kadar Behçet hastalığının etyopatogenezinde sorumlu olabileceği öne sürülen ajanlar, herpes virüsleri,(tip1,2,6) streptokoklar (S. sangius, S. faecalis, S. pyogenes, S. salivarius), Parvovirus B19, Helikobakter pilori, Borelia burgdorferi, hepatit A, B, C, E'dir.

İmmünolojik çalışmalar 1970'li yıllarda viral çalışmaların önüne geçmiş ve viral çalışmalara uzun süre ara verilmiştir. Behçet hastalarında mitojenle uyarılan mononükleer hücre kültürlerinde Herpes simpleks virüs (HSV)'ünün replike olmadığı gösterilmiştir. Behçet hastalarında artmış oranda bulunan interferon (İnterferon=IFN)-alfa düzeyinin HSV enfeksiyonuna karşı koruyucu etki oluşturabileceği düşünülmüş ancak neden bu cevabın sadece HSV ye karşı oluştuğu anlaşılamamıştır. Hastalarda anti HSV-1 normal kontrollere göre artmış oranda saptanmaktadır ve hastalarda HSV spesifik immün kompleksler artmış bulunmaktadır. Behçet hastalarında HSV uyarımına karşı CD4+ ve CD8+ lenfosit proliferatif cevabında azalma vardır (3-27,66).Bugün için Behçet hastalığında HSV' ünün yeri direkt olarak hastalığı oluşturmaktan çok T hücre immün regülasyonuna olan etkisi ile açıklanmaktadır (74-76).

Behçet hastalarının lenfositlerinin streptokokal antijenlerle inkübasyonu ile IFN-gama, interlökin (Interleukin=IL)-1, IL-6, IL-8 gibi polimorf nüveli lökosit (polymorphonuclear leucocytes=PMNL) aktive edici faktörlerin salgılandığı gösterilmiştir. S.sangius ve beta-hemolitik streptokoklara ek olarak S.faecalis ve S.salivarius da etyolojide suçlanmıştır. Bu dört farklı grup streptokokla veya hücre duvarlarından hazırlanan preparatla yapılan deri testinde Behçet hastalarında 48. saatte şiddetli pozitiflik saptanması ve test sonrası kısa dönemde oküler, mukokütanöz ve artritlik belirtilerde artış olması da araştırmacılar tarafından anlamlı kabul edilmiştir (77,78). Ancak streptokokların dört farklı tipinin birden Behçet hastalığının

etyopatogenezinde suçlanması çok anlamlı görünmemektedir. Ortak bir antijenik determinantın hastalıktan sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (79).

Oral mukoza florasında bulunan mikroorganizmaların hastalığın gelişiminde rol oynayabileceği üzerinde uzun yıllardan beri durulmaktadır. Dişlerle ilgili girişimleri ya da tonsilliti takiben başta oral ülser olmak üzere hastalığın çok sayıda belirtisinde aktivasyon görüldüğü bildirilmiştir (71). Antimikrobiyal ilaçlardan antibiyotikler ve antiseptikler, oral ülselerin ve diğer hastalık belirtilerinin kontrol altına alınmasında başarı ile kullanılmaktadır (80). Yakın tarihli bir çalışmada BH'de oral sağlığı değerlendirmişler ve bu hastalarda belirgin bir yetersizlik saptamışlardır. İlginç olarak plak indeksi kontrol gruplarına göre yüksek bulunmuş ve hastalığın şiddeti ile de ilişkili olduğu saptanmıştır (81). Çelenligil-Nazliel ve ark. (82) çalışmalarında periodontal skorların sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında, Behçet hastalarında daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Aynı çalışmada bakteriyel plak ekolojisi ve/veya buradaki mikroorganizmalara karşı gelişen immün yanıtın hastalığın gelişiminde rol aldığı ileri sürülmüştür. Periodontitin BH gelişimindeki rolü ve TNF- α -1031T/C polimorfizminin periodontal bulgularla olası ilişkisi araştırılmıştır. TNF- α -1031T/C polimorfizminin BH ve periodontal hastalık gelişiminde rol oynayabileceğini destekleyen nitelikte sonuç elde edilmiştir. Bu polimorfizm zemininde periodontal hastalık ile tetiklenen otoinflamatuvar yanıtın hastalığın gelişiminde ve şiddetinde rol oynadığı düşünülebilir.

Stres Proteinleri: Stres ya da ısı şoku proteinleri (heatschock protein=İŞP), mikroorganizmalarda ve hayvan dokularında bulunan immün reaktif proteinlerdir. Behçet hastalığı etyopatogenezinde üzerinde durulan dört farklı tip streptokokun da İŞP (65 kd) içerdiği gösterilmiştir. Immunoblotting ve radioassay yöntemleri ile İŞP (65 kd)'lerine karşı IgG ve IgA tipi antikorlar gösterilmiştir. İnsan mitokondrial İŞP (60 kd)'nin streptokokal İŞP (65 kd) ile arasında büyük bir yapısal benzerlik ve buna bağlı antijenik çapraz reaksiyon vardır. Bu bulgu Behçet hastalarında başlangıçta İŞP (65 kd)'ne karşı gelişen immün yanıtın zaman içinde kendi İŞP (60 kd)'ne yönelebileceğini ve otoimmün mekanizmayı başlatarak Behçet hastalığındaki patolojik değişiklikleri başlatabileceğini düşündürmektedir. İŞP (65 kd)'nin 111–125, 154–172, 311–325, 219–233 peptidleri karıştırıldığında Behçet hastalarının %76'sında belirgin bir T hücre yanıtı oluşturmaktadır. Bu peptidlere karşılık gelen insan İŞP (60 kd) peptidleri daha kuvvetli reaksiyon oluşturmaktadır ve bunlardan 136–150 ve 336–351 peptidleri ile ratlarda deneysel olarak gözde otoimmün üveit oluşumunun en önemli uyarıcısı olan retinal S antijeninin oluşturduğuna benzer şekilde üveit oluşturulduğu görülmüştür (3,74). Son yıllarda doğal immün sistemde Th-1 sitokin salınımını indükleyen Toll-like reseptörlerin (TLR2, TLR-4) HSP-60 ile ligand oluşturduğu gösterilmiştir (83,84). Alfa-beta kristalin bir diğer stres proteinidir ve Nörobeçetli hastalarda arttığı ve parankimal tutulumun göstergesi olabileceği ileri sürülmüştür (85).

Hücrel İmmünite: Behçet hastalığı ile ilgili yapılan çalışmalar özellikle hücrel immünitenin aktivasyonu ile ilgili kanıtlar ortaya koymuş olsa da son zamanlarda immün sistemdeki değişikliklerin sadece hücrel değil humoral immün değişikliklerle de ilişkili olduğunu göstermektedir. T hücre bozukluğuna ait bilgiler özellikle Th1/Th2

oranında değişiklik ve Th1 immün sistem cevabının oluşturduğu bir sitokin salınımı ve doku infiltrasyonu olduğunu açıklamaktadır. Toplam T hücre sayısında azalma olmakla birlikte dolaşımdaki T hücrelerinin CD25, HLA-DR (+) aktif T hücreleri olduğu saptanmıştır ki bu artış T hücrelerinin immunopatogeneze önemli rol oynadıklarını düşündürmektedir. Lezyonlardan alınan biyopsilerin histopatolojik incelemesinde ise erken dönemde yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu saptanmakta iken zamanla bu hücrelerin yerini nötrofillerin aldığı görülmektedir. Erken dönemde saptanan mononükleer infiltrasyonun immunohistokimyasal incelemesi ise infiltrasyondaki lenfositlerin başlıca CD4+ T hücreleri olduğunu ortaya koymaktadır (3,83–88). Son zamanlarda ortaya konan bir başka T hücre artışı da CD3 hücrelerdir ve CCR5, CCR6 ve CXCR3 kemokinler için reseptör oluştururlar. Nörobeçetli hastalarda CD3+ T hücrelerde CXCR3 artışı gösterilmiş, CCR5 artışının ise klinik verilerden bağımsız olduğu bildirilmiştir (89,90).

Pozitif paterji testinin histopatolojik incelenmesinde ise T lenfosit ve makrofajlardan oluşan infiltrasyon görülmektedir. T lenfositlerin büyük bölümü CD45RA+ CD4 hücrelerdir ve yarısında HLA-DR ekspresyonu kuvvetli pozitif bulunmaktadır (73,91).

Sitokinler üzerinde yapılan çalışmalarda Th1 sitokinlerin etkisinin Behçet hastalarında ön planda olduğu düşünülmektedir. Streptokokkal antijenler ve lipopolisakaritle uyarılma sonucunda IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, interferon- γ ve TNF- α başta olmak üzere özellikle inflamasyonun gelişiminde önemli olan sitokinler artmaktadır. E. coli kökenli antijenlerin de benzer bir yanıtı neden olduğu saptanmış ve T hücrelerinin çok sayıda bakteriyel antijene karşı artmış bir hipersensitivite gösterdiği düşünülmüştür (92). IŞP 60 kökenli peptid 336-351'e karşı, periferik kan mononükleer hücrelerinden Th1 sitokinlerinden IFN- γ , TNF- α ve IL-12 yapımında artış saptanmıştır (93).

Dolaşımda da IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF-alfa gibi proinflamatuvar sitokinler artmış düzeyde bulunmaktadır. TNF-alfa geni 6. kromozomda HLA genlerine yakın yer almaktadır ve bu nedenle Behçet hastalığı gibi HLA ile ilişkili hastalıklarda önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir (54,88,94–97).

IL-6 da üzerinde önemle durulan diğer bir sitokindir. CD8+ hücelere etki ederek CD8+ hücre proliferasyonuna, poliklonal B hücre aktivasyonuna neden olmakta, nötrofil hiperfonksiyonuna yol açabilmektedir. Tüm bu bulguların Behçet hastalarında bulunması IL-6'nın immunopatogeneze önemli rol oynadığını düşündürmektedir. Aktif nörobeçetli hastalarda serebrospinal sıvıda da IL-6 düzeyi artmış bulunmaktadır (97). Behçet hastalarında IL-10 ve IL-12 düzeyleri ölçülmüş ve yüksek bulunmuştur (88,96).

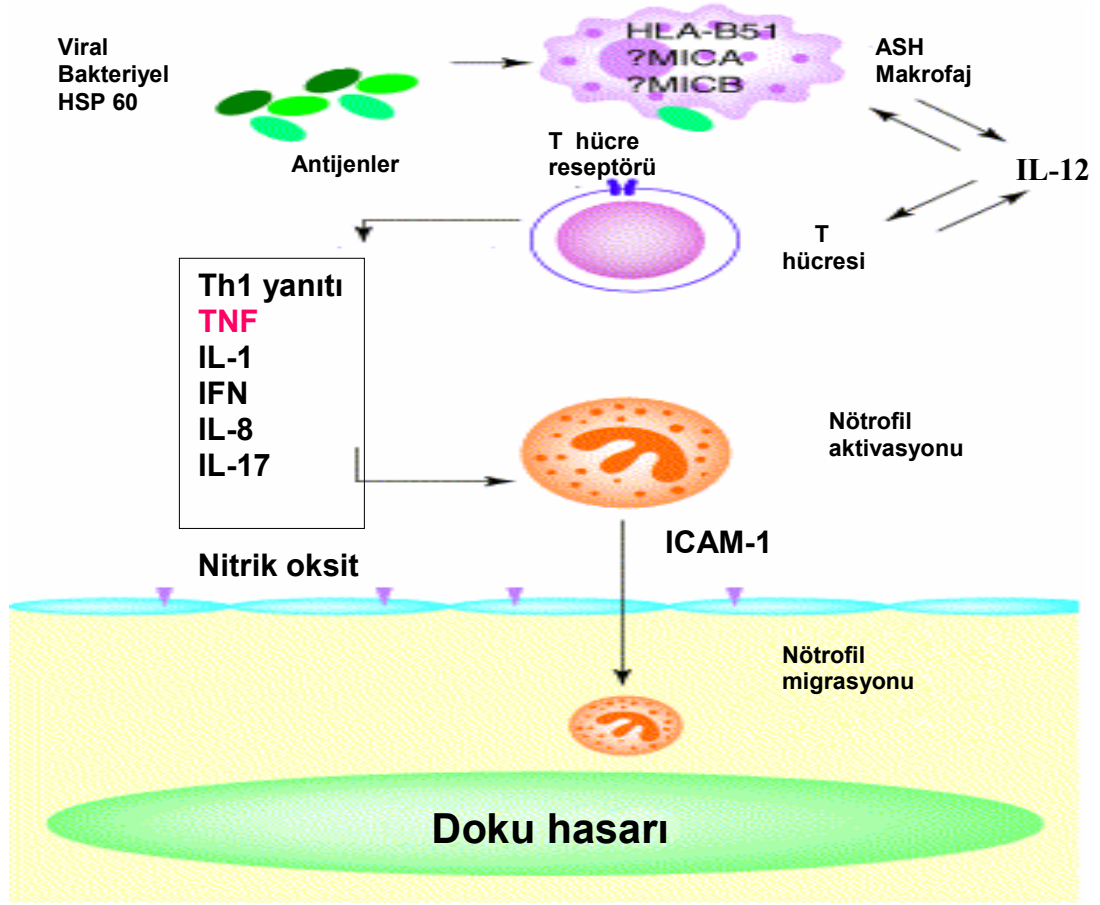
Behçet hastalarının periferik kan mononükleer hücrelerinde yakın zamanda saptanmış olan artmış T-bet (Th1'e özgün T-box transkripsiyon faktörü) gösterimi, BH'de Th1 hücrelerinin rolünü desteklemektedir (98). Son yıllarda, Ben Ahmed ve ark. (99) mukokutanöz lezyonlarda RT-PCR yöntemini kullanarak yaptıkları araştırmalarında, çeşitli kemokinlerle birlikte Th1 ve Th2 sitokinlerini araştırmışlardır.

Sonuç olarak, Th1 sitokinlerinde mRNA düzeyinde belirgin bir artış bildirmişlerdir. Bu çalışmada IL-8'de 700, monosit kemoatraktan protein (MCP)'de 65, IFN- γ 'da 71, IL-12 de 69 ve IL-10 da 75 kat artış gözlenirken, IL-4 ve IL-13 mRNA gösteriminde ise artış olmadığı saptanmıştır. Behcet hastalarındaki serum sitokin düzeylerinin ölçülmesi sonucunda proinflamatuvar sitokin seviyelerinin sağlıklı kontrollere oranla yüksek olduğu bulunmuştur (13). Th 17 hücrelerinin üveit ve scleriosis oluşumuna katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (22). Yakın tarihli yapılan bir çalışmada da paralel olarak IL-23 ve IL-17 nin aktif üveitli Behcet hastalarında yüksek seviyede olduğu bulunmuş ve ayrıca aktif üveitli Behcet hastalarında bu IL-17 üreten hücrelerin CD45RO hafıza T hücreler tarafından ekspresse edildikleri bildirilmiştir (21).

T hücreleri taşıdıkları reseptörlere göre α - β ve γ - δ olarak ayrılır. Behcet hastalarında γ δ T hücrelerinin oranı artmıştır (100,101). TCR gama-delta pozitif T hücreler sadece dolaşımda artmış bulunmamakta ayrıca oral aftlarda mononükleer hücre infiltrasyonunda, bronkoalveolar lavajda, serebrospinal sıvıda da artmış bulunmaktadır. Anti gama-delta antikoru kullanıldığında doz bağımlı olarak T hücre proliferasyonu inhibe olmaktadır (3,54,73,102,103). Adenozin deaminaz T hücre proliferasyonu, olgunlaşma ve farklılaşmasında etkilidir ve Behcet hastalarında arttığı gösterilmiştir (104,105). Yapılan çalışmalar mikrobial İŞP'nin T hücre proliferasyonunu γ δ reseptörleri üzerinden sağladığını göstermektedir (106). Behcet hastalarında bu γ δ tipte reseptör taşıyan T hücrelerinin mitokondriyal insan İŞP'ye ait homolog peptidlere de reaksiyon verdiği gözlenmiştir. Ayrıca, bu durumun BH'ye spesifik olduğu da gösterilmiştir. Söz konusu γ δ T hücrelerinin sitokin üretimi dışında T hücrelerini kontrol etme, öldürücü hücre olarak görev alma ve epitel hücre çoğalmasını etkileme özellikleri taşıdığı düşünülmektedir. İŞP'ye karşı T hücre proliferatif yanıtının BH için tanısal bir test olarak kullanılabilmesi ileri sürülmüştür. Behcet hastalarının %76'sında pozitif olan bu test tekrarlayan oral ülserleri olan, başka sistemik hastalığı bulunan ve sağlıklı kişilerden oluşan kontrol gruplarının sadece %3'ünde pozitifdir. BH'nin aktif döneminde yapıldığında bu test %76'dan da fazla oranda pozitif saptanmaktadır (107). BH'nin aktivitesiyle T hücre yanıtı arasında ilişki bulunmaktadır. Son yıllarda α - β T hücrelerinde ve bu hücrelerden IFN- γ yapımında da artış olduğu gösterilmiştir (97).

Hastalığın seyrinde inflamasyonda görev alan sitokinlerin salınımı ve inflamasyonun kronik seyri göz önüne alındığında monositlerin hastalıkta aktif bir görev üstlendiği düşünülebilir. Spontan olarak TNF- α , IL-6 ve IL-8'in hastaların monositleri tarafından aşırı üretilmesi hastalığın aktivitesi ile direkt olarak ilişkili gibi görünmektedir. Değişik in vitro çalışmalarda monositlerin hastalığın seyrinde aktif bir rol oynadığı ve CD14 ekspresyonunun ve 25F9 ve G16/1 antijenlerinin arttığı gösterilmiştir (108). Yine monositlerden TNF- α , IL-6 ve IL-8 salınımının arttığı saptanmıştır (109,118). Makrofajların hastalığıdaki rolü ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu konuda yapılan in vitro bir çalışma, hastalığın etyopatogenezinde klasik yoldan aktive olan makrofajların aktif olarak görev aldığına işaret etmektedir (118) (şekil 2.1). Doğal immünitinin önemli yapı taşlarından olan ve doğal immünite ile kazanılmış immünite arasındaki koordinasyonda görev alan "Toll like" reseptörler

(112,113) ve antimikrobiyal peptidler (114) de etyolojide sorumlu patojenlere karşı immün yanıtta rol oynadığı düşünölen moleköllerdir. Son yıllarda bu moleköllerin lezyonlu alanda ve granölositlerin antijenik uyarımını takiben gösterimlerinin değiştii bildirilmektedir. Yine bu moleköllerdeki genetik çeşitliliklerin ilgili araştırmalar devam etmektedir.



Şekil 2.1. Behçet Hastalığının patogenezi (Aryssi 2004).

Humoral İmmünite: Behçet hastalarında genellikle poliklonal olarak immunoglobulin düzeyinde artış saptanmaktadır. Kompleman düzeyleri ise normal olarak kalmaktadır. Behçet hastalarının % 44 - % 60'ında IgG, IgA, IgM tipinde immün kompleksler bulunmaktadır. Fakat spesifik antijene karşı değil heterojen yapıdadırlar. Anti HSV antikoru ve streptokokal antijenlere karşı gelişen antikolar dışında nonspesifiktirler. Behçet hastalarında saptanan poliklonal B hücre aktivasyonu, baskılayıcı T hücre disfonksiyonu veya B hücre aktivasyonuna neden olan IL-6, IL-1 ve IL-10 gibi sitokinlerin aşırı miktarda salgılanması sonucu olabilir. Poliklonal B hücre aktivasyonu sonucu oluşan immün komplekslerin ise nötrofil hiperfonksiyonuna neden olarak doku hasarı oluşturabileceği ileri sürülmektedir (3,73,88,91,96).

Klinikte oral ve genital lezyonların ön planda olması etyopatogenezi Ig A' nın rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Serum IgA düzeyi yüksek bulunurken tükürükte IgA salgısı düşük bulunmuştur. Mukoza epitelinde IgA reseptörü olarak görev yapan sekretuar komponent düzeyi de azalmış bulunmaktadır. Lokal IgA eksikliğinin antijenik

uyarıların vücuda girişi için açık kapı oluşturabileceği düşünülebilir. Dolaşımda saptanan Ig'lerin büyük bir kısmı Ig A tipindedir. IgA+B hücreleri artmış bulunmakta ayrıca T hücrelerinde de IgA spesifik değişiklikler saptanmaktadır. Doğal öldürücü hücrelerle yapılan çalışmalarda, dolaşımda doğal öldürücü hücre sayısının arttığı ancak fonksiyonlarında belirgin azalma olduğu görülmektedir (73,119). Behçet hastalığı klasik otoantikör bağımlı hastalıklardan farklıdır, otoantikör üreten CD5+, CD19+ B hücrelerinde artış yoktur. Genel olarak B hücre sayısında değişiklik saptanmazken aktif hastalarda CD13+, CD33+, CD80+ B hücrelerinde artış tespit edilmektedir.

Otoantikörler: Primer vaskülitlerde üç önemli otoantikör üzerinde durulmaktadır. Bunlar anti fosfolipid antikörler, anti nötrofil sitoplazmik antikörler ve anti endotel hücre antikörlerdir. Behçet hastalığında gözlenen arteriyel ve venöz trombüslerin ve nörolojik tutulumun anti fosfolipid antikörleri ile açıklanabileceği düşüncesiyle çalışmalar yapılmıştır. Anti kardiyolipin antikör (anticardiolipin antibody=ACA)'larının IgM izotipinin akut enfeksiyonlarda, IgG izotipinin ise trombotik olaylarla ilişkili olduğu görülmüştür. Behçet hastalarında saptanan ACA IgM tipidir ve trombotik olaylarla korelasyon göstermemektedir (47,48,73,119,120).

ANCA pozitifliği Behçet hastalarında son derece nadirdir ve patogeneizde rol oynamadığına inanılmaktadır (119,121).

AECA Behçet hastalarında %17-%50 arasında pozitifdir. Ayrıca EACA bulunan hastalarda % 80, EACA bulunmayanlarda %33 oranında aktif hastalık bulunmuştur. EACA vasküler hasarın primer sorumlusu olabileceği gibi, vasküler inflamasyon sırasında ortaya çıkan yeni determinantlara karşı da oluşabilir (119,121). Ayrıca EACA ile birlikte endotelde ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyonunda da artış gösterilmiştir. Günümüze kadar Behçet hastalarında diğer tanımlanan otoantijene karşı antikörler; okside LDL (low density lipoprotein), tropomyozin, antilenfosit, immunglobulin benzeri reseptör antikörleridir.

Endotelin-1 (endothelin-1=ET-1), aktif Behçet hastalarında yüksektir ve dolaşımdaki düzeyi ile hastalık aktivitesi arasında korelasyon olduğu düşünülmektedir. Ancak ET-1 düzeyindeki artışın nedenden çok bir sonuç olarak değerlendirilmesi daha doğru olacaktır. Behçet hastalarında artmış oranda saptanan IL-1, IL-6, TNF endotel hücrelerinde uyarıma neden olarak ET-1 ve Von Willebrand faktör antijeni artışına yol açabilmektedir. Behçet hastalarında ayrıca anti nükleer antikör (antinuclear antibody=ANA) ve anti düz kas antikörleri az oranda da olsa bulunabilmektedir ve bu bulguların poliklonal B hücre aktivasyonu sonucu geliştiği düşünülmektedir (47,48,73,108,119,121).

Endotel Hücreleri, Nötrofiller ve Oksidatif Hasar: Behçet hastalığı etyopatogenezinde damar duvarındaki hasarın oluşumunda serbest oksijen radikalleri suçlanmıştır. Behçet hastalarında artmış oksidatif stresin göstergesi olarak superoksitler, ADA, hidrojen peroksit düzeylerinde artış, anti oksidatif fonksiyonlarda azalmanın

göstergesi olarak da süperoksit dismutaz SOD, glutasyon peroksidaz ve katalazın azaldığı bildirilmiştir (119). Behçet hastalarında PMNL hücre fonksiyonlarında, enzimatik aktivitede, (metiltransferaz, fosfolipaz A-2) kemotakside, fagositozda ve süperoksit salınımında normale göre artış saptanmaktadır. Bununla birlikte bazı çalışmalarda Behçet hastalarında plazma SOD düzeyleri yüksek oranda bulunmaktadır ve bu artışın doku hasarı nedeni ile olduğu düşünülmüştür. Ancak mononükleer hücrelerde, T ve B lenfositlerde ise SOD düzeyi normale göre azalmış bulunmaktadır ki bu durum oksijen radikallerinin yeteri kadar ortadan kaldırılamamasına ve doku hasarının gelişimine neden olabilir (123).

