

Behçet Hastalığında IL-2R, IL-6 ve IL-8 Levels

IL-2R, IL-6 and IL-8 Levels in Behçet's Disease

Işıl İnanır, Ece Onur*, Timur Pırıldar**, Kamer Gündüz, Ahmet Var*

Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

*Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

**Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı, Manisa, Türkiye

Özet

Amaç: İmmunolojik faktörler Behçet hastalığının multifaktöryel etyopatogenezinde önemli rol oynamaktadırlar. Özellikle Th1 hücreleri proinflatuvar sitokinler ve nötrofil çekici kemokinler açığa çıkararak işlev görürler. Bu çalışmada Behçet hastalarında IL-2R, IL-6 ve IL-8 düzeyleri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Altmış-altı Behçetli hasta (36 inaktif ve 30 aktif) ve 22 sağlıklı kontrol çalışma grubunu oluşturmaktaydı. Sitokin analizleri ticari kitler kullanılarak ELISA yöntemi ile yapılmıştır. Ayrıca eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) çalışılmıştır.

Bulgular: Tüm hastaların ve inaktif olanların IL-2R, IL-6 ve IL-8 düzeyleri kontrollerden farklı değildi. Hastalarda CRP ve ESR değerleri kontrollerden yüksekti. İnaktiflerle karşılaştırıldığında aktif hasta grubunda, IL-8 ve CRP düzeyleri artmıştı ($p<0.05$).

Sonuç: Çalışmamız aktif Behçetli hastalarda mononükleer ve nötrofilleri çeken bir kemokin olan IL-8 düzeylerinin arttığını göstermiştir. IL-8 Behçet hastalığında bir aktivite belirteci olarak kullanılabilir. (*Türkderm 2010; 44: 213-5*)

Anahtar Kelimeler: Behçet hastalığı, sitokinler

Summary

Background and Design: Immunological factors are considered to have an important role in the multifactorial ethiopathogenesis of Behçet's disease (BD). Especially, Th1 cells function by expressing proinflammatory cytokines and neutrophil-attracting chemokines. Levels of IL-2R, IL-6 and IL-8 were evaluated in patients with BD in this study.

Material and Method: Sixty-six patients with BD (36 with inactive and 30 with active) composed the study group and 22 subjects – the control group. Cytokine analyses were done with ELISA method by using commercial kits. ESR and CRP levels were also measured.

Results: IL-2R, IL-6 and IL-8 levels in all patients, including the inactive ones, were not different from those in controls. CRP and ESR levels in patients were higher than in controls. IL-8 and CRP levels were increased in patient with active BD ($p<0.05$) when compared to those with inactive BD.

Conclusion: Our study demonstrated elevated levels of serum IL-8, a chemokine activating mononuclear cells and neutrophils, in patients with active BD. IL-8 may be considered as an activity marker for BD. (*Turkderm 2010; 44: 213-5*)

Key Words: Behçet's disease, cytokines

Giriş

Behçet hastalığı (BH), tekrarlayan oral ve genital ülserasyonlar ve üveit atakları ile karakterize multisistemik inflamatuvar bir hastalıktır¹. Hulusi Behçet'in 1932 yılındaki ilk tanımına² ek olarak eklem, akciğer, santral sinir

sistemi, gastrointestinal sistem ve damarlar etkilenir^{1,3,4}.

Tüm damarları etkileyen inflamasyon BH'da ana patolojidir. Patogenez hala tam belirgin olmasa da, genetik olarak uygun bireylerde mikrobiyal ya da çevresel faktörlerle tetiklenen immunolojik anomaliler ön planda gelmektedir^{1,3-5}.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Işıl İnanır, Celal Bayar Üniversite Hastanesi, Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı Manisa, Türkiye
E-posta: isilinanir@hotmail.com **Geliş Tarihi/Received:** 18.02.2010 **Kabul Tarihi/Accepted:** 26.04.2010

*Türkderm-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.
Turkderm-Archives of the Turkish Dermatology and Venerology, published by Galenos Publishing.*



