

Behçet Hastalarında Otoantikörlerin Araştırılması

Fulya İLHAN^{a1}, Başak Kandi COŞKUN²

¹Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı,

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

ÖZET

Amaç: Behçet hastalığı kronik, rekürrent, inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte immün sistem homeostazisinde oluşan birtakım değişikliklerin rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu düşünceden yola çıkılarak bu çalışma kapsamında aktif ve inaktif dönem Behçet hastalarında otoantikörlerin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Toplam 20 Behçet hastasının yarısı aktif yarısı ise inaktif dönemde olup 13'ü kadın, 7'si erkek idi. 20 kişilik sağlıklı kontrol grubunu ise 12 kadın, 8 erkek oluşturdu. Her iki grubun periferik kanlarında nefelometrik yöntemle ASO ve CRP değerleri incelendi. Ayrıca kanlardan serumlar ayrılarak inceleninceye kadar -200°C'de saklandı ve çalışma grubunda otoantikörler araştırıldı. Bunun için; sitoplazmik (c-ANCA) ve periferik antinötrofil sitoplazmik antikor (p-ANCA) varlığı ELİSA yöntemiyle, ANA (Antinükleer Antikor), Antimitokondriyal antikor (AMA) Liver-Kidney-Mikrozomal Antikor-1 (LKM-1) ASMA (Anti-Smooth Muscle antikor) varlığı The Binding Site Birmingham UK markalı kitler kullanılarak indirekt immün floresans (IFA) yöntemiyle araştırıldı.

Bulgular ve Sonuç: Hasta ve kontrol grubunda ANA, AMA, LKM, c-ANCA ve p-ANCA açısından pozitiflik saptanmadı. İki hastada ise ASMA pozitifliği izlendi. Hastaların ASO değerlerinde kontrollere göre belirgin yükseklik gözlenmesine rağmen hasta ve kontrol ASO değerleri normal sınırlar içerisindeydi (p<0.001). CRP düzeyleri arasında herhangi bir farklılık izlenmedi (p>0.05). ©2006, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Anahtar kelimeler: Behçet hastalığı, otoantikörler, ASMA

ABSTRACT

The Research of Autoantibodies in Behçet's Disease

Objectives: Behçet's disease is a chronic, recurrent, and inflammatory disorder. Although its etiology is unknown, it has been suggested that a variety of alterations in the homeostasis of the immunologic system may play a role in its pathogenesis. From this point of view, in this study, we aimed to research some autoantibodies in Behçet's patients with inactive and active stages of the disease.

Materials and Methods: Autoantibodies; c-ANCA and p-ANCA were searched with ELISA and ANA, AMA, LKM-1, ASMA with indirect immunofluorescence test (IFA) on peripheral blood samples of a population comprising a total of 20 Behçet's patients (13 females and 7 males) one half of which known as having active disease, and of a healthy control group of 20 individuals consisting of 12 females and 8 males. ASO and CRP values were studied with using nephelometry.

Results and Conclusion: Although ASO values of the patients were found to be significantly higher compared to that of controls (p<0.001) the levels of each of group in normal range. There is no difference CRP level (p>0.05). All autoantibodies were found to be negative, but ASMA positivity was determined in only two patients. ©2006, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Key words: Behçet's disease, autoantibody, ASMA

Behçet hastalığının patogenezi kesin olarak bilinmemekle birlikte çeşitli immünojik anormallikler ve otoimmüniteye karşı var olan eğilimin artışı söz edilebilir. Günümüzde Behçet otoinflamatuvar hastalıklar grubuna dahil edilmektedir. Bu nedenle Behçet hastalarında gelişen vaskülitin temelinde suçlanan nötrofil göçünün artması ile anti-nötrofil sitoplazmik antikörlerin (ANCA) pozitifleşmesi beklenebilir. ANCA'lar nötrofillerin granülleri içinde bulunan enzimlere karşı oluşan otoantikörlerdir. İki temel tipi bilinir; sitoplazmik türü (c-ANCA) ve perinükleer (periferik) türü (p-ANCA). c-ANCA azurofil granüllerin yapısında bulunan bir serin proteaz olan proteinaz-3'e (PR-3) karşı meydana gelen otoantikörlerle %90 oranında beraberdir ve Wegener Granulomatozuna spesifiktir (1). p-ANCA ise %80-90 miyeloperoksidaza karşıdır ve MPO-ANCA olarak da tanımlanır. Mikroskopik poliarteritis, klasik panarteritis nodosa, idiopatik glomerulonefritis, Churg-Strauss sendromu, kronik poliartritis, ülseratif kolit, crohn hastalığında

