

Behçet Hastalığında Sinoviyal Sıvı Sitokin Düzeyleri ve Erozyon Gelişimi ile İlişkisi

Dr. İhsan ERTEMLİ, Dr. Sedat KIRAZ, Dr. Meral ÇALGÜNERİ

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı
ANKARA

- ✓ Son yıllarda kırık ve kemik dokusunda erozyon gelişiminde sitokinlerin önemli rol oynadığı gösterilmiştir. RA'de erozyon gelişimi karakteristik bir bulgu iken, periferik artiritin sık görüldüğü BH'nda erozyon nadiren görülmektedir. Ayrıca BH'nda sinoviyal sıvı sitokin düzeylerini gösteren bir çalışma bugüne kadar yapılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada BH'nda sinoviyal sıvı sitokin içeriklerini belirleyerek RA ve OA'lı hastalardaki bulgularla karşılaştırmayı amaçladık.

Çalışmaya ortalama yaşları sırası ile 32±9, 43±10 ve 59±4 olan 14 BH (11 erkek, 3 kadın), 15 RA (3 erkek, 12 kadın) ve 15 OA (2 erkek, 13 kadın) olmak üzere toplam 44 hasta alındı. Hasta gruplarında rutin romatolojik incelemeyi takiben artrosentez yapılarak sinoviyal sıvı örnekleri elde edildi. Tüm hastaların sinoviyal sıvı örneklerinde ELİSA yöntemiyle interlökin-1 beta (IL-1β), tümör nekrozis faktör alfa (TNF-α), interlökin-8 (IL-8), solubl interlökin-2 reseptörü (sIL2R), transforming growth faktör beta (TGF-β) ve interlökin-1 reseptör antagonisti (IL-1ra) düzeyleri çalışıldı. BH ve RA'de sinoviyal sıvı IL-8 düzeyleri OA grubundan yüksekti (sırasıyla p<0.05 ve p<0.001) ancak RA ve BH grupları arasında fark yoktu. TNF-α düzeyleri incelendiğinde RA grubunda diğer iki gruba göre yüksekken, BH ve OA grupları arasında fark olmadığı gözlemlendi. IL-1β, sIL2r, TGF-β ve IL-1ra düzeyleri ise RA grubunda diğer iki gruba göre yüksekti (RA vs OA IL-1ra p<0.001, p<0.05 diğer hepsi için). Ayrıca bu sitokinlerin sinoviyal sıvı düzeyleri BH grubunda OA grubuna göre yüksek olarak saptandı (p<0.05 hepsi için). Sinovit süreleri karşılaştırıldığında RA grubunda ortalama sinovit süresinin diğer iki gruba göre anlamlı derecede (p<0.001) yüksek olduğu görüldü.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre BH'nda erozyon gelişiminin nadir oluşunda kısa sinovit süresi, kırık yıkımında önemli rolleri olan IL-1β ve TNF-α düzeylerinin düşüklüğü ve kırık yıkımına karşı koruyucu rolleri olan TGF-β ve IL-1ra gibi sitokinlerin BH sinoviyal sıvısında varlığının birlikte rol oynadığı düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: Behçet Hastalığı, sinoviyal sıvı, sitokinler

- ✓ **Synovial Fluid Cytokine Levels in Behçet's Disease**

Recently cytokines have been shown to play important roles in the development of erosions of cartilage and bone. Although peripheral arthritis is common in Behçet's Disease (BD), erosions which are characteristic features of rheumatoid arthritis (RA) are rare. Moreover synovial fluid (SF) cytokine levels in BD has not been studied yet. Accordingly, in this study we investigated the SF cytokine levels in BD and compared them with RA and osteoarthritis (OA) synovial fluid levels.

Fourteen patients with BD, 15 patients with RA and 15 patients with OA were included in the study and mean ages of the groups were 32±9 years, 43±10 years and 59±4 years respectively. Following a routine rheumatologic examination, SF specimens were collected from each patient with artrocentesis. SF levels of interleukin-1 beta (IL-1β), tumour necrosis factor alfa (TNF-α) interleukin-8 (IL-8), solubl interleukin-2 receptor (sIL-2R), transforming growth factor beta (TGF-β) and interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) were investigated with ELISA method.

SF levels of IL-8 were higher in the BD and RA groups when compared with OA group ($p<0.05$ and $p<0.001$ respectively) while there was no significant difference between BD and RA groups. TNF- α level was higher in RA group than both of the other groups. IL-1 β , sIL-2R, TGF- β and IL-1ra levels were all higher in the RA group when compared with BD and OA groups ($p<0.001$ for RA vs OA, $p<0.05$ for all other parameters). Similarly in the BD group they were higher than OA group ($p<0.05$ for all). The mean duration of synovitis was significantly longer in RA group ($p<0.01$).

In conclusion, probably relatively short duration of synovitis and lower levels of IL-1 β , TNF- α and the presence of TGF- β and IL-1ra in the synovial fluid of BD are all responsible for the nonerosive nature of BD synovitis.

Key words: Behçet's Disease, synovial fluid, cytokines

GİRİŞ

Behçet hastalığı (BH) ilk defa 1937 yılında bir Türk dermatoloğu olan Prof.Dr.Hulusi Behçet tarafından tekrarlayan oral, genital ülserler ve hipopiyonlu iridosiklit olarak tanımlanmış ve literatürde de onun adıyla anılmıştır⁽¹⁾. İlerleyen yıllarda hastalığın diğer organ sistemlerini de tuttuğu ortaya konmuş ve temel patolojisi vaskülit olan sistemik bir hastalık olarak kabul edilmiştir.

Son yıllarda hastalığın tanısı için kullanılan uluslararası çalışma grubu kriterleri (ISG) arasında yer almamasına rağmen artriti, BH'nin sık karşılaşılan bir bulgusudur⁽²⁾. Hastaların yaklaşık %50'sinde görülür ve sıklıkla mono veya oligoartiküler alt ekstremitte artriti şeklindedir⁽³⁾. Sinoviyal sıvı incelemesinin yapıldığı az sayıda çalışmada BH eklem sıvısının inflamatuvar nitelikte olduğu bildirilmiştir⁽⁴⁾. Ancak inflamatuvar bir artropati olmasına rağmen erozyon gelişimi nadiren görülmektedir⁽⁵⁾.