Hem B, hem de T hücreler BH'daki immunolojik fonksiyon bozukluğu ile ilişkilidir. Artmış immunoglobulin, immun kompleks ve otoantikör düzeyleri B hücre fonksiyon bozukluğunu gösterse de, BH'da inflamasyonun T hücre kökenli sitokinlere bağlı olduğu düşünülmektedir^{3,6,7}. Çalışmalar damar endotel hücreleri, Th1 sitokinler ve nötrofil çekici kemokinler üzerine odaklanmaktadır. Bu çalışmada Behçetli hastaların serumlarında proinflamatuvar sitokinler IL-2R, IL-6, bir kemokin olan IL-8 düzeyleri ve bunların klinik aktivite ile ilişkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma grubu

Uluslararası Çalışma Grubu kriterlerine göre BH tanısı alan 66 hasta ve 22 sağlıklı cins ve yaş uyumlu gönüllü bu çalışmada yer almıştır. Hasta ve gönüllüler Üniversite Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanan çalışma konusunda bilgilendirilmiştir. Fizik muayene ve paterji testi yapılmış, C-reaktif protein (CRP) ve eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) uygulanmıştır. En az bir klinik bulgusu olan hastalar aktif olarak tanımlanmıştır, ancak papülopüstüler lezyonlar tek bulgu iseler bunun dışında tutulmuştur. İnaktif hastaların son ay içinde aktif bulgu ve yakınması bulunmamaktaydı. Hastaların hiçbirisi son ayda kortikosteroid ve immunsupresif kullanmıyordu.

Biokimyasal analizler

Beş cc venöz kan örneği alındıktan sonra 274 G değerinde 10 dakika santrifugasyonla serum ayrılmış ve analizlere dek -80 °C'de saklanmıştır. Serum IL-2R, IL-6 ve IL-8 düzeyleri ELISA yöntemi ile ve ticari kitler (Biosource International Immunassay, ABD, sırasıyla kod KHC0022, KHC0061, KHC0081) kullanılarak saptanmıştır. ESH Westergreen yöntemi ve CRP immunoturbidimetrik yöntemle ölçülmüştür.

İstatistiksel analizler

Veriler Windows için SPSS 15.0 kullanılarak değerlendirilmiştir. Aktif ve inaktif hastaların sitokin düzeyleri arasındaki karşılaştırma Student t test ile yapılmıştır. Grup sayıları nedeniyle hasta ve kontrol gruplarında sitokin düzeyleri non-parametrik Mann-Whitney U test ile karşılaştırılmıştır. 0,05'den küçük değerler anlamlı kabul edilmiştir. Data, ortalama değerler ve parantez içindeki aralık ile gösterilmiştir.

Bulgular

Hasta grubu 66 hasta (34 erkek ve 32 kadın) ve kontrol grubu 22 sağlıklı gönüllü (12 erkek ve 10 kadın) içermektedir. Yaş ortalamaları hasta grubunda 34,74±11,22 ve kontrol grubunda 38,2±10,7 idi. Yaş ve cins dağılımı açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık yoktu. Hastalık süresi 6 ay ve 23 yıl arasında değişmekteydi.

Aktif hastaların klinik bulguları şu şekildeydi: Oral aftlar 33, artrit ve artralji 20, eritema nodozum ve papüler lezyonlar 18, genital ülserler 14, üveit 12 ve tromboflebit 9 hastada bulunmaktaydı. Hiçbirinde nörolojik, gastrointestinal ve akciğer tutulum yoktu.

Hasta ve kontrol grubunda ortalama IL-2R, IL-6, IL-8, CRP ve ESH değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Tablo 2 ise aktif ve inaktif hasta gruplarının değerlerini içermektedir.

Tablolarda izlendiği gibi, hasta ve kontrollerdeki sitokin düzeyleri benzerdi. Hastalık aktivitesine göre kıyaslandığında

inaktif ve aktif hastalar arasında IL-2R ve IL-6 düzeyleri açısından farklılık yoktu, ancak IL-8 düzeyleri aktif hastalarda inaktif olanlara göre daha yüksekti. CRP ve ESH düzeyleri hasta grubunda belirgin olarak yüksek iken, aktif hastalarda inaktiflere oranla CRP düzeyleri artmıştı, ESH düzeyleri ise benzerdi.

Tartışma

BH etyopatogenezinde damarlardaki inflamasyon ön plandadır^{1,5}. Endotel aktivasyonu, mononükleer hücre ve nötrofil kemotaksisi ile ilgili süreçte immun sistem ve özellikle sitokinler önemli rol oynarlar. B ve T hücrelerin aktivasyonu ve doku infiltrasyonu birçok klinik bulgudan sorumlu kabul edilmektedir^{3,7,9}.