pozitifleşir ancak spesifik değildir (2).. Behçet'te c-ANCA pozitifliği saptanan vaka takdimleri vardır (3). Ancak, ANCA pozitifliğini bildiren bazı çalışmalarda, bu hastaların kliniğine genellikle glomerulonefritin eşlik ettiği görülmektedir (4). Yapılan bir çalışmada Behçet hastalarında antinükleer antikor (ANA) ve anti düz kas antikor (ASMA) pozitifliği gösterilmiştir (5). Retinal vaskülitli hastalarda yapılan başka bir çalışmada üveit rekürrensinden önce ASMA titresinin arttığı belirtilmiştir (6). Liver kidney mikrozomal antikor (LKM) ve antimitokondriyal antikor (AMA), karaciğer hastalıklarına özellikle de primer bilier siroz ve kronik aktif hepatite spesifiktirler ancak, bu antikörlerin araştırıldığı bir Behçet çalışmasına rastlanmamıştır. AMA, primer biliyer siroz ve Sjögren sendromu, Reynaud fenomeni, CREST sendromu, tiroditler ve artraljilerde de pozitif olabilmektedir. Behçet'te henüz aydınlatılmamış olan immünopatogenezi düşünülerek otoantikörlerin taranması amacıyla bu çalışma planlandı.

^a Yazışma Adresi: Dr. Fulya İlhan, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ
Tel: 0 424 2333555 Fax: 0 424 2386839 e-mail: fulhan23@yahoo.com

GEREÇ ve YÖNTEM

Uluslararası kriterlere (7) uygun olarak 10'u aktif, 10'u ise inaktif dönem Behçet hastalığı tanısıyla izlenmekte olan 20 (11 kadın, 9 erkek) hasta ve herhangi bir hastalığı olmayan 20 (12 erkek, 8 kadın) sağlıklı gönüllü kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Bu sunulan kriterlerden oral veya genital aft, paterji pozitifliği v.b bulguların herhangi birinin varlığı halinde hastalar aktif olarak değerlendirildi. Hasta grubu yaş ortalaması 35.5±10 ve hastalık süresi ise 6±2.1 yıl; sağlıklı grup yaş ortalaması ise 32±10 yılıdır. Hastalardan periferik venöz kan alınarak serumlar ayrıldı ve ASO ve CRP değerleri (Dade Behring BN-2 USA) cihazı kullanılarak nefelometrik yöntemle incelendi. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve indirekt immün floresans antikor testi (IFA) çalışmaları için serumlar -20°C'de bekletilerek bir ay içerisinde çalışıldı. Yine bu iki grupta c-ANCA ve p-ANCA varlığı Trinity Biotech New York USA) kitleri kullanılarak ELISA yöntemiyle araştırıldı. Otoantikörlerden ANA, AMA, LKM-1 varlığı (The Binding Site Birmingham UK) markalı kitler kullanılarak IFA yöntemiyle araştırıldı. Verilerin karşılaştırılması bilgisayar ortamında SPSS 11.0 istatistik programı kullanılarak Students t testi ile yapıldı. Önemlilik aralığı olarak p<0.05 kullanıldı.

BULGULAR

Hastaların ASO değerlerinde normal sınırlar üzerinde olmamakla birlikte kontrollere göre anlamlı bir yükseklik gözlemlendi (p<0.001). CRP düzeyleri arasında anlamlı bir fark izlenmedi (p>0.05). ANA, AMA, LKM-1, c-ANCA ve p-ANCA açısından pozitiflik saptanmadı. Aktif gruptaki iki hastada ASMA pozitifliği izlendi bunlardan birinin yapılan göz muayenesinde üveit atağı geçirmekte olduğu bulundu.