Süperoksit salınımında artış ile HLA-B51 pozitifliği arasında bir ilişki olduğu ileri sürülmektedir. HLA-B51+ sağlıklı bireylerde nötrofillerden TNF-alfa üretimi de artmış bulunmaktadır. Ancak HLA-B51+ kişilerin sadece 1/1000'inde Behçet hastalığı gelişmektedir (53,73,81,82,124). Yine antioksidan sistemin kofaktörü durumundaki selenyum, demir, manganez, çinko elementlerin serum düzeylerinin düşük olduğu gösterilirken bazı çalışmalarda serum bakır, eritrosit çinko ve manganezde düzeylerinde artma bildirilmiştir. Antioksidan vitaminlerden A,C,E ve Beta-karotenin Behçet hastalarında azalmış olduğunu ileri süren çalışmalar bulunmaktadır (125-126).

Nötrofillerin endotele adezyonu incelendiğinde Behçet hastalarında nötrofillerde LFA-1 (CD11aCD18+) ekspresyonunda ve endotelde ICAM-1 ekspresyonunda, ayrıca P-L selektin'de artış saptanmıştır (73,127). Endotoksinler, IFN-gama gibi sitokin salınımına paralel olarak arttığı düşünülen NO'nun Behçet hastalarının serum, eritrositler ve snoviyal sıvılarında arttığı gösterilmiştir. NO'nun artmış düzeylerine paralel olarak kanda homosistein ve VEGF (vasküler endotelial growth faktör) de Behçet hastalarında artmaktadır (128,129). Leptin inflamasyon ve endotel hasarında kritik rol oynar ve endotel hücrelerinde eksprese edilir. Leptin direkt olarak NO'nun endotel hücresinden salınımına yol açmaktadır ve düzeyleri Behçet hastalarında artmıştır (130).

Behçet hastalığında klinik olarak hem arteriyel hem venöz sistemde tromboz riski artmıştır. Tromboz oluşumunu artıran trombin-antitrombin-III kompleks, plazmin-antiplazmin kompleks, trombomodulin, protrombin Behçet hastalarında artmış olarak bulunmuştur. Yine Faktör V Leiden (G1691A) ve protrombin gen (G20210A) mutasyonları da artmış olarak bulunmuştur. Behçet hastalarında trombotik olaylarda etkili olduğu düşünülen fibrinojen, von Willebrand faktör, (vWF), vWF antijen, ristosetin, faktör VIII, faktör IX, faktör XI, kolesterol, trigliserid değerleri yükselmiş, antitrombin III ve protein S artmış ve azalmış olarak bildirilmiştir. Son zamanlarda üzerinde durulan bir diğer konu da Behçet hastalarında homosistein konsantrasyonunun yüksekliği ve trombotik olaylarla olan pozitif ilişkisidir. Homosistein konsantrasyonunu etkileyen metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi (MTHFR) kodlayan gen C677T de polimorfizmi yine Behçet hastalarında farklı bulunmuştur (131). Homosistein artışı endotel hasarı ve buna bağlı trombotik olayların gelişmesinde etkilidir. Bununla birlikte Behçet hastalarında genel olarak kanama zamanları normaldir ve bir anti trombotik tedavi ve profilaksisi önerilmemektedir (66,112).

2.3. Behçet Hastalığının Histopatolojisi

Behçet hastalığının histopatolojik bulguları lökositoklastik vaskülit ve nötrofilik infiltrasyonla karakterizedir. Vaskülit; nötrofillerde karyoreksis, eritrosit ekstravazasyonu, postkapiller venüllerde fibrinoid nekrozun görüldüğü lökositoklastik vaskülit veya daha az oranda görülen nötrofilik vasküler reaksiyon şeklindedir. Burada fibrinoid nekroz, nükleer ürünler ve eritrosit ekstravazasyonu yoktur. Deri lezyonlarının histopatolojisinde nötrofilik vasküler reaksiyonun daha belirgin olduğu yönünde bir fikir birlikteliği vardır. Bu nedenle folliküler lezyonların Behçet hastalığının deri bulgusu olarak tanı kriterleri arasında yer almaması gerektiği savunulmaktadır. Kronik lezyonlarda peri vasküler lenfositik infiltrasyon görülebilmektedir. Paterji reaksiyonunun histopatolojik incelemesinde lökositoklastik vaskülit veya Sweet sendromunda görülen nötrofilik vasküler reaksiyon görülür. Histopatolojik bulgular Behçet hastalığının patogenezinde immün kompleks bağımlı vaskülitin rol oynadığını desteklemektedir (3-119).

BH birçok yönü ile otoimmün bir hastalık olarak değerlendirilebilir. Hastaların bir bölümünde damar duvarında depolanan immün komplekslerin yanısıra dolaşan immün komplekslerin saptanması bu tezinin geliştirilmesinde önemli rol oynamıştır. Yukarıda da özetlenmeye çalışıldığı üzere İŞP, otoantijenler içerisinde belkide en önemlisi olup, yoğun olarak araştırılmıştır. Son yıllarda alfa-tropomyozin, alfa-enolaz, kinektin, gibi çok sayıda otoantijene karşı gelişen antikör yanıtı saptanmıştır (119). Hastalığın otoimmün kökenli olduğuna ilişkin bir diğer önemli kanıt ise azatioprin ve siklosporin gibi immünsupresif ilaçların bu hastalıkta başarı ile kullanılıyor olmasıdır. Diğer yandan diğer otoimmün hastalıklarla birliktelik göstermemesi, bu grup hastalıklarla birliktelik gösteren HLA haplotiplerinin (HLA-A1, -B8, -DR3) sık rastlanmaması, kadın hâkimiyetinin olmaması ve ANA gibi sık görülen otoantikörlerin bulunmaması nedeniyle otoimmün bir hastalık olarak tanımlanamayacağı da ileri sürülmüştür. Son yıllarda hastalığın otoinflamatuvar hastalıklar grubunda yer alması gerektiği ileri sürülmüştür. Görünür bir neden olmadan özellikle doğal immünitinin (nötrofiller vb.) rol aldığı tekrarlayan inflamasyon atakları ve belirgin bir otoimmün patolojinin yokluğu ile karakterize otoinflamatuvar hastalıklar grubunda çok sayıda hastalık yer almaktadır. Bunlardan ülkemizde en iyi bilineni ise ailevi Akdeniz ateşidir. Ancak bu bulguların ışığında, hastalığı bu iki gruptan birisine tam olarak sokmak mümkün görünmemektedir. BH hem otoimmün, hem de otoinflamatuvar hastalıklarla benzerlikler taşımaktadır.

Sonuç olarak Behçet hastalığı tanımlandığı günden bu yana 60 yıl geçmesine ve immünolojik çalışmalar 35 yıldır yoğun olarak sürdürülmesine rağmen hala hastalığın immünopatogenezi ile ilgili kesin bilgilerin elde edildiğini söylemek güçtür. Bugün için Behçet hastalığı etyopatogenezi arayan hastalıklardan biri olmaya devam etmektedir.

2.4. Th 17 Hücreleri

CD4 yardımcı T hücreleri bağışıklık yanıtında gerekli moleküllerdir. Yaklaşık yirmi yıl önce yapılan çalışmalar yardımcı T hücrelerinin bağışıklık sistemimizi nasıl kontrol ettiğine ışık tutmuştur (132). Bağışıklık sistemini ve birbirini karşılıklı düzenleyen sitokin salgılanmasını farklı yollardan kontrol eden yardımcı T hücrelerinin başlangıçta iki alt grubu tanımlandı (133). Bu çalışmaların temelinde yardımcı T hücre serileri bazı kriterlere göre belirleniyordu ilk olarak; bu naive T hücreler in vitro ve in vivo birbirlerinden bağımsız oluşur ve ikinci olarak her bir seri belirli bir gen ekspresyonu yapar ve kalıtsaldır (134). Th1 hücreleri hücrel bağışıklık yanıtına yardım eder ve hücre içi bakteri ve virüslere karşı etkili savunma için önemlidirler. Naive yardımcı Th 0 hücreleri IL-12 sitokini varlığında transkripsiyon faktörü t-bet ve STAT4 ile IFN γ üreten yardımcı Th1 hücre alt grubuna farklılaşır (135). Th 1 hücrelerinin otoimmün hastalıklarda önemli rol oynadığı bilinmektedir (136). Th 2 hücreleri ise humoral bağışıklığa yardım eder ve helmint infeksiyonlarına ve hücre dışı parazitlere karşı mücadelede önemlidirler (136). Naive yardımcı Th 0 hücreleri IL-4 varlığında gata-3 ve STAT 6 yolu ile Th 2 hücre alt grubuna farklılaşır (135). Th 2 hücreleri B hücrelerine IgE antikoru salgılanmasına yardım eder ve alerjide merkezi rol oynar (136). Son yıllarda yardımcı T hücrelerin sadece bu iki alt gruptan oluşmadığı anlaşılmıştır. Bu hücre alt gruplarını düzenleyen diğer bir hücre grubu keşfedilmiştir ki bunlar foxp3 Treg, IL-10 salgılayan Tr1 ve TGFB salgılayan Th3 hücreleridir (6). Yapılan diğer çalışmalar sayesinde IL-17 ekspresyon eden T hücreleri, şu anda Th 17 hücreler olarak biliniyor, dört yıl önce yardımcı T hücrelerinin diğer bir alt grubu olarak tanımlanmıştır (7).

IL-17 (IL-17A olarak bilinir) otoimmün hastalıklar ve infeksiyöz ajanlara karşı konak savunması ile ilişkili olarak yardımcı Th 17 hücreler tarafından üretilir. IL-17 nin nasıl üretildiği ve nasıl düzenlendiği bilinmemektedir. IL-17' nin Th1 hücreleri tarafından üretildiği düşünülmektedir ki yapılan çalışmalar bu teoriyi çürütmüştür. 2000 yılında Infante-duarte ve arkadaşları (138) IL-17 ekspresyon eden hücrelerin IFN ekspresyon eden hücrelerin dışında bir hücre grubu olduğunu ve zıt çalıştıklarını not ettiler. ICOS ve IL-23 için eksik otoimmün hastalık modellerinde yapılan çalışmalar gösterdi ki; bu hücre grubu IFN ekspresyonu için gerekli değildi ki bunlar IL-17 için gerekliydi bu belirteçler IL-17 nin IFN γ dan farklı düzenlendiğini gösterdi (139). Bu çalışmalar sonrasında IL-17 üreten Th1, Th2 ve Treg hücrelerinden ayrı bir hücre grubunun olabileceği öne sürüldü. Bu hipotez transkripsiyonel çalışmalarla tamamlanarak yeni bir yardımcı T hücre alt grubu Th 17 hücreleri olarak literatüre geçmiştir (7,140).

IL-17 ekspresyonu Th17 hücrelerinin ayırıcı özelliği olmasına rağmen bu hücrelerin ekspresyon ettiği diğer moleküllerde microarray teknolojisiyle belirlenmiştir. Bu moleküller aşağıda sıralanmıştır.

IL-22: IL-10 ailesinin bir üyesidir ki son zamanlarda Th 17 hücreleri ile ekspresyon edildiği gösterildi (141-143). IL-22 reseptörü IL-22R1 zinciri ile IL-10R2 zincirinden STAT3'ü indükler ve antimikrobiyal peptidler β defensin2 ve β defensin3 ün ekspresyonunu indükler (144). IL-22 proinflatuar sitokindir ve IL-23 indüklü olarak cilt inflamasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (143). Son yıllarda yapılan çalışmalarda

IL-22 nin gut ve akciğerlerin bakteriyel infeksiyonlara karşı konak savunmasında rolü olduğu gösterilmiştir (145).

IL-22 ye ek olarak insan Th 17 hücreleri diğer IL-10 aile üyelerinin ekspresse eder ki, örneğin IL-26 nın fare dışında yangıdaki rolü bilinmiyor ama kronik inflamasyonda IL-22 ye benzer fonksiyonları olabileceği bildirilmiştir (146).

IL-21: IL-17,IL-17F ve IL-22 nonlenfoid dokularda hücrelerin yangı yanıtını düzenler ama T hücre aktivasyonu ya da farklılaşmasının düzenlenmesinde görülmemektedir. IL-21 son yıllarda hem mRNA hemde protein seviyesinde Th 17 hücreleri ile yüksek seviyede ekspresse edilen diğer bir sitokin olarak rapor edildi (147). IL-21 in ekspresyonu STAT3 bağımlı tarzda IL-6 tarafından indüklenir ve IL-21 kendi ekspresyonunu düzenleyebilir (148,149).

IL-21 reseptörü tek bir zinciri, IL-21 R ve λ zincir reseptörü diğer sitokin reseptörleri ile paylaşır. IL-21R humoral bağışıklık ve germinal merkez reaksiyonları ile ilişkilidir (150). Bu bilgilere ek olarak IL-21 CD8 T hücre proliferasyonunun güçlü bir düzenleyicisidir. IL-21 otokrin tarzda CD4+ T hücrelerinin Th17 hücrelerine farklılaşmasını sağlar (148,149).

CCL-20:CC kemokin reseptör 6 dendritik hücreler, T hücre alt grupları ve B hücreler tarafından ekspresse edilir. Tek bir ligandı vardır CCL20 (MIP 3 ALFA) olarak bilinir, bağırsaklarda immün hücrelerin seçiçi lokalizasyonu ve intestinal dokular tarafından ekspresse edilir (151). Th17 hücrelerinin farede ve insanda CCL20 ürettiği rapor edilmiştir. Ek olarak CCR6 Th 17 hücrelerde ekspresse edilir (152). CCL20 yangı ilişkili Th 17 hücrelerinde önemli role sahiptir. Bu da Th 17 hücre fonksiyonunda CCL20-CCR6 sinyalinin önemini gösterir ki yapılan çalışmalarda CCR6 eksik fare EAE ye karşı dirençli bulunmuştur (152,153).

2.5. IL-17 Sitokin Ailesi

IL-17 ailesinin bugüne kadar altı üyesi tanımlanmıştır. IL-17A (IL-17) ,IL-17 B,IL-17C, IL-17D (IL-27), IL-17E (IL-25) ve IL-17F. IL-17 ailesinin üyeleri spesiflik gösterir ve biyolojik fonksiyonları çeşitlidir ki bu çeşitlilik N ve C terminal yapı ve genişlik farklılıklarından, sistein residuelerin sayısından kaynaklanmaktadır (9).

IL-17A(IL-17): IL-17 ailesinin bir üyesidir. IL-17A yi kodlayan gen farede 1-A4 kromozomda insanda 6.kromozomun p12 bölgesinde bulunur. Başlangıçta CTLA-8 ve Herpesvirus saimiri virus gen 13 ürünü olarak biliniyordu ve sırayla IL-17 ve vIL-17 olarak adlandırıldı. İnsan fibroblastlarında IL-6 üretimini ve NF-kB aktivitesini indüklediği belirtilmiştir (154). T hücrelerinin IL-17 nin önemli üretim yeri olarak bilinmesine rağmen yapılan araştırmalar yalnızca bu hücrelerin IL-17 nin kaynağı olmadığı bildirilmiştir. NKT hücrelerinin de IL-17 ürettiği rapor edilmiştir (155).Uterin fibroidler ve leiomyomaslar gibi jinekolojik dokularında IL-17 ürettiği gösterilmiştir (156). IL-17 nin aktive hafıza CD4+ T hücrelerin sorumlu olduğu rapor edildiyse de insanlarda periferel kan mononükleer hücrelerin PMA ve ionomycin ile uyarılması

sonucu hafıza CD8+ T hücrelerinin de IL-17 ürettiği bildirilmiştir (23). $\gamma\delta$ T hücreleri ve diğer CD4-CD8- T hücreleri Mycobacterium tuberculosis enfeksiyonu sırasında IL-17 üreten ilk kaynaklardır (157). Nötrofiller de T hücreler gibi IL-15 ile uyarım sonrası IL-17 üretebildikleri kesin olmamakla birlikte bildirilmiştir (158).

2.6. IL-17A' nin Biyolojik Aktiviteleri

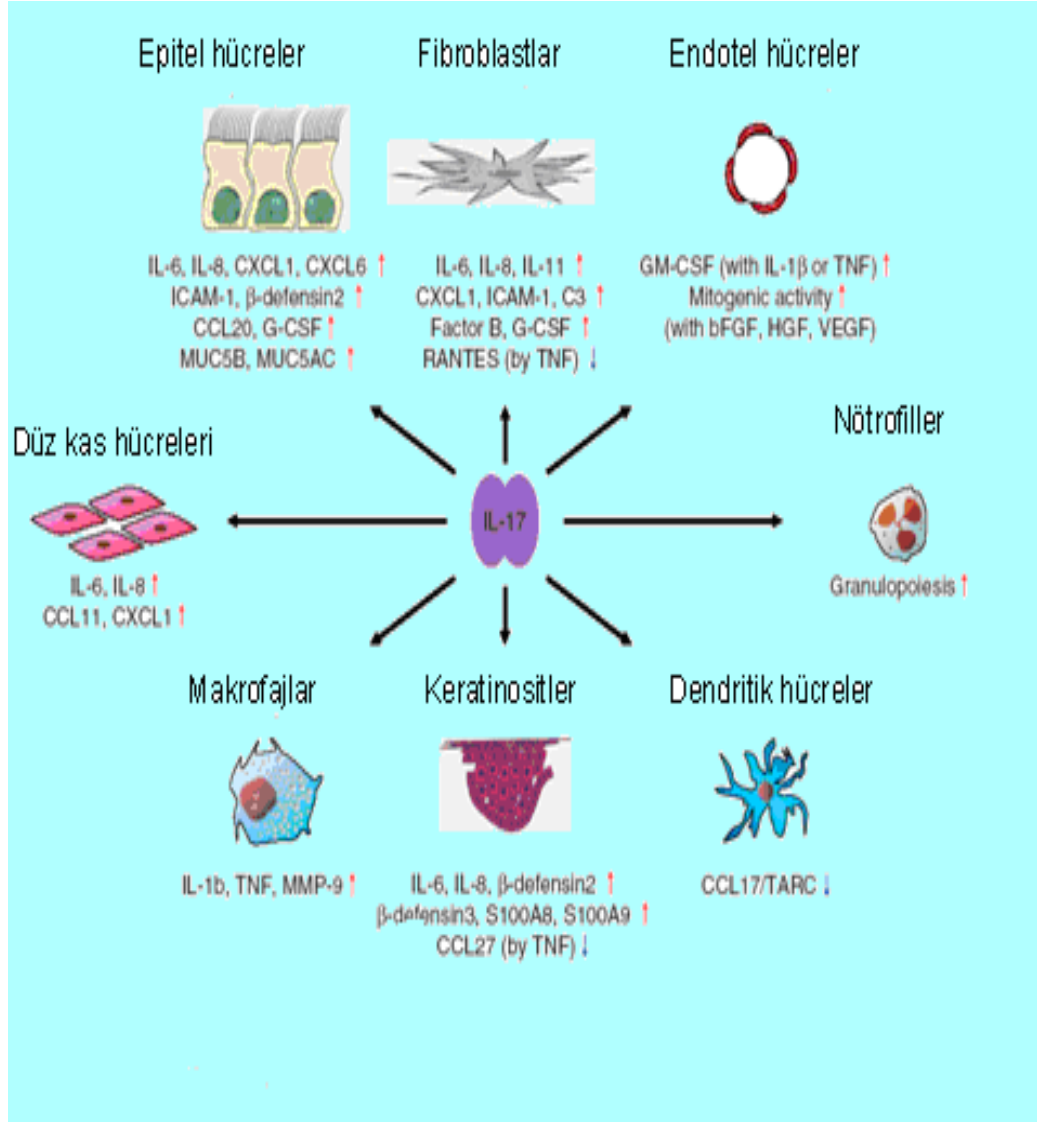
IL-17 sitokini IL-1, IL-6, IL-8, CXCL1 ve TNF' in stromal, epitel, endotel hücrelerden ve monositlerden üretilmesini yönetir. Böylece üretilen bu proinflamatuvar sitokinler yangının olduğu alana nötrofillerin hızla gelmesini sağlar Doğuştan gelen bağışıklık yanıtına IL-17 sitokininin katkıda bulunduğu bildirilmiştir (10). IL-17 nin fonksiyonel analizi gram (-) negatif bakteri ve mantar enfeksiyonlarına karşı konak savunmasında önemli olduğunu göstermiştir. IL-17R-eksik farelerin hücre dışı patojen ve Candida mantarına karşı enfeksiyonlara çok hassas olduğu yapılan deneylerde gösterilmiştir. Bu çalışmalara ek olarak Klebsiella pneumoniae, Bacteroides fragilis, Borrelia burgdorferi, Mycobacterium tuberculosis ve mantar türleri ile enfeksiyon esnasında T hücrelerin öncelikle IL-17 ürettikleri rapor edilmiştir (138).

IL-17 ekspresyonu çoğu yangısal hastalıklar RA, Asthma, SLE ve allograft rejeksiyon ile ayrıca in vitro bazı kemokinleri kodlayan genlerin ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur. CCL2, CCL7, CCL20, CXCL1, MMP3 ve MMP13 ün IL-17 ile muamele sonrasında fare fibroblastlarında belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir. IL-17 ve TNF proinflamatuvar gen ekspresyonunun yönetiminde güçlü sinerjik etki gösterirler (153). Benzer şekilde in vivo olarak IL-17RA eksik farede mikobakteriyel enfeksiyonlara karşı konak savunması azalmıştır. Çünkü aynı zamanda akciğerlerde CXCL2 ve G-CSF in miktarında azalmıştır (153).

IL-17' nin akciğerlerde aşırı ekspresyonu kemokin ekspresyonunuda arttırarak lökositlerin göçünü arttırır. RA nın adjuvantla indüklü IL-17 eksik fare modelinde hastalığa karşı direnç görülmüştür. Son zamanlarda IL-17 ye spesifik antikor ile nötralize ve IL-17 eksik farelerin EAE ye karşı dirençli olduğu bildirildi. Bu bilgilere ek olarak son zamanlarda SLE benzeri hastalığın bir modelinde IL-17 nin germinal merkez reaksiyonları yönettiği rapor edilmiştir.

IL-17 ye geniş ölçüde proinflamatuvar sitokin gözüyle bakılmasına rağmen nonhematopoietik hücre tipleri hedefidir ki IL-17 ve IL-17R eksik fare çalışmaları da bu yönde IL-17 ye ek biyolojik fonksiyonları olabileceğine dikkat çekmiştir. Örneğin IL-17 eksik fare otoimmün ve alerjik hastalık modellerinde antikor yapımı ve antijen spesifik T hücre aktivasyonunun azaldığı gösterilmiştir. Üstelik IL-17 RA eksikliği bir asthma modelinde Th 2 tip yanıtın azalmasına neden olduğu gösterilmiştir (159). Bu etkileri IL-17 sinyalinin yokluğunda doğuştan immün yanıtta myeloid hücrelerin bu dokuya gelmesinin bozukluğu gösteriyor olabilir. Her nasıl ki IL-17 hedefleri ile ilgili yapılan çoğu çalışmalarda immün olmayan hücrelere odaklanılmıştır ve bu yüzden myeloid hücrelerde IL-17 etkileri belirsizliğini korumaktadır.

IL-17 sitokini epitel hücrelerden, fibroblastlardan, düz kas hücrelerinden ve keratinositlerden IL-6 ve IL-8 sitokinlerinin salınımını sağlar. Epitel hücrelerden bu sitokinlerin yanı sıra ICAM-1, β -defensin2, CCL20, G-CSF, MUC5B ve MUC5AC nin salınımını arttırmaları. Endotel hücrelerden ise IL-1 β ya da TNF yardımıyla GM-CSF in indüklenmesini sağlar ve mitojenik aktiviteyi yükseltirler. IL-17 nin nötrofiller üzerindeki etkisi ise granulopoiesis oluşumuna yardım etmesi ve nötrofil hiperaktivasyonunda belirgin olarak etkili görülmüştür. IL-17 sitokini düz kas hücrelerinden ayrıca kemokin ligandlarından CCL11 ve CCL1 in aktivitesini arttırmaları. Makrofajlarda IL-1 β , TNF ve MMP-9 un üretimini arttırırken dendritik hücrelerden CCL17/TARC moleküllerinin salınımını baskılar (160) (şekil2.2).



