

T1209

T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI

T1209/1-1

**BEHÇET HASTALIĞINDA KUTANÖZ
HİPERSENSİTİVİTE REAKSİYONUNUN
HİSTOPATOLOJİK VE İMMÜNOPATOLOJİK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Merkez Kütüphanesi

Dr. Hanife ER

Tez Yönetmeni: Doç.Dr. Ertan YILMAZ

"Kaynakça gösterilerek Tez' imden yararlanılabilir"

Antalya - 1998

İÇİNDEKİLER	Sayfa No
GİRİŞ	01- 12
GEREÇ VE YÖNTEM	13 - 17
BULGULAR	18 - 35
TARTIŞMA	36 - 41
SONUÇLAR	42 - 43
ÖZET	44
KAYNAKLAR	45 - 49

GİRİŞ VE AMAÇ

Behçet Hastalığı (BH); ilk kez 1937 yılında bir Türk dermatoloğu, Dr. Hulusi Behçet tarafından oral ve genital ülserlerle birlikte hipopyonlu üveitten oluşan üç semptomlu bir kompleks olarak tanımlanmıştır.¹

Sonraki çalışmalar hastalığın eklem, gastrointestinal, pulmoner ve santral sinir sistemi gibi tutulumlarla seyir gösteren sistemik bir hastalık olduğunu ortaya çıkarmıştır.²⁻⁴ Temel patolojisi vaskülit olan hastalık, remisyon ve relapslarla kronik bir seyir izlemektedir.^{3,4}

Erkeklerde daha sık görülen hastalığın prevalansı; Türkiye, İsrail, Yunanistan ve Kıbrıs gibi Akdeniz ülkelerinde ve Japonya, Kore, Çin gibi uzakdoğu ülkelerinde diğer ülkelere göre daha yüksektir.^{5,6} Yapılan araştırmalarda Japonya'da prevalans 1/1000 iken İngiltere'de 1/100 000'den daha az olarak saptanmıştır. Hastalığın ülkemizdeki sıklığı ise iki ayrı çalışmada sırasıyla 8/10 000 ve 37/10000 olarak bildirilmiştir.⁷ Genellikle ikinci onyılda başlayan hastalık, en sık olarak 20-40 yaşları arasında gözlenmektedir ve erkeklerde daha şiddetli klinik seyir göstermektedir.^{5,7}

Hastalığın etiyojisi tam olarak bilinmemektedir. Bugüne kadar virüsler, bakteriler, immünolojik ve çevresel faktörler, pıhtılaşma bozuklukları, hormonlar, damar endotel patolojileri ve genetik yatkınlık gibi birçok neden hastalığın etiyojisinde suçlanmıştır.^{8,9} Son yıllardaki teknolojik gelişmeler sonucunda, immün sistem elemanlarının yapı ve görevleri hakkında elde edilen yeni bilgiler; immün sistemin, hastalığın başlangıcında ya da seyrinde önemli bir rol üstlendiğine işaret etmektedir. Bugün için üzerinde en çok durulan hipotez; hastalığın, viral,

bakteriyel veya diğeri bir antijenle tetiklenen ve genetik olarak hastalığa yatkınlık gösteren kişilerde ortaya çıkan otoimmün bir reaksiyon olduğudur.^{2,10}

Hastalığın klinik bulguları çok çeşitli olup, oral ülserler hastalığın en sık ve genellikle de ilk belirtisidir. BH' nin oral ülserleri rekürren aftöz stomatit lezyonları ile benzerdir. Ancak, daha sık tekrarlar ve yaygın seyretme eğilimi gösterirler. Oral ülserler diğeri belirtiler olmaksızın tek başına yıllarca sürebilir.^{7,11} Çaplarına göre üç tip ülser tanımlanmıştır:

1- Minör ülserler; çapları 0.5 cm' den küçük olan ve skatris bırakmaksızın 15 gün içerisinde iyileşen ülserlerdir.

2- Major ülserler; çapları 0.5 cm' den büyük olan ve 15 günden daha uzun sürede ve skatris ile iyileşen ülserlerdir.

3- Herpetiform ülserler; çok sayıda, yüzeysel, birbirleri ile birleşme eğilimi gösteren ve minör ülserler gibi skatris bırakmaksızın iyileşen ülserlerdir.⁷

Genital ülserler, erkeklerde genellikle skrotuma, daha az olarak glans ve korpus penise yerleşir. Kadınlarda ise ülserler sıklıkla vulvaya ve özellikle de labium majusa yerleşir.^{7,12} Genellikle papülopüstül şeklinde başlayan genital bölge lezyonları hızla ülsere olurlar ve erkeklerin %75' i, kadınların %50' sinde haftaları bulan iyileşme sürecinin sonunda skatris bırakarak iyileşirler.^{7,13}

BH' nin deri belirtileri çok çeşitlidir ve genellikle 3 gruba ayrılarak incelenirler:

1- Nodüler lezyonlar: Eritema nodosum veya yüzeysel tromboflebit benzeri lezyonlar şeklinde karşımıza çıkarlar. Eritema nodosum kadınlarda, tromboflebit ise erkeklerde daha sık görülür. Özellikle alt ekstremitelerde yerleşen bu lezyonlar

yaklaşık 10-14 gün içerisinde, ülsere olmadan ve yerlerinde pigmentasyon bırakarak iyileşirler.⁷

2- Papülopüstüler (akneiform) lezyonlar: Papülopüstüler lezyonlar, eritemli zeminde yerleşmiş follikülit veya akneye benzer steril püstüllerden oluşmaktadır.⁷ Papül halinde başlayan lezyonlar, 24-48 saat içinde püstüle dönüşürler ve sıklıkla gövde, alt ekstremitte ve yüz bölgesi yerleşimi gösterirler. Değişik sıklıklar bildirilmekle birlikte, kliniğimizde yapılan kontrollü ve kör bir çalışmada bu belirtinin hastaların %96'sında bulunduğu, ancak kontrol grubunda da yüksek oranda gözlenmesi (%89) nedeniyle çok spesifik bir belirti olmadığı gösterilmiştir.¹⁴

3-Kutanöz vaskülitik lezyonlar: Sweet benzeri lezyonlar, palpabl purpurik lezyonlar ve ülsere lezyonlardan oluşurlar.¹²

BH' nda göz tutulumu; hastalığın en ciddi bulgularından birisi olup, körlükle sonlanabilir.^{2,7} Göz tutulumu erkek hastalarda ve hastalığın ilk yıllarında daha sıktır görülür.^{5,15} Göz tutulumu; ön üveit, arka üveit ve retinal vaskülit olmak üzere başlıca üç ana grubu içerir. Hastalığın seyri ataklar halinde alevlenmeler ve iyileşmelerle gider. Tek başına ön segment tutulması nadirdir. tutulum sıklıkla bazen ön, bazen arka üveit ağırlıklı olmak üzere panüveit ve/veya retinal vaskülit şeklindedir. Ciddi oküler komplikasyonlar arka segment tutulumu sonucudur. Bu alevlenmeler sırasında görülebilen ön kamara ve vitreus içinde iltihabi hücre ve protein artışı retinada eksüda ve hemoraji, papil ödemi gibi bulguların bir kısmı remisyon sırasında kaybolurken bazı hastalarda vitreus içinde opasite, optik atrofi, kistoid maküler ödem gibi kalıcı komplikasyonlara yol açarlar. Sekonder glokom

ve katarakt gibi komplikasyonların da eklenmesi ile görme azalır.^{7,16} Hastaların yarısında görülen göz tutulumunda görme kaybı göz tutulumu olanların %10-20' sinde ortaya çıkar.⁷

BH' nda eklem tutulumu ilk olarak, hastalık tanımlandıktan bir yıl sonra yine Dr. Hulusi Behçet tarafından bildirilmiştir. Hastaların yarısında görülen eklem tutulumu; artralji şeklinde olabileceği gibi, sıklıkla artrit şeklindedir. BH artrit, genellikle asimetrik ve oligoartiküler tiptedir. En sık olarak diz eklemi, daha düşük oranda ise ayak bileği, el bileği ve dirseği tutar. Sakroiliak, omurga, kalça ve omuz eklemi gibi merkezi iskeletin tutulumu oldukça seyrek. Radyografide genellikle yumuşak doku şişliği tespit edilir, eroziv değişiklikler nadirdir.^{2,12,17}

BH' nda damar tutulumu; venöz ve arteriyel oklüzyon ve anevrizmalar şeklindedir. Venöz tutulum daha sıktır. Venöz tutulum genellikle yüzeysel veya derin tromboflebit şeklinde olup erkeklerde daha sıktır ve genellikle alt ekstremitelerdedir. Tekrarlayan tromboflebit atakları hastaların yaklaşık dörtte birinde görülür. Pulmoner emboli BH' nin nadir görülen ancak mortalite ile sonuçlanabilen damar tutulumudur. Vena cava superior ve/veya vena cava inferior gibi büyük venlerin tıkanması durumunda göğüs ve karında kollateraller oluşur. Nadiren femoral ve popliteal arter gibi arterlerde anevrizmalar gelişebilir ve rüptür sonucu ölüme neden olabilirler. Pulmoner arter anevrizması da ölümlü sonuçlanabilen bir başka ciddi vasküler tutulum şeklidir.^{7,18,19}

Nörolojik tutulum; BH' nda değişik oranlarda (%4-42) görülmekle birlikte mortalitesi yüksektir. Nörolojik bulgular multipl skleroz ile benzerlik gösterir. Semptom ve bulgular; hafif bir baş ağrısından, ciddi meningoensefalit, benign

intrakranial hipertansiyon, beyin sapı lezyonları, kranial sinir paralizisi, piramidal, ekstrapiramidal ve serebellar sistem belirtileri, spinal kord ve periferik sinir tutulumuna kadar değişen özellikler gösterebilir.^{2,7,12,20}

Gastrointestinal sistem bulguları; karın ağrısı, distansiyon, bulantı, iştah azalması, ishal gibi nonspesifik bulgulardan, kanlı diare ile seyreden ülseratif kolite benzer anüs ve kolon ülserasyonlarına kadar değişen özellikte olabilir.⁷ Submukozanın lenfositik infiltrasyonu ve küçük damarların vaskülitini tarifleyen klinik semptomlara yol açan intestinal ülserasyonlarla sonuçlanır.¹² Özellikle Japon Behçet hastalarında sık görülen gastrointestinal sistem bulguları ülkemizde nadir görülmektedir.⁷

Kardiyak tutulum, perikardit, myokardit, endokardiyal fibrozis sonucu kapak fonksiyon bozuklukları gibi belirtilerle karakterizedir ve hastaların % 5'inde ortaya çıkar.^{2,12,21}

Epididimit, orşit, pankreatit, amiloidoz ve bölgesel lenfadenopati hastalığın nadir görülen diğer bulgularıdır.^{2,7}

BH' nda kesin tanı koydurucu laboratuvar ve histopatolojik bulgular olmadığından tanı klinik bulgulara dayanır. Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubunun tanımladığı tanı kriterleri en çok kabul gören kriterlerdir.^{2,22} Bu kriterler:

1-Tekrarlayan oral ülserler: 1 yıl içinde en az 3 kez tekrarlayan, hastanın veya doktorun tanımladığı minör, major veya herpetiform ülserler.

2-Tekrarlayan genital ülserler: Hasta veya doktorun tanımladığı ülser veya skatrisi.

3-Göz lezyonları: Anterior üveit, posterior üveit, retinal vaskülit veya biomikroskopi ile vitreusta hücre saptanması.

4-Deri lezyonları: Hastanın tanımladığı ya da hekimin saptadığı eritema nodosum, papülopüstüler lezyonlar, tromboflebit.

5-Paterji testi pozitifliği: Steril koşullarda yapılan paterji testinin 24 veya 48 saat sonra pozitif olması.