Son yıllarda inflamatuvar artropatilerde erozyon gelişiminde sitokinlerin önemli rol oynadığı yapılan çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir. Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) ve interlökin-1 beta'nın (IL-1 β) proteoglikan kaybını arttırmak, metalloproteinaz ve prostoglandin sentezini arttırmak gibi çeşitli mekanizmalarla eroziv değişikliklerin ortaya çıkmasına neden olabilecekleri gösterilmiştir^(6,7). Öte yandan interlökin-1 reseptör antagonisti (IL-1ra), IL-4, IL-10 ve transforming growth

faktör beta (TGF- β) gibi bazı sitokinlerin eklem hasarına karşı koruyucu rol oynayabileceği ileri sürülmektedir^(8,9). IL-8, inflamasyonun önemli bir göstergesi olan polimorfonükleer lökositler (PMNL) için temel uyaran olması ve solubl IL-2 reseptörü (sIL-2R)'de T lenfosit aktivasyonunun değerli bir göstergesi olması nedeniyle son yıllarda inflamatuvar artropatilerde varlığı araştırılan önemli sitokinlerdir^(10,11).

Behçet Hastalığı'nda eklem sıvısında bulunan sitokin düzeyleri ve bunların eklem hasarı ile ilişkisi hakkında yeterli bilgi mevcut değildir. Bu çalışmada Behçet Hastalığı'nda görülen sinovitte eklem hasarı ile ilgili olabilecek sinovit süresi, sinoviyal sıvının hücresel özellikleri ve eklem sıvısı sitokin içeriklerinin (TNF- α , IL-1 β , IL-1ra, TGF- β , IL-8 ve sIL-2R) saptanarak, eroziv artropatilerin prototipi olan romatoid artriti ve non-inflamatuvar nitelikte sinoviyal sıvı ile karakterize osteoartritli hastaların eklem sıvıları ile karşılaştırılması ve erozyon gelişimi ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji Bölümüne başvuran 14 BH (11 erkek, 3 kadın), 15 RA (3 erkek, 12 kadın) ve 15 OA (2 erkek, 13 kadın) olmak üzere toplam 44 hasta incelendi. Hasta gruplarında ortalama yaşlar sırası ile 32 ± 9 , 43 ± 10 ve 59 ± 4 yıl idi. BH'li tüm hastalar ulus-

lararası çalışma grubu (ISG) ve RA'li tüm hastalar American Rheumatism Association (ARA) kriterlerine uygundu⁽¹²⁾. Tüm hastalarda detaylı öykü ve romatolojik sorgulamayı takiben sistemik fizik muayene ve lökomotor sistem muayenesi yapıldı. Duyarlı, şiş eklem sayısı ve eklemlerdeki inflamasyon bulguları kaydedildi. RA'li hastalarda sabah tutukluğu süresi dakika olarak belirlendi. Dosya kayıtları ve öykü ile hastalardaki hastalık süresi ve aktif inflamasyonu olan diz eklemlerindeki sinovit süreleri belirlendi.

Behçet Hastalığı olan 4 hasta bölümümüze ilk defa akut artrit yakınmasıyla başvuran hastalardı ve hiç ilaç kullanmamışlardı. Dokuz hasta 1-1.5 mg/gün kolşisin tedavisi ve 1 hasta kolşisine ek olarak aylık 1.2 milyon ünite benzatin penisilin tedavisi almaktaydı. İmmünsupresif, steroid ve non steroid antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanan hasta yoktu. RA'li hastalardan 3'ü ilaç kullanmamakta, 5'i yalnız NSAİİ, 3'ü NSAİİ+klorakin, 4'ü NSAİİ+salazopirin kullanmaktaydı. OA'li hastalardan 10'u hiç ilaç kullanmamış, 5'i NSAİİ kullanmakta olan hastalardı.

Tüm hastalarda sedimentasyon, tam kan sayımı (otoanalizer ile), idrar tetkiki, C-reaktif protein (CRP) ve romatid faktör (RF) (her ikisi de nefelometrik yöntemle kantitatif olarak), biyokimya tahlilleri rutin olarak çalışıldı. Ayırıcı tanı için gerek görülen hastalarda anti nükleer antikor ve diğer otoantikörler bakıldı. Tüm hastalarda postero-anterior (PA) akciğer, iki yönlü lumbosakral, sakro-ilyak, PA bilateral el, iki yönlü bilateral ayak ve PA diz grafileri çekilerek değerlendirildi. El, ayak ve diz grafilerinde erozyon varlığı not edildi. RA'li hastaların hepsi sero pozitif ve eroziv hastalığı olan hastalardı.

Sinoviyal sıvı örnekleri aktif inflamasyon bulgusu olan diz eklemlerinden elde edildi. Steril teknikle medial yaklaşımla diz eklemine girilerek elde edilen sinoviyal sıvılar

ayırıcı hücre sayımları için ml başına 50 Ü heparin içeren heparinli tüplere, diğer incelemeler için EDTA'lı tüplere ayrıldı. Artrosentez işlemi sonrası hiçbir hastada komplikasyon gözlenmedi. Tüm sinoviyal sıvı örneklerinde aynı gün direk mikroskopi ile beyaz küre sayıları saptandı ve Wright boyası ile ayırıcı hücre sayımları, Gram boyası ile mikroorganizma araması yapıldı. Yine tüm sinoviyal sıvı örneklerinden kültürler alınarak enfeksiyöz nedenler ekarte edildi. Sitokin çalışmaları için EDTA'lı tüplere alınan sinoviyal sıvı örnekleri oda sıcaklığında 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek hücrelerden arındırıldı ve çalışılana kadar -40 °C'de saklandı. Serum sitokin düzeyleri için eşzamanlı kan örnekleri alınarak aynı işlemlerden geçirildikten sonra aynı şekilde saklandı. Diürenal varyasyondan kaçınmak amacıyla tüm sinoviyal sıvı ve serum örnekleri sabah saatlerinde alındı.