Şekil 2.2. Hücrelerin çeşitli tiplerinde IL-17 nin aktiviteleri (Oboki K. et. al.2008)

IL-17F: IL-17 çoğunlukla IL-17F ye homoloji gösterir ve bu genler 6.kromozoma yakın lokalize olarak kodlanır. IL-17 ve IL-17F aynı homodimerleri içerirler ve her ikisinde son yıllarda tanımlanan Th 17 hücreleri tarafından üretilirler ve bu form IL-17/IL-17F olarak bilinir (153).

IL-17 ve IL-17F farede ve insanda aynı kromozom üzerinde lokalize genler tarafından kodlanır. IL-17 ve IL-17F bir gen duplikasyonu sonucu oluşmuş olabilir. IL-17 nin fonksiyonu hakkında edindiğimiz bilgi kadar IL-17F in hakkında yeteri kadar bilgi

bulunmamaktadır. IL-17F in ilk olarak IL-23 ile indüklenen Th 17 hücreleri tarafından ekspresye edildiği bilinmektedir.

IL-17 ye benzer şekilde, IL-17F in çeşitli sitokinlerin ekspresyonunu, fibroblastlar, damar endotel hücreleri, insan havayolu epitelyum hücrelerinden adezyon moleküllerinin ve çeşitli kemokinlerin ekspresyonunu indükler ama IL-17F IL-17 den belirgin şekilde daha az aktive gösterir. IL-17F in havayolu inflamasyonu ya da adenoviral infeksiyonunda lipofetamin ilişkili sitozolik bir transgeni içermesi nötrofillerin dokuya çağrılmasına neden olur. IL-17 F alerjenle değişim sonrasında alerjik asthmalı hastaların havayollarında bulundu (161). Yapılan diğer bir çalışmada IL-17F genindeki bir mutasyon ile asthma arasında ilişki bulunmuştur. IL-17 ve IL-17F in benzer fonksiyonları bulunduğu rapor edilmiştir. Diğer yandan IL-17 ve IL-17F in bir heterodimerik sitokinden oluştuğu fare ve insan Th 17 hücreleri tarafından üretildiği rapor edilmiştir. IL-17F için reseptör son günlerde IL-17RC nin olabileceği rapor edilmiştir (162).

IL-17B ve IL-17C: TNF ve IL-1B yanıtını yönetirler (153).

IL-17D: IL-6, IL-8 ve GMCSF aktivitesini artırır (153).

IL-17E: Alerjik inflamasyonda ve parazitlere karşı Th 2 tipi sitokin yanıtına katkıda bulunur (153).

2.7. IL-17 Reseptörleri ve Sinyal İletimi

IL-17 yi kodlayan gen 1993 yılında kemirgen hayvan T hücre kütüphanesinden hibridizasyon ile keşfedildi ve CTLA-8 olarak adlandırıldı (164). IL-17 nin Herpes saimiri ye homoloji gösterdiği bulunmuş ancak bu konuda çok az bilgi bulunmaktadır. Bununla birlikte, IL-17 nin sekansının diğer sitokin ailelerine benzerlik gösterdiği ve insan IL-17 sinin homoloğu sitokin aktivitesi gösteren bir T hücresi olarak tanımlandı. Aynı zamanda IL-17 bağlayan bir reseptör klonlandı. IL-17 R bilinen diğer sitokin reseptörlerine kıyasla tekti ve uzun sitoplazmik uç kısmı ile tek bir trans membran reseptörüdür. Böylece yeni bir sitokin subuniti tanımlandı ki bu 7 ligand ve 5 reseptör subunitini içermektedir. Bunlar birkaç orphan reseptörleri ve orphan ligandlarıdır. Diğer sitokinlere benzer şekilde IL-17 reseptör kompleksleri multimeriktir. IL-17 IL-17RA ve IL-17RC subunitinin oluşturduğu bir reseptöre bağlanır (165).

Son yıllarda L-17RA nın IL-17 RC ile heterodimer bir form olabileceği rapor edildi ki IL-17 RC de IL-17R ailesinin diğer bir üyesidir. IL-17R ailesi IL-17 ye sinyal yolları için farklı affiniteyle ve ek formları şeklinde bağlanabilir. IL-17 NF-kB yi ve böylece Map kinaz yolağını aktive eder. İlk kez fare embriyonik fibroblastlarında TNFR-ilişkili faktör (TRAF-6) ün IL-17 ile IL- 6 ekspresyonunu indüklediği gösterildi (166).

Son zamanlarda bir adaptör protein olan ACT1 IL-17RA nın gerekli sinyal komponenti olarak tanımlandı. ACT1 direk olarak IL-17RA nın hücre içi kısmı ile

ilişkilidir ki burada SEFİR domaini ile homofilik interaksiyon oluşur ve ve NF-kB aktive olur. Böylece IL-17 ile çok sayıda proinflamatuvar genlerin ekspresyonu indüklenmiş olur. ACT 1 eksik fare EAE ye karşı dirençliydi aynı şekilde dekstran sulfat sodyum ile indüklenen colitlerde de durum böyledir (167).

2.8. Th 17 Hücre Farklılaşması

Fare ve insan Th 17 hücrelerinin Th1 ve Th2 hücrelerinden farklı bir gen ekspresyonuna sahip olduğu gösterilmiştir ki bu hücrelerin biyolojik ve patolojik fonksiyonları için önemlidir. T hücrelerinin fonksiyonel farklılaşması doğuştan bağışıklık yanıtı ile şekillenir ki buda optimal T hücre aktivasyonu ve proliferasyonu, sitokin üretimi için eşuyaran reseptörleri gerektirir. Bu eşuyaran reseptörler CD28 ve ICOS her ikisinde Th 17 gelişimi için gerekli olduğu gösterilmiştir. Th 17 oluşumunda ne IL-4 ne de IFN gerekli değildir ki bu durum Th 17 hücrelerini diğer gruplardan ayırır. Son günlerde Th 17 hücrelerinin insanda ve farede gelişimi için gerekli sitokinler belirlenmiştir (152,168).

IL-23: IL-23 bir IL12 sitokin ailesi üyesidir ki bu ailede IL-12, IL-23, IL-27 ve IL-35 den oluşur ve aktive miyeloid hücreler, dendritik hücreler ve makrofajlar tarafından ekspresse edilirler. IL-23 heterodimeri IL-12 ile p40 alt grubunu paylaşır. IL-12 p40 p35 alt grubunu içerirken IL-23 p40 ve p19 alt ünitelerini içerir.(169) IL-17 ekspresyonunu düzenleyen ilk sitokin olarak gösterilmiştir, IL-23 eksikliği EAE ve CIA ya karşı koruyucudur (170). IL-23 Th17 hücre farklılaşmasında IL-6 ya benzer etki gösterir (171). Th 17 hücre popülasyonlarının artırılmasında gerekli olduğu bildirilmiştir ki hala tam olarak IL-23 ün Th 17 hücrelerine karşı tam olarak etkisi bilinmemektedir. Bir genom tarama çalışmasında son günlerde insan inflamatuvar bağırsak hastalığı ve diğer otoimmün hastalıklar için IL-23R hassas bir gen olarak tanımlanmıştır (172).

IL-1: IL-23R ye benzer şekilde IL-1R in ekspresyonu Th 17 hücreler tarafından upregüle edilir. İlk yapılan çalışmada IL-1R eksik fare kullanılarak yapılan deneyde IL-1 in EAE de önemli role sahip olduğu gösterildi. Son günlerde IL-1 in Th 17 gelişimi ya da proliferasyonunda IL-6 ve TGFβ nın varlığında gerekli olduğu gösterilmiştir (173).

IL-6 ve TGFβ: Th 17 hücrelerinin proliferasyonu ve Th 17 ilişkili hastalıklar için IL-23 temelde önemli gözükmesine rağmen, bu Th 17 hücre farklılaşmasının başlangıcı için gerekli görülmemektedir. Onun bazı gruplar farede Th 17 hücrelerinin farklılaşmasını IL-6 ve TGFβ nın güçlü bir şekilde indüklediğini göstermişlerdir. İnsan Th 17 hücre farklılaşması çalışmalarında TGFβ nın gerekli olmadığını IL-1, IL-23 ve IL-6 nın rol oynayabileceğini göstermişlerdir (174).

2.9.Th 17 Hücrelerinin Negatif Düzenlenmesi

IL-23, IL-1, IL-6 ve TGFβ Th 17 hücrelerinin IL-17 üretimi için gerekliyken bazı sitokinler ise bu farklılaşma yolağını negatif şekilde etkiler. IL-4, IFNγ ve IL-2 nin foxp3 ekspresyonunu ilerletirken Th 17 hücre farklılaşmasını inhibe ettiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca IL-2 nin genetik delesyonu ya da antikör ilişkili bloke edilmesi de Th 17 nin farklılaşmasını engellediği bilinmektedir (175).

IL-27 (IL-17D) nin de yapılan invivo çalışmalar sonucu IL-6 ve TGF β STAT1 yolağı ile indüklenen Th 17 hücrelerinin farklılaşmasını baskıladığı gösterildi (176). IL-25 (IL-17E) diğer bir IL-17 ailesinin üyesidir ve IL-17RB ye bağlanır. IL-25 eksik fare ile yapılan çalışmada EAE ye karşı hassasiyetin ve Th 17 hücrelerin sayısında artış olduğu bulunmuştur. IL-25 de dendritik hücrelerden salınan IL-1 ve IL-23 ün varlığında gelişen Th 17 hücrelerini baskılayabileceği düşünülmüştür. Son yıllarda IL-25 in Th 2 tip yanıtı arttırdığı verileri ışığında bu sitokinin direk T hücreleri üzerinden ya da antijen sunan hücreleride etkileyerek Th 17 gelişimini negatif etkilediği bildirilmiştir (177).

2.10. IL-17' nin Hastalıklarla İlişkisi

Psoriasis: Psoriasis epidermal hiperplazi, dermal anjiojenesis ve monositlerin, dendritik hücrelerin ve T lenfositlerin infiltrasyonu ile karakterize kronik bir inflamatuvar hastalıktır. Psoriasisin patogenezi hem Th1 hem de Th 17 hücrelerin rol oynadığına dair çalışmalar bulunmaktadır. Th 1 sitokinleri IFN γ , IL-2 ve IL-18 ile Th 17 sitokinleri IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-26 ve TNF α deri lezyonlarında ve serum örneklerinde yüksek şekilde ekspresse olmaktadır (163). IL-17 nin Psoriasis in patogeneziindeki rolünü; Psoriasis li hastaların deri lezyonlarında Psoriasis olmayan sağlıklı kontrollere oranla kıyaslandığında RORC, IL-6, IL-1 β ve IL-23 ün yüksek şekilde ekspresse olmasıyla kanıtlanmıştır (145).

Rheumatoid arthritis(RA): Rheumatoid arthritis kartilaj hasarı ve kemikte multiple ilişkili sinoviyal dokuların kronik yangısıyla karakterize edilen bir otoimmün hastalık olarak tanımlanmıştır. RA'nın hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda IL-17 nin hastalığın patogeneziinde rol oynadığı gösterilmiştir. IL-17 eksik farede RA nın belirtileri belirgin şekilde azalmıştır (178). Yine aynı şekilde IL-17 ya da soluble IL-17R antikoları ile muamele yangının şiddetini azaltmıştır (179). Üstelik IL-17 R sinyali kemik hasarı, kartilaj hasarı kronik sinovitisin indüklenmesi için gereklidir. RA da IL-17 nin patolojik rolüyle ilgili ilk rapor Pierre Miossec' in laboratuvarından gelmiştir. RA hastalarının sinoviyal sıvılarında IL-17 oranının artmış olduğunu gösterdiler (180).

Diğer Romatizmal Hastalıklar: Sistemik scleriosis etyolojisi hala bilinmemekle beraber deride fibrosis, akciğer ve gastrointestinal tutulum ile karakterize edilmiş bir bağ doku hastalığıdır. Patogenezi hakkında fazla bilgiye sahip olunmamasına karşın deriye sızan T hücreler ve fibroblast aktivasyonu görülmektedir. Serum IL-17 düzeyi bu hastalarda yüksek bulunmuştur. Tercihen hastalığın erken aşamalarında fibroblast yoğunluğu artmış aynı zamanda adezyon moleküllerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda artmıştır. Deride ve akciğer dokusunda IL-17 mRNA ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir (181). SLE bir kronik sistemik otoimmün hastalığıdır. Nükleer antijenlere karşı otoantikoların oluşmasıyla karakterizedir ve yangı sonucu tüm organları tutan hasar oluşmaktadır. Tip 1 IFN SLE nin patogeneziinde merkezi rol oynar ve tip 1 IFN insan PBMC lerinde IFN ve IL-17 üretimini baskılar (182). Bu bulgular işaret eder ki IL-17 sitokininin rolü Lupus' un patogeneziinde dikkat çekicidir (12).

Asthma ve Allerjik Hastalıklar: IL-17 sadece Th 1 bağımlı hastalıklarla ilişkili görülse de allerjilerin ve asthmanın patogeneziinde IL-17 nin önemli role sahip olduğu

düşünülmektedir. Asthma hastalarından alınan balgam örneklerinde IL-17 nin seviyesi sağlıklı kontrollerden alınan balgam örneklerindeki daha yüksek bulunmuştur (183-185). Allerjik asthması olan hastalarda asthması olmayan kontrol grupların plazmalarında IL-17 nin seviyesi yüksek bulunmuştur (16).

IL-17 nin akciğerlerdeki bazı fonksiyonları diğer sistemik hastalıklarda olduğu gibi allerjik asthmayı yönetir. İnsan bronşiyal fibroblast hücreleri IL-17 ile uyarım sonucu IL-6, IL-8, GRO alfa üretir. IL-8 ve GRO alfa nötrofiller için kemoatraktanlar olarak bilinir ve IL-6 da nötrofil aktive edici bir sitokindir (186). IL-17 ile IL-6 nin uyarılması sonucu insan bronşiyal epitelyum hücrelerden MUC5B ve MUC5AC gibi mucus genlerin ekspresyonu sağlanır. Th 2 hücreleri tarafından üretilen IL-4, IL-9 ve IL-23 insan bronşiyal epitelyum hücrelerinde aynı etkiyi gösterememektedir. Bütün bu fonksiyonlarından dolayı IL-17 nin allerji ve asthmada rolü büyüktür (187).

Atopik Dermatitis: Psöriasis ve allerjik asthmadaki rolüne ek olarak IL-17 üreten T hücrelerinin atopik dermatitis ve Contact hipersensitivite nin patogenezi ile ilişkili olabileceği düşünülmüş ve atopik dermatitisli hastalardan alınan akut ve kronik lezyonların immünohistokimyasal analizi sonucunda IL-17 nin kronik deriden daha çok akut atopik dermatitisle ilişkili olduğu bulunmuş (188). Contact hipersensitivite CD8 T hücreleri ile ilişkili allerjen indüklü bir deri yangı reaksiyonudur. IL-17 nin nötralizasyonu farede contact hypersensitivite etkili bir şekilde baskılamıştır (189).

Multiple Sclerosis(MS): Proinflamatuvar sitokinler MS in patogenezi ve indüklenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (190). Yapılan çalışmaların çoğunda monositler, mikroglial hücreler ve astrositler tarafından IL-6, IFN γ , TNF α ve IL-1 in ekspresyonunun artmış olması aktif MS ile ilişkilendirilmiştir (191). 1999 yılında MS li hastaların cerebrospinal (CSF) sıvılarında ve kanlarında IL-17 nin seviyesinde artış gözlenmiş ve daha sonraki yapılan çalışmalar IL-17 nin MS hastalığındaki rolünü belirlemeye yönelik olmuştur (192).

Diğer bir ototimmün hastalık EAE Th1 ilişkili hastalık olarak düşünülmekteydi. Hastalığa IL-12p40 alt ünitesi eksik farelerin dirençli olduğu ve bunlarda Th 1 hücre bağımsızlığı gözlenmiştir (193). IL-12 Th 1 tipi hücrelerin farklılaşmasını desteklemekteydi fakat p40 ünitesini IL-23 sitokini ile paylaşır. IL-12 p40 ve p35 i, IL-23 ise p40 ve p19 alt ünitelerini içerir. IL-23ün p19 alt ünitesi eksik farede IL-17 üretimi yoktu ve üstelik bu fare EAE ye karşı dirençliydi. Bu bakımdan IL-17 nin önemli olduğu görülmüştür (194).

Ototimmün myokarditis genellikle kalp infeksiyonlarında kardiyak myozin çevresinde immün reaksiyonun artışı olarak bilinir. Son günlerde IL-17 ile uyarılan kardiyak fibroblastlarının MMP-1, MMP-2, MMP-9 ve MMP-13 ekspresyonlarını arttırdığı gözlenmiştir ki buda IL-17 nin kartilaj oluşumu ve kalp yangısına fibroblastların göçünde belirgin rol oynadığını düşündürmektedir (195).

VKH(Vogt-Koyonagi-Harada): Monositlerin immün atağı ile ilişkili bir ototimmün hastalıktır. Granulomat panuveitis, alopecia, vitiligo, poliosis tutulumu ve santral sinir

sistemi bozukluğu görülür (196). IL-23 serum seviyesi VKH hastalarının aktif veitlerinde sağlıklı kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde aktif üveiti olan VKH hastalarında alınan CD4 T hücreleri üveiti olmayan ve sağlıklı kontrollere oranla anti CD3 ve CD28 antikorları ile uyarıldığında çok daha yüksek seviyede üretildiği bilinmektedir (97).

MATERYAL VE METOT

Mart 2007-Aralık 2008 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Dermatoloji ve Venoroloji Anabilimdalı, Dermatoloji Polikliniğine başvuran ve Uluslar arası Çalışma grubunun tanı kriterlerine göre Behcet Hastalığı tanısı almış; halen tedavi altında olan veya yani tanı konmuş, antihistaminik, kortikostreoid ve/veya immunsupresif almayan hastalar ile Psöriasis hastalığı tanısı alan bireyler ve sağlıklı bireylerden sodyum heparin içeren tüplere ve biyokimya tüplerine kan alındı. Kontrol grubu olarak sağlıklı gönüllüler ve hastane personelinden oluşan; yaş ve cinsiyeti hasta grubu ile uyumlu kişilerden seçildi. Toplanan kan örneklerinden serumları ayrıştırıldı (2000 g, 7 dk) ve -80 °C de muhafaza edildi. Mononükleer hücreler dansite gradient yöntemi ile ayrıştırıldıktan sonra değişik uyarınlar ile uyarılarak ELISPOT yapıldı. Çalışmada E-bioscience marka human IL-17 ELISPOT kiti kullanıldı. Çalışmada E-bioscience marka human IL-17 ELISA kiti kullanıldı.

3.1. Periferik Kan Mononükleer Hücre (PBMC) Ayrılması

Behcet, Psöriasis hastası ve sağlıklı kontrol grubundan Sodyum-heparin içeren tüplere 10mL venöz kan alındı ve dansite gradientine göre Periferik kan Mononükleer hücreleri ayrıldı. Yapılan işlemler aşağıda belirtildiği gibidir.

1. Sodyum-heparin içeren tüplere~10ml venöz kan alındı.
2. Alınan kan 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra üzerine aynı oranda PBS eklendi.
3. Falcon tüplerine 3,5 ml Ficoll histopaque-1077 (Sigma-Aldrich) koyulduktan sonra PBS ile sulandırılmış kan oran1:2 olacak şekilde üzerine yavaşca eklendi.
4. 2000 rpm(800g),30 dk, 20⁰ C de santrifüj (Beckman-Coulter santrifüj cihazı kullanıldı) edildi.
5. Mononükleer hücreler pipet yardımıyla alındı ve üzerine PBS eklendi alt-üst edildikten sonra 2000 rpm(780g),10 dk.8⁰ C de santrifüj edildi.
6. Süpernatantlar atıldıktan sonra üzerine PBS eklendi.
7. 2000 rpm(780g),10 dk.8⁰ C de santrifüj edildi.
8. Süpernatantlar atıldıktan sonra üzerine PBS eklendi.
9. Elde edilen hücre miktarı sayıldı.
10. 2000 rpm(780g),10 dk.8⁰ C de santrifüj edildi.
11. Süpernatantlar atıldıktan sonra üzerine hücre miktarı 2×10^6 olacak şekilde RPMI-1640 (Sigma-Aldrich) eklenerek ELISPOT deneyi için hücre sayımız ayarlandı.

3.2.ELISPOT(Enzyme-Linked Immunosorbent Spot) Yöntemi

Behcet, Psöriasis hastası ve sağlıklı kontrol grubundan Sodyum-heparin içeren tüplere 10mL venöz kan alındı ve dansite gradientine göre Periferik kan Mononükleer hücreleri ayrıştırıldı ve ELISPOT yapıldı. Human IL-17 Elispot kiti (E-bioscience) kullanılarak yapılan ELISPOT yöntemi aşağıda belirtilmiştir.

1. 12mL PBS içerisine 48µl IL-17 Capture antikoru eklenerek dilüe edildi. Hazırlanan bu karışım tüm kuyucuklara 100 µl konularak plate kapatıldı ve bir gece +4⁰ C de bekletildi.
2. Kuyucukların içi boşaltıldıktan sonra boş kuyucuklar 200 µl PBS ile 2 kere yıkandı.
3. Kuyucukların içi boşaltıldıktan sonra boş kuyucuklar 200 µl comple medium eklenerek 1 kez yıkandı ve kuyucuklara tekrar 200 µl comple medium eklendi. Plate kapatılıp oda ısısında 1 saat beletildi.
4. Plate içi ters çevirilerek boşaltıldı. Daha önceden belirlemiş olduğumuz protokole bağlı olarak istenilen konsantrasyonlarda hücre süspansiyonu ve antijen her kuyuya 100 µl olacak şekilde dağıtıldı.
5. 37⁰ C de CO2 inkübatörde değişik zaman dilimlerinde optimizasyonu belirlemek için inkübe edildi. İnkübasyon süresince plate hareket ettirilmedi.
6. Uygun süre yapılan çalışmalarımızla 36 saat belirlendi bu zaman dilimi dolduktan sonrabplate ters çevrilip kurutma kağıdı üzerine hafifce vurularak içindeki solüsyonun tamamen boşaltılması sağlandı.
7. Kuyucuklar 200 µl PBS-% 0.1 tween 20 eklenerek 3 kez yıkandı.
8. Plate 3 kez ELISPOT Wash Buffer ile yıkandı.Assay Diluent içine Biotinlenmiş detection antikoru eklendi ve her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde pipetlendi veoda ısısında 2 saat inkübasyona bırakıldı.
9. 12 ml assay diluent içerisine 48 µl Avidin-horseradish peroxidase solusyonu eklenir ve bu karışımdan kuyucuk başına 100 µl olacak şekilde pipetlenir ve oda ısısında 45 dak. İnkübasyona bırakılır .
10. Plate 3 kez ELISPOT Wash Buffer ile yıkanır.
11. 2 kez tweensiz PBS ile yıkanır.
12. 100 µl AEC Substrat solusyonu eklenir.10-60 dakika içerisinde spot oluşması beklenir.
13. Spot oluşumu gözlendikten sonra reaksiyon 3 kez 200 µl distile su ile yıkanarak sonlandırılır.
14. Plate hava ile kurutulur ve optik okuyucuda okutulur.(İmmunoscan elispot cihazı)

3.3. Streptococcus sanguis ve Echericha coli ekstraktı Eldesi

Akdeniz Üniversitesi Mikrobiyoloji A.D. uzman doktorları tarafından tanımlanan Streptococcus sanguis ve Echericha coli bakterileri besiyerlerinde çoğaltıldıktan sonra aşağıdaki işlemler sırayla uygulandı.

1. Saf S.sanguis ve Echericha coli den öze yardımıyla 1-2 koloni alındı.
2. %10 FCS eklenmiş RPMI1640 ın içine daldırıldı.
3. 37°C de 24-28 saat Etüvde inkübe edildi.
4. Bulanık hale geldikten sonra otoklavlandı.
5. 50ml lik falkona alınır ve 3000-3500 devirde 30 dakika santrifüj edildi
6. Süpernatantı 100mllik şişeye alındı vortekslelendikten sonra 500µ lik kısımlara bölündükten sonra lyophilise edildi. Optimal konsantrasyon ön deneylerle saptandı (Burada verileri sunulmamıştır).