Tekrarlayan oral ülserlere ek olarak en az iki bulgunun daha olması BH tanısını koydurur.^{2,22-24}

Behçet hastalarının çoğunda nonspesifik bir uyarana karşı deri yanıtı alınmaktadır ve bu fenomen paterji testi ile gösterilebilmektedir.²⁵ İlk kez Blobner tarafından 1937 yılında tanımlanan Deri Paterji Reaksiyonu (DPR); iğne batırılan alanda gelişen artmış nonspesifik deri reaktivitesini gösterir.²⁶ Bu reaksiyon sonucu gelişen lezyonların Behçet hastalarında spontan olarak gelişen papülopüstüler lezyonlar ile idantik olduğu gösterilmiştir.²⁵ Deri paterji testi steril koşullar altında, ön kol fleksör yüzüne uygulanır.^{25,26} Testin 20G enjektör iğnesi ile ve en az iki ayrı noktaya pikür yapılarak uygulanması önerilmektedir.²⁷ Reaksiyonun gelişebilmesi için pikürün dermise kadar incek derinlikte olması gerekmektedir.²⁸ Paterji testi pikür alanına serum fizyolojik veya otolog serum enjekte edilerek de yapılabilir.^{22,28} Pikür alanında 24. saatte başlayan ve 48. saatte maksimum olan eritemli papül veya püstül oluşumu pozitif reaksiyonu gösterir.^{22,25,28} Yapılan çalışmalarda künt iğnelerle yapılan teste pozitiflik oranının keskin iğnelerle yapılan teste göre anlamlı oranda artış gösterdiği saptanmıştır.²⁶ Türkiye' de 1984' den önce %80 olan pozitiflik oranı, 1985, 1986 ve 1987 yıllarında yapılan üç ayrı çalışmada sırasıyla %70, %67 ve %65 olarak saptanmıştır.^{29,,30,31} Ülkemizde nondisposbl enjektörlerin kullanıldığı 1985' den önce yüksek olan pozitiflik

oranının daha sonraki yıllarda azalması disposable enjektör kullanımı ile bağlantılı gibi görünmektedir. Non-disposable enjektörlerde kaynatma sırasında kalsiyum çökmesi nedeniyle iğnenin pürüzlü bir hal alması ve daha künt bir özellik kazanmasından dolayı daha travmatizan olması testin pozitifliğini arttırmaktadır.²⁶

Yapılan çalışmalarda paterji testinde pozitiflik oranının kullanılan iğnenin çapı ile de orantılı olarak arttığı gösterilmiş ve bu artışın daha küçük çaplı iğnelerle yapılan testlerdeki pozitiflik oranı ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir.²⁸

Testte pozitiflik oranı ırksal farklılıklar da göstermekte ve en yüksek oranlara Türk ve Japon hastalarda rastlanmaktadır.^{32,33} Yazıcı ve ark. pozitif paterji testi ve HLA-B5 birlikteliğinin özellikle Türk Behçet hastalarında diagnostik bir bulgu olduğunu ileri sürmüşlerdir.³⁴ Paterji testinde pozitif sonuçlar Türk ve Japon Behçet hastalarında %79-84 iken, bu oran Amerika ve İngiltere' de daha düşüktür.³³

Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu'nun tanımladığı kriterler arasında yer alan pozitif paterji reaksiyonu 1937 yılından beri bilinmesine karşın etyopatogenezi hala tam olarak aydınlatılamamıştır.²⁵ Pozitif paterji testinin histopatolojik incelemesinde; epidermiste kalınlaşma, vakuolizasyon ve subkorneal püstül oluşumu izlenir. Dermiste ise damarlar ve deri ekleri çevresinde yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmiştir.^{25,35,36} Dermal infiltratta daha az oranda monositler ve makrofajlar bulunur. Nötrofiller ise dermal infiltratın % 5' inden azını oluştururlar.²⁵

Pozitif DPR'nun immunohistopatolojik incelemesinde; dermal infiltratın başlıca T lenfositlerden oluştuğu ve bunların da büyük çoğunluğunun T helper (CD4+)

fenotipi olduğu ve T supresörlerin daha az oranda olduğu saptanmıştır.²⁵ Yapılan çalışmalarda, pozitif paterji reaksiyonunda bazal ve orta epidermal keratinositlerin güçlü olarak Intersellüler Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) eksprese ettiklerini ve bu pozitifliğin özellikle dermal mononükleer infiltrata yakın alanlarda daha belirgin olduğunu göstermişlerdir.²⁵ Yine aynı çalışmalarda infiltrattaki T lenfositlerde HLA-DR ekspresyonunda belirgin artış gösterilmiştir. Ayrıca bazal ve orta epidermal tabaka keratinositlerinde de HLA-DR ekspresyonu gösterilmiştir. Keratinositlerde ICAM-1 ekspresyonu keratinosit lenfosit etkileşimi için önemli bir başlatıcı faktördür. Buna karşın keratinositlerde HLA-DR ekspresyonu aktive T lenfositte yapışma sonrası antijenik tanıma ve/veya antijenik sunum için önemlidir. Negatif paterji reaksiyonunda ise nötrofillerde belirgin artışla birlikte birkaç makrofaj ve T lenfosit izlenmiştir.²⁵

Normal şartlarda, antijenik uyarı yokluğunda Clas II molekülleri yalnızca Langerhans hücreleri gibi antijen sunumunda görevli hücrelerde eksprese edilir.^{37,38} MHC clas II antijenleri yalnızca antijenik uyarı varlığında keratinositlerde eksprese edilirler.³⁹ Epidermal keratinositlerde ve infiltrattaki lenfositlerde HLA-DR (MHC clas II molekülü) ekspresyonu izlenmesi ve T helper fenotipi lenfositlerin infiltratta baskın olması DPR'nun etyopatogenezinde eksojen kaynaklı bir antijenin rol oynayabileceğine işaret etmektedir. HLA-DR ekspresyonu ve ICAM-1 ekspresyonunun her ikisi de IFN gamma ile düzenlenmektedir.³⁸⁻⁴⁰ Yapılan çalışmalarda Behçet hastalarında IFN gamma düzeylerinin yüksek saptanması da bu hipotezi desteklemektedir.⁴¹

Etyopatogenezi tam olarak anlaşılamayan hastalığın patogenezinde en çok kabul gören görüşlerden biri hastalığın genetik olarak yatkın bireylerde viral, bakteriyel veya bilinmeyen bir antijen ile tetiklenen otoimmün bir reaksiyon olduğudur.²⁵ Hastalıkta tüm klinik bulgulara yol açan esas patoloji ise vaskülitir.^{4,25,42,43} Bazı araştırmacılar immün kompleks aracılı lökositoklastik vaskülitte uyumlu bulgular saptamışlarsa da diğerleri lenfositik vaskülitte karakterize olduğunu vurgulamışlardır.^{42,44} DPR, Behçet Hastalığında kutanöz vaskülitin güzel bir örneğini oluşturmaktadır. Bu nedenle DPR üzerinde yapılacak immunohistolojik çalışmalar hastalığın etyopatogenezine de ışık tutacaktır.²²

Bilindiği üzere organizma bir antijenle karşılaşınca ilk olarak bu antijen kemik iliği kökenli ve deride antijen sunumu ile primer görevli olan ve yüzeylelerinde CD1 marker eksprese eden Langerhans hücre (LH)' si tarafından alınır.² Langerhans hücreleri, epiderminin primer antijen sunucu hücreleridir ve epidermal hücrelerin %2-5' ini oluştururlar.² Kemik iliği kökenli olan bu hücrelerin uzun dallanmış dendritleri vardır ve epidermis içinde bir ağ oluştururlar. CD1a ve intrasitoplazmik Birbeck granülleri Langerhans hücreleri için belirleyicidirler.^{2,45,46} Diğer profesyonel antijen sunucu hücreler gibi Langerhans hücreleri de yapısal olarak antijenik uyarı olmaksızın hücre yüzeyinde Class I ve II molekülü eksprese ederler.³⁷ Hapten ile etkileşimde yani antijenik uyarı varlığında Langerhans hücreleri aktif hale gelirler ve yüzey MHC molekülleri artar ve antijeni sunmak için lenf noduna göç ederler.^{39,47} LH'leri hem eksojen, hem endojen kaynaklı antijenlerin sunumunda rol alırlar.^{37,48}

LH'si antijeni T lenfositlere sunum için uygun hale getirmek için bir dizi işlemden geçirir. Bu olaylar "antijen işlenimi" (Antijen processing) olarak adlandırılır.³⁸ Antijen işlenimi proteinlerin peptidlere parçalanmasını ve sonuçta MHC molekülü üzerinde T lenfositlere sunumunu içerir.⁴⁹ Antijene karşı T lenfosit yanıtı antijenin kaynağı ve işlenim yolu ile belirlenir.³⁷ Antijenin işlenim yolu proteinin, yani antijenin hücre içi veya hücre dışı kaynaklı olmasına göre bazı farklılıklar gösterir. Bu farklılık hangi MHC molekülünün antijeni sunacağını ve sonuçta hangi T lenfosit alt grubuna sunulacağını da belirler.³⁷ Bakteri, bakteri toksinleri, dermatofit antijenleri, aşılarda ve polenler gibi hücre dışı proteinler MHC class II molekülleri ile T helper (CD4) lenfositlere sunulur. Proteinler fagositoz, pinositoz veya Fc γ RII yoluyla alınır ve lizozomlarla birleşirler. LH'leri pinositoz yolu ile antijeni alır. Lizozomlar asit PH'a sahiptirler ve asit proteazlar ve katepsin gibi degradatif enzimler içerirler. Endosom-lizozom kompleksinde oluşan peptidler sonuçta MHC Class II molekülleri (HLA DR, DP, DQ) ile hücre yüzeyinde CD4 lenfositlere sunulurlar.^{37,50} Buna karşın viral antijenler, transplantasyon antijenleri ve tümör ilişkili antijenler gibi endojen antijenler ise MHC Class I molekülleri (HLA A, B, C) ile sitotoksik T (CD8) lenfositlere sunulurlar.³⁷ Antijenlerin kimyasal özellikleri ve antijen işlenim yolu arasında bir korelasyon mevcuttur. Bakterilerin çoğu ekstrasellüler parazitlerdir ki endosomlarla alınır ve eksojen yolla işlenip MHC Class II molekülü ile CD4 T lenfositlere sunulurlar.³⁷ CD4 Molekülü MHC Class II molekülünü LH yüzeyinde tanıırken, T hücre reseptörü (TCR) işlenmiş antijeni tanıır.^{37,38} Bu bakterilere karşı rezistans hem gecikmiş hipersensitivite hem de antikor üretimi iledir ve her ikisi de CD4 T lenfositlerle

gerçekleşir.³⁸ Viruslar konak protein sentezine el koyarlar ve böylece viral antijenler sitoplazmada bulunurlar ve endojen yolla işlenerek MHC Class I aracılığıyla CD8 T lenfositlere sunulurlar.³⁷ Çalışmamızda infiltrattaki hücrelerin immunofenotipi ve lenfosit ve keratinositlerde eksprese edilen MHC class I va II moleküllerinin her ikisi de araştırılacak ve deri paterji reaksiyonuna yol açan antijenin kaynağı hakkında bilgi sahibi olunabilecektir.

LH'leri hem eksojen, hem endojen kaynaklı antijenlerin sunumunda rol alırlar.^{2,37,48}

Yapılan bir çalışmada pozitif paterji reaksiyonunda epidermal Langerhans hücre sayısında normal deri ve kontrol hastalarına göre fark saptanmazken subepidermal bölgelerde tüm paterji biyopsilerinde değişen oranlarda Langerhans hücre infiltrasyonu saptanmıştır.²⁵ Bu gözlem de deri paterji reaksiyonunun etyopatogenezinde antijenik uyarının varlığını desteklemektedir. Belki de bu antijen yapılan pikür sırasında iğne ile birlikte dermise giren deri yüzeyindeki bir antijendir veya pikür için kullandığımız iğnenin kendisi antijenik özelliindedir. Veya derinin normal yapısal elemanlarından birisi travma sonucu antijenik özellik kazanmaktadır. Aynı şekilde ve aynı materyalle yapılan testin Behçet hastalarında reaksiyona yol açarken kontrollerde negatif sonuç vermesi Behçet hastalarının antijenik uyarılara artmış reaktivitesi ile açıklanabilir. Behçet hastalarının Paterji test alanı ve normal derisindeki immünolojik değişikliklerin aynı anda değerlendirilmesi ve ayrıca sonuçların sağlıklı kontrollerle de karşılaştırılması ile bu konuyu daha iyi aydınlayabilecek bilgiler elde edilecektir.

LH'si ile T lenfosit etkileşimi sonucunda; MHC molekülü aracılığıyla antijenin tanınması sonucunda T lenfositlerden IL-2 üretimi ve hafıza T lenfositlerinin

klonal çoğalması gerçekleşir.³⁸ Bu olaylar ayrıca bazı adhezyon molekülleri ve ligandları arasındaki etkileşimi de gerektirir. Bunların başında ICAM-1/ Lymphocyte Function Associated Antigen (LFA-1) etkileşimi gelir. Antijenik uyarı varlığında T lenfositlerde LFA-1 ekspresyonu artar. Aktive olmuş T lenfositlerin antijen sunucu hücre ile etkileşiminde LFA-1 ile ICAM-1 etkileşimi önemli rol oynamaktadır.^{37,38,51-53} Antijen sunumunda görevli diğer yardımcı olaylar, LFA-3/CD2 ve B7/CD28 etkileşimini içerir. CD28, B7 için T hücre reseptörü olarak görev yapar.^{38,54,55}

DPR'un etyopatogenezi üzerine yapılacak çalışmalar; hastalığın etyopatogenezini aydınlatılabileceğinden, bu çalışmada Behçet hastalarının pozitif ve negatif paterji reaksiyonlarının immunohistopatolojik incelenmesinin sağlıklı kontrollerle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta Seçimi

Çalışmaya Akdeniz Üniversitesi Dermatoloji Anabilim Dalı Polikliniğine başvuran; Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubunun tanı kriterlerine göre BH tanısı almış yaşları 22 ile 51 (ortalama: 34) arasında değişen toplam 16 olgu alındı. Son 1 ay içinde BH için sistemik ilaç kullanmakta olanlar, herhangi bir nedenle kortikosteroid veya immunosupresif ilaç almakta olan hastalar çalışmaya alınmadı. Kontrol grubu olarak yaşları 21 ile 69 (ortalama: 40) arasında değişen, herhangi bir otoimmün veya vaskülitik hastalığı olmayan, sağlıklı 7 gönüllü alındı.