Elde edilen sinoviyal sıvı örneklerinde TNF- α , IL-1 β , IL-8, sIL-2R, IL-1ra ve TGF- β düzeyleri ticari olarak bulunan kitlerle 'enzym linked immunosorbent assay' (ELISA) yöntemiyle çalışıldı. TNF- α düzeyleri human TNF- α ELISA kit (Quantikine Immunoassays, R&D systems, HSTA50, Minneapolis, USA) sistemi kullanılarak çalışıldı. Kitin sensitivite değeri 4.4 pg/ml, range değeri 15.6-1000 pg/ml idi. IL-1 β düzeyleri human IL-1 β ELISA kit (Quantikine Immunoassays, R&D systems, BLB50, Minneapolis, USA) ile çalışıldı. Kitin sensitivite değeri 0.3 pg/ml, range değeri 3.9-250 pg/ml idi. IL-8 düzeyleri human IL-8 ELISA kit (Quantikine Immunoassays, R&D systems, D8000, Minneapolis, USA) ile çalışıldı. Kitin sensitivite değeri 4.7 pg/ml, range değeri 94-6000 pg/ml idi. sIL-2R düzeyleri human sIL-2R ELISA kit (Bender MedSystems, Vienna, Austria) kiti ile çalışıldı. Bu kitin sensitivite ve range değerleri sırası ile 36 pg/ml ve 0.08-5000 pg/ml idi. IL-1ra

düzeyleri human IL-1ra ELISA kit (Quantikine Immunoassays, R&D sytems, DRA00, Minneapolis, USA) ile çalışıldı. Kitin sensitivite değeri 6.5 pg/ml, range değeri 46.9-3000 pg/ml idi. TGF-β1 düzeyleri human TGF-β1 ELISA kit (Quantikine Immunoassays, R&D sytems, DB100 Minneapolis, USA) kiti ile çalışıldı. Bu kitin sensitivite ve range değerleri sırası ile 5 pg/ml ve 31.2-2000 pg/ml idi. Kullanılan kitlerin hepsi diğer sitokinlerle kros-reaksiyon vermeme özelliğine sahipti. Tüm sitokin testleri üretici firma önerilerine uygun şekilde ve duplike olarak uygulandı.

Çalışılan tüm parametrelerin dağılımlarının normal olup olmadığı Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi ve sitokinlerin normal dağılmadığı gözlemlendi. Çalışılan parametrelerde gruplar arası fark olup olmadığı Kruskal Wallis varyans analizi ile incelendikten sonra gruplar arası ikili karşılaştırmalar dağılımın normal olmadığı sitokinler için Mann Whitney-U testi ile, çalışılan diğer parametrelerde student t testi ile yapıldı. Korelasyonlar için Spearman korelasyon analizi uygulandı. Tüm testler bilgisayarda 'Statistical Programme for Social Science (SPSS) for Windows 3.1' programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Bu çalışmada incelenen hasta gruplarının cins ve yaşları arasında fark olduğu için (BH:32±9, RA:43±10 ve OA:52±8) (p<0.001) çalışılan tüm parametrelerin cinsiyet ve yaşla korelasyonuna bakıldı ve hiç bir parametre cinsiyet ve yaşla korelasyon göstermediği için cins ve yaş etkisi ihmal edildi.

Behçet Hastalığı grubu yaşları 18-55 arasında değişen, ortalama yaşı 32±9 olan 11 erkek ve 3 kadından oluşmaktaydı. Artrit atakları hastaların 7'sinde ilk artrit atağı, 5'inde ikinci artrit atağı ve 2'sinde üçüncü

artrit atağı şeklinde idi. Bu hastaların hepsinde monoartiküler diz eklemi tutulumu vardı. Ortalama hastalık süresi 6.4±5.0 yıl ve ortalama sinovit süresi 2±1.5 aydı. Hastaların hiç birinde immünesupresif veya steroid tedavisini gerektiren santral sinir sistemi tutulumu, ağır göz tutulumu, vasküler tutulum, pulmoner tutulum gibi hayati organ tutulumu yoktu. İki hastada önceden geçirilmiş akut anterior üveit, iki hastada episklerit öyküsü mevcuttu ancak bu hastalar da çalışmanın yapıldığı sırada immünesupresif ilaç kullanmamaktaydı. Behçet hastalarının karakteristikleri Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo I. Behçet Hastalarının Klinik Bulguları

Behçet Semptomu	Sayı	%
Oral aft	14	100
Genital ülser	10	71
EN* ve papülo-püstüler lezyonlar	9	64
Göz bulgusu	4	29
Paterji testi pozitifliği	6	43

*Ritchie artiküler indeks

Romatoid artrit grubu yaşları 36-60 arasında değişen, ortalama yaşları 43±10 olan 4 erkek ve 11 kadın hastadan oluşmakta idi. Hastaların hepsinde RA için karakteristik olan el-ayak küçük eklemleri tutulumu yanısıra diz eklemlerinde aktif sinovit bulguları mevcuttu. Diz ekleminde aktif inflamasyon bulgusu 10 hastada bilateral, 5 hastada unilateraldi. 4 hastada diz eklemi semptomları ilk defa ortaya çıkarken 11 hastada aktif inflamasyon bulguları devam eden kronik sinovit şeklindeydi. Ortalama hastalık süresi 9.2±6.5 yıl ve diz eklemindeki ortalama sinovit süresi 20.7±5.6 aydı. Hastaların hepsi RF pozitif olan ve el-ayak grafilerinde eroziv değişiklikleri olan hastalardı.

3 hastanın (%20) diz grafisinde erozyon gelişimi mevcuttu. Romatoid nodül 5 (%33.3) hastada saptandı. Hastalarda RA'nin diğer ekstra artiküler bulgularına rastlanmadı. RA grubunun özellikleri Tablo II'de gösterilmiştir.