TARTIŞMA

Hastalığın etiyolojisi ve patogenezi halen tam olarak bilinmemektedir ancak, otoinflamatuar hastalıklar grubunda değerlendirilmektedir. Genetik, çevresel, virolojik, bakteriyel ve immünolojik faktörler suçlanmaktadır. Ayrıca, Behçet hastalarında non-infeksiyöz nötrofil aktivasyonu önemlidir ve bu Streptococcus sanguis ve Herpes simplex virus enfeksiyonu ile birlikte olabilir (8). Hastalarımızda bakteriyel izolasyon yapılmamakla birlikte aktif grupta mukozal aftların genellikle nonspesifik üstsolunum yolu enfeksiyonlarının ardından ortaya çıktığı izlendi. ASO değerlerinin normal sınırlarda olması hasta grubumuzda söz konusu bakterilerin tetikleyici bir faktör olmadığını düşündürmektedir. İnflamatuar yanıtın izlenmesinde kullanılan CRP, hasta grubumuzda yüksek bulunmadı. Bunun, hastalarda kullanılmakta olan sistemik tedavilerin etkisi nedeniyle olabileceği düşünüldü. Hastalıkta otoimmüniteye eğilimin artmış olması, araştırmacıları otoantikörlerin saptanmasına yöneltmekle birlikte, Behçet ile ilgili spesifik bir otoantikor varlığı bildirilmemiştir. Behçet hastalarında ANCA pozitifliğinin saptanma oranının düşük

olduğu ve yeterli bir tanı kriteri olarak değerlendirilemeyeceğini belirten çalışmalar vardır (9). Konca ve arkadaşlarının (10) Behçet hastalarında ANCA araştırdıkları çalışmalarında pozitifliğe rastlanmamıştır. Her ne kadar Behçet hastalarında ANCA varlığı çok fazla gösterilmemiş olsa da; ANCA'nın vaskülit patogenezinde aktif rol oynadığına dair kanıtlar vardır (11). ANCA primer küçük damar vaskülitleri için serolojik gösterge olarak kabul edilmektedir (12). ANCA, proinflamatuar sitokinlerin ve nötrofil yüzeyinde granül enzim antijenlerinin artan ekspresyonunun da etkisiyle bu antijenlere bağlanmakta ve nötrofil degranülasyonuna yol açmaktadır. Böylece küçük damar duvarlarında hasar oluşturacak proteinazlar ve reaktif oksijen ürünleri devreye girmektedir. Granül enzimleri bir yandan otoantikor oluşumuna neden olurken diğer yandan endotel hasarı yapmaktadır (1).

AMA, mitokondriyal antijenlere karşı oluşur ve pirüvat dehidrogenaz kompleksinin E2 subuniti ile reaksiyona girer ve primer bilier sirozun tanısında önemlidir. Aynı grup hastada ANA spesifitesi ise ancak %50'dir (13). LKM-1 günümüzde kronik hepatit C hastalarında, primer bilier sirozda değerli bir tanı kriteri olarak bilinmektedir (14) ancak Behçetli hastalarda söz konusu otoantikörlerin taranması ile ilgili bir yayına rastlanmamıştır. ASMA pozitifliği saptayan bir çalışmada Behçetli hastalarında böyle bir sonuç alındığı ve bunun poliklonal B hücre aktivasyonu ile ilişkilendirilebileceği belirtilmiştir. Aynı araştırmacılar Behçetli hastalarda ASMA'nın yanı sıra ANA prevalansında yüksek bulunduğunu ve kontrol grubuna göre anlamlı bir artış izlendiğini belirtmişlerdir (5). Retinal vaskülitli hastalarda yapılan bir çalışmada ise incelenen hastaların yarısının dolaşan immün komplekslerle birlikte görülen sistemik inflamatuar hastalıklarla birlikte olduğunu retinal S antijenine karşı antikorlar ve bazı kompleman anormallikleri izlendiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada üveit rekürrensinden önce birkaç hastada ASMA pozitifliği saptandığı ve bu testin, Behçetli hastalarda üveit rekürrenslerini değerlendirmede ve klinik relapsı tahmin etmekte yararlı olabileceği bildirilmiştir (6). Bizim serimizde klinik olarak aktif gruptaki iki hastamızda ASMA pozitifliğinin bulunması ve bu hastalardan birisinin yapılan göz muayenesinde üveit atağı geçirdiğinin belirlenmesi sunulan verileri destekler görünmektedir. Çalıştığımız hasta gruplarında c-ANCA ve p-ANCA pozitifliğine rastlanmadı ve aynı şekilde incelenen ANA, AMA, LKM-1 otoantikörlerinden hiçbiri pozitif bulunmadı ve otoimmüniteye eğilimi destekleyecek otoantikor varlığı saptanmadı. Sadece aktif gruptaki iki hastamızda ASMA pozitifliği gözlemlendi.