Paterji testinin yapılması

Paterji testi; yapılması ve değerlendirmesinde farklılığı engellemek amacıyla, aynı hekim tarafından yapıldı. Test alanı olarak, çoğunlukla önerilen bölge olan, ön kol fleksor yüzü seçildi. Hasta ve kontrollere uygulanan test, steril koşullar altında uygulandı. Paterji testinin uygulama alanı %70' lik etil alkol solüsyonu ile temizlendi. Sonra 20G enjektör iğnesi kullanılarak ve her iki kola üçer adet olmak üzere toplam 6 adet pikür şeklinde yapıldı. Yapılan pikürün dermise kadar inmesine dikkat edildi. Test sırasında hastaların klinik bulguları kaydedildi. Testten 48 saat sonra hasta ve kontrollerin test alanları kontrol edildi. Pikür alanında papül ve/veya püstül gelişimi pozitif sonuç olarak değerlendirildi. Yalnızca eritem gelişimi veya hiçbir reaksiyon izlenmemesi halinde test negatif olarak değerlendirildi.

Biyopsi Materyali Alınması

Hasta ve kontrollerden; %2' lik lidokain ile yapılan lokal anestezi sonrasında, biri paterji test alanından ve diğeri test alanına en az 2 cm uzak bir alandan olacak şekilde normal deriden olmak üzere ikişer biyopsi alındı. Biyopsiler elips şeklinde insizyonel yöntemle ve epidermis ve dermisi içerecek şekilde alındı. Alınan biyopsiler PBS solusyonuna konulup en kısa sürede Patoloji Anabilim Dalına ulaştırıldı. Biyopsi materyalleri -70 °C' de dondurularak immunohistolojik çalışma anına kadar saklandı.

İmmünohistolojik Boyama ve Değerlendirme

İmmünohistolojik boyamalar; avidin-biotin peroksidaz kompleks yöntemi ile monoklonal antikor panelleri kullanılarak, direkt immunfloresan yöntemi ile yapıldı. Bu yöntemle CD1(M721, Dako), CD2(A 0452, Dako), CD4(M 0716, Dako), CD8(M 0707, Dako), HLA DR(M 0775, Dako), LFA-1 (M 0782, Dako), ICAM-1 (F 7143, Dako) ve HLA ABC(M 0736, Dako) antikorları çalışıldı. Çalışmada kullanılan monoklonal antikorlar (DAKO R&D Systems) ve özellikleri Tablo 1' de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan mouse monoklonal antikorların özellikleri

Monoklonal antikor	Kod No	Dilüsyon	Antijenik özgüllüğü
ICAM-1	F 7143	1/40	Endotel hüç, aktive keratinosit, fibroblast
LFA-1 (CD11a)	M 0782	1/50	T lenfositler
CD1	M 721	1/50	Langerhans hücre
CD2	A 0452	1/50	Pan T cell
CD4	M T 310	1/50	T helper lenfositler
CD8	M 0707	1/50	Sitotoksik T lenfositler
HLA-ABC	M 0736	1/50	Class I MHC antijenleri
HLA-DR,DP,DQ	M 07 75	1/50	Class II MHC antijenleri

Biyopsi materyalleri, -20 °C' deki kriyostatta, 4-6 µm kalınlığında yapıldı. Kesitler chromalium-gelatin adhesive ile kaplanan lamlar üzerine alındı. -20 °C' ortamında, bir gece sürede hava ile kurutuldu ve 10 dakika asetonla fikse edildi. İmmünolojik boyamanın yapılacağı ana dek -20 °C' de saklandı.

Boyamada; tüm kesitlere sırasıyla şu işlemler uygulandı:

- 1- Phosphate buffere saline (PBS) içinde üçer kez 5'er dakika yıkandı.
- 2- Primer antikor ile bu preparatlar nemli ortamda enkübe edildi.
- 3- Tekrar PBS ile 3 kez 5' er dakika yıkandı.
- 4- Takiben primer antikor ile enzim taşıyan antikor arasında bağlayıcı görev yapan Linking Reagent (Dako, Germany) ile doku kesitleri 15 dakika enkübe edildi.
- 5- Tekrar PBS' de 3 kez 5' er dakika yıkandı.
- 6- Labelling Reagent (Dako, Germany) streptoavidine ile konjuge edilmiş "horseradish peroksidase" ile dokular 15 dakika enkübe edildi.
- 7- Kesitler tekrar PBS'de 3 kez 5'er dakika yıkandı.
- 8- Chromogenic substrate (DAB) (Dako, Germany) ile 10 dakikada enkübe edildi.
- 9- Preparatlara Hematoksilen Eosine (Dako, Germany) ile zıt boyama yapıldı ve lamelle kapatıldı.
- 10- Bütün bu enkübasyon basamakları oda sıcaklığında ve nemli ortamda uygulandı.

Diğer antijenlerden farklı olarak ICAM-1; FITC ile konjuge ICAM-1 1/40 oranında dilüe edilerek direkt lamlar üzerine damlatıldı ve 44 derecede 60 dakika bekletildi. Daha sonra PBS' de 3 kez 5' er dakika yıkandı, gliserin ve PBS' le

sulandırılmış solusyonla kapatıldı. Preparatlar boyamanın hemen sonrasında bekletilmeden değerlendirildi.

İmmünohistolojik değerlendirmeler ışık mikroskopunda, aynı patolog tarafından ve biyopsinin hasta veya kontrollerden hangisine ait olduğu bilinmeksizin yapıldı. İmmün boyama değerlendirmeleri; uygun alanlardaki tanımlanabilir yaklaşık 100 hücrenin semikantitatif olarak alan yüzdeleri ve boyanma şiddetlerine göre yapıldı. Ayrıca, histopatolojik değerlendirme amacıyla; her biyopsi spesmeninden hematoxilen-eozin boyaması (HE) için kesitler hazırlandı. Spesmenler, ışık mikroskopunda, aynı patolog tarafından ve biyopsinin hasta veya kontrollerden hangisine ait olduğu bilinmeksizin değerlendirildi.

İstatistiksel değerlendirme

Hasta ve kontrol grubuna ait demografik, klinik ve immünohistolojik veriler bilgisayara yüklendi. İstatistik işlemleri SPSS for Windows paket programında yapıldı. Behçet ve kontrol gruplarındaki olgu sayısının az olması nedeniyle Non-parametrik istatistik yöntemleri kullanıldı.

1- Behçet grubunda paterji test alanı ile sağlam deri arasında immünohistolojik değerlendirme verilerinin farklılığını araştırmak amacıyla yapılan karşılaştırmada; Wilcoxon Matched-Pairs Signed-Ranks Test'i kullanıldı.

2- Behçet hastalarında paterji test pozifliği gösteren alan ile paterji negatif alan arasındaki immünohistolojik sonuçların farklı olup olmadığını araştırmada; Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test'i kullanıldı.

3- Hasta ile kontrol gruplarının hem paterji hem sağlam deri alanından alınan biyopsilerin immünohistolojik değerlendirme sonuçları arasındaki farklılıkların değerlendirilmesinde Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test'i kullanıldı.

4- Hasta ve kontrol grubunda; antijenik boyama pozitifliği gösteren ve göstermeyen olgular her antijen için ayrı ayrı sayılarak belirlendi. Bu işlem hasta grubunda paterji pozitifliği gösteren ve göstermeyen olgular için de yapıldı. Elde edilen kümülatif sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığını saptamak amacıyla Khi-kare testi uygulandı.

BULGULAR

Klinik Bulgular

Çalışmamızda; hasta grubunu yaşları 22 ile 51 arasında değişen 11'i erkek 5'i kadın toplam 16 hasta oluşturdu. Hastalarının hastalık süreleri 1 ile 14 yıl arasında değişen Behçet hastalarının biyopsi sırasında tamamında oral ülser, 6'sında genital ülser, 8'inde papülopüstüler lezyonlar ve 1 hastada göz tutulumu mevcuttu. Behçet hastalarının demografik ve klinik özellikleri Tablo 2' de verilmiştir.

Kontrol grubunda ise yaşları 21 ile 69 arasında değişen 3 erkek, 4 kadın toplam 7 sağlıklı gönüllü yer alıyordu. kontrol grubunun demografik özellikler Tablo 3' de verilmiştir.

Tablo 3: Kontrol olgularının demografik özellikleri

No	A S	Yaş	Cins	Paterji
1	N.A.	30	K	-
2	M.Ö.	21	E	-
3	H.H.	39	K	-
4	O.A.	69	E	-
5	H.D.	21	E	-
6	P.Ş	32	K	-
7	M.B.	68	K	-

Tablo 2: Behçet hastalarının demografik ve klinik özellikleri

No	A S	Yaş	Cins	Hastalık süresi (Yıl)	Oral Aft	Genital Ülser	Göz Tutulumu	Papülo-püstüller L	Paterji
1	Z.K.	34	K	1	+	-	-	-	+
2	M.K.	30	E	2	+	-	-	+	-
3	A.A.	29	K	5	+	+	-	-	-
4	K.Ü.	45	E	10	+	-	-	-	+
5	Y.K.	30	E	12	+	-	-	-	-
6	O.T.	36	E	6	+	-	-	-	+
7	B.A.	33	E	7	+	+	-	+	+
8	M.Ç.	51	E	14	+	-	-	-	+
9	F.Ş.	33	K	6	+	-	-	-	-
10	T.K.	33	E	4	+	-	-	+	+
11	V.K.	27	E	10	+	+	-	+	+
12	E.K.	22	E	7	+	+	-	+	+
13	H.A.	35	E	10	-	+	-	+	+
14	A.A.	29	K	1	+	+	+	+	+
15	Z.B.	37	E	1	+	-	-	+	-
16	F.E.	38	K	5	+	-	-	-	-

Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet yönünden farklılık saptanmadı. Paterji testi, Behçet hastalarının 10 (%62.5)' unda pozitif, kalan 6 (%37.5)' sında negatif idi. Kontrol olgularının tamamında test negatif olarak değerlendirildi. Behçet hastaları ve kontrol grubunun demografik özellikleri Tablo 4' de özetlenmiştir.

Tablo 4: Behçet ve kontrol hastalarının demografik bulguları

	Behçet hastaları	Kontrol
	(n: 16)	(n: 7)
Yaş (Ortalama \pm SD)	34 \pm 6.9	40 \pm 20
Cinsiyet		
Erkek	11	3
Kadın	5	4
Ortalama hastalık süresi (yıl)	6.78	

Histopatolojik inceleme

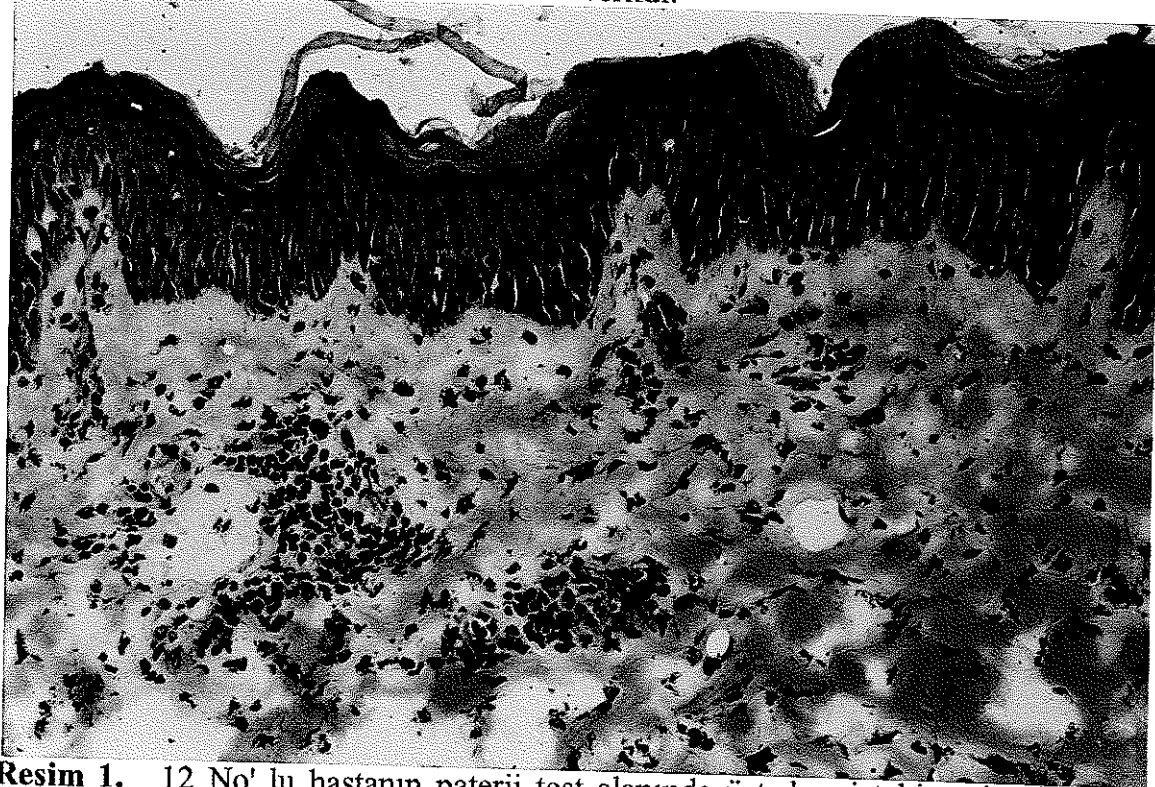
Alınan tüm biyopsi spesmenlerinden hematoksilin-eozin boyaması (HE) ile hazırlanan preparatlar değerlendirildi. DPR pozitif Behçet hastalarının test alanından alınan doku örneklerinde; epidermiste kalınlaşma ve bazal tabakada vakuoler dejenerasyon izlendi. Bazı kesitlerde stratum korneum altında düzgün sınırlı küçük püstül oluşumu saptandı. Dermiste, vasküler yapılar çevresinde daha yoğun olmak üzere, deri ekleri çevresinde ve alt dermiste de yayılma eğilimi gösteren yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu saptandı. Mononükleer hücre infiltrasyonunun; büyük oranda lenfositlerden ve az sayıda monositlerden oluştuğu gözlemlendi (Resim 1). Damar duvarlarında hyalinli bir kalınlaşma da mevcuttu. Behçet hastalarının negatif paterji doku örneklerinde ise, nötrofil artışı ve az sayıda

lenfosit ve makrofajlardan oluşan infiltrat izlendi. Behçet hastalarının sağlam deri örneklerinde kapiller çevrelerinde az sayıda lenfosit izlendi.