Tablo II. Romatoid Artrit Gurubu Özellikleri

Hasta sayısı	15
Yaş	43±10
Cins (E/K)	4/11
Hastalık süresi (yıl)	9.2±6.5
RF titresi	110±90
Sabah tutukluğu (dk)	65±45
RAI*	16±8
Romatoid nodül	5/15

*Ritchie artiküler indeksi

Osteoartrit grubu yaşları 55-67 arasında değişen ve ortalama yaşı 52±8 olan 3 erkek, 12 kadın hastadan oluşmaktaydı. Hastaların 3'ünde hipertansiyon öyküsü mevcuttu. Bunun dışında diabetes mellitus, hiperlipidemi gibi metabolik hastalığı olan hasta mevcut değildi. Bu grupta ortalama hastalık süresi 4.8±2.8 yıl ve diz eklemindeki ortalama sinovit süresi 2.0±1.7 aydı.

Sinovit süreleri karşılaştırıldığında RA grubunda ortalama sinovit süresinin diğer iki guruba göre daha fazla olduğu görüldü (p<0.001).

Tablo III. Gruplarda Sinoviyal Sıvı Özellikleri

	BH	RA	OA
BK (/mm ³)	6900±5400 ^a	10100±5500 ^a	1500±750
PMNL (%)	74±5 ^a	78±6 ^a	61±6
LDH (IU/ml)	465±215 ^b	716±394 ^c	248±96
Protein (g/dl)	4.8±0.8 ^a	4.9±0.9 ^a	3.3±0.8
Glc (g/dl)	58±28	34±11 ^d	68±12

a: p<0.05 RA-BH vs OA, b: p<0.05BH vs OA, c: p<0.05 RA vs BH, d: p<0.05RA vs BH-OA

Sinoviyal sıvı incelemelerine bakıldığında total beyaz küre sayısı, PMN oranları ve total protein düzeylerinin BH ve RA gruplarında OA grubuna göre yüksekken bu iki grup arasında fark olmadığı görüldü. LDH düzeyi RA grubunda diğer iki gruptan yüksek ve BH grubunda da OA grubundan yüksekti. Sinoviyal sıvı glukoz düzeyi ise RA grubunda diğer iki gruba göre düşükken, BH ve OA grupları arasında fark yoktu. Bu bulgular Tablo III'de gösterilmiştir.

Sitokin düzeyleri normal dağılmadığı çok düşük ve çok yüksek değerler içerdiği için değerler median ve inter quartil range (IQR) olarak ifade edildi.

Sinoviyal sıvı sitokin düzeyleri karşılaştırıldığında IL-1 β , IL-1ra, TGF- β ve sIL-2R düzeylerinin RA grubunda diğer iki gruptan yüksek olduğu, BH grubunda da OA grubundan daha yüksek olduğu, TNF- α düzeyinin RA grubunda diğer iki gruptan yüksek olduğu ancak BH ve OA grupları arasında fark olmadığı saptandı. IL-8 düzeyinin ise BH ve RA gruplarında OA'den yüksek olduğu, BH ve RA grupları arasında ise fark olmadığı gözlemlendi (Tablo IV). RA ve BH gruplarında IL-8 ve IL-1ra düzeylerinin sinoviyal sıvı PMNL sayısı ile korelasyon gösterdiği saptandı. Yine bu iki grupta IL-8 ve IL-1ra düzeyleri arasında korelasyon vardı. Çalışılan sitokinler ve diğer parametreler arasında başka korelasyon varlığı gözlenmedi.

Tablo IV. Gruplarda Sinoviyal Sıvı Sitokin Düzeyleri

	BD	RA	OA
IL-1- β (pg/ml)	3.4 (66.5) ^{a,b}	67.0 (147.5) ^c	0.9 (1.7)
TNF- α (pg/ml)	4.4 (64.1) ^a	360.0 (380.0) ^c	4.4 (18.6)
IL-1ra (pg/ml)	66.0 (600.5) ^{a,b}	643.0 (904.0) ^d	22.0 (8.0)
sIL-2r (pg/ml)	1875.0(445.0) ^{a,b}	2770.0 (1470.0) ^c	1210.0 (390)
IL-8 (pg/ml)	2300.0 (5400.0) ^b	6000.0 (4700.0) ^d	25.0 (145.0)
TGF- β (pg/ml)	168.5 (704.5) ^{a,b}	780.0 (1275.0) ^c	8.0 (30.0)

a: p<0.05 BH vs RA , b: p<0.05 BH vs OA, c: p<0.05 RA vs OA, d: p<0.001 RA vs OA

TARTIŞMA

Behçet Hastalığı'nın oldukça karakteristik bir eklem tutulum şekli vardır. Hastaların yaklaşık olarak yarısında ortaya çıkan artrit inflamatuvar nitelikte, sero (-), sıklıkla mono veya oligoartiküler tipte ve ataklar şeklinde tekrarlama özelliğindedir. Genellikle istirahat ve nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçlarla 1-2 haftada klinik düzelme sağlanabilirse de bazı hastalarda tekrarlayan artrit atakları önemli bir tedavi sorununu oluşturur. Bu hastalarda sinoviyal hipertrofi gibi bulgular sekel olarak kalabilirse de erozyon gelişimi çok nadir olarak görülür.⁽¹³⁾ İnflamatuvar tipte bir artropati olmasına rağmen neden erozyon gelişmediği bilinmemektedir. BH sinovitinin klinik özellikleri oldukça iyi bilinmesine karşın sinoviyal sıvı özellikleri yeterince çalışılmamıştır. Yapılan az sayıda çalışmada sinoviyal sıvının inflamatuvar nitelikte olduğu gösterilmiştir⁽¹⁴⁾ ancak bizim bilgilerimize göre sinoviyal sıvı sitokin içerikleri bugüne kadar çalışılmamıştır.