3.4. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi

ELISA yönteminde, antijen ya da antikor bir enzimle işaretlenmekte ve immunolojik reaksiyon, enzimatik bir aktivite sonucu gelişen renk ile ölçülmektedir. Duyarlı, özgün ve çabuk sonuç veren bir testtir. Serolojik tanıda kolay ve hızlı olmasından dolayı geniş bir uygulama alanı bulmuştur. ELISA yönteminde antijen, katı bir faza bağlanmaktadır. Katı faz olarak rigid polystyrene, polyvinyl ve polypropilene'den yapılmış tüpler ve mikropleytlerin daha uygun olduğu belirtilmektedir. ELISA'da enzim olarak beta galaktozidaz, glukozoksidaz, peroksidaz ve alkalın fosfotaz kullanılmaktadır. Enzimlerin katabolik etkileri enzim substrasyon reaksiyonu esnasında immunolojik reaksiyonun hem hızlanmasını, hem özgüllüğünü sağlamaktadır. Enzim substrat reaksiyonu genellikle 30-60 dakika içinde tamamlanır. Reaksiyon NaOH veya H₂SO₄ ile durdurulabilir ve sonuçlar, kullanılan kojugatın özelliğine göre 400-600 nm de okunur. Biz deneyimizde ölçebileceği en düşük düzey 4pg/mL olan e-bioscience marka human IL-17A ELISA kiti kullandık ve her örneği kitin içerisinde belirtildiği gibi çift sıra kullandık. Test prosedürü aşağıda belirtildiği gibidir.

Test prosedürü

1. Standart örneklerden kuyucuklara 100 µl eklendi.
2. Hasta serumlarından kuyucuklara 100 µl eklendi.
3. 2 saat oda ısısında inkübasyon yapıldı.
4. Kuyucuklar aspire edilir ve 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı.
5. 100 µl biotin + anti- IL-17 detection antikoru konur ve oda ısısında 1 saat inkübasyon yapıldı.
6. Kuyucuklar aspire edilir ve 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı.
7. 100 µl streptavidin-HRP enzimi ilave edilir ve oda ısısında yarım saat inkübasyon yapıldı.
8. Kuyucuklar aspire edilir ve 7 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı.

9. 100 µl substrat solusyonu eklenir. 15 dak. Oda ısısında bekletildi..
10. 50 µl enzimatik reaksiyonu durduran solüsyon eklendi. Sıvı rengi maviden sarıya dönmesi beklendi.
11. 450 nm’ de 2 saat içinde UV spektrometrede okuma yapıldı.

3.5. Hücre İçi Sitokin Boyama Yöntemi

Behcet hastaları ve sağlıklı kontrol grubundan Sodyum-heparin içeren tüplere 10mL venöz kan alındı ve dansite gradientine göre periferik kan mononükleer hücreleri ayrıştırıldı ve hücre sayısı 1×10^6 olacak şekilde ayarlandı. Hücre içi sitokin boyama yöntemi için iki zamanlı çalışıldı. İlk zaman ayarı uyarım olamadan hücre sayısı ayarlandıktan hemen sonra yapılırken diğer zaman ayarında 1×10^6 ye ayarlanan hücreler 4 tüpe 1mL olacak şekilde paylaştırıldı. Bu tüplerdeki hücelere sırasıyla S.sangius, E.coli, PHA ve medium eklenerek 36.saat 37c de %5 CO2 etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresine 4 saat kala bu tüplere 5µl BrefeldinA eklenerek inkübasyona devam edildi. Hücre içi sitokin boyama yöntemi aşağıda belirttiğim şekilde uygulanarak Behcet hastaları ve sağlıklı kontrol grubundan alınan kanlardan ayrılan periferik kan mononükleer hücrelerinin ürettiği IL-17 sitokininin sayısı belirlendi.

1- 1×10^6 hücre sayısı ayarlanmış olan priferal kan mononükleer hücreler PBS ile 2 kez yıkandı.

2-Flow tüpleri üzerlerine CD4+izotip kontrol ve CD4+ IL-17 yazılarak her hasta için ayrı ve bunların farklı uyarım isimleride tüplere yazıldı.

3- 1×10^6 hücre 100µl olacak şekilde bu tüplere konuldu.

4-Bu tüplerin üzerine 10µl CD4 antikoru kunularak hafif pipetaj yapıldı. Tüplerin üzeri alimünyum folyo ile sarılarak +4c buzdolabında 20 dakika bekletildi.

5-Bu tüplerin üzerine 1mL PBS eklenip karıştırıldı ve 2500 de 7 dakika santrifüj edildi.

6-Tüplerin süpernatantları dökülüp dipte kalan pellet görüldükten sonra her tüpün üzerine 500µl fixation solusyonu eklenip karıştırıldı. Oda ısısında 15 dakika bekletildikten sonra 2500 de 7 dakika santrifüj edildi.

7-Tüplerin üzeri döküldü ve 1mL wash buffer eklenip karıştırıldı 2500 de 7 dakika santrifüj edildi.

8-Sadece CD4+ bağlı hale gelen hücrelerin içinin IL-17 ve izotip kontrol ile boyanacak hale getirebilmek için permeabilizasyon solusyonundan 500µl her tüpe eklenerek folyo ile kaplayıp +4c dolapta 20 dakika bekletildi. 2000 rpm.de 10 dk. santrifüj edildi. Süpernatantlar döküldü..

9-100 µl 1X "BD Perm Wash Buffer" eklendi. Sekonder antikorlar olan IL-17 ve bu antikora uyumlu izotip kontrolü olan IgG1 antikorlarından uygun olan tüplere 10µl konuldu ve +4 derecede 30 dk. folyolu şekilde inkübe edildi.

10-Karanlıkta ve oda ısısında 30 dk inkübasyona bırakıldı. 2 ml ‘wash buffer’ eklenerek hafifçe karıştırıldı. 600 g’de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant döküldükten sonra 500 µl %1 ‘lik ‘paraformaldehit’ solusyonu ile pellet resuspende edilerek 4°C ‘de bekletildi. Örnekler 24 saat içinde FACSCanto aracılığıyla incelenip kaydedildikten sonra analiz edildi.

3.6. Kullanılan laboratuvar malzemeleri

1- Cihazlar:

- Heraeus Instruments Etüv
- +4 ºC Buzdolabı
- 80 ºC Buzdolabı
- -20C° Buzdolabı
- Thermo Labsystems Multiscan spectrum
- Nüve NF 800 santrifüj
- Heraeus Instroumens steril kabin
- İmmuno scan elispot cihazı
- Heraeus Instroumens steril kabin
- Beckman Culture FACSCanto

2- Malzemeler:

- 1000 mikrolitrelik otomatik pipet
- 200 mikrolitrelik otomatik pipet
- 10 mikrolitrelik otomatik pipet
- Sarı pipet ucu (1-100 mikrolitre) 2 paket
- Mavi pipet ucu (100-1000 mikrolitre) 2 paket
- Çok kanallı otomatik pipet
- 500 ml mezür
- 15 mililitrelik konik tüp
- Steril kapaklı 15 mililitrelik tüp
- 1,5 mililitrelik ependorf tüpleri
- Human IL-17 ELISA kit (e-bioscience)
- Human IL-17 ELISPOT kit (e-bioscience)
- Human IL-17A -PE antikoru

3.7. İstatistik

İstatistik analizler SPSS hazır istatistik paket programı (SPSS 15.0 for Windows) kullanılarak gerçekleştirildi. 3 grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis Test analizi testi, ikili grup karşılaştırmalarında Bonferonni düzeltmeli Mann Whitney U testi yapıldı. 0,05'den küçük "p" değeri anlamlı kabul edildi. Metin içerisinde, çizelge ve şekillerdeki değerler ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) olarak verildi.

BULGULAR

4.1.ELISA

Çalışmaya 45 Behcet hastası (24 kadın, 21 erkek, yaş ortalamaları 40). Bunların 22 si inaktif (10 kadın, 12 erkek, yaş ortalamaları 41.) 23 ü ise (14 kadın, 9 erkek, yaş ortalamaları 39) aktif dönemdeki hastalardır. Tutulan bölgeler açısından ise; 8 aktif göz tutulumu (5 kadın, 3 erkek, yaş ortalamaları 42) olan, 10 (1 kadın, 9 erkek, yaş ortalamaları 39) inaktif göz tutulumlu, 27 hasta (18 kadın, 9 erkek, yaş ortalamaları 39) ise sistemik tutulumlu (deri, mukoza, oral, genital, eklem, vasküler, pulmoner, tromboz ve gastro tutulumu) bulunmaktadır. Kontrol amaçlı 21±52 yaş grubu 33 sağlıklı birey (17 kadın, 16 erkek, yaş ortalamaları 36), dahil edilmiştir. Behcet hastalarının yaş, tanı ve serum IL-17 düzeyleri çizelge 4.1.1 de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1. Behcet hastalarının yaş, tanı serum IL-17 düzeyleri

hastalar	yaş	tanı	IL-17 pg/mL
FT	32	OÜ	11,3pg/mL
DY	33	OÜ,GÜ,EN	10,5pg/mL
ŞA	52	OÜ,GÜB51(+)	8,1pg/mL
ZT	39	OÜ,GÜ,GÖZ-TED.ALIYOR.	8,4pg/mL
FK	36	OÜ,GÜ,GÖZ,EKLEM,PPLPATERJİ+	9,06pg/mL
DA	35	OÜ,GÜ,GÖZ,EKLEM,EN	9,2pg/mL
MÇ	33	OÜ,E.N	8,9pg/mL
MK	38	OÜ,GÜ,GÖZ	8,1pg/mL
DY	46	OÜ,GÜ,PPL,ARTRİT,PPL	10,5pg/mL
ŞK	38	OÜ,GÜ,EKLEM,PPL	11,4pg/mL
NE	48	OÜ,GÜ	11,03pg/mL
ZT	39	ÜVEİT,EKLEM,GASTRO,	13,4pg/mL
MG	42	ÜVEİT,GÜ,OÜ	15,7pg/mL
FÇ	48	OÜ,GÜ	10,4pg/mL
SK	46	OÜ,GÜ	10,07pg/mL
OŞ	46	OÜ,GÜ,ÜVEİT,EKLEM,TROMBOZ	11,9pg/mL
MA	45	OÜ,GÜ,EN,TROMBOZ	11,6pg/mL
YB	38	OÜ,GÜ,EKLEM,EN,TROMBOZ	10,2pg/mL
ME	39	ORAL ÜLSER,GENİTAL ÜLSER,ÜVEİT,EN	12,7pg/mL
DY	45	OÜ,GÜ,GÖZ,E.N,PPL,TROMBOZ	8,9pg/mL
KY	38	OÜ,GÜ,GÖZ,E.N,PPL,TROMBOZ	9pg/mL
AK	57	ÜVEİT,EKLEM,GASTRO	16pg/mL
NG	38	DERİ,OÜ,GÜ,EKLEM,VASKÜLER,PULMONER,TROMBZ	30pg/mL
FA	42	DERİ,MUKOZA,ÜVEİT,EKLEM-KOLSİŞİNKUL.	26pg/mL
EK	57	AKTİFLEZYON YOK-KOLSİŞİN KULLANIYOR-İNAKTİF	19pg/mL
EK	17	AKTİFLEZYON YOK	15,6pg/mL
SK	30	AKTİF ORAL ÜLSER.TEDAVİ ALIYOR.	31,6pg/mL
KT	32	OÜ,GÜ,EKLEM,PPL	12,4pg/mL
MU	25	OÜ,GÜ,ARTRİT,PPLB5+	39,6pg/mL
BB	49	OÜ,GÜ,EKLEM,PPL,PATERJİ	26,8pg/mL

İE	43	OÜ,GÜ,ÜVEİT	43,2pg/mL
FY	38	OÜ,GÜ,GÖZ,EKLEM	22,4pg/mL
MK	45	OÜ,GÜ,ARTRİT,PPLB5+	32,8pg/mL
RB	43	OÜ,GÜ,EKLEM,PATERJİ	42pg/mL
RB	30	ÜVEİT,OÜ,GÜ,EKLEN,EN,PPL	30pg/mL
EN	54	OÜ,GÜ,GÖZ,EN,PPL	30,4pg/mL
AK	40	OÜ,GÜ,GÖZ,E.N,PPL,PATERJİ	20,4pg/mL
HÖ	40	OÜ,GÜ,ARTRİT,PPLB5+	20,4pg/mL
LÖ	26	ÜVEİT,GÜ,GÖZ,EKLEM,PPL	66,8pg/mL
MD	45	OÜ,GÜ,EN,PATERJİ	47,2pg/mL
NA	47	OÜ,GÜ,EKLEM,PPL,B51+	32,4pg/mL
SK	32	OÜ,GÜ,EKLEM,PPL	21,6pg/mL
ŞA	52	OÜ,GÜ,PPL,B51+	20,4pg/mL
EB	20	OÜ,GÜ,PPL	23,2pg/mL
RA	32	OÜ,GÜ,EKLEM,E.N	16,4pg/mL

Kontrol amaçlı çalışılan sağlıklı bireylerin yaş ve serum IL-17 düzeyleri çizelge 4.1.2. de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1.2 Kontrol amaçlı çalışılan sağlıklı bireylerin yaş ve serum IL-17 düzeyleri

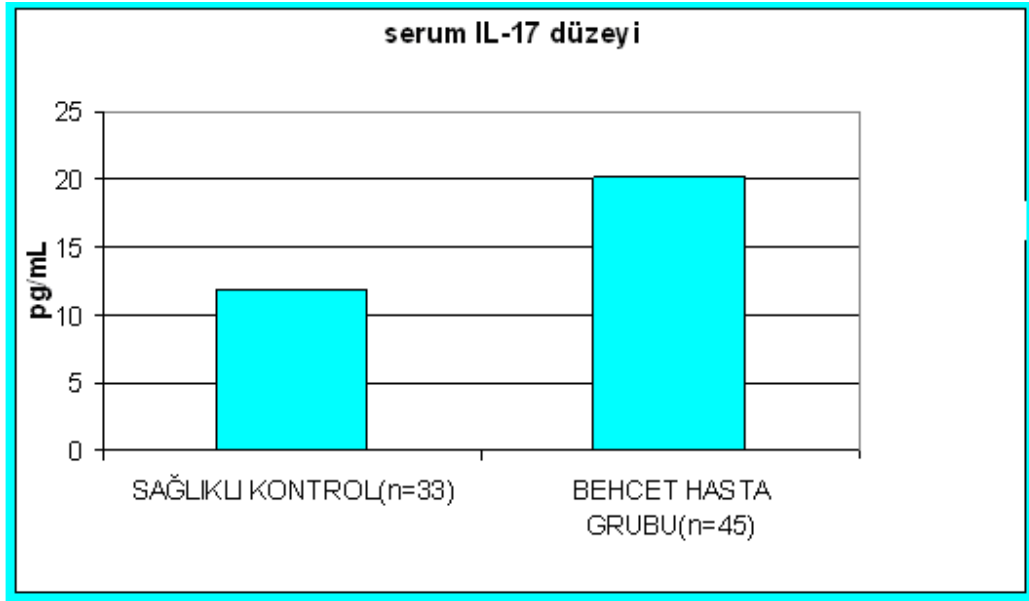
SAĞLIKLI BİREYLER	YAŞ	IL-17 pg/mL
MÖ	42	9,6pg/mL
MA	25	11,4pg/mL
İG	26	9,2pg/mL
CG	32	11,9pg/mL
GG	33	11,8pg/mL
HE	36	11,03pg/mL
OÖ	45	10,2pg/mL
BS	38	16,1pg/mL
SS	36	16,3pg/mL
ET	22	15,8pg/mL
SE	34	13,9pg/mL
HB	35	17,8pg/mL
HS	45	10,7pg/mL
ÜK	45	11,9pg/mL
AÇ	26	16,9pg/mL
AÖ	51	14,8pg/mL
MG	50	14,2pg/mL
BM	32	10,08pg/mL
DE	34	12,4pg/mL
SE	36	8,4pg/mL
ME	38	10pg/mL
AK	39	10,8pg/mL
SU	35	12,8pg/mL
SS	32	4,8pg/mL
TA	36	13,2pg/mL
GS	34	12pg/mL
YG	30	14,8pg/mL
SK	22	4,8pg/mL
SA	52	6pg/mL
DA	50	6pg/mL
OA	21	12pg/mL
AT	32	13,2pg/mL
MY	33	15,2pg/mL

Hastaların ve sağlıklı kontrollerin ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) IL-17 verileri çizelge 4.1.3’ te gösterilmiştir.

Çizelge 4.1.3 Sağlıklı bireylerin ve hastaların ortalama, SD, min-max IL-17 değerleri

	IL-17 DÜZEYİ			
	Ortalama	SD	Min.	Max.
Behcet n : 45	20,16	12,85	8,10	66,8
Sağlıklı kontrol n :33	11,82	3,36	4,8	17,8

Sağlıklı bireylerin serum IL-17 düzeyi ortalaması 11,8 pg/ml, standart sapması 3,36, minimum değeri 4,8 pg/ml, maximum değeri 17,8 pg/ml' dir. Behcet hastalarının serum IL-17 düzeyi ortalaması 20,16 pg/ml, standart sapması 3,36, minimum değeri 8,10 pg/ml, maximum değeri 66,8 pg/ml 'dir. Behcet hastalarının IL-17 serum düzeyi sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Bu veriler aşağıda verilen şekil 4.1.1 de gösterilmiştir.



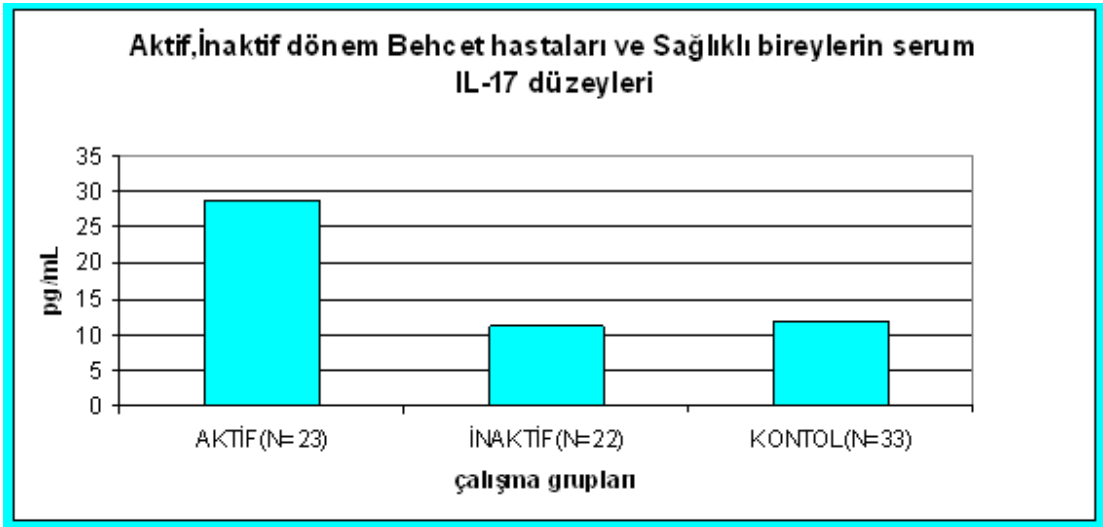
Şekil 4.1.1. BH ve sağlıklı kontrollerin serum IL-17 düzeyi.

Aktif dönemdeki Behcet hastalarının ve inaktif dönemdeki Behcet hastalarının, Sağlıklı bireylerin ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) IL-17 verileri çizelge 4.1.4' te gösterilmiştir.

Çizelge 4.1.4. Aktif ve inaktif dönemdeki BH ortalama, SD, min-max IL-17 değerleri.

	IL-17 DÜZEYİ			
	Ortalama	SD	Min.	Max.
Behcet (inaktif) n : 22	11,18	2,74	8,10	19,00
Behcet (aktif) n:23	28,73	12,8	9,00	66,8
Sağlıklı kontrol n :33	11,82	3,36	4,8	17,8

Aktif dönemdeki Behcet hastalarının serum IL-17 düzeyi ortalaması 28,73 pg/ml, standart sapması 12,8, minimum değeri 9 pg/ml, maximum değeri 66,8 pg/ml' dir. İnaktif dönemdeki Behcet hastalarının serum IL-17 düzeyi ortalaması 11,18 pg/ml, standart sapması 2,74, minimum değeri 8,10 pg/ml, maximum değeri 19 pg/ml 'dir. Sağlıklı bireylerin serum IL-17 düzeyi ortalaması 11,8 pg/ml, standart sapması 3,36, minimum değeri 4,8 pg/ml, maximum değeri 17,8 pg/ml' dir. Aktif dönemli Behcet hastalarının IL-17 serum düzeyi; inaktif dönemdeki Behcet hastalarına ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Bu veriler şekil 4.1.2. de gösterilmiştir.



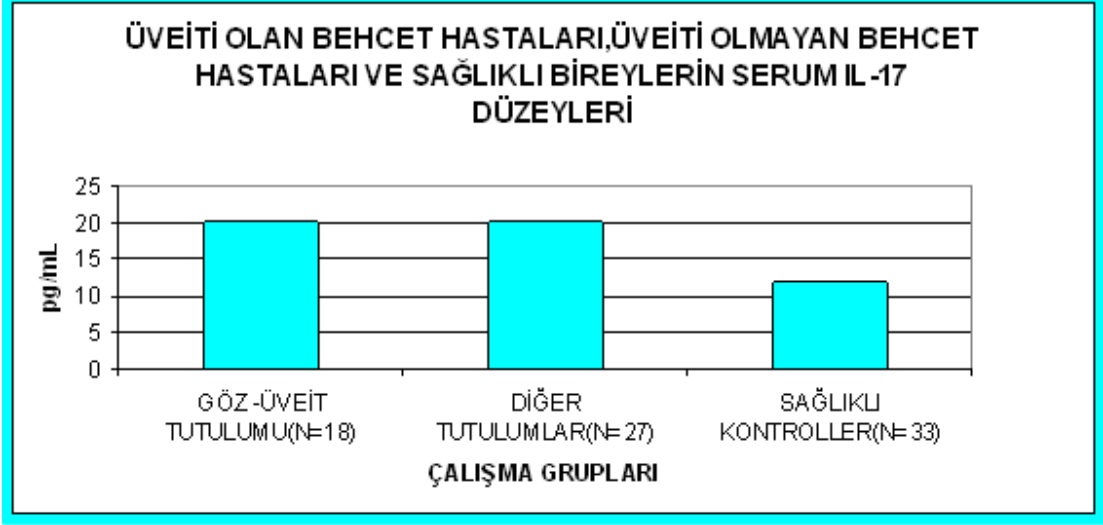
Şekil 4.1.2. Aktif ve inaktif dönem BH, Sağlıklı kontrollerin IL-17 serum düzeyleri.

Üveiti olan Behcet hastalarının ve Üveiti olmayan Behcet hastalarının, Sağlıklı bireylerin ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) IL-17 verileri çizelge 4.1.5’ te gösterilmiştir.

Çizelge 4.1.5. Üveiti olan ve üveiti olmayan BH, sağlıklı bireylerin ortalama, SD, min-max IL-17 değerleri

	IL-17 DÜZEYİ			
	Ortalama	SD	Min.	Max.
Behcet (üveiti olanlar) n : 18	24,35	2,74	8,10	66,8
Behcet (üveiti olmayanlar) n:27	20,97	12,8	9,00	27,94
Sağlıklı kontrol n :33	11,82	3,36	4,8	17,8

Üveiti olan Behcet hastalarının IL-17 serum düzeyi ortalaması 20,2 pg/ml, standart sapması 2,74 minimum değeri 8,10 pg/ml, maximum değeri 66,8 pg/ml’ dir. Üveiti olmayan Behcet hastalarının IL-17 serum düzeyi ortalaması 20,1 pg/ml, standart sapması 12,8, minimum değeri 9 pg/ml, maximum değeri 27,94 pg/ml’ dir. Sağlıklı bireylerin serum IL-17 düzeyi ortalaması 11,8 pg/ml, standart sapması 3,36, minimum değeri 4,8 pg/ml, maximum değeri 17,8 pg/ml’ dir. Üveiti olan Behcet hastalarının serum IL-17 düzeyi üveiti olmayan hasta grubundan ve sağlıklı kontrollerden istatistiksel olarak farklı bulunmadı ($p>0.05$). Şekil 4.1.3. de bu veriler gösterilmiştir.