Kontrol grubunun paterji test alanında, vasküler yapılar çevresinde çok az sayıda lenfosit izlendi. Kontrol grubunun sağlam deri doku örneklerinde ise epidermis ve dermis normal histopatolojik yapıda izlenmiştir.

İmmünohistolojik Bulgular

Behçet hastalarının immünohistolojik değerlendirme sonuçları ayrıntılı olarak Tablo 5A ve 5B' de, kontrol grubunun sonuçları Tablo 6A ve 6B' de verilmiştir. Hasta ve kontrol grupları arasındaki farklılığı göstermek amacıyla; immünohistolojik incelemelerde saptanan boyanma şiddetleri, her bir marker için pozitif veya negatif şeklinde ayrı ayrı sayılarak Tablo 7' de özetlenmiştir. Hasta grubu paterji test pozitif (10 hasta) ve negatif (6 hasta) olmak üzere ikiye ayrılarak, aynı işlem yapıldı ve sonuçlar Tablo 8' de verildi.



Resim 1. 12 No' lu hastanın paterji test alanında üst dermisteki perivasküler yoğun mononükleer infiltrasyonu (HE X 20)

Tablo 5A: Behçet hastalarının immünohistolojik değerlendirme sonuçları

No	A S	CD1		CD2 (%)		CD2		CD4 (%)		CD4		CD8	
		Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji
1	Z.K.	0	0			0	0			0	0	0	0
2	M.K.	1	1			0	0			0	0	0	0
3	A.A.	0	0			0	0	0	5	0	1	0	0
4	K.Ü.	1	0			0	0			0	0	0	0
5	Y.K.	0	1	0	5	0	2			0	0	0	0
6	O.T.	1	1	5	80	1	3	0	50	0	2	0	1
7	B.A.	0	1	0	5	0	1	5	25	1	3	0	0
8	M.Ç.	1	1	5	10	1	1	50	5	3	1	0	0
9	F.Ş.	0	1			0	0	0	25	0	2	0	0
10	T.K.	0	0			0	0			0	0	0	0
11	V.K.	1	1	0	20	0	2	0	25	0	2	0	1
12	E.K.	0	1	0	25	0	3	0	10	0	1	0	0
13	H.A.	0	0	5	80	1	3	0	70	0	3	0	0
14	A.A.	0	0	80	0	3	0	30	0	2	0	0	0
15	Z.B.	1	0			0	0			0	0	0	0
16	F.E.	0	1	5	5	1	1	0	25	0	1	0	0

Tablo 5B: Behçet hastalarının immünohistolojik değerlendirme sonuçları (devam)

No	A S	LFA-1		HLA-ABC		HLA-DR (%)		HLA-DR		ICAM1	
		Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji
1	Z.K.	0	0		1	0	70	2	0		
2	M.K.	1	1	1	1			0		2	2
3	A.A.	0	0	0	3	0	50	2	0		
4	K.Ü.	0	1	0	0	50	0	0	2		
5	Y.K.	0	0	1	1		25	3			1
6	O.T.	0	0	2	3	80	0	0	3	2	1
7	B.A.	1	0	1		0	70	3	0	2	1
8	M.Ç.	0	1	1	3	80	0	0	3	2	1
9	F.Ş.	0	0	0	2	25	0	0	2		
10	T.K.		0	0	0			0	0		2
11	V.K.	0	1	2	2	50	10	1	3		1
12	E.K.	0	1	1	1	10	5	1	2	1	
13	H.A.	1	1	2	3	20	0	0	2		
14	A.A.	0	0	2	2	80	0	0	3		
15	Z.B.	0	1	2	2	5	25	2	1		
16	F.E.		0	0	0	50	80	3	3		

Tablo 6A: Kontrol grubunun immünohistolojik değerlendirme sonuçları

No	A S	CD1		CD2 (%)		CD2		CD4 (%)		CD4		CD8	
		Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji
1	N.A.	0	1	5	0	1	0	5	5	1	1	0	0
2	M.Ö.	1	0	0	50	0	2			0	0	0	1
3	H.H.		1			0				0	0	0	0
4	O.A.	1	0	10	10	1	1	25	0	1	0	1	0
5	H.D.	0	0			0	0			0	0	0	0
6	P.Ş	0	1			0	0			0	0	0	0
7	M.B.	0	0	0	5	0	1			0	0	0	0

Tablo 6B: Kontrol grubunun immünohistolojik değerlendirme sonuçları (devam)

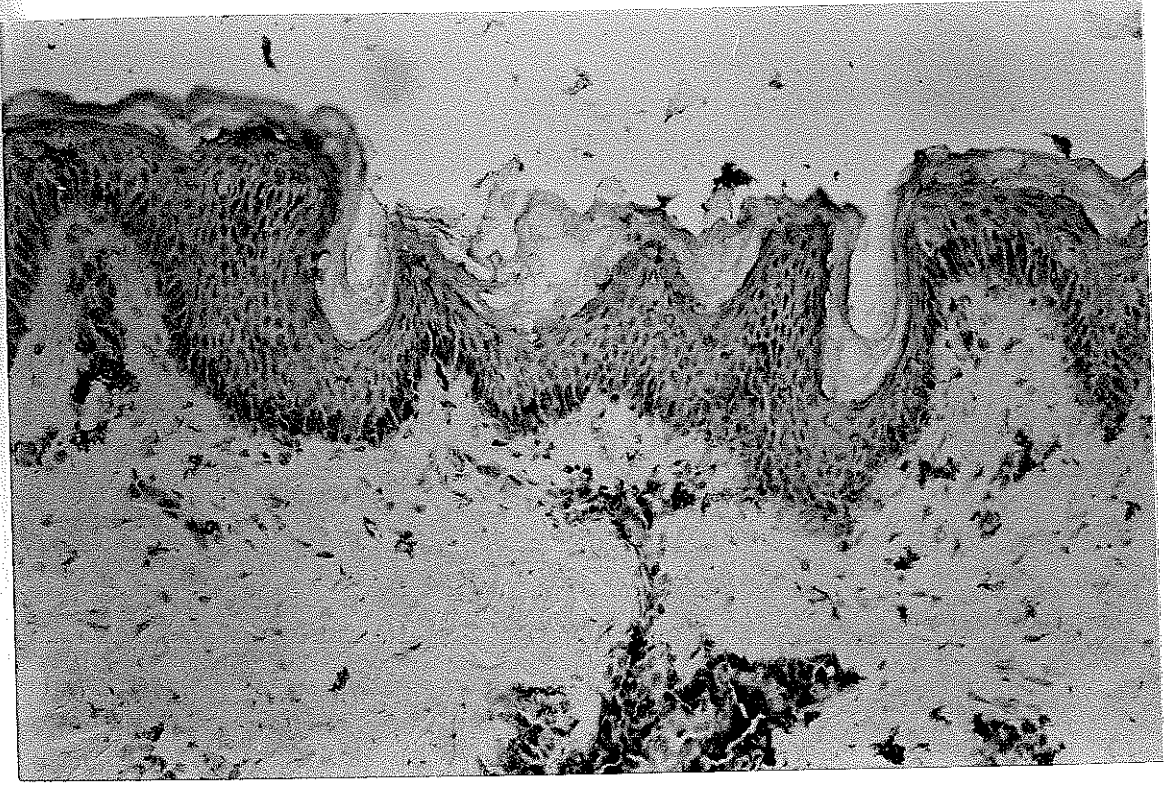
No	A S	LFA-1		HLA-ABC		HLA-DR (%)		HLA-DR (%)		ICAMI	
		Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji	Sağlam	Paterji
1	N.A.	0	0	1		25		2			
2	M.Ö.	0	0	1				0			
3	H.H.	0	0	0	0	50		2			
4	O.A.	0	1	0	1	50	10	3	1		
5	H.D.	0	0	0	3	5	5	1	1	2	2
6	P.Ş	0	1	0	2	5	25	1	1		1
7	M.B.	0	1	0	1	0	5	0	1		

Tablo 7: Marker pozitifliği gösteren olguların, kümülatif olarak hasta ve kontrol gruplarına göre dağılımı

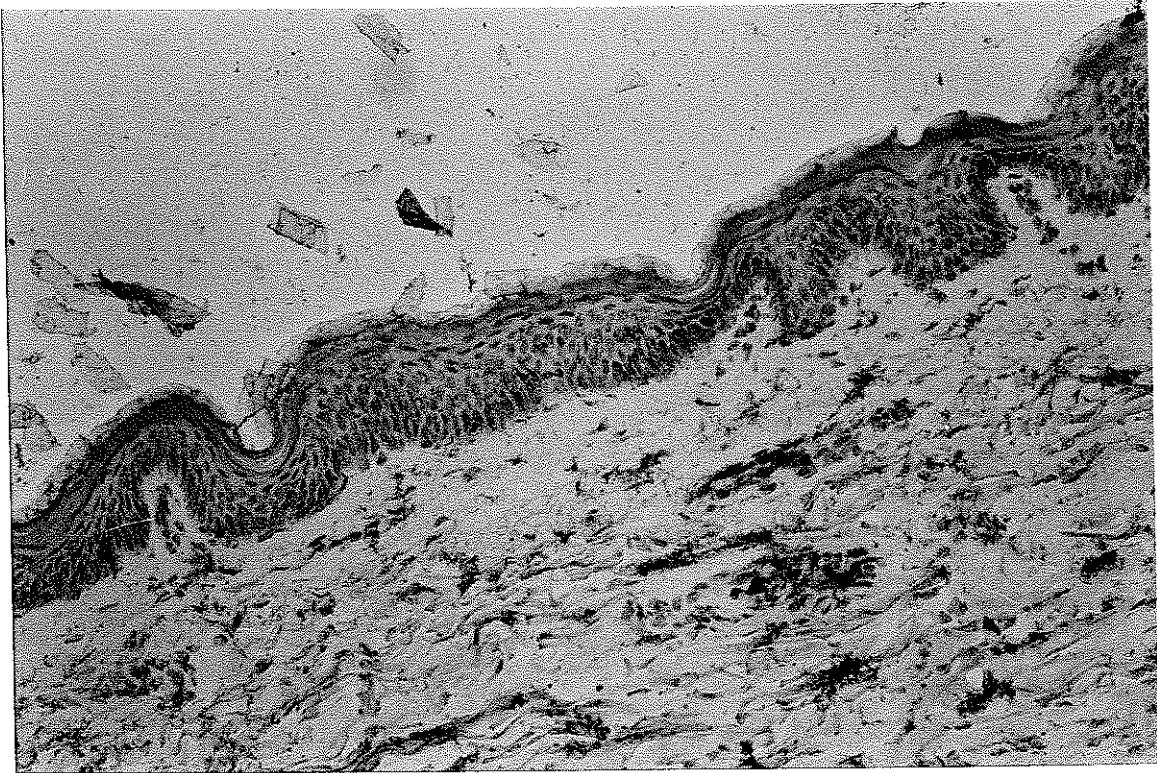
		Behçet Hastaları (n:16)		Kontrol (n:7)	
		Pozitif (%)	Negatif (%)	Pozitif (%)	Negatif (%)
CD1	Paterji	9	7	3	4
	Sağlam	6	10	2	4
CD2	Paterji	8	8	3	3
	Sağlam	5	11	2	5
CD4	Paterji	9	7	1	6
	Sağlam	3	13	2	5
CD8	Paterji	2	14	1	6
	Sağlam	0	16	1	6
LFA-1	Paterji	7	9	3	4
	Sağlam	3	11	0	7
HLA-ABC	Paterji	12	3	4	1
	Sağlam	10	5	2	5
HLA-DR	Paterji	10	4	4	0
	Sağlam	8	8	4	2
ICAM-1	Paterji	7		2	
	Sağlam	5		1	

Tablo 8: Marker pozitifliği gösteren olguların, kümülatif olarak hasta grubunda paterji test sonuçlarına göre dağılımı

	Paterji Pozitif (n:10)		Paterji Negatif (n:6)	
	Pozitif (%)	Negatif (%)	Pozitif (%)	Negatif (%)
CD1	5	5	4	2
CD2	4	0	2	4
CD4	6	4	3	3
CD8	2	8	0	6
LFA-1	5	5	2	4
HLA-ABC	7	2	5	1
HLA-DR	7	3	3	1
ICAM-1	5		2	