Behçet Hastalığı patogeneğinde immüno- lojik mekanizmaların etkili olabileceği görüşü ortaya konduktan sonra BH serum ve hücre kültürlerinde çeşitli sitokinlerin varlığı araştırılmış ve çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. TNF, IL-1, IL-8, sIL-2R, IL-6 düzeylerinin BH'de yüksek olduğu, BH olan hastalardan

elde edilen monositlerin invitro kültürlerde artmış IL-8 ve IL-6 ürettiklerini bildiren çalışmalar yapılmıştır^(15,16). Ancak bunların tersini savunan araştırmalar da vardır. Erken ve arkadaşları TNF- α düzeyini BH'de kontrol grubundan düşük bulmuşlar ve bunun koruyucu bir rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir⁽¹⁷⁾. Hamzoui ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada serum IL-1 ve TNF düzeyleri kontrol grubu ile aynı bulunurken, bu hastalardan alınan hücrelerin invitro koşullarda daha yüksek oranda IL-1 ve TNF üretimi yaptıkları gösterilmiştir⁽¹⁸⁾. Yazıcı ve arkadaşlarının çalışmasında sIL-2R düzeyleri yüksek bulunmuş ancak bunun spesifik olarak T hücre aktivasyonunu göstermekten çok hastalığın inflamatuvar doğasından kaynaklanabileceği dile getirilmiştir⁽¹⁹⁾.

Bu çalışma Behçet Hastalığı sinovitinde sitokin düzeylerini araştıran bildiğimiz ilk çalışmadır. BH sinoviyal sıvılarında TNF- α ve IL-1 β düzeylerinin RA ile kıyaslandığında belirgin olarak düşük oluşu dikkat çekmektedir. Bu güne kadar yapılan çeşitli çalışmalarda RA sinoviyal hücreleri tarafından spontan olarak TNF- α , IL-1 β , TGF- β ve GM-CSF üretildiği gösterilmiştir. İnsitu hibridizasyon ve immünohistokimya tetnikleriyle TNF- α ve IL-1 β üretiminin RA sinoviyumunda lokal olarak yapıldığı histolojik olarak gösterilmiş ve monosit/makrofaj serisi hücrelerin sinovi-

yumdaki TNF- α ve IL- β 'nin temel kaynağı olduğu ortaya konmuştur^(20,21). RA sinoviyal sıvısında sitokin düzeyleri incelendiğinde RA eklem sıvılarının % 50'sinden fazlasında TNF- α aktivitesi olduğu ve genellikle seropozitif veya aktif hastalarda bulunduğu saptanmıştır⁽²²⁾. IL-1 β varlığı ise tartışmalıdır. Biyoassaylerle yapılan çalışmalarda spesifik inhibitörler ve immünglobulinlerle etkileşimden dolayı yanlış negatif veya pozitif sonuçlar alınabilmektedir. 1983 yılında Eastgale ve arkadaşları tarafından sinoviyal sıvıda IL-1 β varlığı gösterilmiştir⁽²³⁾. Sonraki yıllarda sensitif ELİSA tekniği ile de IL-1 β varlığını gösteren çalışmalar yapılmıştır. Rooney ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada sinoviyal IL-1 β düzeyinin lokal hastalık aktivitesi ile korele olduğunu ileri sürmüşlerdir⁽²⁴⁾. Bu sitokinlerin sinerjistik olarak kıkırdak proteoglikan yıkımını arttırdığı, sentezini inhibe ettiği, PGE2 ve kollajenaz üretimini arttırdığı ve bu mekanizmalarla kıkırdak ve kemik dokusunda yıkıma yol açtığı bilinmektedir. BH'de sinoviyal sıvı TNF- α ve IL-1 β düzeylerinin düşüklüğü erozyon gelişmemesinde önemli bir faktör olarak değerlendirilebilir.

İnterlökin-1 reseptör antagonisti IL-1'in spesifik reseptör antagonistidir. IL-1'in her iki reseptörüne de hücreyi aktive etmeden bağlanır ve IL-1'in kompetitif inhibitörü olarak rol oynar, IL-1'e bağlanmaz⁽²⁵⁾. Yapılan çalışmalarda IL-1ra'nin, IL-1'in insan fibroblastlarında PGE2 ve kollajenaz sentezi üzerine stimulan etkilerini önleyebildiği gösterilmiştir⁽²⁶⁾. Ayrıca hayvan deneylerinde IL-1ra'nin nazal kondrositlerde IL-1 ile uyarılan kollajenaz, jelatinaz, kazeinaz ve PGE2 üretimini inhibe ettiği ve fare kafatasında IL-1'e bağlı PGE2 üretimini ve kemik rezorbsiyonunu baskılayabildiği bildirilmiştir⁽²⁷⁾. IL-1'e bağlı kıkırdak yıkımı IL-1ra tarafından önlenilmektedir⁽²⁸⁾. RA sinoviyal sıvılarında da IL-1ra aktivitesi saptanmıştır. Bazı çalış-

malarda sinoviyal sıvı PMNL sayısı ile korele bulunmuş, esas olarak monosit-makrofaj serisi hücreler tarafından üretilmesine rağmen sinoviyal sıvı PMNL'leri tarafından da üretilbildiği gösterilmiş ve bunun sinoviyal sıvıdaki IL-1ra düzeyine katkıda bulunabileceği belirtilmiştir⁽²⁹⁾. IL-1'e bağlı proteaz salınımının RA'de doku yıkımında önemli rol oynadığı göz önünde bulundurulursa IL-1ra'nin RA ve diğer inflamatuvar artritlerde koruyucu rol oynayabileceği açıktır. Çalışmamızda IL-1ra düzeyi BH sinoviyal sıvısında RA'e göre düşük miktarda olmakla beraber OA'li hastalardan yüksek oranda bulunduğu ve % 60 hastada pozitif olduğu saptanmıştır. Son yıllarda RA'de yüksek düzeyde IL-1ra varlığına rağmen aktif sinovitin ve doku hasarının sürmesinin nedenleri araştırılırken IL-1 aktivitesini baskulamak için gerekli IL-1ra aktivitesinin 10-100 kat olması gerektiği ileri sürülmüştür⁽³⁰⁾. Bugün RA' de doku hasarının ortaya çıkmasında temel olarak IL-1/IL-1ra oranının önemli rolü olduğu kabul edilmektedir. Çalışmamızda bu oran RA'li hastalarda 10, BH'li hastalarda 20 civarında bulunmuştur. Diz ekleminde erozyonu olan RA'li hastalarımız incelendiğinde bu üç hastadaki hastalık süresi, diz eklemindeki sinovit süresi, TNF- α ve IL-1 β düzeylerinin çalışma grubundaki en yüksek değerleri oluşturdukları, buna karşılık bu hastalardaki IL-1ra ve TGF- β düzeylerinin ise ortalama değerlere yakın olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu hasta sayısı az olmasına rağmen koruyucu ve agresif faktörler arasındaki dengenin ve uzun inflamasyon süresinin erozyon gelişiminde önemli olabileceğini göstermektedir. Yine BH'li hastalarda IL-1/IL-1ra oranının nispeten yüksek oluşu erozyon gelişimine karşı koruyucu bir faktör olarak değerlendirilebilir.