Th1 ve Th2 hücreler ile bunlarla ilişkili sitokinler arasındaki denge, immun sistem ve inflamatuvar fonksiyonların düzenlenmesinde önemlidir^{3,10,11}. Son on yılda Behçet hastalarında hem Th1 hem de Th2 sitokinler araştırılmıştır. Th2 sitokinlerinden IL-4 ve IL-10'un yüksek düzeylerini bildiren bir çalışma dışında¹², Th1 sitokinlerin dominantlığı sözkonusudur. Aktif hastalarda IL-2, IFN- γ ve proinflamatuvar sitokinler olan IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-18^{10,13-19} yanısıra Th1 hücrelerini apoptozdan koruyan⁶ IL-12 düzeyleri yüksek bulunmuştur. Ben Ahmet ve ark. Th2 sitokinler, IL-4 ve IL-13'i mukokutanöz lezyonlarda saptayamaz iken, IL-2 ve IFN- γ düzeyleri artmış olarak izlemişlerdir¹⁰. Öte yandan Th1 sitokinler Behçetli hastalarda akut faz reaktantları ile korele olacak şekilde artmış bulunmuştur. Ayrıca bu yüksek düzeylerin kolşisin ve levamizol kullanımından sonra düştüğü bildirilmiştir²⁰. Tüm bu sonuçlar bize Behçet hastalığında Th 1 polarizasyonunun varlığını göstermektedir.

IL-2R (45 kDa), IL-2'yi inhibe eder ve Behçet hastalığında kullanılan bir çok ilacın hedefidir. Birçok hastalıkta gözlenen yüksek IL-2 düzeyleri immun sistemin aşırı aktivasyonu ile ilişkilidir¹³. Daha önceki bazı bildirimlerin^{13,21,22} aksine biz hastalarımızın IL-2 düzeylerinde bir farklılık saptamadık.

IL-6 (27 kDa) B ve T hücreleri, hücre çoğalması ve farklılaşmasını etkileyerek immun yanıt düzenlenmesi ve kronik inflamasyon üzerine işlevleri olan proinflamatuvar bir sitokindir^{13,18,21}.

Tablo 1. Hasta ve kontrollerde serum IL-2R, IL-6, IL-8, CRP ve ESH düzeyleri

| | BH grubu (n=66) | Kontrol grubu (n=22) |
|---------------|-----------------|----------------------|
| IL-2R (pg/ml) | 1197,80±467,69 | 1259,07±831,54 |
| IL-6 (pg/ml) | 3,88±4,42 | 2,77±3,28 |
| IL-8 (pg/ml) | 61,36±34,83 | 49,32±9,38 |
| CRP (mg/L) | 8,4±2,8 * | 3,6±1,8 |
| ESH (mm/h) | 27,9± 7,1* | 9,4±5,6 |

*Mann-Whitney U testi, p<0.05

Tablo 2. Hastalık aktivitesi ile IL-2R, IL-6, IL-8, CRP ve ESH düzeylerinin ilişkisi

| | Aktif hasta grubu (n=30) | İnaktif hasta grubu (n=36) |
|---------------|--------------------------|----------------------------|
| IL-2R (pg/ml) | 1264,01±56,29 | 1118,34±411,01 |
| IL-6 (pg/ml) | 4,15±3,74 | 3,56±3,87 |
| IL-8 (pg/ml) | 69,61±40,58* | 52,66±24,23 |
| CRP (mg/L) | 11,3±3,1* | 5,5±1,6 |
| ESH (mm/h) | 29,2± 6,0 | 26,8±7,8 |

* T test, p<0.05

Behçet hastalarında IL-6 üzerine çalışmalar çelişkili sonuçlar göstermiştir. Özellikle aktif hastalardaki yüksek düzeylere dayanarak bu inflamatuvar sitokin bir aktivite belirteci olarak sunulmuştur^{13,23,19}, ancak kontrol grubuyla benzer düzeyler saptayan çalışmalar da bulunmaktadır^{14,16}. Hastalarımızdaki IL-6 düzeyleri hem kontrollerden yüksek değildi, hem de aktivite ile ilişkili bulunmadı.