Sonuç olarak Behçetli hastalarda otoimmüniteye eğilim lehinde ASMA pozitifliği dışında herhangi bir otoantikor saptanmadı. Bu sonuçla, ASMA pozitifliğini Behçet'le birebir ilişkilendirmek mümkün gözükmemektedir fakat sonucumuz üveit rekürrensleri ile ASMA pozitifliği arasında ilişki olabileceği yönündeki düşünceleri desteklemektedir. Kesin sonuçlara varmak için etiopatogenezi ortaya koyabilecek daha kapsamlı çalışmalar gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Gross WF, Schmitt WH, Csernok E. ANCA and associated diseases: Immunodiagnostic and pathogenetic aspects. Clin Exp Immunol 1993; 91: 1-12.
2. Radice A, Sinico RA. Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). Autoimmunity. 2005; 38: 93-103
3. Moises J, Torregrosa JV, Ybarra J, Oppenheimer F. Renal transplantation in a c-ANCA(+) patient with Behçet disease and rapidly progressive glomerulonephritis. Clin Nephrol. 2004 ; 61: 357-359

4. Ben Himida M, Hachicha J, Kaddour N, Makni H, Aydel FZ, Chakroun N, Bahloul Z, Ayadi H, Noel LH, Jarraya A. ANCA in Behcet's disease. *Nephrol Dial Transplant.* 1997; 12: 2465-6.
5. Taylor PV, Chamberlain MA, Scott JS. Autoreactivity in patients with Behcet's disease. *Br J Rheumatol.* 1993; 32: 908-910.
6. Graham E, Spalton DJ, Sanders MD. Immunological investigations in retinal vasculitis. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1981; 101: 12-16.
7. International study group of Behçet's disease. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. *Lancet* 1990; 335: 1078-1080
8. Suzuki Kurokawa M, Suzuki N Behcet's disease. *Clin Exp Med.* 2004; 4: 10-20
9. Olafsson S, Gudjonsson H, Selmi C, Amano K, Invernizzi P, Podda M, Gershwin ME. Antimitochondrial antibodies and reactivity to N. aromaticivorans proteins in Icelandic patients with primary biliary cirrhosis and their relatives. *Am J Gastroenterol.* 2004; 99: 2143-2146.
10. Konca K., Erken E., Özbek S., Güneşçar R. Behçet hastalığında anti-nötrofil sitoplazmik antikor (ANCA) negatifliği. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 1996; 21: 109-112
11. Charles LA, Caldas ML, Falk RJ, Terrell RS, Jennette JC. Antibodies against granule proteins activate neutrophils in vitro. *J Leukoc Biol.* 1991; 50: 539-546.
12. Lim LCL, Taylor GJ, Schitz LJ, et al. Diagnostic usefulness of antineutrophil cytoplasmic autoantibody serology. Comparative evaluation of commercial indirect fluorescent antibody kits and enzyme immunoassay kits. *Am J Clin Pathol* 1999; 111: 363-366
13. Terjung B, Spengler U. Role of auto-antibodies for the diagnosis of chronic cholestatic liver diseases. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2005; 28: 115-134.
14. Benson GD, Kikuchi K, Miyakawa H, Tanaka A, Watnik MR, Gershwin ME. Serial analysis of antimitochondrial antibody in patients with primary biliary cirrhosis. *Clin Dev Immunol.* 2004; 11: 129-133.

Kabul Tarihi: 22.11.2005