Transforming growth faktör- β çok çeşitli etkileri olan bir sitokindir. Önemli bir görevi

ekstraselüler matriks sentezini stimüle etmek ve yıkımını inhibe etmektedir⁽³¹⁾. Çok sayıda hücrede kollajen ve fibronektin gen transkripsiyonunu arttırdığı, proteaz sekresyonunu azalttığı, proteaz inhibitörlerinin sekresyonunun arttırdığı ve IL-1 etkilerini antagonize ettiği gösterilmiştir^(32,33). RA'li hastalarda yapılan çalışmalarda sinoviyumda ve sinoviyal sıvıda yüksek konsantrasyonlarda TGF- β aktivitesi saptanmıştır⁽³⁴⁾. Bizim çalışmamızda BH sinoviyal sıvılarında RA'e göre düşük olmakla beraber önemli miktarda (median 168 pg/ml) TGF aktivitesi olduğu görülmektedir. Bu bulgu IL-1ra ile beraber BH 'de erozyon gelişimine karşı koruyucu önemli bir faktördür.

İnterlökin-2 temel olarak aktif T lenfositlerince üretilir ve hücre membranına interlökin-2 reseptörü (IL-2R) ile bağlanır. IL-2'nin reseptöre bağlanmasıyla T lenfosit proliferasyonuna ve T lenfosit yüzeyinde IL-2R ekspresyonuna yol açan sinyal uyarısı ortaya çıkar. Serum IL-2 düzeyleri çok düşüktür ancak aktive T lenfositlerden ortama salınan IL-2R düzeyleri (sIL-2R) saptanabilir⁽³⁵⁾. RA' de yapılan çalışmalarda serum sIL-2R düzeylerinin önemli derecede artmış olduğu gösterilmiş ve bazı çalışmalarda hastalık aktivitesi ile korele olduğu ileri sürülmüştür⁽³⁶⁾. Yine değişik çalışmalarda sIL-2R düzeyinin RA'de hastalık progresyonun izlenmesinde kullanılabileceği, prognostik olabileceği ve tedavi cevabı ile değişebileceği bildirilmiştir^(37,38). sIL-2R düzeyleri T lenfosit aktivasyonun değerli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Ancak her zaman T lenfosit aktivasyonunu göstermez. Bazı araştırmacılarca inflamasyona sekonder olarak da yükselebileceği belirtilmiştir. Çalışmamızda OA'li hastalarda da önemli miktarda sIL-2R aktivitesi saptandığından BH sinoviyal sıvılarında saptanan sIL-2R aktivitesinde bu şekilde yo-

rumlanması daha uygun olacaktır.

IL-8 temel olarak mononükleer hücrelerce sentezlenmesine rağmen sinoviyal sıvıda bol miktarda bulunan PMNL'lerin eklem sıvısında bulunan IL-8 düzeyine katkıda bulunduğu ve eklem sıvısındaki nötrofillerin % 40'ının birikiminden bu sitokinin sorumlu olduğu ileri sürülmüştür⁽³⁹⁾. Ayrıca RA sinoviyal sıvı mononükleer hücrelerinin IL-8 sentezleyebildiği ve bu olayın IL-4 ve IL-10 ile baskılanabildiği gösterilmiştir⁽⁴⁰⁾. IL-8 in vitro ortamda potent bir nötrofil uyarıcıdır. Nötrofillerde şekil değişikliği, kemotaksis, hücre içi serbest kalsiyum miktarında artma, "respiratuvar burst", azurofilik ve spesifik granüllerin ve sekretuar veziküllerin ekzositozunu uyarır⁽⁴¹⁾. RA eklem sıvısında bol miktarda bulunan nötrofiller ve bunlardan salınan yıkıcı enzimlerin RA'de doku yıkımındaki olası rolleri nedeniyle son yıllarda RA eklem sıvılarında IL-8 düzeyleri çalışılmış, RA eklem sıvısında IL-8 düzeyi yüksek bulunmuş ve RA sinoviyal hücre kültürlerinde IL-8 mRNA'sı varlığı gösterilmiştir⁽⁴²⁾. RA eklem sıvısındaki PMNL'ler ile IL-8 düzeyinin korele olduğunu ve olmadığını ileri süren sonuçlar elde edilmiştir⁽⁴³⁾. Osteoartritli hastaların eklem sıvıları ile karşılaştırıldığında RA' de IL-8 düzeyi yüksek bulunurken, diğer inflamatuvar artropatilerle karşılaştırıldığında fark olmadığı ileri sürülmüştür⁽⁴⁴⁾. Çalışmamızda BH'de sinoviyal sıvı IL-8 düzeyi RA ile eşdeğer bulunmuş ve IL-1ra ve IL-8'in sinoviyal sıvı PMNL sayısı ile korele olduğu görülmüştür. BH sinovitinde RA'e benzer düzeyde inflamasyon bulguları olmasına rağmen erozyon gelişimi ancak nadiren görülmektedir. İnflamasyon ve kırıkta yıkımının her zaman paralel seyretmediği bugüne kadar yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. İnflamasyonun bir belirleyicisi de eklem aralığında biriken PMNL sayısıdır. Nötropenik hayvanlarda antijen ile uyarılan