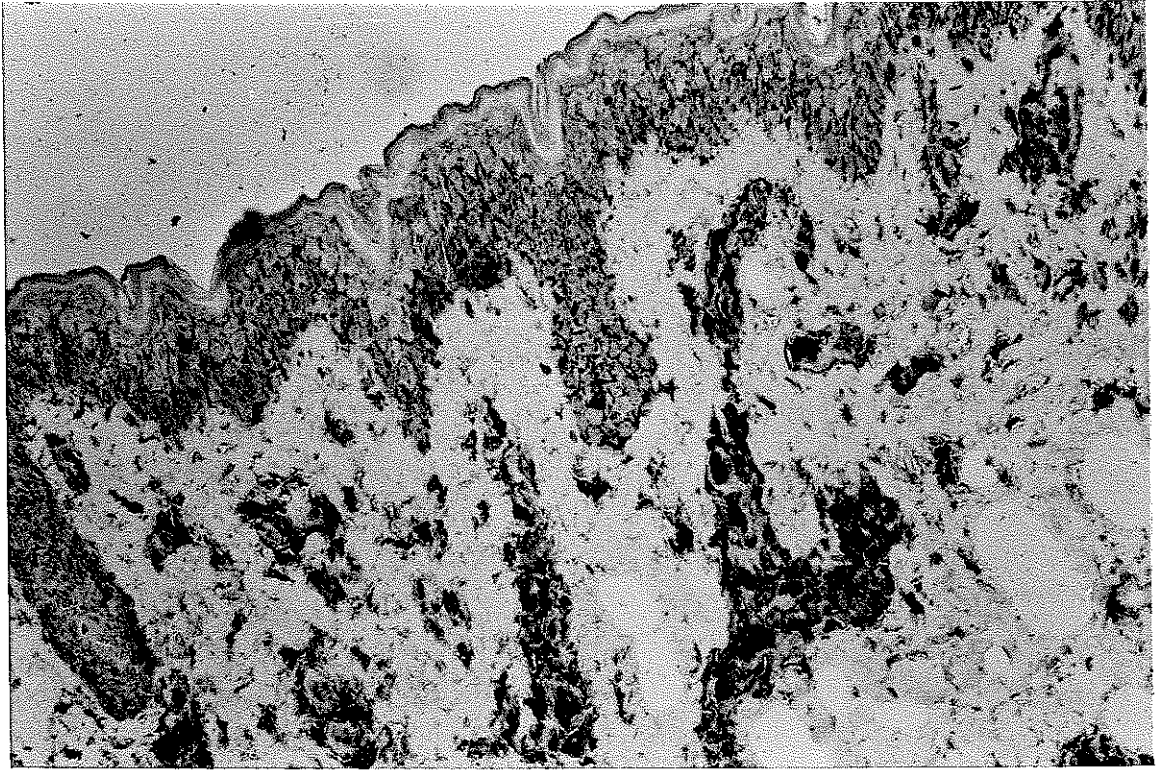


Resim 2. 12 No' lu hastanın paterji test alanında üst dermisteki yoğun CD11a boyanması (CD11a X 10)

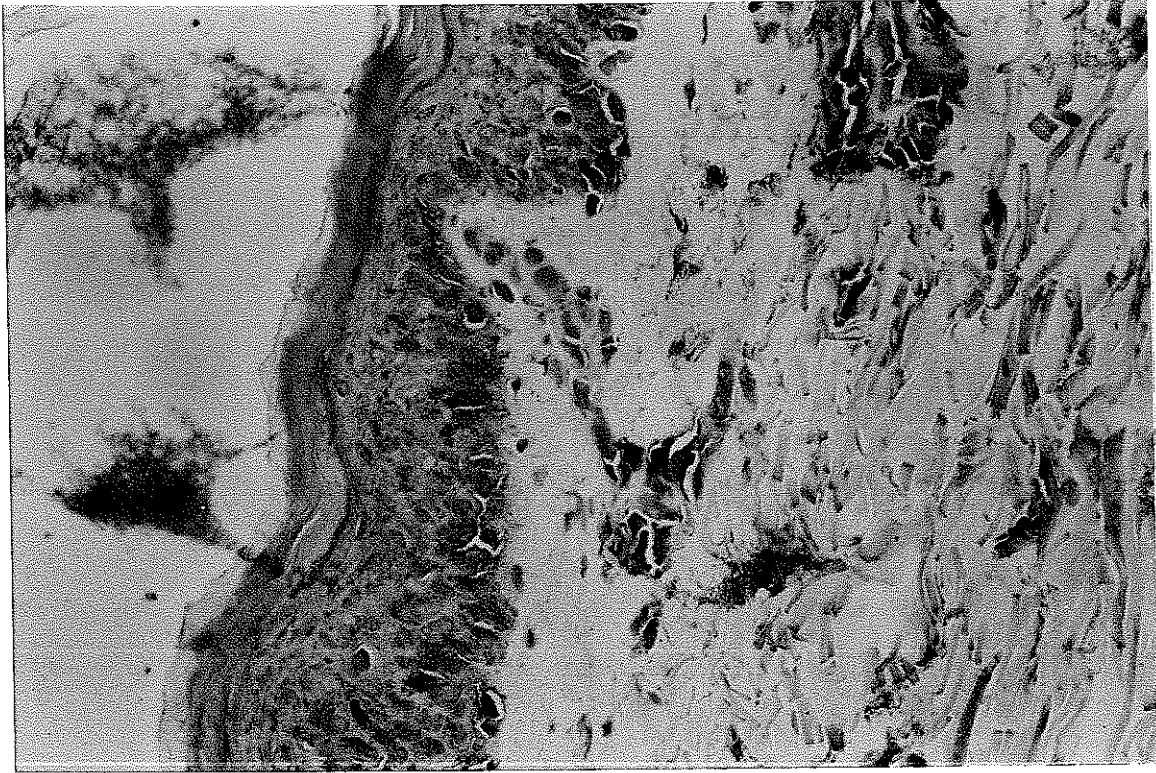


Resim 3. 4 No' lu kontrol olgusunun paterji test alanında üst dermiste hafif CD11a boyanması (CD11a X 10)

HLA-ABC: Hasta grubunda; paterji alanında 12 (%75) ve sağlam deri alanında 10 (%62.5) olguda boyanma izlendi. 1 Hasta değerlendirmeye alınmadı. Boyanma varlığı ve şiddeti açısından paterji ile sağlam deri alanı arasında istatistiksel bir farklılık yoktu. Kontrol grubunda ise paterji alanında 4 hastada boyanma izlenirken 1 hastada boyanma olmadı. Kontrol grubunun sağlam deri alanında ise 2 olguda boyanma izlenirken 5 olguda izlenmedi. HLA-ABC boyanması açısından hasta ve kontrol grupları arasında ve her iki grubun paterji ve sağlam deri alanları arasında anlamlı farklılık yoktu. Boyanma gösteren Behçet hastalarının pozitif paterji test alanında, üst dermiste ve epidermisde orta derecede yoğun HLA-ABC boyanması izlendi (Resim 4). Boyanma gösteren kontrol olgularının paterji test alanında benzer boyanma saptandı (Resim 5).



Resim 4. 13 No' lu hastanın paterji alanında üst dermisteki ve epidermisde orta derecede HLA-ABC boyanması (HLA-ABC X 20)



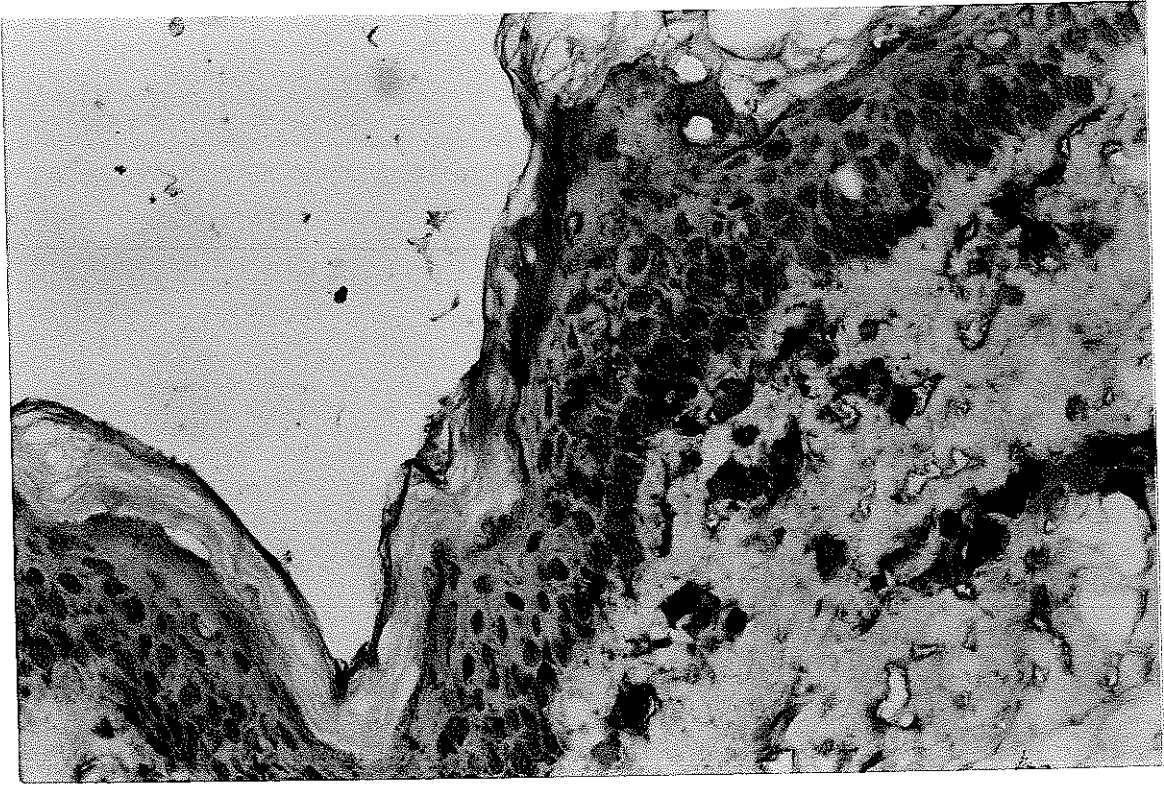
Resim 5. 8 No' lu kontrol olgusunun test alanında üst dermisteki ve epidermiste orta derecede HLA-ABC boyanması (HLA-ABC X 20)

Langerhans hücresi (LC): Hasta grubunda; paterji alanında 12 hastanın 7 (%58)' sinde LC artışı saptandı. Sağlam deri alanında ise, 4 (%25) hastada artış izlendi. Kontrol grubunda ise değerlendirilebilen 4 olgunun paterji alanında LC sayısında artış izlenirken, sağlam deri alanında ise 6 olgunun 2' sinde artış izlendi. Gruplar arasında ve her iki grubun paterji ve sağlam deri alanları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı.

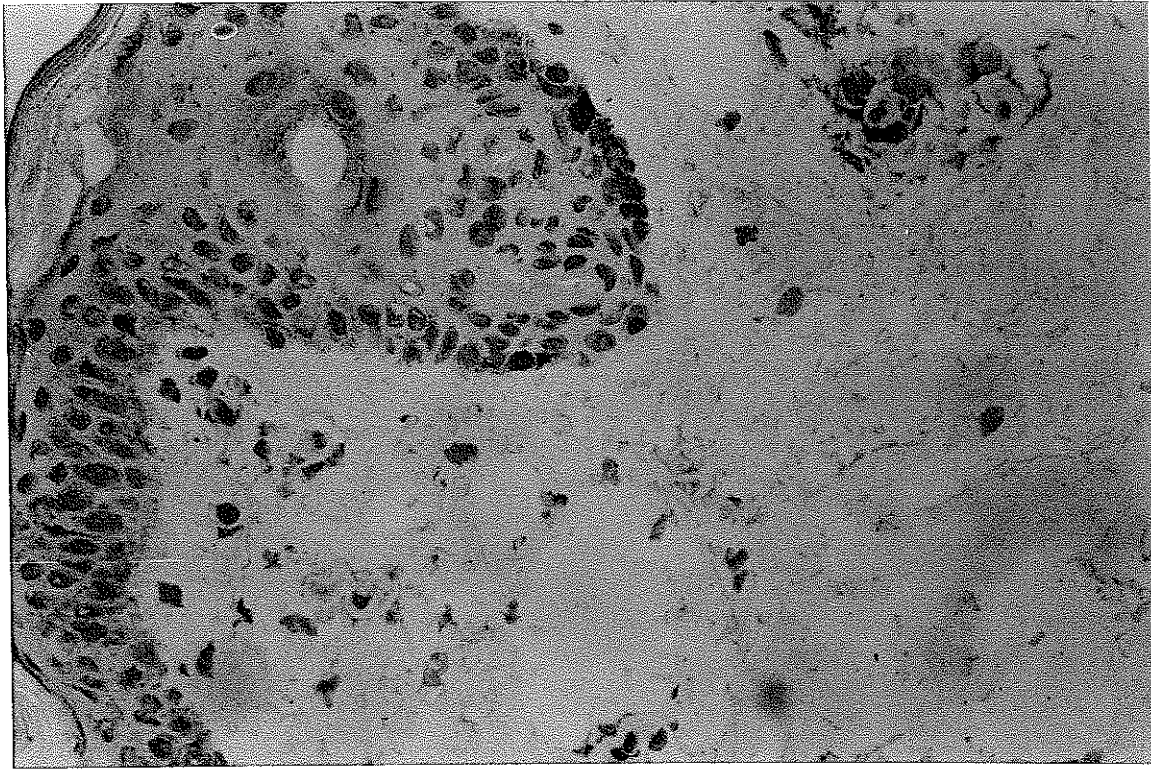
HLA-DR: Hasta grubunda; paterji alanında 10 (%62) hastada boyanma izlenirken sağlam deri alanında 8 (%50) hastada boyanma saptandı. HLA-DR boyanması, hem infiltrattaki lenfositlerde hem de epidermal keratinositlerde izlendi. Dermal

mononükleer infiltrasyona daha yakın olan keratinositlerde boyanma daha belirgindi. Paterji alanında, infiltrattaki hücrelerin boyanma oranı da yüksekti. Behçet hastalarında boyanma şiddeti ve oranı açısından; paterji alanında sağlam deri alanına göre artış olmakla birlikte, fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kontrol grubunda ise paterji alanında 4 olguda, sağlam deri alanında ise 5 olguda boyanma izlendi. Hasta grubu ile kontrol grubu arasında, boyanma oranı ve şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Hasta grubunda paterji pozitifliğine göre yapılan değerlendirmede; paterji pozitif olgularda boyanma gösteren olgu sayısı yüksek olmakla birlikte, anlamlı bir farklılık saptanmadı. Boyanma gösteren Behçet hastalarının pozitif paterji test alanında, epidermal keratinositlerde ve üst dermiste perivasküler alanlarda orta derecede yoğunlukta HLA-DR boyanması izlendi. Boyanma, dermal mononükleer infiltrata yakın keratinositlerde daha belirgindi (Resim 6). Paterji negatif Behçet hastalarının doku örneklerinde ise, üst dermiste ve bazal keratinositlerde hafif derecede boyanma saptandı (Resim 7).