Şekil 4.1.3. Üveiti olan ve üveiti olmayan BH, Sağlıklı kontrollerin IL-17 serum düzeyleri.

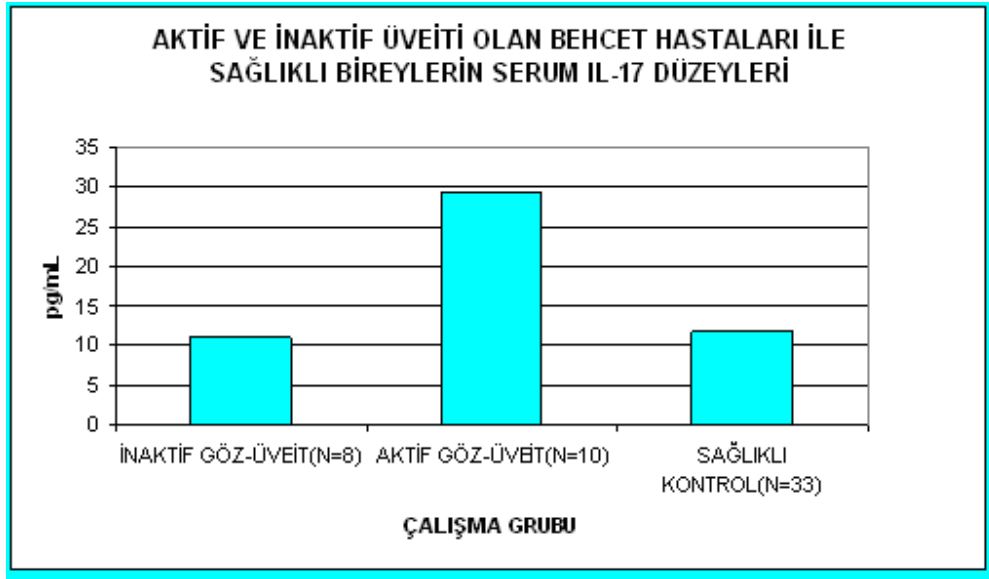
Aktif üveiti ve inaktif üveiti olan Behcet hastalarının, Sağlıklı bireylerin ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) IL-17 verileri çizelge 4.1.6. da gösterilmiştir.

Çizelge 4.1.6. Aktif ve inaktif üveiti olan BH, Sağlıklı kontrollerin ortalama, SD, min-max IL-17 değerleri

	IL-17 DÜZEYİ			
	Ortalama	SD	Min.	Max.
Behcet (aktif üveiti olanlar) n : 8	29,8	18,18	9,00	66,8
Behcet (inaktif üveiti olanlar) n:10	11,3	2,95	8,10	15,70
Sağlıklı kontrol n :33	11,82	3,36	4,8	17,8

Aktif dönemdeki üveiti olan Behcet hastalarının serum IL-17 düzeyi ortalaması 29,8 pg/ml, standart sapması 18,18, minimum değeri 9 pg/ml, maximum değeri 66,8 pg/ml' dir. İnaktif dönemdeki Behcet hastalarının serum IL-17 düzeyi ortalaması 11,3 pg/ml,

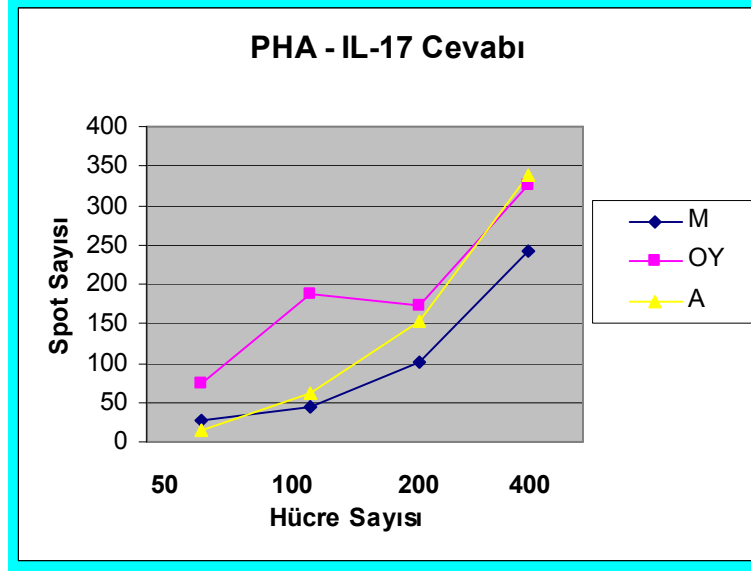
standart sapması 2,95, minimum değeri 8,10 pg/ml, maximum değeri 15,70 pg/ml 'dir. .Sağlıklı bireylerin serum IL-17 düzeyi ortalaması 11,8 pg/ml, standart sapması 3,36, minimum değeri 4,8 pg/ml, maximum değeri 17,8 pg/ml' dir.Aktif dönemli üveiti olan Behcet hastalarının IL-17 serum düzeyi; inaktif dönemdeki üveiti olan Behcet hastalarına ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu.($p<0.05$)Bu veriler şekil 4.1.4.te gösterilmiştir.



Şekil 4.1.4.Aktif ve inaktif üveiti olan BH, Sağlıklı kontrollerin IL-17 serum düzeyleri.

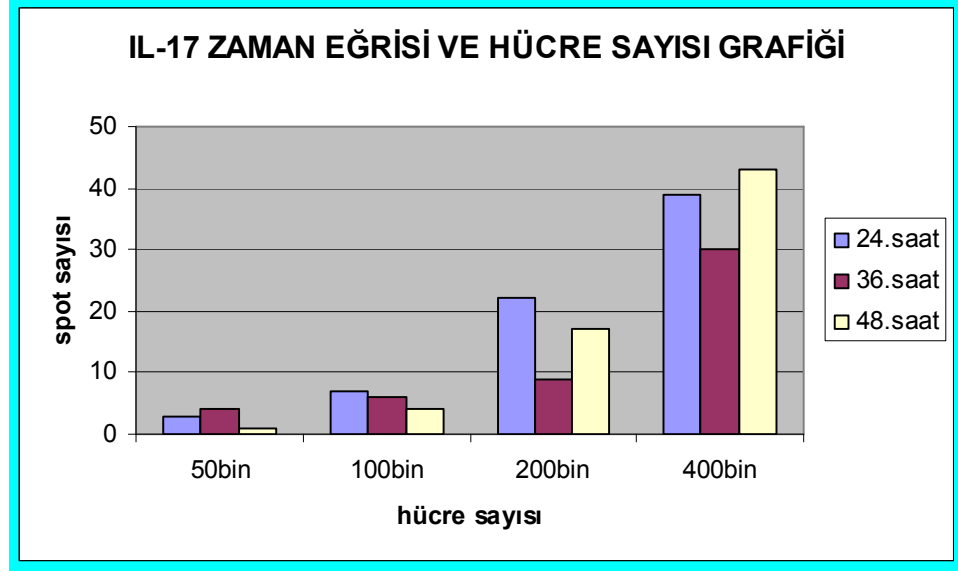
4.2.ELISPOT

ELISPOT için dansite gradienti ile ayrılan mononükleer hücreler comple medium RPMI 1640 içinde ELISPOT deneyimize en uygun hücre sayılarını ve inkübasyon süresini belirlemek için optimize edildi; uygun hücre sayısı ve inkübasyon süresi şekilde grafiklerde belirtildiği şekilde ayarlandı ve bundan sonraki deneylerimizde hep aynı hücre sayısı ve inkübasyon süresi kullanıldı. Optimal hücre sayısı şekil 4.2.1. de optimal inkübasyon süresi şekil 4.2.2. de gösterilmiştir.



Şekil 4.2.1. IL-17 ELISPOT için optimal hücre sayısı.

Bu sonuçlara göre optimum hücre sayısı 2×10^5 /kuyucuk olarak belirlendi.



Şekil 4.2.2. IL-17 ELISPOT optimal inkübasyon süresi.

Bu sonuçlara göre optimum hücre sayısı 2×10^5 /kuyucuk ve optimum deney zamanı, artan süreyle birlikte kontamine olma olasılığının da artacağı düşüncesiyle, 36 saat/zaman olarak belirlendi.

UYARANLAR

Med :Negatif kontrol
PHA :pozitif kontrol
Streptococcus sangius :Gr + bakteri
E.Coli :Gr- bakteri

Çalışmaya 33 Behçet hastası (19 kadın, 14 erkek, yaş ortalamaları 40), Behçet hastalarının 15 hasta (10 kadın, 5 erkek, yaş ortalamaları 39) aktif dönemli, 18 hasta (9 kadın, 9 erkek ,yaş ortalaması 41) inaktif dönemli alınmıştır. 8 aktif göz tutulumu (5 kadın, 3 erkek, yaş ortalamaları 42) olan, 4 (4 erkek, yaş ortalamaları 39) inaktif göz tutulumlu, 21 hasta (10 kadın, 11 erkek, yaş ortalamaları 39) ise sistemik tutulumlu (deri, mukoza, oral, genital, eklem, vasküler, pulmoner, tromboz ve gastro tutulumu) bulunmaktadır. 25 Psöriasis hastası (17 kadın, 8 erkek, yaş ortalamaları 43) ve kontrol amaçlı 25 sağlıklı birey (14 kadın, 11 erkek, yaş ortalamaları36), dahil edilmiştir. Behçet hastalarının, Psöriasis hastalarının ve sağlıklı bireylerin periferik kan mononükleer hücrelerinin medium, Streptococcus sangius, Echericha coli ve Phytohemaglutinin ile uyarımları sonucu ürettikleri spot sayıları çizelge 4.2.1., 4.2.2. ve 4.2.3 de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1. Sağlıklı bireylerin yaş, medium, S.sangius, E.coli ve PHA ya karşı IL-17 spot sayısı

Sağlıklı Bireyler	Yaş	Med	Streptococcus sangius	Echericha.coli	PHA
BK	37	1	28	39	112
GM	38	1	12	14	117
TD	27	1	15	77	211
NS	29	1	11	12	72
MS	34	1	15	43	210
NS	35	1	39	130	253
GY	42	2	89	58	113
BM	34	1	120	98	125
VH	23	1	126	124	207
AG	23	1	199	175	198
OE	45	1	113	212	202
ÖB	34	1	81	52	47
MC	40	1	111	98	109
MU	46	1	85	91	73
DB	29	1	204	208	208
HA	24	1	221	244	202
YK	42	1	183	182	194
ŞY	32	1	173	178	172
HŞ	43	1	40	86	171
ME	23	1	33	19	13
OA	23	1	80	75	26
UÇ	32	1	21	35	39
SE	45	1	75	64	77
GS	45	1	25	42	15

Çizelge 4.2.2. Behcet hastalarının yaşları, S.sangius, E.coli ve PHA ya karşı IL-17 spot sayısı

Behcet Hastaları	Yaş	MED	Sangius	E.Coli	PHA
DY	46	1	120	131	213
ŞK	38	1	254	277	264
NE	48	1	162	172	142
ŞA	39	1	127	145	171
ZT	42	1	35	102	98
FY	48	1	37	128	102
NŞ	46	2	72	175	198
MÇ	46	1	39	142	243
NG	45	1	41	90	222
EÖ	38	1	13	23	203
OŞ	39	1	74	81	134
MA	45	1	141	112	132
YB	38	1	111	136	143
ME	57	1	122	151	165
MG	38	1	236	215	218
FÇ	42	1	258	234	247
AK	57	1	186	201	177
KY	17	1	189	196	168
NG	30	1	210	217	183
FA	32	1	189	203	194
EK	25	2	209	210	210
EK	49	1	190	190	192
SK	43	1	179	183	182
KT	38	1	175	169	172
MU	46	3	257	257	257
BB	38	1	175	212	200
İE	48	1	245	224	254
FY	39	1	257	242	223
MK	42	1	180	166	170
RB	52	1	160	195	189
RB	54	1	185	178	186
EN	34	1	130	123	145
AK	34	1	218	219	219

Çizelge 4.2.3.Psöriasis hastalarının yaşları, S.sangius, E.coli ve PHA ya karşı IL-17 spot sayısı

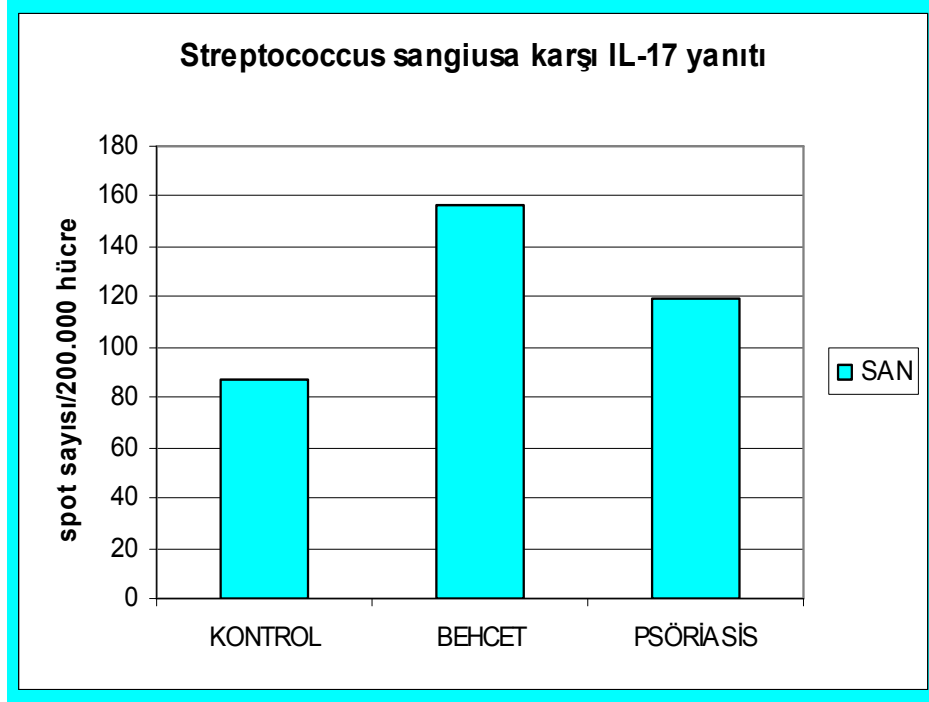
Psöriasis Hastaları	yaş	MED	Sangius	E.Coli	PHA
MK	26	1	74	48	134
AH	32	3	48	89	69
MÖ	33	1	88	75	135
HU	36	1	72	76	121
AB	45	1	141	75	79
NY	38	1	38	73	136
SK	36	2	74	86	122
FT	22	2	44	148	250
BK	34	1	67	170	217
MG	35	2	102	164	149
SA	45	1	210	249	299
ŞV	45	2	37	66	111
SK	26	2	74	86	122
NY	49	1	38	73	136
AB	43	1	141	75	79
HK	38	1	72	76	121
MÖ	46	1	88	75	135
SK	38	1	235	224	220
Aİ	48	1	218	210	204
HT	39	1	237	225	223
NA	42	1	212	202	205
CE	52	1	131	115	145
SÖ	54	1	217	203	168
SG	34	1	197	199	166
ARY	34	1	115	107	100

Streptococcus sangius gram (+) bakteri türüne karşı Behcet hastalarının, Psöriasis hastalarının ve sağlıklı bireylerin IL-17 üretimlerinin ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) verileri çizelge 4.2.4. de verilmiştir.

Çizelge 4.2.4. Streptococcus sangiusa karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtlarının ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) verileri.

	Streptococcus sangius'a karşı IL-17 spot sayısı				P değeri
	Ortalama	SD	Min.	Max.	
Behcet hastaları (n=33)	157	72.3	13	258	0.01
Psöriasis hastaları (n:24)	119	70.00	37	237	0.101
Sağlıklı kontroller (n=25)	87	68.00	11	221	

Streptococcus sangius'a karşı Behcet hastalarının ürettiği IL-17 spot sayısı ortalaması 157, standart sapması 72.3, minimum değeri 13, maximum değeri 258 dir. Psöriasis hastalarının ürettiği IL-17 spot sayısı ortalaması 119, standart sapması 70, minimum değeri 37, maximum değeri 237 dir. Sağlıklı kontrollerin ürettiği IL-17 spot sayısı ortalaması 87, standart sapması 68, minimum değeri 11, maximum değeri 221 dir. Streptococcus sangius'a karşı Behcet hastalarının IL-17 yanıtı sağlıklı kontrollere anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Psöriasis hastalarının Streptococcus sangius'a karşı IL-17 cevapları sağlıklı kontrollerden yüksekti ancak aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Streptococcus sangius'a karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtı şekil 4.2.3. de verilmiştir.



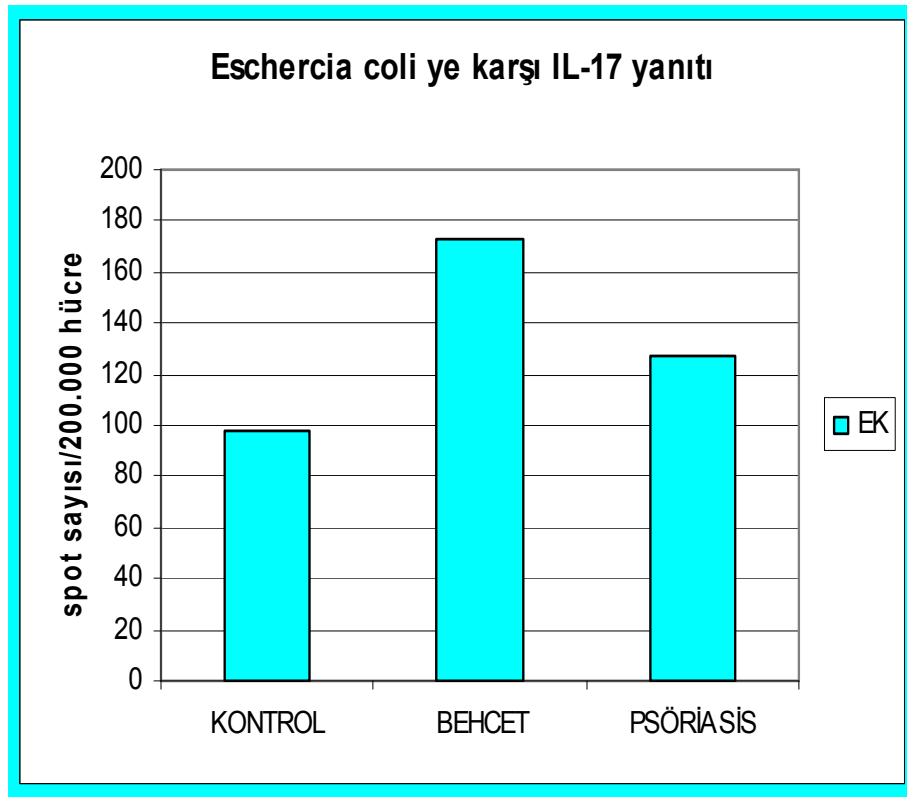
Şekil 4.2.3. Streptococcus sanguis'a karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtları

Echerchia coli gram (-) bakteri türüne karşı Behcet hastalarının, Psöriasis hastalarının ve sağlıklı bireylerin IL-17 üretimlerinin ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) verileri aşağıdaki çizelge 4.2.5. de verilmiştir.

Çizelge 4.2.5. Escherichia coli 'ye karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtlarının ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) verileri.

	Escherichia coli'ye karşı IL-17 spot sayısı			
	Ortalama	SD	Min.	Max.
Behcet hastaları (n=33)	173	55.1	23	277
Psöriasis hastaları (n:24)	128	64.00	48	249
Sağlıklı kontroller (n=25)	98	68.47	12	244

Escherichia coli'ye karşı Behcet hastalarının ürettiği IL-17 spot sayısı ortalaması 173, standart sapması 55.1, minimum değeri 23, maximum değeri 277 dir. Psöriasis hastalarının ürettiği IL-17 spot sayısı ortalaması 128, standart sapması 64, minimum değeri 48, maximum değeri 249 dir. Sağlıklı kontrollerin ürettiği IL-17 spot sayısı ortalaması 98, standart sapması 68.47, minimum değeri 12, maximum değeri 244 dir. Escherichia coli'ye karşı Behcet hastalarının IL-17 yanıtı sağlıklı kontrollere anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p < 0.05$). Psöriasis hastalarının Escherichia coli'ye karşı IL-17 cevapları sağlıklı kontrollerden yüksekti ancak aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$). Escherichia coli 'ye karşı BH, Psöriasis hastaları ve Sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtı Şekil 4.2.4. de verilmiştir.



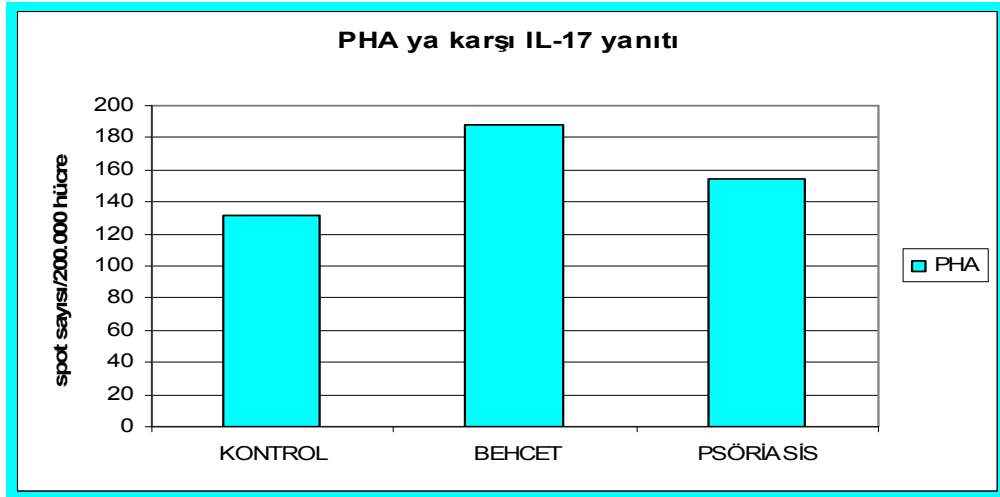
Şekil 4.2.4. Escherichia coli'ye karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtları

PHA ya karşı Behcet hastalarının,Psöriasis hastalarının ve sağlıklı bireylerin IL-17 üretimlerinin ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) verileri çizelge 4.2.6. de verilmiştir.

Çizelge 4.2.6. PHA' ya karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtlarının ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) verileri.

	Phytohemaglutinin 'a karşı IL-17 spot sayısı			
	Ortalama	SD	Min.	Max.
Behcet hastaları (n=33)	188	42.1	98	264
Psöriasis hastaları (n:24)	154	57.04	69	299
Sağlıklı kontroller (n=25)	132	74.04	13	253

Phytohemaglutinin 'e karşı Behcet hastalarının ürettiği IL-17 spot sayısı ortalaması 188, standart sapması 42.1, minimum değeri 98, maximum değeri 264 dir. Psöriasis hastalarının ürettiği IL-17 spot sayısı ortalaması 154, standart sapması 57.04, minimum değeri 69, maximum değeri 299 dir. Sağlıklı kontrollerin ürettiği IL-17 spot sayısı ortalaması 132, standart sapması 74.04, minimum değeri 13, maximum değeri 253 dir. Phytohemaglutinin 'e karşı Behcet hastalarının IL-17 yanıtı sağlıklı kontrollere anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Psöriasis hastalarının Phytohemaglutinin 'e karşı IL-17 cevapları sağlıklı kontrollerden yüksekti ancak aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Phytohemaglutinin'e karşı BH, Psöriasis hastaları ve Sağlıklı bireylerin IL-17 yanıtı Şekil 4.2.5. de verilmiştir.



Şekil 4.2.5. Phytohemaglutinin 'e karşı BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı kontrollerin IL-17 yanıtları

4.3. Hücre İçi Sitokin Boyama

Çalışmaya 9 Behcet hastası (5 kadın, 4 erkek, yaş ortalamaları 40), Behcet hastalarının hepsi aktif dönemde bulunmaktadır.4 hasta üveit tutulumu(3 kadın, 1 erkek, yaş ortalamaları 42) olan,5 hasta(2 kadın, 3 erkek, yaş ortalamaları 39) ise sistemik tutlumlu(deri,mukoza,oral,genital,eklem,vasküler,pulmoner,tromboz ve gastro tutulumu) bulunmaktadır. Kontrol amaçlı 9 sağlıklı birey (5 kadın, 4 erkek, yaş ortalamaları 41), dahil edilmiştir. Çalışma grupları çizelge 4.3.1 ve çizelge 4.3.2 de verilmiştir.