artrit modelinde kıkırdak yıkımı azalmaktadır. Ayrıca yine aynı modelde katepsin G ve elestaz gibi kıkırdak yıkıcı enzimleri olmayan fareler kullanıldığında kıkırdak yıkımı hala gözlenmektedir. Bu bulgular PMNL'lerin inflamasyonun başlatılması ve sürdürülmesinde etkili olmakla beraber kıkırdak yıkımında rolü olmadığını düşündürmektedir⁽⁴⁵⁾. İnflamasyonun ileri dönemlerinde PMNL'ler salgıladıkları IL-1ra ve TGF- β gibi mediatörlerle kıkırdak yıkımına karşı koruyucu rol oynayabilir. İnflamasyon ve kıkırdak yıkımının paralel seyretmediğini gösteren bir diğer çalışma IL-1 ve TGF- β ile yapılmıştır. Fare dizine IL-1 ile birlikte enjekte edilen TGF- β sinoviyal inflamasyonu, PMNL, makrofaj ve proliferen fibroblast sayısını belirgin olarak arttırmasına rağmen proteoglikan kaybını azaltmaktadır. Ayrıca NSAİİ'lerin inflamasyonu belirgin derecede azaltmalarına rağmen sitokin düzeylerine ve proteoglikan kaybına etki etmedikleri bilinmektedir.

Bu çalışmada önemli bir bulgu olarak RA ile karşılaştırıldığında BH'de sinovit süresinin belirgin olarak daha kısa olduğu ($p < 0.001$) saptanmıştır. İnflamasyon eklem hasarına yol açan temel neden olduğundan kısa sinovit süresi BH'de erozyon gelişmemesinde muhtemelen en önemli faktördür.

Çalışmamızda BH sinovitinde beyaz küre ve PMNL sayısı, IL-8 düzeyleri gibi inflamasyon parametrelerinin RA'e benzer olmasına rağmen hiçbir hastada erozyon gelişimi olmadığı görülmektedir. BH'de belirgin inflamasyona rağmen erozyon gelişmemesinde kısa sinovit süresi, düşük TNF- α ve IL-1 β düzeyleri ve nispeten korunmuş IL-1ra ve TGF- β aktivitelerinin birlikte rol oynadığı düşünülebilir.

SONUÇ

Bu çalışmada inflamatuvar bir artropati olan BH sinovitinde erozyon gelişmemesinin

nedenleri araştırılmış ve BH sinovitinde inflamasyon bulgularının ve sinovit süresinin BH'da RA'e göre daha az olduğu bulunmuştur. Yine çalışmamızın sonuçlarına göre BH sinoviyal sıvılarında önemli miktarda IL-8 ve sIL-2R aktivitesi, orta derecede IL-1ra ve TGF- β aktivitesi saptanırken, TNF- α ve IL-1 β düzeylerinin düşük olduğu görülmüştür. Bu bulguların hep beraber BH sinovitinde erozyon gelişmemesinde etkili faktörler olabileceği sonucuna varılmıştır.

Geliş tarihi : 12.04.1998

Yayına kabul tarihi : 10.06.1998

Yazışma adresi:

Dr. İhsan ERTENLİ

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

Romatoloji Bölümü

06100 Sıhhiye/ANKARA

KAYNAKLAR

1. Behçet H. Über residivierende aphthose, durch ein virus verursachte Geschwüre am Mund, am Auge und an den Genitalien. Dermatol Wochenschr 1937; 36: 1152-1157.
2. International Study Group for Behçet's disease: Criteria for diagnosis of Behçet's disease. Lancet 1990; 335: 1078-1080.
3. Yurdakul S, Yazıcı H, Tüzün Y et al. The arthritis of Behçet's disease: a prospective study. Ann Rheum Dis 1983; 42: 505-515.
4. Caporn N, Higgs ER, Dieppe PA. Arthritis of Behçet's syndrome. Br J Radiol, 1983; 56: 87-90.
5. Takeuchi A, Mori M, Hashimoto T. Radiographic abnormalities in patients with Behçet's disease. Clin Exp Rheumatol 1984; 2: 259-262.
6. Nguyen L, Dewhirst FE, Hauschka PV, et al. Interleukin-1 β stimulates bone resorption and inhibits bone formation in vivo. Lymphokine Cytokine Res 1991; 10: 15-21.
7. Dayer JM, Beutler B, Cerami A. Cachectin/tumour necrosis factor stimulates collagenase and prostoglandin E2 production by human synovial