IL-8 ya da nötrofil aktive edici peptit, nötrofilleri çeken ve aktive eden major bir kemokindir. İnfeksiyöz ajanların ve IL-1 β ve TNF- α gibi diğer sitokinlerin uyarımı ile monosit, makrofaj, lökosit ve keratinositler gibi bir çok hücre tarafından sekrete edilmektedir^{16,24,25}. Nötrofillerin endotel hücrelere aşırı adezyonu ve bunu izleyen inflamasyon sürecinde aktif olarak rol almaktadır^{9,13,25-27}.

Behçetli hastaların serumlarında yüksek IL-8 düzeyleri saptanmıştır ve aktif hastalarda bu düzeyler inaktif olanlara oranla daha artmıştır^{9,13,15,16,25-31}. Katsantonis ve ark. normal ESH ve CRP düzeyleri saptanan hastalarda bile IL-8 düzeylerini artmış olarak saptamışlar ve IL-8'i daha güvenilir bir belirteç olarak sunmuşlardır²⁸. Ben Ahmed ve ark. mukokutanöz lezyonlarda, özellikle tipik oral aftlarda artmış IL-8 ekspresyonu bildirmişlerdir¹⁰. Bizim çalışmamızda Behçetli hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmamakla birlikte, aktif hastalar Özoran ve ark'ninkilere²⁴ benzer şekilde daha yüksek IL-8 düzeylerine sahiptiler. Bu kemokin inflamatuvar infiltrasyonu oluşturan nötrofil ve mononükleer hücreleri çekerek Behçet hastalığı patogenezinde önemli bir rol oynar ve bir aktivite belirteci olarak düşünülebilir.

Sitokin ve kemokinler Behçet hastalığında gelişim sürecini aktive ederek ve sürdürerek işlev görürler^{7,10}. Bu konudaki çalışmalar sadece hastalık patogenezinin aydınlatılmasını sağlamayacak, aynı zamanda gelecekteki tedavilere de katkıda bulunacaktır.

Ek bilgiler:

Bu çalışma Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Gül A: Behçet's disease: an update on its pathogenesis. Clin Exp Rheumatol 2001;19:6-12.
2. Behçet H: Über rezidivierende aphtöse, durch ein Virus verursachte Geschwüre am Mund, am Auge, und an den Genitalien. Dermatol Wochenschr 1937;105:1152-7.
3. Direskeneli H: Behçet's disease: infectious aetiology, new autoantigens and HLA-B51. Ann Rheum Dis 2001;60:996-1002.
4. Önder M, Güner MA: Behçet's disease: an enigmatic vasculitis. Clin Dermatol 1999;17:571-6.
5. Rizzi R, Bruno S, Dammacco R: Behçet's disease: an immunomediated vasculitis involving vessels of all sizes. Int J Clin Lab Res 1997;27:225-32.
6. Frassanito MA, Dammacco R, Cafforio P, Dammacco F: Th 1 polarization of the immune response in Behçet's disease: a putative pathogenic role of interleukin-12. Arthritis Rheum 1999;42:1967-74.
7. Koarada S, Haruta Y, Tada Y et al: Increased entry of CD4+ T cells into the Th1 cytokine effector pathway during the T-cell division following stimulation in Behçet's disease. Rheumatology 2004;43:843-51.
8. International Study Group for Behçet's disease. Criteria for the diagnosis of Behçet's disease. Lancet 1990;335:1078-80.
9. Sahin S, Akoğlu T, Direskeneli H, Sem LS, Lawrence R: Neutrophil adhesion to endothelial cells and factors affecting adhesion in patients with Behçet's disease. Ann Rheum Dis 1996;55:128-33.
10. Ben Ahmed A, Houman H, Miled M, Dellagi K, Louzir H: Involvement of chemokines and Th1 cytokines in the pathogenesis of mucocutaneous lesions of Behçet's disease. Arthritis Rheum 2004;50:2291-5.
11. Raziuddin S, al-Dalaan A, Bahabri S, Siraj AK, al-Sedairy S: Divergent cytokine production profile in Behçet's disease: altered Th1/Th2 cell cytokine pattern. J Rheumatol 1998;25:329-33.
12. Mantaş C, Direskeneli H, Ekşioğlu- Demiralp E, Akoğlu T: Serum levels of Th2 cytokines IL-4 and IL-10 in Behçet's disease. J Rheumatol 1999;26:510-2.
13. Evreklioğlu C, Er H, Türköz Y, Çekmen M: Serum levels of TNF- α , IL-2R- IL-6 and IL-8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behçet's disease. Mediators Inflamm 2002;11:87-93.
14. Sayınalp N, Özcebe OI, Özdemir O, Haznedaroğlu IC, Dündar S, Kirazlı S: Cytokines in Behçet's disease. J Rheumatol 1996;23:321-2.
15. Mege JL, Dilşen N, Sanguedolce V et al: Overproduction of monocyte derived tumor necrosis factor γ , interleukin (IL) 6, IL-8 and increased neutrophil superoxide generation in Behçet's disease. A comparative study with familial Mediterranean fever and healthy subjects. J Rheumatol 1993;20:1544-9.
16. al-Dalaan A, al-Sedairy S, al-Balaa S et al: Enhanced interleukin-8 secretion in circulation of patients with Behçet's disease. J Rheumatol 1995;22:904-7.
17. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F, Bessiod M, Hamza M, Ayed K: Cytokine profile in Behçet's disease patients. Relations with disease activity. Scand J Rheumatol 2002;31:205-10.
18. Oztas MO, Onder M, Gurer MA, Bukan N, Sancak B: Serum interleukin 18 and tumour necrosis factor- α levels are increased in Behçet's disease. Clin Exp Dermatol 2005;30:61-3.
19. Akdeniz N, Eşrefoğlu M, Keleş MS, Karakuzu A, Atasoy M: Serum interleukin-2, interleukin-6, tumour necrosis factor- α and nitric oxide levels in patients with Behçet's disease. Ann Acad Med Singapore 2004;33:596-9.
20. Sun A, Wang P, Chia J-S, Liu B-Y, Chiang C-P: Treatment with levamisole and colchicine can result in a significant reduction of IL-6, IL-8 and TNF- α level in patients with mucocutaneous type of Behçet's disease. J Oral Pathol Med 2009;38:401-5.
21. Hamzaoui K, Ayed K: Soluble interleukin 2 receptor in patients with Behçet's disease. J Rheumatol 1989;16:852-3.
22. Alpsoy E, Çayırılı Ç, Er H, Yılmaz E: The levels of plasma interleukin-2 and soluble interleukin-2R in Behçet's disease: A marker of disease activity. J Dermatol 1998;25:513-6.
23. Adam B, Çalikoğlu E: Serum interleukin-6, prolactin and C-reactive protein levels in subjects with active Behçet's disease. JEADV 2004;18:318-20.
24. Özoran K, Aydıntuğ O, Tokgöz G, Düzgün N, Tutkak H, Gürler A: Serum levels of interleukin-8 in patients with Behçet's disease. Ann Rheum Dis 1995;15:610.
25. Zouboulis C, Katsantonis J, Keteler R et al: Adamantiades-Behçet's disease: interleukin-8 is increased in serum of patients with active oral and neurological manifestations and is secreted by small vessel endothelial cells. Arch Dermatol Res 2000;292:279-84.
26. Kaburaki T, Fujino Y, Kawashima H et al: Plasma and whole-blood chemokine levels in patients with Behçet's disease. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2003;241:353-8.
27. Itoh R, Takenaka T, Okitsu-Negishi S, Matsushima K, Mizogauschi M: Interleukin-8 in Behçet's disease. J Dermatol 1994;21:397-404.
28. Katsantonis J, Adler Y, Orfanos CE, Zouboulis CC: Adamantiades-Behçet's disease: serum IL-8 is a more reliable marker for disease activity than C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate. Dermatology 2000;201:37-9.
29. Wang LM, Kitteringham N, Mineshita S et al: The demonstration of serum interleukin-8 and superoxide dismutase in Adamantiades-Behçet's disease. Arch Dermatol Res 1997;289:444-7.
30. Gür-Toy G, Lenk N, Yalçın B, Aksaray S, Allı N: Serum interleukin-8 as a serologic marker of activity in Behçet's disease. Int J Dermatol 2005;44:657-60.
31. Durmazlar SPK, Ulkar GB, Eskioğlu F, Tatlıcan S, Mert A, Akgül A: Significance of serum interleukin-8 levels in patients with Behçet's disease: high levels may indicate vascular involvement. Int J Dermatol 2009;48:259-64.