Çizelge 4.3.1.Behcet hastalarının yaşı ve tanıları

Behcet Hastaları (n=9)	yaş	Tanı			
MU	46	ORAL ÜLSER,GENİTAL ÜLSER,ARTRİT,PPLB5+			AKTİF
BB	38	OÜ,GÜ,EKLEM,PPL,PATERJİ			AKTİF
İE	48	OÜ,GÜ,ÜVEİT			AKTİF
FY	39	OÜ,GÜ, ÜVEİT ,EKLEM			AKTİF
MK	42	ORAL ÜLSER,GENİTAL ÜLSER,ARTRİT,PPLB5+			AKTİF
RB	52	OÜ,GÜ,EKLEM,PATERJİ			AKTİF
RB	54	ÜVEİT,OÜ,GÜ,EKLEM,EN,PPL			AKTİF
EN	34	OÜ,GÜ, ÜVEİT,EN,PPL			AKTİF
AK	34	OÜ,GÜ, ÜVEİT,E.N,PPL,PATERJİ			AKTİF

Çizelge 4.3.2.Sağlıklı kontrollerin yaşları

Sağlıklı kontroller(n=9)	yaş
TA	42
GS	41
YG	38
SK	45
SA	37
DA	43
OA	40
AT	43
MY	40

Behcet hastalarının ve sağlıklı bireylerin periferik kan mononükleer hücrelerinin Streptococcus sanguis,Echericha coli ve PHA ile uyarımdan sonra hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 yüzdesi ile ilgili ortalama,SD,min ve max ,p değerleri çizelge 4.3.3,4.3.4 ve 4.3.5 de verilmiştir.

Çizelge 4.3.3. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Streptococcus sangius ile uyarımdan sonra hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max, p değerleri

	Streptococcus sangius ile uyarımdan sonra hücre içi sitokin pozitif olan pbmc toplam IL-17 yüzdesi %				P değeri
	Ortalama	SD	Min.	Max.	
Behcet hastaları n : 9	2.14	2.57	0.4	7.6	0.75
Sağlıklı kontroller n:9	1.04	0.38	0.4	1.3	

Streptococcus sangius ile uyarımdan sonra Behcet hastalarının periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 ortalamaları %2.14, standart sapması 2.57, minimum değeri %0.4, maximum değeri %7.6'dır. Sağlıklı kontrollerde ise bu değerler IL-17 ortalama %1.04, standart sapması 0.38, minimum değeri %0.4, maximum değeri %1.3'dür. Behcet hastalarının Streptococcus sangiusa karşı periferal kan mononükleer hücrelerinin ürettiği toplam IL-17 yüzdesi sağlıklı kontrollerden yüksekti, ancak aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Çizelge 4.3.4. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Escherichia coli ile uyarımdan sonra hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max, p değerleri

	Escherichia coli'ye karşı üretilen pbmc toplam IL-17 yüzdesi %				P değeri
	Ortalama	SD	Min.	Max.	
Behcet hastaları n : 9	4.01	2.88	0.5	8.7	0.004
Sağlıklı kontroller n:9	1.37	0.31	1.2	2.2	

Escherichia coli ile uyarımdan sonra Behcet hastalarının periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 ortalamaları %4.01, standart sapması 2.88, minimum değeri %0.5, maximum değeri %8.7'dir. Sağlıklı kontrollerde ise bu değerler IL-17 ortalama %1.37, standart sapması 0.31, minimum değeri %1.2,

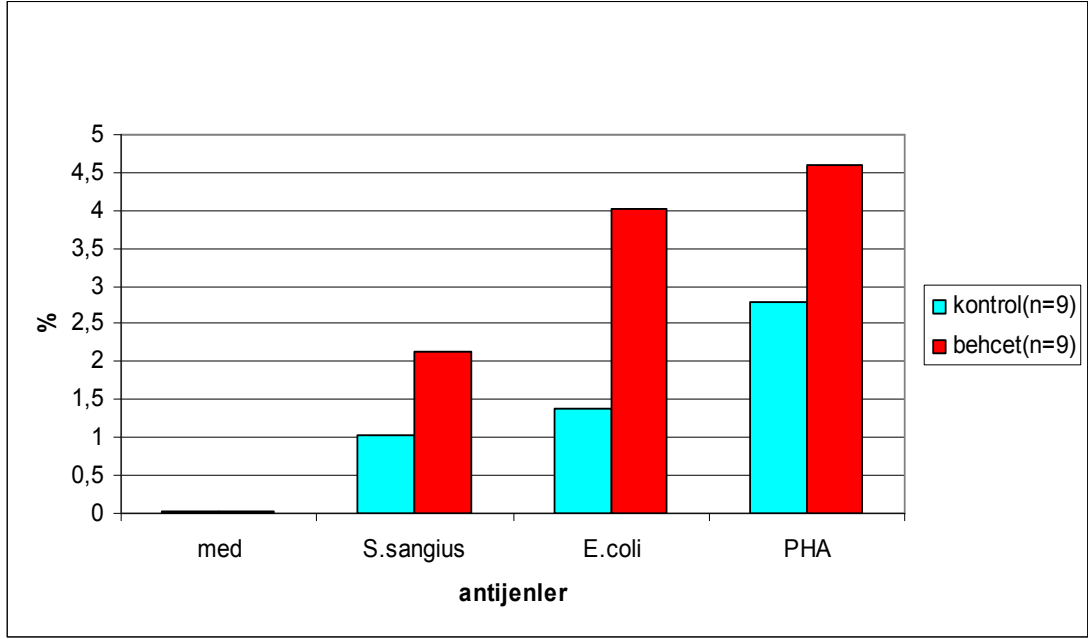
maximum değeri %2.2'dir. Behcet hastalarının Escherichia coli ile uyarımdan sonra periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 yüzdesi sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Çizelge 4.3.5. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Phytohemaglutinin ile uyarımdan sonra hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max, p değerleri

	Phytohemaglutinin ile uyarımdan sonra hücre içi sitokin pozitif olan pbmc toplam IL-17 yüzdesi %				P değeri
	Ortalama	SD	Min.	Max.	
Behcet hastaları n : 9	4.61	2.72	1	10.3	0.007
Sağlıklı kontroller n:9	2.81	0.44	1.7	3.1	

Phytohemaglutinin ile uyarımdan sonra Behcet hastalarının periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 ortalamaları %4.61, standart sapması 2.81, minimum değeri %1, maximum değeri %10.3'dür. Sağlıklı kontrollerde ise bu değerler IL-17 ortalama %2.81, standart sapması 0.44, minimum değeri %1.7, maximum değeri %3.1'dir. Behcet hastalarının Phytohemaglutinin ile uyarımdan sonra periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan toplam IL-17 yüzdesi sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Streptococcus sanguis, Escherichia coli ve Phytohemaglutinin ile BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin toplam hücre içi sitokin pozitif olan IL-17 yüzdeleri şekil 4.3.1. de gösterilmiştir.



Şekil 4.3.1. BH ve Sağlıklı bireylerin PBMC toplam IL-17 yüzdeleri.

Behçet hastalarının ve sağlıklı bireylerin Streptococcus sangius, Echericha coli ve PHA ile uyarımından sonra periferik kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4+ IL-17+ yüzdeleri ile ilgili ortalama, SD, min ve max değerleri çizelge 4.3.6, 4.3.7 ve 4.3.8 de verilmiştir.

Çizelge 4.3.6. BH ve Sağlıklı bireylerin periferik kan mononükleer hücrelerinin Streptococcus sangius ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max, p değerleri

	Streptococcus sangius ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan PBMC CD4+IL-17+ yüzdesi %				P değeri
	Ortalama	SD	Min.	Max.	
Behçet hastaları n : 9	0.25	0.35	0	1	0.717
Sağlıklı kontroller n:9	0.16	0.12	0	0.4	

Streptococcus sanguis ile uyarımından sonra Behcet hastalarının periferel kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4+ IL-17+ ortalamaları %2.5, standart sapması 0.35, minimum değeri %0, maximum değeri %1'dir. Sağlıklı kontrollerde ise bu değerler; CD4+ IL-17+ ortalama %0.16, standart sapması 0.12, minimum değeri %0, maximum değeri %0.4'dür. Behcet hastalarının Streptococcus sanguis ile uyarımından sonra periferel kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4+ IL-17+ yüzdesi sağlıklı kontrollerden yüksekti, ancak aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Çizelge 4.3.7. BH ve Sağlıklı bireylerin periferel kan mononükleer hücrelerinin Escherichia coli ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max , p değerleri

	Escherichia coli ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan PBMC CD4+IL-17+ yüzdesi %				P değeri
	Ortalama	SD	Min.	Max.	
Behcet hastaları n : 9	1.04	0.77	0.2	2.4	0.004
Sağlıklı kontroller n:9	0.16	0.08	0	0.3	

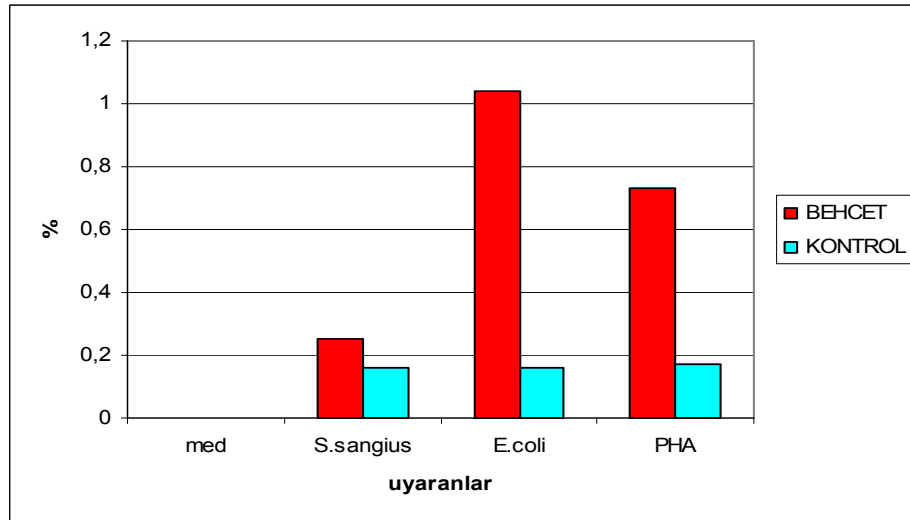
Escherichia coli ile uyarımından sonra Behcet hastalarının periferel kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ yüzdesi ortalamaları %1.04, standart sapması 0.77, minimum değeri %0.2, maximum değeri %2.4'dir. Sağlıklı kontrollerde ise bu değerler CD4+IL-17+ yüzdesi ortalama %0.16, standart sapması 0.08, minimum değeri %0, maximum değeri %0.3'dir. Behcet hastalarının Escherichia coli ile uyarımından sonra periferel kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ yüzdesi sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$).

Çizelge 4.3.8. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Phytohemaglutinin ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max, p değerleri

	Phytohemaglutinin ile uyarımdan sonra hücre içi sitokin pozitif olan PBMC CD4+IL-17+ yüzdesi %				P değeri
	Ortalama	SD	Min.	Max.	
Behcet hastaları n : 9	0.73	0.43	0	1.5	0.007
Sağlıklı kontroller n:9	0.17	0.16	0	0.5	

Phytohemaglutinin ile uyarımından sonra Behcet hastalarının periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ yüzdesi ortalamaları %0.73, standart sapması 0.43, minimum değeri %0, maximum değeri %1.5'dir. Sağlıklı kontrollerde ise bu değerler CD4+IL-17+ yüzdesi ortalama %0.17, standart sapması 0.16, minimum değeri %0, maximum değeri %0.5'dir. Behcet hastalarının Phytohemaglutinin ile uyarımından sonra periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ yüzdesi sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$).

Behcet hastalarının ve Sağlıklı bireylerin uyarım sonrası PBMC hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ üretimi yüzdeleri şekil 4.3.2 de gösterilmiştir.



Şekil 4.3.2. Behcet hastalarının ve Sağlıklı bireylerin uyarım sonrası PBMC hücre içi sitokin pozitif olan CD4+IL-17+ hücre yüzdeleri

Behcet hastalarının ve sağlıklı bireylerin Streptococcus sanguis, Echericha coli ve PHA ile uyarımından sonra periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdeleri ile ilgili ortalama, SD, min ve max değerleri çizelge 4.3.9, 4.3.10 ve 4.3.11 de verilmiştir.

Çizelge 4.3.9. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Streptococcus sanguis ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max , p değerleri

	Streptococcus sanguis ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan PBMC CD4-IL-17+ yüzdesi %				P değeri
	Ortalama	SD	Min.	Max.	
Behcet hastaları n : 9	0.45	0.52	0	1.3	0.75
Sağlıklı kontroller n:9	0.16	0.12	0	0.4	

Streptococcus sanguis ile uyarımından sonra Behcet hastalarının periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdesi ortalamaları %0.45, standart sapması 0.52, minimum değeri %0, maximum değeri %1.3'dır. Sağlıklı kontrollerde ise bu değerler CD4-IL-17+ ortalama %0.16, standart sapması 0.12, minimum değeri %0, maximum değeri %0.4'dür. Behcet hastalarının Streptococcus sanguis ile uyarımından sonra periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdesi sağlıklı kontroller den yüksekti, ancak aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Çizelge 4.3.10. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Eschericha coli ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max, p değerleri

	Eschericha coli ile uyarım sonrası hücre içi sitokin pozitif olan PBMC CD4-IL-17+ yüzdesi %				P değeri
	Ortalama	SD	Min.	Max.	
Behcet hastaları n : 9	1.46	1.16	0.5	3.9	0.004
Sağlıklı kontroller N:9	0.16	0.08	0	0.3	

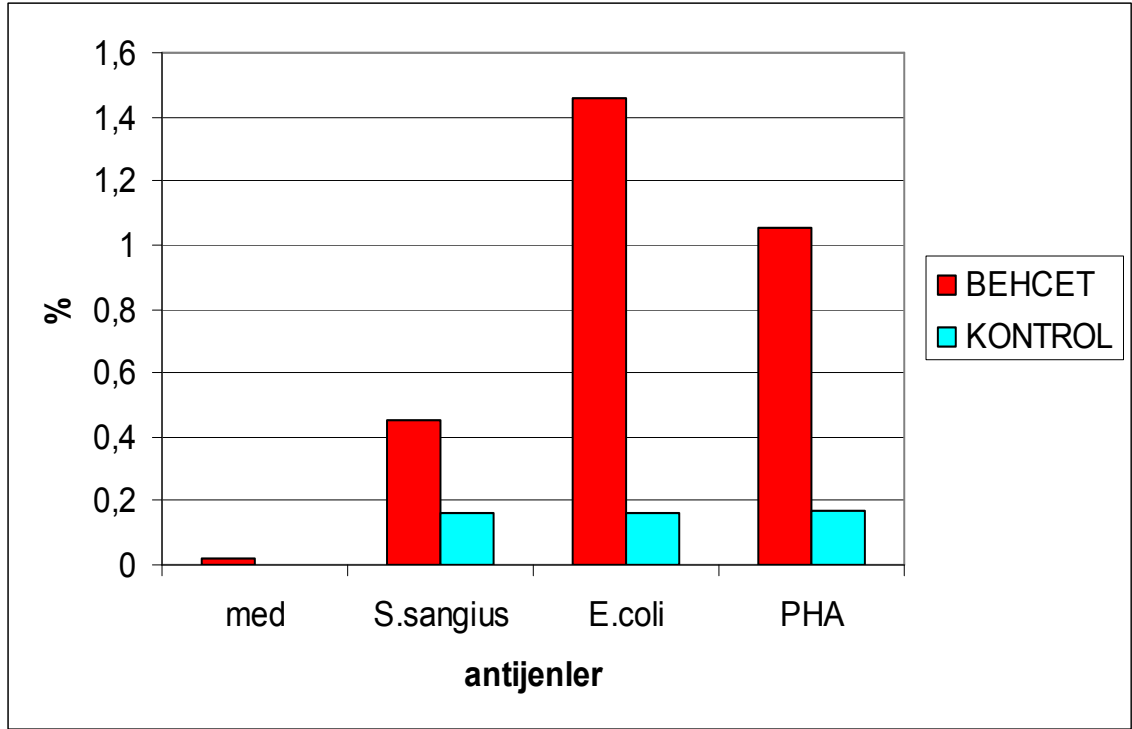
Escherichia coli ile uyarımından sonra Behcet hastalarının periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdesi ortalamaları %1.46, standart sapması 1.16, minimum değeri %0.5, maximum değeri %3.9'dır. Sağlıklı kontrollerde ise bu değerler CD4-IL-17+ yüzdesi ortalama %0.16, standart sapması 0.08, minimum değeri %0, maximum değeri %0.3'dir. Behcet hastalarının Escherichia coli ile uyarımından sonra periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdesi sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$).

Çizelge 4.3.11. BH ve Sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinin Phytohemaglutinin ile uyarımından sonra hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdesi ile ilgili ortalama, SD, min ve max, p değerleri

	Phytohemaglutinin ile uyarım sonrası hücre içi sitokin pozitif olan PBMC CD4-IL-17+ yüzdesi %				P değeri
	Ortalama	SD	Min.	Max.	
Behcet hastaları n : 9	1.05	0.87	0	2.6	0.007
Sağlıklı kontroller n:9	0.17	0.16	0	0.5	

Phytohemaglutinin ile uyarımından sonra Behcet hastalarının periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdesi ortalamaları %1.05, standart sapması 0.87, minimum değeri %0, maximum değeri %2.6'dır. Sağlıklı kontrollerde ise bu değerler CD4-IL-17+ yüzdesi ortalama %0.17, standart sapması 0.16, minimum değeri %0, maximum değeri %0.5'dir. Behcet hastalarının Phytohemaglutinin ile uyarımından sonra periferal kan mononükleer hücrelerinin hücre içi sitokin pozitif olan CD4-IL-17+ yüzdesi sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$).

Behcet hastalarının ve Sağlıklı bireylerin uyarım sonrası hücre içi sitokin pozitif olan PBMC CD4-IL-17+ yüzdeleri şekil 4.3.3 te gösterilmiştir.



Şekil 4.3.3. Behcet hastalarının ve Sağlıklı bireylerin uyarım sonrası hücre içi sitokin pozitif olan PBMC CD4-IL-17+ yüzdeleri.

TARTIŞMA

BH mukokutanöz, göz, eklem, vasküler ve santral sinir sistemi tutulumları ile multisistemik bir hastalıktır (1). Hastalığın etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte infeksiyöz ajanlar, damar endotel patolojileri, immunolojik ve çevresel faktörler, hormonlar ve pıhtılaşma faktörleri, genetik yapı gibi birçok neden suçlanmıştır (2). Patogenezde 3 major patofizyolojik değişiklik rol oynar; nötrofil hiperfonksiyonu, vaskülit ve otoimmün cevap (3). Yeni çalışmalar BH'da inflamasyonun immünpatogenezinde sitokin üreten hücrelerin önemli rol oynadığını göstermektedir. BH'da immün cevap oluşumunda, Th1/Th2 hücre tiplerinin farklı sitokin profillerinin önemli olduğu düşünülmektedir (4). Son yıllarda bilinen bu yardımcı T hücrelerine çoğunlukla IL-17 üreten Th 17 hücre alt grubu eklenmiştir (7). Th 17 hücrelerinin ürettiği IL-17 sitokini ise proinflamatuvar bir sitokin olarak tanımlanmıştır. Monositlerden stromal, epitel ve endotel hücrelerden TNF, IL-1, IL-6, IL-8 ve CXCL1 ligand 1 in üretilmesini yönetir. Böylece üretilen bu proinflamatuvar sitokinler yangının olduğu alana nötrofillerin hızla gelmesini sağlar (10) Deneysel hayvan modellerinde otoimmün-ensefalomyelit (18), kollajenle oluşan artrit (19) ve otoimmün miyokardit ve otoimmünuveitis te (20) IL-17' nin önemli rolü olduğu ve bu sitokinin monoklonal antikolar yada VLP (Virus benzeri partiküller) lerle birlikte verilen IL-17 ile durdurulmasının, yangıyı durdurucu etkisi olduğu bildirilmiştir. Bu yeni tanımlanan yardımcı T hücresi alttipinin (Th17) BH daki durumuna yönelik detaylı bir çalışma yayınlanmamıştır, bugüne kadar üretilen bilgiler BH da Th17 lerin ve IL-17 nin önemli rolü olabileceğine işaret etmektedir. Biz bu çalışmamızda, Th17 hücrelerinin ürettiği IL-17 sitokininin BH farklı semptom, bulgu gösteren gruplarında (Göz tutulumu olmayan v.b.) aktivasyon ve remisyon dönemlerinde IL-17 serum düzeyini incelemeyi, BH, sağlıklı kontroller ve BH na benzer şekilde nötrofil aktivasyonunun belirgin olduğu, Psoriasis hastalarının periferik kanından ayrıştırılan mononükleer hücrelerin değişik uyarılara invitro IL-17 yanıtını ölçmeyi, BH ve sağlıklı kontrollerde periferik kanda Th17 hücrelerinin düzeyini, incelemeyi amaçladık. Bu veriler sayesinde IL-17 sitokininin BH'ndaki yerini, hastalık aktivitesi ile bağıntılı olup olmadığını araştırdık.

Sitokinler immün cevapta ve birçok inflamatuvar hastalıkta rol oynar. Bu sitokinler immün sistemde hücreler arası haberleşmeyi etkileyen düşük molekül ağırlıklı polipeptitlerdir. Bu amaçla Hamzaoui ve arkadaşları (13) yaptıkları bir çalışmada aktif ve inaktif dönem Behcet hastalarının serumlarında IL-17 sitokin seviyesini araştırmışlar ve aktif dönem Behcet hastalarının serum IL-17 düzeyini inaktif dönem BH ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlar. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde Behcet hastalarının IL-17 serum düzeyi sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulduk ($p < 0,05$). Aktif BH serum IL-17 düzeyini de bu çalışmaya paralel şekilde inaktif BH ve sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak yüksek bulduk. Hamzoui ve arkadaşları (13) bu hastaları tanılarına göre ayırmamışlardı biz çalışmamızda hastalarımızı üveiti olan ve olmayanlar olarak gruplandırdığımızda üveiti olan ve olmayan gruplar arasında IL-17 sitokin düzeyi bakımından anlamlı fark bulamadık ancak aktif üveiti olan hastaların IL-17 serum düzeyi inaktif üveiti olan gruba ve sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak

yüksek bulduk. Direskeneli ve arkadaşlarının (198) yaptıkları bir çalışmada nörolojik tutulumları olan BH, MS, infeksiyonu ya da inflamatuvar hastalığı olan grupta ve inflamatuvar nörolojik tutulumu olmayan gruplarda IL-17 serum düzeyi bakımından fark bulamamışlardır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise aktif üveiti olan BH grubunun serum IL-23 seviyesini aktif üveiti olmayan BH ve sağlıklı kontrollere göre yüksek bulmuşlar (21)($p<0.05$). Bu bakımdan BH'nin serum IL-17 düzeyi sağlıklı kontrollere göre yüksek, ancak aktif üveiti olan hastalarda belirgin olarak daha yüksek bulunmaktadır. Ahjoku Amadi-Obi ve arkadaşlarının (22) yakın tarihli yaptıkları çalışmada deneysel otoimmün üveitis modellerinde üveit oluşumunun patogenezinde Th 17 hücrelerinin rol oynadığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda bu konuyu destekler niteliktedir. Yapılan bu çalışmalar ışığında IL-17 daha çok üveit oluşumunu yöneten bir sitokin olduğu düşünülebilir.

İnaktif dönemde IL-17 düzeyinin sağlıklı kontrollerden farksız olması IL-17'nin sadece hastalığın alevlendiği dönemlerde aktif olmasına bağlı olabileceği gibi hastalara uygulanan tedavinin bir yansıması da olabilir. Bu konunun açıklığa kavuşturulması için hastaların tedaviden önce, sırasında ve sonrasında izlenmesi gerekir. ELISA bulgularımız IL-17'nin Behçet hastalığında gözlenen yangısal yanıtta önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir.