- cells and dermal fibroblasts. *J Exp Med* 1985; 162: 2163-2168.
8. Arend WP. Interleukin-1 receptor antagonist. *Adv Immunol* 1993; 54: 167-226.
 9. Lafyatis R, Thompson NL, Remmers EF, et al. Transforming growth factor- β production by synovial tissues from rheumatoid patients and streptococcal cell wall arthritic rats: studies on secretion by synovial fibroblast-like cells and immunohistologic localization. *J Immunol* 1989; 143: 1142-1148.
 10. Seitz M, Dewald B, Gerber N, Baggiolini M. Enhanced production of neutrophil activating peptide-1/interleukin 8 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1991; 87: 463-467.
 11. Keystone EC, Snow KM, Bombardier C. Elevated soluble interleukin-2 receptor levels in the sera and synovial fluids of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 844-849.
 12. Arnet FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-324.
 13. Kastner DL. Intermittent and periodic arthritic syndromes. Behçet's syndrome. In Koopman WJ (ed) *Arthritis and allied conditions* (13th ed) Vol. 1. Philadelphia, Williams&Wilkins Co 1997; 1279-1306.
 14. Çalgüneri M, Kiraz S, Ertenli İ, et al. Characteristic of peripheral arthritis in Behçet's disease. *N Z Med J* 1997; 110: 80-81.
 15. Şahin Ş, Lawrence R, Direskeneli H et al. Monocyte activity in Behçet's disease. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 424-429.
 16. Memişoğlu H, Aksu HZS, Erken E et al. Serum interleukin-1 level in Behçet's disease. In: O'Duffy JD, Kökmen E (ed). *Behçet's disease*: New York, Marcel&Decker Inc. 1991; 387-391.
 17. Erken E, Aksu HZS, Memişoğlu H. Serum tumour necrosis factor alpha in Behçet's disease. In: O'Duffy JD, Kökmen E (ed) *Behçet's disease. Basic and clinical aspects*. New York, Marcel Decker Inc. 1991; 381-386
 18. Hamzaoui K, Hamza M, Ayed K. Production of TNF- α and IL-1 in active Behçet's disease. *J Rheumatol* 1990; 17: 1428-1429
 19. Akoğlu TF, Direskeneli H, Yazıcı H, et al. TNF, soluble IL-2R and soluble CD8 in Behçet's disease. *J Rheumatol* 1990; 17: 1107-1108
 20. Chu CG, Field M, Feldmann M, Maini RN. Localization of tumour necrosis factor- α in synovial tissues and the cartilage pannus junction in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 1125-1132.
 21. Miyasaka N, Sato K, Goto M, et al. Augmented interleukin-1 production and HLA-DR expression in the synovium of rheumatoid arthritis patients: possible involvement in joint destruction. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 480-486.
 22. Hopkins SJ, Meager A. Cytokines in synovial fluid: II. the presence of tumour necrosis factor and interferon. *Clin Exp Immunol* 1988; 73: 88-92.
 23. Eastgate JA, Symons JA, Wood NC, et al. Correlation of plasma interleukin-1 levels with disease activity in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1986; 11: 706-709.
 24. Rooney M, Symons JA, Duff GW. IL-1 beta in synovial fluid is related to local disease activity in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 1990; 10: 217-219.
 25. Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991; 77: 1627-1652.
 26. Balaovine JF, deRochemontix B, Williamson K, et al. Prostaglandin E2 and collagenase production by fibroblasts and synovial cells is regulated by urine derived human interleukin-1 inhibitor(s). *J Clin Invest* 1986; 78: 1120-1124.
 27. Arend WP. Interleukin-1 receptor antagonist. *Adv Immunol* 1993; 54: 167-226.
 28. Smith RJ, Chin JE, Sam LM, et al. Biologic effects of an interleukin-1 receptor antagonist protein on interleukin-1-stimulated cartilage erosion and chondrocyte responsiveness. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 78-83.
 29. Arend WP, Malyak M, Smith MF Jr, et al. Binding of the IL-1 α , IL-1 β , and IL-1 receptor antagonist by soluble IL-1 receptors and levels of soluble IL-1

- receptors by synovial fluid. *J Immunol* 1994; 153: 4766-4774.
30. Arend WP, Coll BP. Interaction of recombinant monocyte derived interleukin-1 receptor antagonist with rheumatoid synovial cells. *Cytokine* 1991; 3: 407-413.
 31. Sporn MB, Roberts AB, Wakefield LM, et al. Some recent advances in the chemistry and biology of transforming growth factor-beta. *J Cell Biol* 1987; 105: 1039-1045.
 32. van Beuningen HM, van der Kraan PM, Arntz OJ, et al. Protection from interleukin-1 induced destruction of articular cartilage by transforming growth factor-beta: studies in anatomically intact cartilage in vivo. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 185-191.
 33. Morales TI. Transforming growth factor-beta1 stimulates synthesis of proteoglycan aggregates in calf articular cartilage organ culture. *Arch Biochem Biophys* 1991; 286: 99-106.
 34. Miossec P, Naviliat M, D'angeac D, et al. Low levels of interleukin-4 and high levels of transforming growth factor in rheumatoid synovitis. *Arthritis Rheum* 1990; 8: 1180-1187.
 35. Rubin LA, Nelson DL. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application. *Ann Intern Med* 1990; 113: 619-627
 36. Wood NC, Symons JA, Duff GW. Serum interleukin-2 receptor in rheumatoid arthritis: a prognostic indicator of disease activity? *J Autoimmun* 1988; 1: 353-361.
 37. Luqmani R, Sheeran T, Robinson M, et al. Systemic cytokine measurements: their role in monitoring the response to therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1994; 12: 503-508.
 38. Sheldon A, Ahern MJ, Smith MD, et al. Response of soluble interleukin-2 receptor levels during gold therapy for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1994; 12: 175-178.
 39. Koch AE, Kunkel SL, Burrows JC. Synovial tissue macrophages as a source of the chemotactic cytokine interleukin-8. *J Immunol* 1991; 147: 2187-2195.
 40. Deleuran B, Iversen L, Kristensen M, et al. Interleukin-8 secretion and 15-lipoxygenase activity in rheumatoid arthritis: In vitro antiinflammatory effects by interleukin-4 and interleukin-10 but not by interleukin-1 receptor antagonist protein. *Br J Rheumatol* 1994; 33: 520-525.
 41. Zwahlen R, Walz A, Rot A. In vitro and in vivo activity and pathophysiology of human interleukin-8 and related peptides. *Int Rev Exp Pathol* 1993; 34B: 27-41.
 42. Brennan FM, Zachariae COC, Chantry D, et al. Detection of interleukin-8 biological activity in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis and production of interleukin-8 mRNA by isolated synovial cells. *Eur J Immunol* 1990; 20: 2141-2144.
 43. Redini F, Galera P, Mauviel A, et al. Transforming growth factor beta stimulates collagen and glycosaminoglycan biosynthesis in cultured rabbit articular chondrocytes. *FEBBS Lett* 1988; 234: 172-175.
 44. Symons JA, Wong WL, Palladino MA, et al. Interleukin-8 in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Scand J Rheumatol* 1992; 21: 92-94.
 45. DeVries BJ, Van Den Berg WB. Impact of NSAIDs on murine antigen induced arthritis. An investigation of anti-inflammatory and chondro protective effects. *J Rheumatol* 1989; (supp) 18: 10-18.
 46. van Beuningen HM, van der Kraan PM, Arntz OJ, et al. In vivo protection against interleukin-1 induced articular cartilage damage by transforming growth factor- β 1: age related differences. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 593-600.