CD4: Hasta grubunda paterji alanında 16 hastanın 9 (%56)' unda boyanma izlenirken sağlam deri alanında ise 16 hastanın yalnızca 4 (%25)' ünde boyanma saptandı. Paterji alanı lehine belirgin artış olmakla birlikte fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. İnfiltrattaki hücrelerin boyanma oranı açısından da istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, paterji alanında belirgin artış mevcuttu. Kontrol grubunda ise paterji alanında 7 olgunun yalnızca 1(%14) tanesinde boyanma izlenirken sağlam deri alanında 2 (%28) olguda boyanma izlendi.



Resim 6. 12 No' lu hastanın paterji test alanında epidermal keratinositler ve üst dermiste perivasküler alanlarda orta derecede HLA-DR boyanması (HLA-DR X 40)



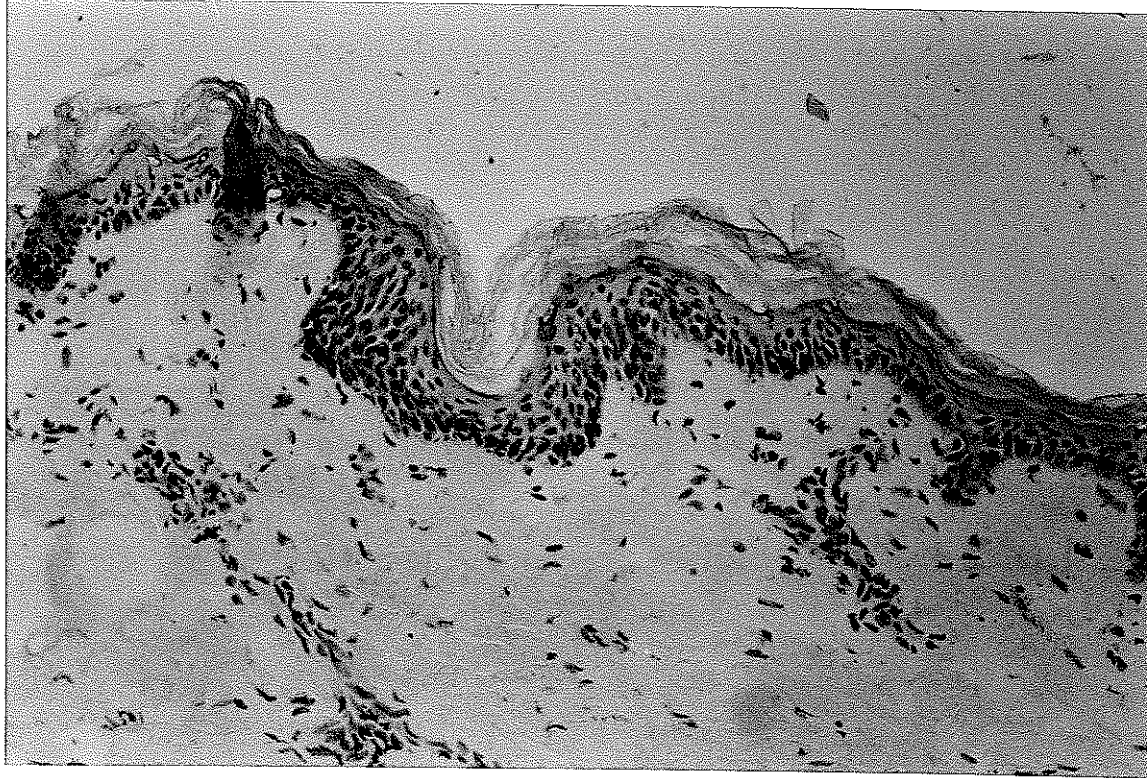
Resim 7. 16 No' lu Behçet hastasının paterji alanında üst dermiste ve bazal keratinositlerde hafif derecede HLA-DR boyanması (HLA-DR X 40)

Hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında, Behçet hastaları lehine istatistiksel olarak anlamlı bir artış mevcuttu ($p:0.05$). Hasta grubunda paterji pozitifliğine göre yapılan değerlendirmede; paterji pozitif olguların (%50), negatif paterji olguların ise (%60)' ında boyanma saptandı, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Boyanma gösteren Behçet hastalarının pozitif paterji test alanında, üst dermiste özellikle perivasküler alanlarda şiddetli derecede CD4 boyanması izlendi (Resim 8). Kontrol olgularının paterji test alanı doku örneklerinde ise boyanma saptanmadı (Resim 9).

CD8: Hasta grubunda paterji alanında sadece 1 hastada boyanma izlenirken, sağlam deri alanında hiçbir hastada boyanma olmadı. Kontrol grubunda da hem paterji, hem sağlam deri alanı doku örneklerinde yalnızca 1 olguda boyanma izlendi. CD8 boyanması açısından hasta ve kontrol grupları arasında ve her iki grubun paterji alanı ve sağlam deri alanı arasında anlamlı fark yoktu. Behçet hastalarında paterji testi pozitif ve negatif olan gruplar arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.



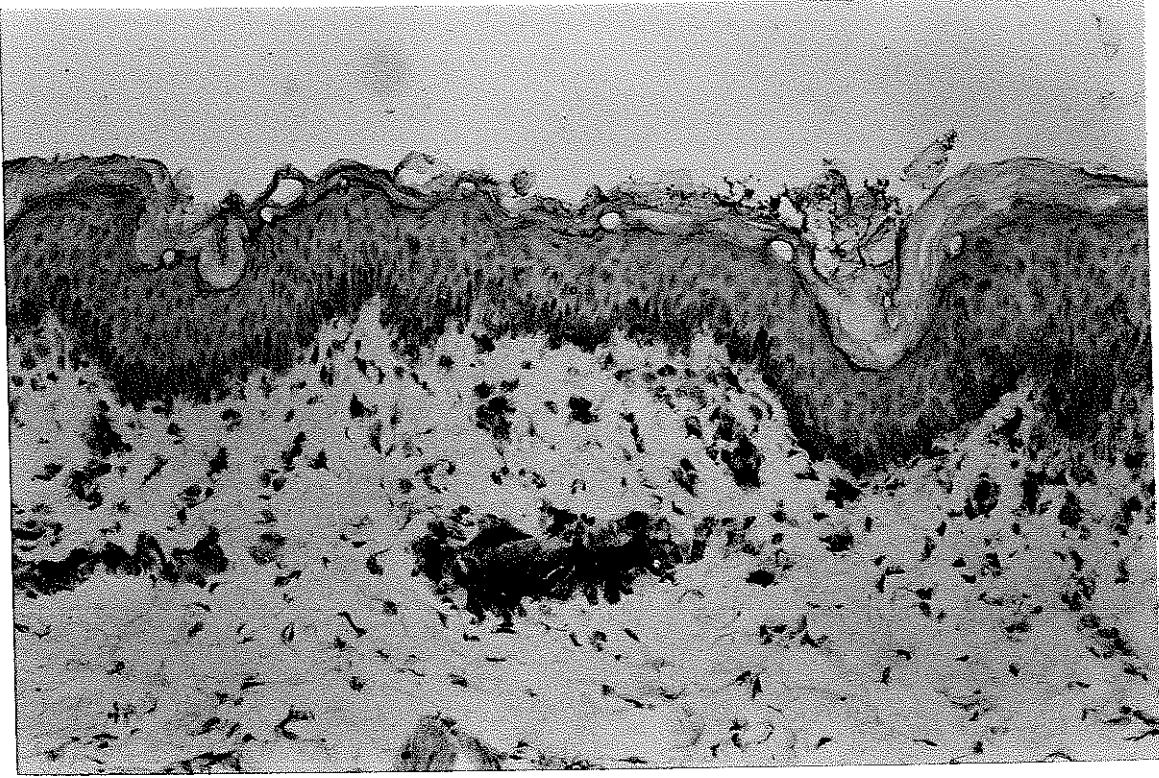
Resim 8. 13 No' lu hastanın paterji test alanında üst dermiste perivasküler alanlarda şiddetli derecede CD4 boyanması (CD4 X 20)



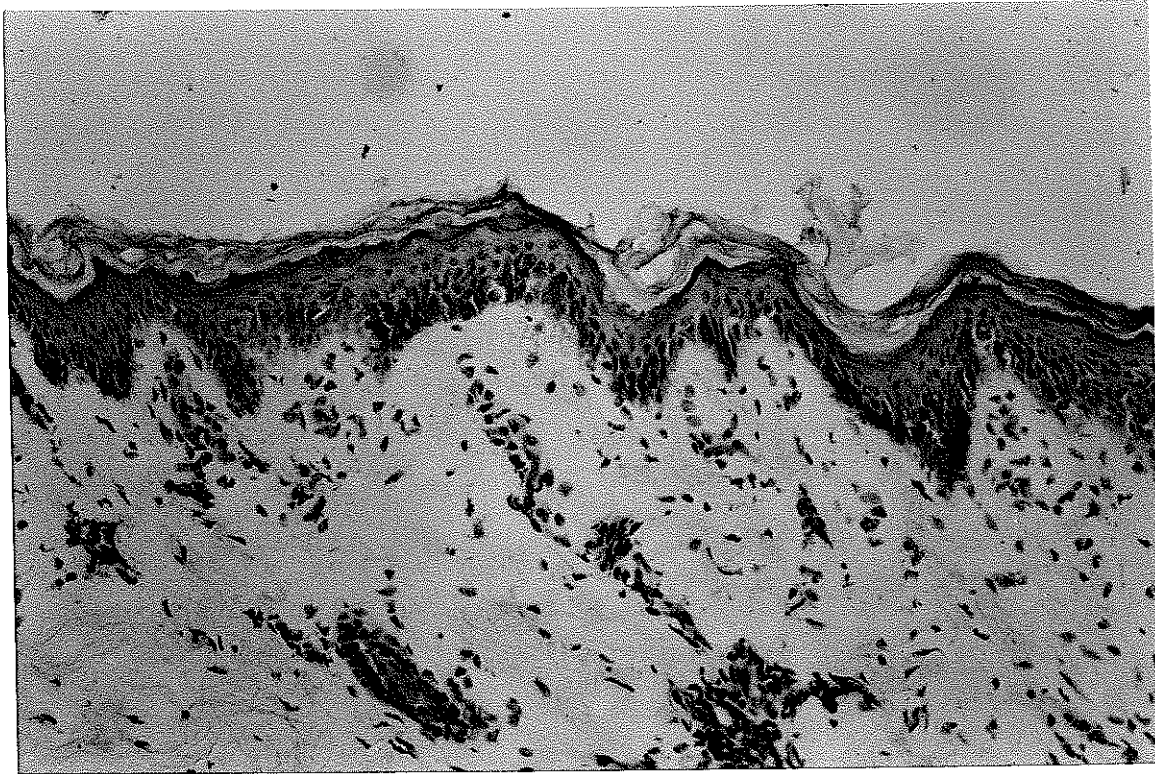
Resim 9. 2 No' lu kontrol olgusunun paterji alanında üst dermiste CD4 boyanması izlenmemektedir (CD4 X 20)

CD2: Behçet hastalarında paterji alanında 16 hastanın 8 (%50)' inde boyanma izlenirken sağlam deri alanında ise 5 (%31) hastada boyanma izlendi. Kontrol grubunda ise paterji alanında 3, sağlam deri alanında da 2 hastada boyanma izlendi. Behçet hastalarında boyanma kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte, farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi. İnfiltrattaki hücrelerin boyanma oranları da Behçet grubunda daha yüksekti. Her iki grubun kendi içinde paterji alanları ile sağlam deri alanları arasında ise anlamlı fark yoktu. Behçet hastalarında paterji testi pozitif ve negatif olan gruplar arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Boyanma gösteren Behçet hastalarının pozitif paterji test alanında, üst dermiste özellikle perivasküler alanlarda şiddetli derecede CD2 boyanması izlendi (Resim 10). Kontrol olgularının paterji test alanı doku örneklerinde ise boyanma saptanmadı (Resim 11).