ELISPOT yöntemi sitokinleri ya da antikorları sentezleyen tek bir hücrenin sayısını etkili ve hassas biçimde ölçmemizi sağlayan ELISA'dan daha duyarlı bir yöntemdir. ELISPOT yöntemini kullanarak BH'da IL-17 üretimini ölçmeyi amaçlayan bir çalışma daha önce yayınlanmamıştır. Biz bu yüzden yöntemi uygulamadan önce hücre sayısı ve inkübasyon süresini optimize ettik. Bu deneyde BH patogenezinden sorumlu tutulan antijenlerden birisi olan gram (+) bakteri *Streptococcus sanguis*'un IL-17 ile olan ilişkisini anlamak için kullandık. Behçet hastalarına kontrol grubu olarak patogenezinde IL-17'nin rol oynadığı bilenen diğer bir otoinflamatuvar hastalık olan Psöriasis hasta grubunu çalışmamıza dahil ettik. Bu iki hasta grubunun IL-17 üretimini sağlıklı kontrollere göre değerlendirdik. Hirohata ve arkadaşları (92) *Streptococcus sanguis*'un KTH-1 proteininin BH'nin T hücrelerinden IFN γ ve IL-6 sitokininin salgılanmasını arttırdığını rapor etmişler. Bu çalışmanın ardından Direskeneli ve arkadaşlarının (199) yaptıkları bir çalışmada BH ve sağlıklı kontrollerin periferik kan mononükleer hücrelerini *in vitro* olarak *Streptococcus sanguis*'un KTH-1 BES-1 proteini ile uyardıklarında IL-12 üretiminin BH'da arttığını göstermişler. IL-12 sitokini p35 alt ünitesini IL-23 ile paylaşmaktadır. Bu sebepten dolayı *S. sanguis*'un benzer bir etkiyi IL-17 üretiminde de gösterebileceğini düşündük. Biz bu düşüncemizi doğrular nitelikte *Streptococcus sanguis*'un BH'da, Psöriasis hastalarında ve sağlıklı kontrollerde IL-17 üretimini arttırdığını gösterdik. Bu sonuçlar gruplar arasında farklılık göstermekteydi; BH ve psöriasis hastalarında *Streptococcus sanguis* ile uyartım sonucu üretilen IL-17 spot sayısı sağlıklı kontrollere göre anlamlı bir şekilde yüksek bulduk ($p<0.05$). ELISPOT deneyimizde *Streptococcus sanguis* bakterisini antijen olarak tek başına kullanmadık. IL-17'ye yanıt verdiği bilinen ve sağlıklı kontrollerinde yanıt oluşturduğu bilinen pozitif bir kontrol olarak Phytohemagglutinin (PHA), negatif kontrol olarak medium, gram pozitif bakteri olan *Streptococcus sanguis* u karşılaştırabileceğimiz gram

negatif bir bakteri olan Echericha coli kullandık. Ayaşlıoğu ve arkadaşları (200) E.coli nin BH'da T hücrelerini uyardığını göstermişlerdir. Shibata K. Ve arkadaşları (201) E.coli ile infeksiyon sonrası IL-17 üretiminin nötrofillerin erken yanıtını sağladığını bildirmişler. Biz E.coli ve PHA ile periferik kan mononükleer hücreleri uyarım sonrası ELISPOT metoduyla BH ve Psöriasis hastalarının IL-17 üretiminin sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulduk ($p<0.05$).

Yapılan çalışmalarda Behçet hastalarında başlangıçta IŞP (65 kd)'ne karşı gelişen immün yanıtın zaman içinde kendi IŞP (60 kd)'ne yönelebileceğini ve otoimmün mekanizmayı başlatarak Behçet hastalığındaki patolojik değişiklikleri başlatabileceğini düşündürmektedir (83). Bu sebepten dolayı insan (ısı şok proteini) Hsp60 da ELISPOT metodunu uygulayarak BH, Psöriasis hastalarının ve sağlıklı bireylerin periferik kan mononükleer hücrelerini uyarım yaparak IL-17 üretimlerini karşılaştırdık. Ancak hiçbir grubun Hsp60 ile uyarım karşılık IL-17 cevabı oluşmadı. IL-17 üretimini engellediği rapor edilen IFN γ yanıtlarını ölçtüğümüzde ise IL-17 nin aksine BH, Psöriasis hastaları ve sağlıklı bireyler Hsp 60 ile uyarım sonrasında IFN γ üretmektedirler. (Veriler burada sunulmamıştır). Hsp60 ın IL-17 üretimi üzerindeki etkisiyle ilgili literatürde hiçbir veriye rastlamadık bizim yaptığımız çalışma gösteriyor ki Hsp60 daha çok Th1 tipi immune yanıtı etkilediğini düşündürmektedir. ELISPOT verilerimiz ELISA sonuçlarımızı doğrular niteliktedir ve Behçet hastalarının IL-17 yanıtı sağlıklı kontrollerden yüksek bulunmuştur. Verilerimiz Streptococcus sangius ve Echericha coli nin Behçet hastalığına özgül bir yanıt oluşturmadığını ancak daha yüksek bir yanıtı açtığını göstermektedir. Sağlıklı kontroller ve Psöriasisli hastalarda yanıt verdiler ancak IL-17 yanıtları Behçet hastalarından belirgin olarak düşüktü. Kullandığımız uyarımlar bakterilerin tüm karışık yapısını içeren antijenler karışımıdır. Binlerce antijenik epitop ve onlarca PRR ligandı içeren bu ajanlara özgül daha iyi tanımlanmış sınırlı sayıda antijenik epitopla veya PRR ligandıyla yapılacak ileri çalışmalar, eğer varsa, moleküler benzeşmeyle otoimmün yanıtı açan antijenlerin bulunmasında yararlı olabilir.

BH ve sağlıklı kontrollerin periferik kan mononükleer hücrelerinin IL-17 ekspresyonunu ve IL-17 üreten hücrelerin yüzdesini hücre içi sitokin boyama yöntemiyle belirledik. Wei Chi ve arkadaşlarının (21) yakın tarihli yaptığı çalışmada BH ve sağlıklı kontrollerin periferik kan mononükleer hücrelerini PMA/ionomisin ile uyarımları sonucunda CD4+IL-17+ T hücre ekspresyonunu sağlıklı kontrollerde %1.2, aktif üveitli BH da %2.8 ve üveitli olmayan BH da %1 bulmuşlar. Bu sonuçlara göre aktif üveitli olan BH larının CD4+IL-17+ T hücre ekspresyonunu sağlıklı kontroller ve üveitli olmayan BH larına göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlar. Bizim çalışmamızda ise S.sangius ile uyarım sonrası aktif BH larının CD4+IL-17+ T hücre ekspresyonu % 0.25 iken sağlıklı kontrollerde %0.16, E.coli ile uyarım sonrası aktif BH larının CD4+IL-17+ T hücre ekspresyonu % 1.04 iken sağlıklı kontrollerde %0.16, PHA ile uyarım sonrası aktif BH larının CD4+IL-17+ T hücre ekspresyonu %0,73 iken sağlıklı kontrollerde %0,17 bulduk. Bu sonuçlara göre E.coli ve PHA ile uyarım sonrası aktif BH larının CD4+IL-17+ T hücre yüzdesi sağlıklı kontrollere göre anlamlı şekilde yüksektir ($p<0.05$). Streptococcus sangius ile uyarım sonrası ise aktif BH da sağlıklı kontrollere göre CD4+IL-17+ T hücre yüzdesini yüksek bulsak da istatistiksel olarak bu

artış anlamlı değildi. Yukarıda bahsettiğim çalışma ile bizim sonuçlarımızın farklı olması uyaranlarımızın farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir, ayrıca bizim bu çalışmaya aldığımız hasta grubumuzdaki aktif üveiti olan kişi sayısının az olması da bunun nedenlerinden birisi olabilir.

Sonuç olarak verilerimiz Behcet hastalığında Th 17 ve IL-17 yolağının hiperaktif olduğuna ve bu sitokinin Behcet hastalığı patogenezinde önemli rolü olabileceğine işaret etmektedir. Behcet hastalığının özelliklerinden olan nötrofil hiperaktivasyonu ve etkilenen bölgelerde nötrofil birikimi yüksek IL-17 yanıtıyla ilişkili olabilir. IL-17 düzeyi ve IL-23-Th 17 yolağını durdurma veya azaltmaya yönelik tedavilerin klinik etkisinin araştırılması biyolojik önemini açıklığa kavuşturabilir.

SONUÇLAR

Bu çalışmada şu gözlemler yapılmıştır;

- 1) Behcet hastalarının serum IL-17 sağlıklı kontrollerden yüksektir.
- 2) Aktif dönem Behcet hastalarının serum IL-17 düzeyleri inaktif dönem Behcet hastalarından ve sağlıklı kontrollerden yüksektir. İnaktif dönemdeki hastaların IL-17 düzeyleri kontrollerden farklı bulunmamıştır.
- 3) Üveiti olan Behcet hastalarının serum IL-17 düzeyleri üveiti olmayan Behcet hastalarından farklı değildir. Ancak aktif üveiti olan Behcet hastalarının serum IL-17 düzeyi inaktif üveiti olan Behcet hastalarından ve sağlıklı kontrollerden yüksektir.
- 4) Streptococcus sanguis, E.coli ve PHA ile uyandırma sonrasında BH, Psöriasis ve sağlıklı kontrollerin Periferal kan mononükleer hücreleri IL-17 sitokininini üretmektedir.
- 5) BH ve Psöriasis hastalarında Streptococcus sanguis, E.coli ve PHA ya karşı IL-17 yanıtı sağlıklı kontrollerden yüksektir.
- 6) BH hastalarında Streptococcus sanguis, E.coli ve PHA ya karşı üretilen CD4+IL-17+ T hücre yüzdesi sağlıklı kontrollerden yüksektir.

Bu bulgular ışığında IL-17 sitokininin patogenezinde daha çok Th1 tipi immün yanıtın ağır bastığı düşünülen BH da önemli role sahip olabileceğini göstermektedir. Son yıllarda uygulanan monoklonal antikor tedavileri birçok hastalığın iyileşmesinde kullanılabilir. IL-23-IL-17 aksının birçok yönden Behcet hastalığına benzerliği bulunan Multiple Sklerozis hastalığında da bu aksın önemli olduğunu gösteren araştırmalar yayınlanmış hatta bu hastalarda anti IL-12/23 p 40 nötralize edici antikor tedavisi Faz II bir araştırmayla test edilme aşamasına bile gelmiştir (202). Günümüzde henüz tedavisi mümkün olmayan Behcet hastalığı için bu tür çalışmaların yapılması umut ışığı olabilir.

KAYNAKLAR

- 1) Direskeneli H. Behçet's disease: infectious aetiology, new autoantigens, and HLA-B51. *Ann Rheum Dis.* 2001;60:996–1002.
- 2) Gul, A. Behcet's disease: an update on the pathogenesis. *Clin Exp Rheumatol.* 2005;19:6–12.
- 3) Ghate JV, Jarizzo JL. Behçet's disease and complex aphthosis. *J Am Acad Dermatol.* 1999;40:1–18 .
- 4) Raziuddin S, al-Dalaan A, Bahabri S, Siraj AK, al-Sedairy S. Divergent cytokine production profile in Behcet's disease. Altered Th1/Th2 cell cytokine pattern. *J Rheumatol.* 1998; 25:329–33.
- 5) Arca E, Gür A.R. Behçet hastalığı. *T Klin Tıp Bilimleri.* 2003; 23:261–268.
- 6) Wraith D.C., Nicolson K.S. and Whitley N.T. Regulatory CD4+T cells and the control of autoimmune disease. *Curr. Opin. Immunol.* 2004;16:695-701.
- 7) Pak H, Li Z, Yang X.O., Chang S.H., Nurieva R., Wong Y. et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by production IL-17. *Nat. Immunol.* 2005;6:1133-1141.
- 8) Furuzawa-Corballeda J. et al. Autoimmune Inflammation from the Th 17 perspective. *Autoimmun Rev .* 2006;10:1016.
- 9) Moseley T. A. D. R., Hadenschild L-Rose and A. H. Reddi. IL-17 Family and IL-17 receptors . *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003;14:155-174.
- 10) Fosse F, Djossou O, Chomarat P, Floras-Romo L, Ait Yahia S, Moat C, et al. T cell IL-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines . *J. Exp Med.* 1996;183:2593-2603.
- 11) Chabaud M.J.M., Durand N , Buchs F, Fosiez-G. Page L, Frapport and P. Miossee. Human IL17 : A T Cell Derived Proinflammatory Cytokine Produced By The Rheumatoid Synovium. *Arthritis Rheum.* 1999;42:963-970.
- 12) Wong. C.K, Ho CY., Ho, Li EK, Lam CWK. Elavation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2000; 9:589-593.

- 13) Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F , Bessioud M, Hamza M., Ayed K. Cytokine profile in Behcet's disease patients: relationship with disease activity *J.Rheumatol.* 2002;31:205-210.
- 14) Antonysoy M.A., Fanslow WC, Fu F, Li W, Qion S, Troutt AB. and Thamson A.W. Evidence for a role of IL17 in orghan allograft rejection: IL-17 promotes the functional diferantiation of denritic cell progenitors *J.Immunol.*1999;162: 577-584.
- 15) Matsumoto, Konmatsuse K. Increased urinory excretion of IL 17 in nephrotic patients. *Nephron.* 2002; 9:205-209.
- 16) Wong. CK, Ho CY, Ko FW, Chan CH, Ho AS, Hui DS and Lam CWK. Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFNgamma, IL--4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma *Clin.Exp. Immunol.* 2001;125:177-183.
- 17) Lock C, Hemas G, Pedotti R, Brendolan A, Schadt E, Garmen H, Longer- Gould A, Streber S, Cannella B, Allert J, et al. Gene microarray analysis of MS Lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. *Nature Med.* 2002; 8: 500-508.
- 18) Röhn, T. Jennings A, Hernandez G. T, Grest M, Beck P, Zou M.Y., Kopf M and Bachmann MF. Vaccination against IL 17 suppresses autoimmune arthritis and encephalomyelitis *Eur. J. Immunol.* 2006; 36:2857-2862.
- 19) Sonderegger I, Röhn TA, Kurrer M.O, Iezzi G, Zou Y, Kastelein RA, Bachmann MF and Kopf M. Neutralization of IL-17 by active vaccination inhibits IL-23-mediated autoimmune myocarditis. *Eur. J. Immunol.* 2006;36:2844-2848.
- 20) Uyttenhove C and Van Snick J. Development of an anti-IL 17A auto-vaccine that prevents experimental auto-immune encephalomyelitis *Eur. J. Immunol.* 2006; 36:2868-2874.
- 21) Wei Chi, Xuefei Zhu, PeizengYang, Xiaoli Liu, Xiaomin Lin, Hongyan Zhou, Xiangkun Huang, and AizeKijlstra. Upregulated IL-23 and IL-17 in Behcet Patients with Active Uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2008;49: 7.
- 22) Amadi-Obil A, Yu C, Liu X, et al. 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.
- 23) Alpsoy E. Behçet hastalığının deri ve mukoza belirtileri. *Türkderm.* 2003; 37: 92-99.
- 24) Saylan T. Live story of Dr. Hulusi Behçet. *Yonsei Med J.* 1997; 38:327-332.

- 25) Tat AL. Hocam Hulusi Behçet. Türkiye Klinikleri Behçet Özel Sayısı 1985; 5:393–395
- 26) İncedayı CK. Behçet hastalığı. Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi. 1968; 5:783-805.
- 27) Gbate JV, Jarizzo JL. Behçet's disease and complex aphthosis. J Am Acad Dermatol 1999; 40: 1–18.
- 28) Kastner DL. Intermittant and Periodic Arthritic Syndromes in Arthritis and Allied Conditions. William J Kopman. Williams & Wilkins 13th edition. Pennsylvania 1997; 13:1291–1297.
- 29) Valente RM, Hall S, O'Duffy JD, Conn DL. Vasculitic Syndromes in Textbook of Rheumatology. Kelly WN, Ruddy S, Harris ED, Sledge CB. WB Saunders Company fifth edition. Pennsylvania 1997;5: 1114–1116.
- 30) Yurdakul S, Tüzün Y, Mat MC, Özyazgan Y, Yazıcı H. Behçet Sendromu. Dermatoloji Kitabı.II. baskı. 1994; 2:393–399.
- 31) Dilsen N. History and development of Behçet's disease. Rev Rhum (English Edition) 1996; 63: 512–519.
- 32) Schirmer M. et al. Ninth International Conference on Behçet's disease. J Rheumatol 2001; 28:636.
- 33) Sakane T et al: Behçet's disease. N Engl J Med .1999; 341:1284.
- 34) Demirhindi O, Yazıcı H, Binyıldız P. Silivri Fener Köy'ü yöresinde Behçet hastalığı sıklığı ve bu hastalığın toplum içinde taranmasında kullanılabilir bir yöntem. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi. 1981;12: 509–514.
- 35) Yurdakul S. Behçet sendromu'nun epidemiyolojisi. Aktüel Tıp Dergisi. 1997; 2 : 66–67.
- 36) Tüzün Y, Yurdakul S, Mat MC, Özyazgan Y, Hamuryudan V, Tüzün B, Yazıcı H. Epidemiology of Behçet's Syndrome in Turkey. Int J Dermatol. 1996; 35 : 618–620.
- 37) Borlu M, Uğsal Ü, Ferahbaş A, Evreklioğlu C. Clinical features of Behçet's disease. Int J Dermatol. 2006; 45:713–416.
- 38) Kari JA, Shah V, Dillion MJ. Behçet's disease in UK children: clinical features and treatment including thalidomide. Rheumatology .2001; 40: 993–998.
- 39) Fam AG, Siminovitch KA, Carette S, From L. Neonatal Behçet's syndrome in an infant of a mother with the disease. Ann Rheum Dis 1981;40: 509–512.

- 40) Lewis MA, Priestley BL. Transient neonatal Behçet's disease. *Arch Dis Child* 1986;61: 805–806.
- 41) Dundar SV, Gencalp U, Simsek H. Familial cases of Behçet's disease. *Br J Dermatol* 1985; 113:319–321.
- 42) Nishiura K, Koteke S, Ichiishi A, Matsuda H. Familial occurrence of Behçet's disease. *Jpn J Ophthalmol* 1996;40: 255–259.
- 43) Vaiopoulos G, Sfrikakis PP, Hatzinikalou P, Stamatelos G, Kaklamanis P. Adamantiadis-Behçet's disease in sisters. *Clin Rheum* 1996; 15: 382–384.
- 44) Main DM, Chamberlain AM. Clinical differentiation of oral ulceration in Behçet's disease. *Brit J Rheum*. 1992; 31: 767–770.
- 45) Hirohata T, Kuratsune M, Nomura A, Jimi S: Prevalence of Behçet's syndrome in Hawaii. With particular reference to the comparison of the Japanese in Hawaii and Japan. *Hawaii Med. J* .1975; 34:244–246.
- 46) Zouboulis CC, Kotter I, Djawari D, et al. Epidemiological features of Adamantiadis-Behçet's disease in Germany and in Europe. *Yonsei Med J*. 1997;38:411–422.
- 47) Emmi L, Brugnolo F, Marchione T. Pathogenesis and therapy of Behçet's disease. *Ann Ital Med Int*. 1997;2 : 20–25.
- 48) Sakane T, Suzuki N, Nagafuchi H. Etiopathology of Behçet's disease: immunological aspects. *Yonsei Med J* .1997;38 : 350–35.
- 49) Lehner T. Immunopathogenesis of Behçet's disease. *Ann Med Int*. 1999; 15 (6):483-487.
- 50) Yazıcı H. Behçet's syndrome. *Rheumatology*. 1994; 20:1-6.
- 51) Gül A, İnanç M, Öcal L, et al: Familial aggregation of Behçet's disease in Turkey. *Ann Rheum Dis*. 2000;59: 622–625.
- 52) Aygündüz M, Bavbek N, Öztürk M, et al: Serum beta 2-microglobulin reflects disease activity in Behçet's disease. *Rheumatol Int*. 2002;22:5–8.
- 53) Ota M, Mizuki N, Katsuyama Y, et al: The critical region for Behçet disease in the human major histocompatibility complex is reduced to a 46-kb segment centromeric of HLA-B, by association analysis using refined microsatellite mapping. *Am J Hum Genet*. 1999;64:1406–1410.
- 54) Sakane T, Miura K. Research for basic and clinical aspects of Behçet's disease. *Jpn J Clin Med*. 1996;54 : 870-884.

- 55) Mizuki N, Ohno S. Immunogenetic studies of Behçet's disease. *Rev Rhum.* 1996; 63: 520-527.
- 56) Ahmad T, Wallace GR, James T, et al. Mapping the HLA association in Behcet's disease: a role for tumor necrosis factor polymorphisms? *Arthritis Rheum.* 2003;48:807-13.
- 57) Akman A, Sallakçı N, Coşkun M et al. TNF-alfa gene 1031 T/C polymorphism in Turkish patients with Behçet's disease. *British Journal of Dermatology.* 2006;155:350-356.
- 58) Mizuki N, Ota M, Kimura M, et al. Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene: a strong association of six GCT repetitions with Behcet disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:1298–1303.
- 59) Mizuki N, Ota M, Katsuyama Y, et al. Association analysis between the MIC-A and HLA-B alleles in Japanese patients with Behcet's disease. *Arthritis Rheum.* 1999;42:1961-1966.
- 60) Wallace GR, Verity DH, Delamaine LJ, et al. MIC-A allele profiles and HLA class I associations in Behcet's disease. *Immunogenetics.* 1999;49:613–617.
- 61) Salvarani C, Boiardi L, Casali B, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in Behçet's disease. *J Rheumatol.* 2002;29:535–540.
- 62) Coskun M, Bacanlı A, Sallakci N, Alpsoy E, Yavuzer U, Yegin O. Specific interleukin-1 gene polymorphisms in Turkish patients with Behçet' disease. *Experimental Dermatology.* 2005;14:124–129.
- 63) Karasneh J, Hajeer AH, Barrett J, Ollier WE, Thornhill M, Gul A. Association of specific interleukin 1 gene clusterpolymorphisms with increased susceptibility for Behçet's disease. *Rheumatology.* 2003;42:860–864.
- 64) Duymaz-Tozkir J, Yilmaz V, Uyar FA, Hajeer AH, Saruhan-Direskeneli G, Gul A. Polymorphisms of the IL-8 and CXCR2 genes are not associated with Behçet's disease. *J Rheumatol.* 2005;32:93–97.
- 65) Yanagihori H, Oyama N, Nakamura K, Mizuki N, Oguma K, Kaneko F. Role of IL-12B promoter polymorphism in Adamantiades-Behçet's disease susceptibility: An involvement of Th1 immunoreactivity against *Streptococcus Sanguinis* antigen. *J Invest Dermatol.* 2006;126:1444–1447.
- 66) Sallakci N, Bacanlı A, Coskun M, Yavuzer U, Alpsoy E, Yegin O. CTLA-4 gene 49 A/G polymorphism in Turkish patients with Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol.* 2005;30:546–550.

- 67) Nam EJ, Han SW, Kim SU, et al. Association of Vascular Endothelial Growth Factor Gene Polymorphisms With Behçet Disease in a Korean Population. *Human Immunol.* 2005;66:1068–1073.
- 68) Boiardi L, Salvarani C, Casali B, et al. Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphisms in Behçet's Disease. *J Rheumatol.* 2001;28:1283–1287.
- 69) Imirzalioglu N, Dursun A, Tastan B, Soysal Y, Yakicier MC. MEFV gene is a probable susceptibility gene for Behçet's disease. *Scand J Rheumatol.* 2005;34:56–58.
- 70) Atagunduz P, Ergun T, Direskeneli H. MEFV mutations are increased in Behçet's disease (BD) and are associated with vascular involvement. *Clin Exp Rheumatol.* 2003;21:35–37.
- 71) Mizushima Y, Matsuda T, Hoshi K, Ohno S. Induction of Behçet's disease symptoms following dental treatment and streptococcal antigen skin test. *J Rheumatol.* 1988;61:1029–1230.
- 72) Behçet H. Über rezidivierende Aphthose, durch ein Virus verursachte Geschwüre am Mund, am Auge und an den Genitalien. *Dermatol ochenschr.* 1937;105:1152–1157.
- 73) Gürler A, Boyvat A. Behçet hastalığının immunopatogenezi. II.Ege Dermatoimmunoloji Sempozyum Kitabı.1997; 29-38.
- 74) Lehner T. The role of heat shock protein, microbial and autoimmune agents in the a etiology of Behçet's disease. *Int Immunol.* 1997;14: 21-32.
- 75) Sun A, Chang JG, Kao CL, Liu BY, Wang JT, Chu CT. Human cytomegalovirus as a potential etiologic agent in recurrent aphthous ulcers and Behçet's disease. *Journal of Oral Pathol Med.* 1996; 25 : 212-218.
- 76) Lee S, Bang D, Cho YH, Lee ES, Shon S. Polymerase chain reaction reveals herpes simplex virus DNA in saliva of patients with Behçet's disease. *Arch Dermatol Res.* 1996;288 : 179-183.
- 77) Çalgüneri M, Ertenli I, Kiraz S, et al: Effect of prophylactic benzathine penicilline on mucocutaneous symptoms of Behçet's disease. *Dermatology.*1996;192:125–128.
- 78) Çalgüneri M, Kiraz S, Ertenli I, et al: The effect of prophylactic penicillin treatment on the course of arthritis episodes in patients with Behçet's disease: a randomized clinical trial. *Arthritis Rheum.* 1996;39:2062–2065.
- 79) Yoshikawa K, Kotake S, Matsuda H. Behçet's disease and streptococcal antigens. *Nippon-Rinsho Ophthalmologicae Japonicae.* 1996;100 (3): 173-180.

- 80) Alpsoy E, Akman A. Treatment of Behçet's disease. *Therapy* 2006;3:139-151.
- 81) Mumcu G, Ergun T, Inanc N, et al. Oral health is impaired in Behcet's disease and is associated with disease severity. *Rheumatology (Oxford)*. 2004;43:1028-1033.
- 82) Celenligil-Nazliel H, Kansu E, Ebersole J. Periodontal findings and systemic antibody responses to oral microorganisms in Behcet's disease. *J Periodontol*. 1999;70:1449-1456.
- 83) Direskeneli H, Saruhan-Direskeneli G: The role of heat shock proteins in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol* .2003; 21:44-48.
- 84) ImamuraY, KurokawaMS, YoshikawaH, et al: Involvement of Th1 cells and heat shock protein 60 in the pathogenesis of intestinal Behçet's disease. *Clin Exp Immunol*. 2005; 139:371-378.
- 85) Celet B, Akman-Demir G, Serdaroglu P, et al: Anti- α - β -crystallin immunoreactivity in inflammatory nervous system diseases. *J Neurol*. 2000;247:935-939.
- 86) Mochizuki M. Immunotherapy for Behçet's disease. *Int Immunol*. 1997;14:49-66.
- 87) Esin S, Gül A, Hodara V, Jeddi-Tehrani M, Dilsen N, Konice M, Andersson R, Wigzell H. Peripheral blood Tcell expansions in patients with Behçet's disease. *Rheumatology*. 2001;40: 933.
- 88) Turan B, Gallati H, Erdi H, Gürler A, Michel BA. Systemic levels of the T cell regulatory cytokines IL-10 and IL-12 in Behçet's disease. *J Rheumatol*. 1997; 24: 128-132.
- 89) Houman H, Hamzaoui A, Ben Ghorbal I, et al: 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.
- 90) ImamuraY, KurokawaMS, YoshikawaH, et al: Involvement of Th1 cells and heat shock protein 60 in the pathogenesis of intestinal Behcet's disease. *Clin Exp Immunol*. 2005; 139:371-378.
- 91) Treudler R, Zoubolis CC, Buttner P, Detmar M, Orfanos CE. Enhanced interaction of patients' lymphocytes with human dermal microvascular endothelial cell cultures in active Adamantiades-Behçet disease. *Arch Dermatol*. 1996;132 :1323-1329.
- 92) Hirohata S, Oka H, Mizushima Y. Streptococcal-related antigens stimulate production of IL6 and interferon-gamma by T cells from patients with Behcet's disease. *Cell Immunol*. 1992;140:410-419.

- 93) Nagafuchi H, Takeno M, Yoshikawa H, et al. Excessive expression of Txk, a member of the Tec family of tyrosine kinases, contributes to excessive Th1 cytokine production by T lymphocytes in patients with Behcet's disease. *Clin Exp Immunol.* 2005;139:363-370.
- 94) Iijima S, Otsuka F. Peripheral blood neutrophil rheology measured by micropore filtration reflects Behçet's disease activity well. *J Dermatol Sci.* 1997; 15: 440-508.
- 95) Accardo-Palumbo A, Triolo G, Carbone MC, Ferrante A, Ciccia F, Giardina E. Polymorphonuclear leukocyte myeloperoxidase levels in patients with Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2000; 18 : 495-498.
- 96) Şahin S, Lawrence R, Direskeneli H, Hamuryudan V, Yazıcı H, Akoğlu T. Monocyte activity in Behçet's disease. *Brit J Rheumatol.* 1996;35: 424-429.
- 97) Sayinalp N, Özcebe OI, Özdemir O, Haznedaroğlu IC, Dündar S, Kirazlı S. Cytokines in Behçet's disease. *J Rheumatol.* 1996;23: 321-322.
- 98) Li B, Yang P, Zhou H, Zhang Z, Xie C, Lin X, Huang X, Kijlstra A. T-bet expression is upregulated in active Behcet's disease. *Br J Ophthalmol.* 2003;87:1264-1267.
- 99) Ben Ahmed M, Houman H, Miled M, et al. Involvement of chemokines and Th1 cytokines in the pathogenesis of mucocutaneous lesions of Behçet's disease. *Arthritis Rheumatism.* 2004;50:2291-2295.
- 100) Fortune F, Walker J, Lehner T. The expression of gamma delta T cell receptor and the prevalence of primed, activated and IgA-bound T cells in Behcet's syndrome. *Clin Exp Immunol.* 1990;82:326-332.
- 101) Hamzaoui K, Hamzaoui A, Hentati F, et al. Phenotype and functional profile of T cells expressing gamma delta receptor from patients with active Behcet's disease. *J Rheumatol.* 1994;21:2301-2306.
- 102) Yamashita N, Kaneko H, Kaneko S, Takeno M, Oneda K, Koizumi H, Kogure M, Inaba G, Sakane T. Role of gamma delta T lymphocytes in the development of Behçet's disease. *Clin Exp Immunol.* 1997; 107:2, 241-247.
- 103) Hamzaoui K, Hamzaoui A, Hentati F, Kahan A, Ayed K, Chan Ben Hamida M, Hamza M. Phenotype and functional profile of T cells expression gamma delta receptor from patients with active Behçet's disease. *J Rheumatol* 1994;21: 2301-2306.
- 104) Erkiılıç, K, Evereklioğlu C, Çekmen M, et al: Adenosine deaminase enzyme activity is increased and negatively correlates with catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in patients with Behçet's disease: original

- contributions/clinical and laboratory investigations. *Mediators Inflamm.* 2003;12:107–116.
- 105)** Köse K, Yazıcı C, Asçıoğlu Ö. The evaluation of lipid peroxidation and adenosine deaminase activity in patients with Behçet's disease. *Clin Biochem.* 2001; 34:125–129.
- 106)** Hasan A, Fortune F, Wilson A, et al. Role of gamma delta T cells in pathogenesis and diagnosis of Behçet's disease. *Lancet.* 1996;347:789-794.
- 107)** Lehner T. State of art in Behçet Disease. In: Hamza Med. The seventh International Conference on Behçet's disease. Tunis:Pub Adhoua press 1997;7:14.
- 108)** Sahin S, Lawrence R, Direskeneli H, Hamuryudan V, Yazici H, Akoglu T. Monocyte activity in Behçet's disease. *Br J Rheumatol.* 1996;35:424-429.
- 109)** Nakamura S, Sugita M, Tanaka S, Ohno S. Enhanced production of in vitro tumor necrosis factor-alpha from monocytes in Behçet's disease. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.* 1992;96:1282-1285.
- 110)** Treudler R, Zouboulis CC, Buttner P, Detmar M, Orfanos CE. Enhanced interaction of patients lymphocytes with human dermal microvascular endothelial cell cultures in active Adamantiades-Behçet disease. *Arch Dermatol.* 1996;132:1323-1329.
- 111)** Kiraz S, Ertenli I, Ozturk MA, Haznedaroglu IC, Celik I, Calguneri M. Pathological haemostasis and "prothrombotic state" in Behçet's disease. *Thromb Res.* 2002;105:125-133.
- 112)** Bacalı A, Sallakçı N, Yavuzer U, Alpsoy E, Yeğin O. Toll-like receptor 2 Arg753Gln gene polymorphism in Turkish patients with Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol.* 2006;31:699-701.
- 113)** Direskeneli H, Saruhan-Direskeneli G. The role of heat shock proteins in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2003;21:44-48.
- 114)** Mertens D, Koetter I, Guenaydin I, Fresko I, Yazici H, Mueller C. Expression of α -defensins HNP 1-3 in Behçet's disease: Effector molecules of spontaneous and pathergy induced (papulo)pustular lesions? *Clin Exp Rheumatol.* 2004;34:93.
- 115)** Mahesh SP, Li Z, Buggage R, et al. Alpha tropomyosin as a self-antigen in patients with Behçet's disease. *Clin Exp Immunol.* 2005;140:368-75.
- 116)** Lee KH, Chung HS, Kim HS, et al. Human alpha-enolase from endothelial cells as a target antigen of anti-endothelial cell antibody in Behçet's disease. *Arthritis Rheum.* 2003;48:2025-2035.

- 117) Lu Y, Ye P, Chen SL, Tan EM, Chan EK. Identification of kinectin as a novel Behcet's disease autoantigen. *Arthritis Res Ther.* 2005;7:1133-1139.
- 118) Arayssi T, Hamdan A. New insights into the pathogenesis and therapy of Behcet's disease. *Curr Opin Pharmacol.* 2004;4:183-8.
- 119) Everekliöglu C. Current Concepts in the Etiology and Treatment of Behcet Disease. *Survey Of Ophthalmology.* 2005; 50:297-350.
- 120) Taylor PV, Chamberlain MA, Scott JS. Autoreactivity in patients with Behçet's disease. *Brit J Rheumatol.* 1993;32 : 908-910.
- 121) Burrows NP, Zhao MH, Norris PG, Lockwood CM. ANCA associated with Behçet's disease. *J Roy Soc Med.* 1996; 89 : 47-48.
- 122) Everekliöglu C, Çekmen M, Özkiris, A, et al: The pathophysiological significance of red blood cell nitric oxide concentrations in inflammatory Behçet's disease. *Mediators Inflamm.* 2003;12:255-256.
- 123) Chen KR, Kawahara Y, Miyakawa S, Nishikawa T. Cutaneous vasculitis in Behçet's disease: a clinical and histopathologic study of 20 patients. *J Am Acad Dermatol.* 1997; 36: 689-696.
- 124) Erel A, Özsoy E, Biberöglu G, et al: Serum levels of vitamins A, C, and E, beta-carotene, selenium, and zinc in patients with Behçet's disease: a controlled study. *Biol Trace Elem Res.* 2003; 95:97-106.
- 125) Kökçam I, Naziroglu M: Effects of vitamin E supplementation on blood antioxidants levels in patients with Behçet's disease. *Clin Biochem.* 2002;35:633-639.
- 126) Noyan T, Şahin I, Şekeroğlu MR, Dülger H: The serum vitamin C levels in Behçet's disease. *Yonsei Med. J* 2003; 44:771-778.
- 127) Borlu M, Asçioğlu O, Uksal U, Utaş S. ICAM1 Levels in Behçet's Disease and Correlation with Disease Activity Abstracts of the 11. Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology. Blackwell science Prague 2001; 5:5.
- 128) Duygulu F, Everekliöglu C, Çalis, M, et al: Synovial nitric oxide concentrations are increased and correlated with serum levels in patients with active Behçet's disease; a pilot study. *Clin Rheumatol.* 2005; 24:324-330.
- 129) Bouloumie' A, Schini-Kerth VB, Busse R: Vascular endothelial growth factor up-regulates nitric oxide synthase expression in endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 1999;41:773-780.

- 130) Nilüfer F. Et al. Serum Leptin Levels in patients with ocular and nonocular Behçet's Disease. *Mediators. Inflamm.*2007;2007:31986.
- 131) Evereklioğlu C.et al. Oküler tutulumu olan ve olmayan Behçet olgularında 5,10-Metilentetrahidrofolat redüktaz C677T gen polimorfizmi. XXXIX. Ulusal Türk Oftalmoloji Kongresi.2005;150:21.
- 132) Mosmann TR, Coffman RL. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokinesecretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 1989;7:145–173.
- 133) Dong C,Flavell RA.Th1 and Th2 cells. *Curr. Opin. Hematol.*2001;8:47–51.
- 134) Glimcher LH, Murphy KM. Lineage commitment in the immune system: the T hepler lymphocyte grows up. *Genes Dev.*2000;14:1693–1711.
- 135) Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X,Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, Tbet, directs Th1 lineage commitment. *Cell.*2000;100:655–69.
- 136) Coffman RL. Origins of the Th1-Th2 model: a personal perspective. *Nat. Immunol.* 2006;7:539–41.
- 137) Zheng W,Flavell RA. The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells.1997;89:587-96.
- 138) Infante-Duarte C, Horton HF, Byrne MC, Kamradt T.Microbial lipopeptides induce the production of IL-17 in Th cells. *J.Immunol.*2000;165:6107–6115.
- 139) Dong C, Nurieva RI. Regulation of immune and autoimmune responses by ICOS. *Autoimmun.* 2003;21:255-260.
- 140) Harrington LE. et al. Interleukin–17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T hepler type 1 and 2 lineage. *Nature Immunol.*2005;6:1123–1132.
- 141) Chung Y. et al. Expression and regulation of IL-22 in the IL-17-producing CD4+ T lymphocytes. *Cell Res.*2006;16:902-906.
- 142) Liang SC. et al. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *J.Exp. Med.*2006; 203: 2271–2279.
- 143) Zheng Y. et al. Interleukin–22, a Th 17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis. *Nature.* 2007; 445:648-651.

- 144) Wolk K. et al. IL-22 increases the innate immunity of tissues. *Immunity*. 2004;21:241–254.
- 145) Aujla, S. J. et al. IL-22 mediates mucosal host defence against Gram-negative bacterial pneumonia. *Nature Med*.2008; 14:275–281.
- 146) Wilson NJ. et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin-17-producing helper T cells. *Nature Immunol*.2007;8:950-957.
- 147) Korn T. et al. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory Th 17 cells. *Nature*. 2007;448:484–487.
- 148) Nurieva R. Et al. Essential autocrine rgulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells. *Nature*.2007; 448:480–483.
- 149) Zhou L. et al. IL-6 programs Th-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nature Immunol*. 2007; 8:967-974.
- 150) Chtanova T. et al. T follicular helper cells express a distinctive transcriptional profile, reflecting their role as non-Th1/Th2 effector cells that provide help for B cells. *J. Immunol*.2004;173:68–78.
- 151) Williams I.R. CCR6 and CCL20: partners in intestinal immunity and lymphorganogenesis. *Ann. NY Acad. Sci*. 2006;1072:52–61.
- 152) Hirota, K. et al. Preferential recruitment of CCL20 in rheumatoid arthritis and its animal model. *J.Exp. Med*. 2007;204:2803–2812.
- 153) Park H. et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin–17. *Nature Immunol*.2005;6:1133–1141.
- 154) Kolls JK & Linden A. Interleukin–17 family members and inflammation. *Immunity*. 2004;21:467-476.
- 155) Kennedy J et al. Mouse IL-17: a cytokine preferentially expressed by alpha beta TCR +CD4-CD8-T cells. *J. Interferon Cytokine Res*.1996;16:611–617.
- 156) Tartour E. et al. Interleukin 17, a T-cell-derived cytokine, promotes tumorigenicity of human cervical tumors in nude mice. *Cancer Res*.1999;59:3698-3704.
- 157) Euan L. et al. IL–17 roduction is dominated by $\gamma\delta$ T cells rather than CD4 T cells during *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *J. Immunol*.2006;177:4662–4669.
- 158) 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.

- 159)** Nakae S. et al. Antigen-specific T cell sensitization is impaired in IL-17 –deficient mice, causing suppression of allergic cellular and humoral responses. *Immunity*.2002;17:375–387.
- 160)** Oboki K. et al. Th 17 and Allergy. *Allergology International*.2008;57:121–134.
- 161)** Hizawa N,Kawaguchi M, Huang SK & Nishimura M. Role of interleukin-17F in chronic inflammatory and allergic lung disease. *Clin. Exp. Allergy*.2006;36:1109-1114.
- 162)** Wright,J.F. et al . Identification of an interleukin-17F-17A heterodimer in activated human CD4+ T cells. *J.Biol.Chem.* 2007;282:13447-13455.
- 163)** Arican, O.A.M.,Sasmaz, S.,Ciragil, P.Serum levels of TNF alpha,IFN-gamma,IL-6,IL-8,IL-12,IL-17 and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity.*Mediators.Inflamm.*2005;2005:273-279.
- 164)** Rouvier E. et al. 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.
- 165)** Yao Z.et al. Herpes virus Saimiri encodes a new cytokine,IL-17,which binds to a novel cytokine receptor.*Immunity*.1995;3:811-821.
- 166)** QianY, LiuC, HartupeeJ, AltuntasCZ, GulenMF, JaneWitD, et al. The adaptor Act1 is required for interleukin17-dependent signaling associated with autoimmune and inflammatory disease. *NatImmunol* 2007;8:247–56.
- 167)** Chang SH, Park H, Dong C.Act1adaptor protein is an immediate and essential signaling component of interleukin-17 receptor. *JBiolChem*2006;281:35603–7.
- 168)** Nurieva R. Et al. T-cell tolerance or function is determined by combinatorial costimulatory signals. *EMBO. J.* 2006;25:2623-2633.
- 169)** Hunter C.A. New IL-12 family members: IL-23 and IL-27,cytokines with divergent functions. *Nature Rev.*2005;5:521-531.
- 170)** Cua, D.J.et al. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain.*Nature*.2003;421:744-748.
- 171)** Thakker P.et al. IL-23 is critical in the effector phase of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J.Immunol.* 2007;178:2589-2598.
- 172)** Duerr R.H.et al. A genome-wide association study identifies IL-23R as an inflammatory bowel disease. *Science.* 2006;314:1461-1463.

- 173) Web L., Laurence, A., Elias, K.M. & OShea, J.J. IL-21 is produced by Th17 cells and drives IL-17 production in a STAT3-dependent manner. *J.Bio.Chem.* 2007;282:34605-34610.
- 174) McGeachy, M.J. et al. TGF- β and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain Th-17 cell-mediated pathology. *Nature Immunol.* 2007;8:1390-1397.
- 175) Laurence, A. et al. Interleukin-2 signalling via STAT5 constrains T helper 17 cell generation. *Immunity.* 2007;26:371-381.
- 176) Batten, M. et al. Interleukin-27 limits autoimmune encephalomyelitis by suppressing the development of interleukin 17-producing T helper cells during inflammation of the central nervous system. *Nature Immunol.* 2006;7:937-945.
- 177) Kleinschek, MA et al. IL-25 regulates Th17 function in autoimmune inflammation. *J.Exp.Med.* 2007;204:161-170.
- 178) Nakae S, Nambu A, Sudo K, Iwakura Y. Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17 deficient mice. *JImmunol.* 2003;171:6173–6177.
- 179) Lubberts E, et al. Treatment with a neutralizing anti-murine interleukin-17 antibody after the onset of collagen-induced arthritis reduces joint inflammation, cartilage destruction, and bone erosion. *Arthritis.Rheum* 2004;50:650–659.
- 180) Hwang, SYKH. Expression of IL-17 homologs and their receptors in the synovial cells of rheumatoid arthritis patients. *Mol Cells.* 2005;19:180-184.
- 181) Kurasawa K, et al. Increased interleukin-17 production in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2000;43:2455-2463.
- 182) Meyers J A, et al. Blokade of TLR9 agonist-induced type I interferons promotes inflammatory cytokine IFN-(γ) and IL-17 secretion by activated human PBMC. *Cytokine.* 2006;35:235-246.
- 183) Molet S, et al. IL-17 is increased in asthmatic fibroblasts to produce cytokines. *JAllergy Clin Immunol* 2001;108:430–438.
- 184) Barczyk A, Pierzchala W, Sozanska E. Interleukin-17 in sputum correlates with airway hyperresponsiveness to methacholine. *Respir Med* 2003;97:726–733.
- 185) Bullens DM, et al. IL-17 mRNA in sputum of asthmatic patients: linking T cell driven inflammation and granulocytic influx? *Respir Res.* 2006;7:135.
- 186) Linden A. Role of interleukin-17 and the neutrophil in asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;126:179–184.

- 187)** Chen Y, Thai P, Zhao YH, Ho YS, DeSouza MM, Wu R. Stimulation of airway mucin gene expression by interleukin(IL)-17 through IL-6 paracrine/autocrine loop. *JBiolChem*.2003;278:17036–17043.
- 188)** Toda M, et al. Polarized in vivo expression of IL-11 and IL-17 between acute and chronic skin lesions. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:875–881.
- 189)** Miraglia del Giudice M, et al. Immune dysregulation in atopic dermatitis. *Allergy Asthma Proc*. 2006;27:451–455.
- 190)** Merrill JE. Proinflammatory and antiinflammatory cytokines in multiple sclerosis and central nervous system acquired immuno-deficiency syndrome. *J.Immunother*. 1992;12:167-170.
- 191)** Woodroffe MN, Cuzner ML. Cytokine mRNA expression in inflammatory sclerosis lesions: detection by non-radio-active in situ hybridization. *Cytokine*.1993;5:583-588.
- 192)** Matusiewicz D, et al. Interleukin-17 mRNA expression in blood and CSF mononuclear cells is augmented in multiple sclerosis. *Mult Scler* 1999;5:101-104.
- 193)** Zhang GX, et al. Induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in IL-12 receptor-beta2-deficient mice: IL-12 responsiveness is not required in the pathogenesis of inflammatory demyelination in the central nervous system. *J.Immunol*. 2003;170:2153-2160.
- 194)** Langrish CI, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J. Exp.Med*.2005;201:233-240.
- 195)** Cortez DM, et al. Interleukin-17 stimulates MMP1 expression in primary human cardiac fibroblasts Via p38 MAPK and ERK1/2-dependent C/EBP(beta),NF-(kappa)B, and AP_1 activation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293:3356-3365.
- 196)** Damico F M, Kiss S, Young L H. Vogt–Koyanagi–Harada disease. *Semin Ophthalmol* 2005;20:183–190.
- 197)** Chi W, et al. IL-23 promotes CD4 T cells to produce IL-17 in Vogt–Koyanagi–Harada disease. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1218–1224.
- 198)** Direskeneli GS, et al. Cytokines and chemokines in neuro-Behçet’s disease compared to multiple sclerosis and other neurological diseases. *Journal of Neuroimmunology*. 2003;145:127-134.
- 199)** Direskeneli GS, et al. Pro-inflammatory cellular immune response in Behçet’s

disease. *Rheumatol Int.*2007;27:1113-1118.

- 200) Ayaslioglu E, et al. Evidence of chronic *Chlamydia pneumoniae* infection in patients with Behçet' disease. *Scand.J.Infect.Dis.*2004;36:428-430.
- 201) Shibata K,Yamada H,Hara H,Kishihara K,Yoshika Y.Resident Vdelta 1+ gammadelta T cells control early infiltration of neutrophils after *Escherichia coli* infection via IL-17 production. *J.Immunol.*2007;178:4466-4472.
- 202) Tucker WG, Paskauskas RA. The MSMV hypothesis: Measles virus and multiple sclerosis, etiology and treatment. *Medical Hypothesis* 2008;71:682-89

ÖZGEÇMİŞ

Nurten SAYIN EKİNCİ 1980 yılında Erzincan' da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Antalya'da tamamladı. 2000 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edb.Fak.Biyoloji bölümünden Biyolog ünvanı ile mezun oldu.2005 yılında Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalına bağlı İmmünoloji programında yüksek lisans eğitimine kabul edildi. 2005 yılında aynı enstitüye Araştırma Görevlisi olarak atandı.