Resim 10. 12 No' lu hastanın paterji test alanında üst dermiste perivasküler alanlarda şiddetli derecede CD2 boyanması (CD2 X 20)



Resim 11. 4 No' lu kontrol olgusunun paterji alanında üst dermiste CD2 boyanması izlenmemektedir (CD2 X 20)

TARTIŞMA

BH, temel patolojisi vaskülit olan, nedeni tam bilinmeyen kronik inflamatuvar bir hastalıktır.⁵⁶ Patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte, genetik yatkınlığı olan bireylerde herpes virus ve bazı streptokok suşları başta olmak üzere çeşitli çevresel faktörlerin neden olduğu immünolojik fonksiyon bozukluklarının Behçet hastalığından sorumlu olduğu düşünülmektedir.⁵⁷ Hastalıkta tüm klinik bulgulara yol açan esas patoloji ise vaskülitir.⁴ Bazı araştırmacılar, immünkompleks aracılı lökositoklastik vaskülitte uyumlu bulgular saptamışlarsa da diğerleri lenfositik vaskülitte karakterize olduğunu vurgulamışlardır.^{42,44} DPR, Behçet hastalığında kutanöz vaskülitin güzel bir örneğini oluşturmaktadır.²² Bu nedenle DPR üzerinde yapılacak immünohistolojik çalışmalar hastalığın etyopatogenezine ilişkin bilgiler verebilecektir.

Çalışmamızda; steril şartlar altında yapılan paterji testi Behçet hastalarının 10 (%62.5)' unda pozitif olarak değerlendirilmiştir. Testte pozitiflik oranı literatürdeki bilgilerle uyumlu olarak erkek hastalarda daha fazla idi. Irksal farklılıklar gösteren testin pozitiflik oranı literatürde Türk Behçet hastaları için %50-80 olarak bildirilmiştir.⁷ Testin yapılış tekniği, kullanılan iğnenin çapı ve ucunun künt veya keskin oluşu gibi faktörler de testin pozitifliğini etkilemektedir.²⁶ Çalışmamızda paterji testi önerilen teknik olan steril şartlar altında 20G enjektör iğnesi ile ön kol fleksör yüzüne pikür şeklinde yapıldı. Pikürün dermise kadar inmesine dikkat edildi ve her hastada test 6 ayı pikür şeklinde uygulandı. Kontrol grubunda ise aynı teknikle yapılan paterji testi tüm hastalarda negatif sonuç verdi.

Pozitif paterji reaksiyonunda en karakteristik histopatolojik bulgu çoğunluğunu lenfositlerin oluşturduğu yoğun perivasküler mononükleer infiltrasyondur. İnfiltrattaki lenfositlerin çoğunluğunu CD4 T lenfositler oluşturmaktadır.²⁵ Çalışmamızda da paterji doku örneklerinde, perivasküler yerleşimli, lenfositten zengin mononükleer infiltrat izlendi. İnfiltrattaki lenfositlerin çoğunluğunu CD4 T lenfositler oluştuyordu. Negatif paterji doku örneklerinde ise, nötrofil artışı ve az sayıda lenfosit ve makrofajlardan oluşan infiltrat izlendi.

Organizma bir antijenle karşılaşınca ilk olarak bu antijen epidermisde antijen işlenimi ve sunumu ile primer görevli hücre olan Langerhans hücresi tarafından alınır.² Langerhans hücrelerinde işlenen ve sunuma hazır hale getirilen antijen daha sonra kimyasal yapısına ve eksojen veya internal orijinine bağlı olarak uygun MHC molekülü aracılığıyla ilgili T lenfositlere sunulur.³⁷ Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte epidermal Langerhans hücre ekspresyonunda kontrol grubunda tüm hastalarda artış izlenirken, Behçet hastalarında ise değerlendirilebilen 12 hastanın 7'sinde artış gözlenmiştir. Bilindiği gibi Langerhans hücresi antijeni işledikten ve sunuma hazır hale getirdikten sonra T lenfositlere sunmak için lenfatik kanallarla lenf noduna göç etmektedir. Paterji testi sonrası antijenik bir uyarı ile karşılaşan organizmada Langerhans hücrelerinde kontrol alanına göre azalma olması bu hücrelerin lenf noduna göç etmek üzere epidermisten ayrılması ile açıklanabilir.

Bakteri, bakteri toksinleri, dermatofit antijenleri, aşular ve polenler gibi hücre dışı proteinler MHC class II molekülleri ile T helper (CD4) lenfositlere sunulur.^{37,50}

Çalışmamızda CD4 ekspresyonunda paterji alanında Behçet hastalarında kontrol

grubuna göre anlamlı artış izlenmesi Behçet hastalarında etyopatogeneizde rol oynadığı ileri sürülen antijenin T helper (CD4) lenfositlere sunulduğunu ve dolayısıyla bakteri, bakteri toksini, aşı vb. gibi hücre dışı kaynaklı bir antijen olduğunu düşündürmektedir. CD4 ekspresyonunda Behçet hastalarında paterji alanında kontrol hastalarına göre anlamlı artış izlenirken Behçet hastalarının kendi test biyopsileri ile paterji alanları arasındaki farkın anlamsız oluşu Behçet hastalarının genel bir hiperreaktivitesi ile açıklanabilir.

CD8 ekspresyonu, Behçet hastalarında paterji alanında yalnızca 1 hastada izlenirken, sağlam deri alanında hiçbir hastada boyanma izlenmedi. CD8 ekspresyonunda hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark olmamakla birlikte CD4 ekspresyonu artmış iken CD8 boyanmasının negatif olması Behçet hastalığında immünolojik olaylarda primer olarak T helper (CD4) lenfositlerin rol oynadığını göstermektedir.

Aktive olmuş T lenfositlerin antijen sunucu hücre ile etkileşiminde LFA-1 ile ICAM-1 etkileşimi önemli rol oynamaktadır.^{37,51-53} Çalışmamızda kesitlerdeki yetersizlik nedeniyle tüm hastalar değerlendirilememekle birlikte, değerlendirmeye alınan tüm kesitlerde ICAM-1 boyanması pozitif sonuç verdi. ICAM-1 pozitifliği hem infiltrattaki lenfositlerde hem de epidermal keratinositlerde mevcuttu. ICAM-1 boyanması açısından hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark olmaması ise, bu molekülün bir çok inflamatuvar durumda primer rol oynaması ile açıklanabilir. Bilindiği gibi, kutanöz inflamasyonun başlangıç fazında keratinosit aktivasyonu olmakta ve keratinosit yüzeyinde ICAM-1 ekspresyonu olmaktadır. Aktive olan keratinositlerden salınan bir dizi sitokinin etkisiyle T lenfosit

aktivasyonu ve migrasyonu olmakta ve aktive T lenfositlerin yüzeyindeki LFA-1 ile ICAM-1 arasında etkileşim gerçekleşmektedir.⁵³ Bu nedenle kontrol grubunda da test sırasında dermise kadar inen pikür bir çeşit nonspesifik uyarıya yol açmaktadır. Belki de bu iğnenin kendisi organizma tarafından antijen olarak algılanmaktadır veya iğnenin batırılması sırasında deri yüzeyinden deri içine giren bir madde antijenik uyarıya yol açmaktadır. Hatta belki de iğnenin oluşturduğu travma ile derinin normal yapısal elemanlarından birisi değişikliğe uğrayarak antijenik özellik kazanmaktadır. Yapılan bir çalışmada pozitif paterji reaksiyonunda orta ve bazal keratinositlerin güçlü olarak ICAM-1 eksprese ettikleri, ve bu pozitifliğin özellikle dermal mononükleer infiltrata yakın alanlarda daha belirgin olduğu ve ayrıca endotel hücrelerinde de ICAM-1 ekspresyonunun olduğu gösterilmiştir.²⁵ ICAM-1 ekspresyonu aktive T lenfositlerden salınan IFN- γ ile indüklendiği için dermal lenfositik infiltrata yakın alanlarda daha belirgindir.⁵² LFA-1, paterji alanında hem hasta hem de kontrol grubunda daha belirgin bir boyanma gösterirken, sağlam deri alanında hasta grubunda boyanma daha az, kontrol grubunda ise boyanma yoktu. Antijenik uyarı sonrası aktive T lenfositlerin antijen sunucu hücre ile etkileşiminde LFA-1 ile ICAM-1 etkileşimi primer rol oynamaktadır.^{37,51-53} Çalışmamızda, LFA-1 boyanmasının paterji test alanında belirgin artış göstermesi de antijenik uyarı sonrası T lenfosit aktivasyonunu göstermektedir.

HLA-DR ekspresyonu, hem infiltrattaki hücrelerde hem de keratinositlerde Behçet hastalarında paterji alanında 16 hastanın 10' unda (%60) izlendi. Sağlam deri alanında ise boyanma oranı daha düşüktü (%50). HLA-DR, hücre dışı kaynaklı

antijenlerin CD4 T lenfositlere sunumunda rol oynamaktadır. Paterji test alanında CD4 ekspresyonunun hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermesi ve aynı zamanda HLA-DR ekspresyonunun da belirgin olması etyopatogeneizde sorumlu olduğu ileri sürülen antijenin HLA-DR aracılığıyla CD4 lenfositlere sunulduğunu göstermektedir.^{37,50} Yapılan benzer bir çalışmada da infiltrattaki hücrelerin yarısının HLA-DR eksprese ettikleri ve ayrıca orta ve bazal keratinositlerde de HLA-DR ekspresyonunun izlendiği ve bunun daha çok dermal mononükleer infiltrata yakın keratinositlerde belirgin olduğu bildirilmiştir.²⁵ HLA-DR ekspresyonu da ICAM-1 gibi aktive T lenfositlerden salınan IFN- γ ile indüklenir. Bu nedenle dermal T lenfosit yoğunluğunun fazla olduğu bölgelerde HLA-DR ekspresyonu daha yükündür.

HLA-ABC, class I antijeni olup, hücre içi kaynaklı antijenlerin CD8 (T sitotoksik) lenfositlere sunumunda görevlidirler.³⁷ Çalışmamızda, HLA-ABC boyanmasında paterji alanında Behçet hastaları ile kontrol hastaları arasında anlamlı fark izlenmezken, sağlam deri alanında Behçet hastalarında anlamlı artış izlenmesi Behçet hastalarındaki hiperreaktivite ile açıklanabilir.

Behçet hastalarında paterji pozitifliğine göre yapılan karşılaştırmada, CD4, HLA-DR, ICAM-1 ve LFA-1 boyanmalarında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte pozitif paterji reaksiyonunda boyanmada belirgin artış izlenmesi, etyopatogeneizde rol oynayan immünolojik olaylarda primer olarak CD4 lenfositlerin rol oynadığını düşündürmektedir. Class-II antijenleri aracılığıyla hücre dışı kaynaklı antijenler T helper lenfositlere sunulmaktadır. Bu işlem sırasında ICAM-1 ile LFA-1 etkileşimi önemli rol oynamaktadır.

Çalışmamızın sonuçları Behçet hastalığının immünopatogeneğinde primer olarak CD4 T lenfositlerin rol oynadığını ve dolayısıyla henüz kesin olarak izole edilemeyen antijenin bakteri, bakteri toksini, aşular, dermatofit etkenleri vb. gibi hücre dışı kaynaklı olduğunu ve Langerhans hücrelerinde dış kaynaklı antijen işleme yolu ile işlenip Class-II MHC molekülü aracılığıyla CD4 lenfositlere sunulduğunu göstermektedir.

SONUÇLAR

- 1- Çalışmaya, yaşları 22 ile 51 arasında değişen 11' i erkek, 5' i kadın toplam 16 Behçet hastası alındı. Kontrol grubu, yaşları 21 ile 69 arasında değişen 4'ü kadın 3'ü erkek toplam 7 sağlıklı gönüllüden oluştu.
- 2- Behçet hastalarının hastalık süreleri 1 yıl ile 14 yıl arasında değişiyordu.
- 3- Hasta ve kontroller steril koşullar altında 20G enjektör iğnesi kullanılarak ön kol fleksör yüzüne 6 ayrı pikür şeklinde paterji testi yapıldı. Testten 48 saat sonra biri maksimum yanıt alınan test alanından, diğeri en az 2 cm uzak bir alandan olacak şekilde sağlam deriden olmak üzere iki ayrı biyopsi alındı.
- 4- Paterji testi; Behçet hastalarının %62.5' inde pozitif saptanırken, kontrol grubunun tamamında test negatif idi.
- 5- Pozitif paterji doku örneklerinde histolojik incelemede, dermal infiltrat başlıca T lenfositlerden oluşurken, negatif paterji doku örneklerinde, nötrofil artışı ve az sayıda lenfosit ve makrofajlardan oluşan infiltrat izlendi.
- 6- Kontrol grubunun paterji test alanı doku örneklerinde, vasküler yapılar çevresinde çok az sayıda lenfosit izlendi.
- 7- CD4 ekspresyonunda, Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı fark saptandı.
- 8- Sağlam deri alanında; kontrol grubuna göre, hasta grubu lehine anlamlı HLA-ABC artışı saptanmasına karşın, paterji alanında iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu.

9- Epidermal Langerhans hücre sayısında artış hasta grubunun %60' ında izlenirken bu oran kontrol grubunda %100 idi.

10- Behçet hastalarında, paterji alanında yalnızca 1 hastada CD8 boyanması izlenirken, sağlam deri alanında hiç bir hastada boyanma olmadı.

11- ICAM-1; hasta ve kontrollerden hazırlanabilen, az sayıda kesitlerin tümünde boyanma izlendi.

12- LFA-1 boyanması, paterji alanında hem hasta hem de kontrol grubunda belirgin oranda yüksek saptandı.

13- İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, hasta grubunda paterji alanında sağlam deri alanına göre daha fazla HLA-DR boyanması izlendi

14- Pozitif paterji olgularında negatif paterjilere göre, CD4, HLA-DR, ICAM-1 ve LFA-1 boyanmalarında anlamlı olmayan bir artış saptandı.

ÖZET

Bu çalışma, temel patolojisi bugün için vaskülit kabul edilen Behçet hastalığındaki kutanöz vaskülitin bir örneğini oluşturan deri paterji reaksiyonuna ışık tutmak ve hastalığın patogenezinde rol oynayan olası faktörleri saptamak amacıyla yapıldı. Hasta ve kontrol gruplarından biri paterji alanından ve diğeri sağlam deriden olmak üzere iki ayrı biyopsi alındı. Alınan doku örneklerinde; ICAM-1, LFA-1, HLA-ABC, HLA-DRDPDQ, CD1, CD2, CD4 ve CD8 boyamaları, avidin-biotin peroksidaz kompleks yöntemi ile monoklonal antikor panelleri kullanılarak, direkt immünfloresan yöntemi ile yapıldı.

Paterji testi Behçet hastalarının %62'sinde pozitif saptanırken, kontrol grubundaki tüm olgularda test negatifti. Pozitif paterji doku örneklerinde lenfositik vaskülit belirgin bulgu iken negatif paterji doku örneklerinde az sayıda lenfosit ve nötrofillerden oluşan minimal nonspesifik travmatik değişiklikler izlendi.

İmmünohistolojik değerlendirmede, Behçet hastalarında paterji doku örneklerinde kontrol grubuna göre CD4 boyanmasında anlamlı bir artış izlenirken, CD8 boyanmasının olmaması ve ayrıca Behçet hastalarında HLA-DR ve ICAM-1 boyanmasında artış saptanması etyopatogeneizde rol oynayan immünolojik olaylarda primer olarak CD4 T lenfositlerin rol oynadığını göstermektedir.

Behçet hastalarında Paterji pozitifliğine göre yapılan değerlendirmede; paterji pozitif doku örneklerinde, negatif paterji doku örneklerine göre CD4, HLA-DR, ICAM-1 ve LFA-1 boyanmalarında artış saptanmakla birlikte fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

KAYNAKLAR

- 1- Behçet H. Über rezidivierende aphthöse, durch ein virus verursachte geschwüre am mund, am auge, und an den genitalien. *Dermatol Wochenschr* 1937;105:1152.
- 2- Joseph L Jorizzo. Behçet's Disease. In: Fitzpatrick TB, Freedberg IM, Austen KF, et al, eds. *Dermatology in General Medicine*. New York: Mc Graw Hill, 1993:2290-2294
- 3- International study Group for Behçet's Disease. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. *Lancet* 1990;1: 1078-80
- 4-O'Duffy JD. Vasculitis in Behçet's Disease. *Rheumatic Disease Clinics of North America*- Vo. 16, No. 2, May 1990
- 5- Yazıcı H, Tüzün Y, Pazarlı H, et al. Influence of age of onset and patient's sex on the prevalans and severity of manifestations of Behçets syndrome. *Ann Rheum Dis* 1984;43:783-9.
- 6- Moschella SL, Hurley HJ. *Dermatology* 3rd ed. WB Saunders Company, 1992;587-588
- 7- Tüzün Y, Kotogyan A, Aydemir EH, Baransü O. *Dermatoloji*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi 1994; 393-99.
- 8- Mege JL, Dilşen N, Sanguedolce V, et al. Overproduction of monocyte derived tumor necrosis factor α , interleukin (IL) 6, IL-8 and increased neutrophil superoxide generation in Behçet' disease. A comparative study with familial mediterranean fever and healthy subjects. *J Rheumtol* 1993;20:1544-9
- 9- Hamzaoui K, Ayed K, Slim A, et al. Natural killer cell activity, interferon-gamma and antibodies to herpes viruses in patient's with Behçet's disease. *Clin Exp Immunol* 1990;79(1):28-34.
- 10- Jorizzo JL. Neutrophilic dermatoses: Sweet's syndrome and pyoderma gangrenosum. In: Gallin JJ, Goldstein IM, Snyderman R, eds. *Inflamation: Basic Principles and Clinical Correlates*. New York: Raven Press, 1988:785-802.
- 11- Cohen L. Ulcerative lesions of the oral cavity. *Int J Dermatol* 1980;19:362-74
- 12- Magro CM, Crowson AN. Cutaneous manifestations of Behçet's Disease. *International Journal of Dermatology*. Vol. 34. No.3, March 1995

- 13- Shimizu T, Erlich GE, Hayashi K. Behçet's Disease (Behçet's Syndrome) Sem Arth Rheumatol 1979;8:223-60.
- 14- Alpsoy E, Aktekin M et al. Distribution and frequency of papulopustular lesions in Turkish Behçet's disease A randomized, controlled study. International Journal of Dermatology. (Yayına kabul ediliş tarihi: 9.9.1997)
- 15- Yazıcı H, Hekim N, Tüzün Y, et al. Sex factor and Behçet's syndrome. In: Lehner T and Barnes CG, eds. Recent advances in Behçet's disease. Royal Society of Medicine Services limited, 1986:205-6. 28-34
- 16- Pazarlı H, Özyazgan Y, Bahçeciöglü H, ve ark. Behçet hastalığına bağlı göz tutulmalarında ön ve arka segment lezyonlarının korelasyonu. Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi 1987;21(1):17-9.
- 17- Yurdakul S, Yazıcı H, Tüzün Y, et al. The arthritis of Behçet's Disease: a prospective study. Ann Rheum Dis 1983; 42:505-15.
- 18- Kansu E. Behçet hastalığında vasküler komplikasyonlar. 3. Ulusal Behçet Hastalığı Kongresi, Çukurova - Basımevi, Adana 1991;149-55.
- 19- Hatzinicolaou P, Vayopoulos G, Mavropoulos S, et al. Vascular manifestations in Behçet's disease. Br J Rheumatol 1992; 31(4):284-5.
- 20- O'Duffy JD, Goldstein NP. Neurologic involvement in seven patients with Behçet's Disease. Am J Med 1976;61:171-8
- 21- Bowles CA, Nelson AM, Hammill SC, et al. Cardiac involvement in Behçet's disease. Arthritis Rheum 1985;28(3):345-348.
- 22- Jorizzo JL, Solomon AR, Cavallo T. Behçet' syndrome. Immunopathologic assessment of pathergy lesions is useful in diagnosis and follow-up. Arch Pathol Lab Med 1985;109:747-751.
- 23- Jorizzo JL. Behçet's Disease: an update based on the 1985 International Conference in London. Arch Dermatol 1986;122:556-8
- 24- International Study group for Behçet's Disease. Evaluation of diagnostic (classification) criteria in Behçet's disease-towards Internationally agreed criteria. Br j Rheumatol. 1992; 31: 299-308.
- 24- International study group for Behçet's disease. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. Lancet 1990;335:1078-80.

- 25- Gül A, Esin S, Dilşen N, Koniçe M, Wigzell H, Binerfeld P. Immunohistology of skin pathergy reaction in Behçet's Disease. *British Journal of Dermatology*. 1995; 132: 901-907.
- 26- Dilşen N, Koniçe M, Aral O, et al. Comparative study of the skin pathergy test with blunt and sharp needles in Behçet's disease: confirmed spesifity but decreased sensitivity with sharp needles. *Annals of the Rheumatic disease* 1993;52:823-825.
- 27- Serdaroğlu S, İşçimen A, Tüzün Y, Yazıcı H. Behçet hastalığında paterji testinin multipl pikür tarzında uygulanmasının önemi. *Ulusal Dermatoloji Kongresi 1990A*; 339.
- 28- Özarmağan G, Saylan T, Azizlerli G, et al. Re -evaluation of the pathergy test in Behçet's disease. *Acta Derm Venereol* 1991;71:75-76.
- 29- Yazıcı H, Tüzün Y, Tanman AB, et al. Male patients with Behçet's syndrome have stronger pathergy reaction. *Clin Exp Rheum* 1985; 3:137-141
- 30- Dilşen N, Koniçe M, Aral O. et al. Standardization and evaluation of the skin pathergy test in Behçet's disease and controls. In: recent Advances in Behçet's disease (Lehner T. Barnes CG, eds). London: Royal Society of Medicine Services. 1986; 169-72.
- 31- Gürler A, Erdem C, Kundakçı N, Behçet hastalığında üç aşamalı paterji testi ile elde edilen sonuçlar. *Lepira mecmuası* 1987;18: 73-84
- 32- Yazıcı H, Chamberlain MA, Tüzün Y, et al. Comperative study of the pathergy reaction among Turkish and British patients with Behçet's Disease. *Ann Rheum Dis* 1984;43:74-5.
- 33- Davies PG, Fordham JN, Kirwan JR, et al. The pathergy test and Behçet's syndrome in Britain. *Ann Rheum Dis* 1984;43:70-73.
- 34- Yazıcı H, Tüzün Y, Pazarlı H, et al. The combined use of HLA-B5 and pathergy test as diagnostic markers of Behçet's disease in Turkey. *j Rheumatol* 1980; 7: 206-10.
- 35- Sobel JD, Haim S, Shahrir A, et al. Cutaneous hyperreactivity in Behçet's disease. *Dermatologica* 1973;146:350-6
- 36- Gilhar A, Winterstein G, Turani, et al. Skin hyperreactivity response (pathergy) in Behçet2s disease. *J Am Acad Dermatol* 1989; 21: 547-52.

- 37- Kalish RS. Antigen processing: The gateway to the immune response. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:640-52
- 38- Kondo S, Sauder DN. Epidermal cytokines in allergic contact dermatitis. *J Am Acad dermatol* 1995;33:786-800.
- 39- Barker JNWN, Ophir J, Macdonald DM. Keratinocyte HLA-DR expression: the relationship to dermal lymphocytic infiltration. *Clin Exp Dermatol* 1987; 12:397-399.
- 40- Basham TY, Nickoloff BJ, Merigan TC, et al. Recombinant gamma interferon HLA-DR on cultured human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1984; 83: 88-92
- 41- Hamzaoui K, hamza M, Ayed K. Production of TNF- α and IL-1 in active Behçet's disease. *The Journal of Rheumatology* 1990; 17:10.
- 42- Chen KR, Kawahara Y, Miyakawa s, et al. Cutaneous vasculitis in Behçet's disease: A clinical and histopatologic study of 20 patients. *J Am Acad Dermatol* 1997;36:689-96.
- 43- Lee SH, Chung KY, Lee WS, et al. Behçet's syndrome associated with bullous necrotizing vasculitis. *J Am Acad Dermatol* 1989;21:327-30.
- 44- Jorizzo JJ, Solomon Ar, Zanolli Md, et al. Neutrophilic vascular reactions. *J Am Acad Dermatol* 1988;19:983-1005.
- 45- Stingl G, Katz SI, Clement L, et al. Immunological function of Ia-bearing epidermal Langerhans cells. *J Immunol* 1978;121:2005-13
- 46- Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immun system. *Immunol Today* 1986; 7: 235-40.
- 47- Krippe ML, Munn CG, Jeevan A, et al. Evidence that cutaneous antigen-presenting cells migrate to regional lymph nodes during contact sensitization. *J Immunol* 1990;145:2833-8.
- 48- Streilein JW, Grammer SF. In vitro evidence that Langerhans cells can adopt two functionally distinct forms capable of antigen presentation to T lymphocytes. *J Immunol* 1989;143:3925-33.
- 49- Kalish RS. Recent developments in the pathogenesis of allergic contact dermatitis. *Arch Dermatol* 1991; 127:1558-63.
- 50- Neeffes JJ, Ploegh HL. Intracellular transport of MHC class II molecules. *immunol Today* 1992;13:179-84

- 51-Norris P, Robin PS, Thomas DA, et al. The expression of endothelial leukocyte adhesion molecule-1(ELAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in experimental cutaneous inflammation: A comparison of ultraviolet B erythema and delayed hypersensitivity J Invest Dermatol 1991;96:763-770.
- 52-Singer KH, Tuck DT, Sampson HA, et al. Epidermal keratinocytes express the adhesion molecule-1 in inflammatory dermatoses. J Invest Dermatol 1989; 92:746-750.
- 53- Barker JNWN, Mitra RS, Griffiths CEM, et al. Keratinocytes as initiators of inflammation. Lancet 1991; 337: 211-14.
- 54- Turka LA, Ledbetter JA, Lee K, et al. CD28 is an inducible T cell surface antigen that transduces a proliferative signal in CD3+ mature thymocytes. J Immunol 1990;144:1646-53.
- 55- Jenkins MK, Taylor PS, Norton SD, et al. CD28 delivers a costimulatory signal involved in antigen specific IL2 production by human T cells. J Immunol 1991; 147:2461-6.
- 56- Shimizu T, Ehrlich GE, Inaba G, Hayashi K. Behçet disease. Semin Arthritis Rheum 1979;8:223-60
- 57- Lehner T, Fortune F, Lavery E. Recent advances in T-cell immunoregulation and in the microbial causes of Behçet's disease. In: O'Duffy JD, Kökmen E, eds. Behçet' disease: Basic and clinical aspects. New York: Marcel Dekker Inc. 1991;475-85.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
Merkez Kütüphanesi