

48394

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

BEHÇET HASTALIĞINDA ANTİKARDİOLİPİN

ANTİKORLARININ PREVALANSI VE KLİNİK ÖNEMİ

48394

UZMANLIK TEZİ

DR. SENA TOKAY

1996

## İÇİNDEKİLER

<u>Konu</u>	<u>Sayfa</u>
Giriş ve Amaç .....	1
Özet .....	2
Genel Bilgiler .....	4
. Behçet Hastalığı .....	4
. Antifosfolipid Antikorları .....	10
Gereç ve Yöntem .....	18
Sonuçlar .....	22
Tartışma .....	27
Kaynaklar .....	32

## **GİRİŞ ve AMAÇ**

Behçet hastalığı tekrarlayan oral ve genital ülserler, deri ve göz tutulumu ile karakterize, ciddi vasküler tutulumun da görülebildiği kronik seyirli bir hastalıktır.

Membran fosfolipidlerine karşı gelişen antikardiolipin antikoları tekrarlayan trombüs ve düşükle, trombositopeniye yol açan ve özellikle konnektif doku hastalıkları ile birlikte bildirilmiş antikolardır. Literatürde % 0 ile 50 oranları arasında IgG ve IgM sınıfı antikordiolipin antikoları Behçet hastalığında da bildirilmiş ve özellikle retinal ve kütane vaskülit ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür.

Çalışmamızın amacı toplumumuzdaki Behçet hastalarında antikardiolipin antikolarının prevalansını belirlemek ve hastalığın klinik ve laboratuvar bulguları ile antikor pozitifliği arasındaki ilişkiyi incelemektir.

## ÖZET

Antikardiolipin antikorları negatif yüklü fosfolipidlerin fosfodiester grubuna karşı gelişen antikorların genel adıdır. Tekrarlayan tromboz, trombositopeni ve abortus riskinin artmış olduğu SLE ve RA gibi konnektif doku hastalıklarında, enfeksiyonlar, maliniteler ve ilaç kullanımında artmış antikardiolipin (ACA) pozitifliği bildirilmiştir.

Behçet hastalığı etyopatogenezi tam anlaşılamamış, ciddi arteryel ve venöz tromboz ile seyredabilen multisistemik bir hastalıktır. Literatürde kesin olmamakla birlikte, Behçet hastalığında özellikle retinal ve kütane vaskülitli olan grupta % 0 ile % 50 arasında değişen ACA pozitifliği saptanmıştır.

ACA'nın Behçet hastalığındaki prevalansını ve klinik önemini belirlemek amacıyla planlanan bu çalışmada, ELİSA yöntemi ile 128 Behçet, 143 sağlıklı kontrol 20 SLE ve 32 RA hastasının ACA düzeylerine (IgM, IgG, IgA) bakıldı.

128 Behçet hastasının IgA bağlanma indeksi (BI) sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunurken ( $119.9 \pm 52$  vs  $107 \pm 45.7$ ,  $p<0.02$ ), IgM ve IgG ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (IgM; Behçet:  $0.7 \pm 0.9$  MPL, Kontrol:  $0.9 \pm 1.3$  MPL,  $p:0.6$ ), (IgG; Behçet:  $2.5 \pm 2.4$  GPL, Kontrol:  $2.8 \pm 3.6$  GPL,  $p:0.6$ ).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 20 SLE ve 32 RA hastasının IgM, IgG ortalamaları ve IgA BI anlamlı olarak yüksekti. (SLE: IgM:  $4.7 \pm 8.9$  MPL,  $p<0.01$ ; IgG:  $17.2 \pm 26.2$  GPL,  $p<0.005$ ; IgA BI:  $188 \pm 116$ ,  $p<0.0001$ ) (RA: IgM:  $1.9 \pm 3.1$ ,  $p<0.03$ ; IgG:  $10.1 \pm 23.1$ ,  $p<0.01$ ; IgA BI:  $134.8 \pm 54.6$ ,  $p<0.002$ )

Behçet hastalarında özellikle HLA B<sub>5</sub> (-) grupta IgA BI daha yüksek bulundu ( $p<0.005$ ).

Göz tutulumu olan ( $p<0.002$ ) veya immunosupresif kullanan ( $p<0.005$ ) grupta IgM ortalaması diğer gruba göre yüksek bulunurken, istatistiksel olarak aynı anlamlı değere her iki grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ulaşamadı ( $p:0.6$  ve  $p:0.6$ ).

Vasküler tutulum, artrit, sedimentasyon yüksekliği, paterji pozitifiği, hastalık süresi ve ACA titreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

**Yorum:** Behçet hastalığında yüksek bulunan IgA ACA titreleri primer olabileceği gibi, artmış serum IgA düzeyleri ile ilişkili olabilir.

HLA B5 (-) grupta IgA ACA titrelerinin daha yüksek olması, bu grupta mukokütanöz tutulumun daha sık görülmesinden kaynaklanabilir.



## GENEL BİLGİLER

### BEHÇET HASTALIĞI

İlk kez 1937 yılında Hulusi Behçet tarafından tanımlanan Behçet hastalığı, kronik seyirli, birçok organı birden tutabilen bir hastalıktır. 1990 yılında, 7 ülkeden 914 hastanın incelenmesiyle oluşturulan uluslararası Behçet kriterlerine göre; tanı koyabilmek için, senede en az üç kez tekrarlayan oral ülserlere ek olarak, diğer major bulgulardan da en az ikisinin bulunması gerekir. (1)

<b>Uluslararası Çalışma Grubu Behçet Kriterleri</b>	
1. Senede en az üç kez tekrarlayan minör, majör, herpetiform oral ülserler	
+	
1. Rekürren genital aftöz ülser veya skar	
2. Göz lezyonları, (ön veya arka üveit, retinal vaskülit, vitröz sıvıda hücre artışı)	
3. Deri lezyonları (eritema nodosum, psödofollikülit, papülöpüstüler veya akneiform nodüller )	
4. Pozitif paterji testi (20-22 no.luk steril iğnenin ön kol derisine 5 mm.lik oblik penetrasyonu sonucunda oluşan 2 mm.den büyük eritemli papül. )	

Rekürren oral ülserler minör (<1 cm.), majör (>1cm.) veya herpetiform karakterde olabilir. Benzer aftöz lezyonlar genital bölgede (vulva, skrotum) ve nadiren konjunktivada yerleşebilir.

Göz lezyonları ön veya arka üveit, retinal vaskülit ve vitröz sıvıda hücre artışı şeklindedir. Eritema nodosum, psödofollikülit, papülöpüstüler lezyonlar ve steroid

kullanmayan yetişkinde gözlenen akneiform nodüller bilinen deri lezyonları arasındadır.

Pozitif paterji testinde steril iğne ucu ile travmatize edilen ön kol derisinde, 2 mm.den büyük, eritematöz papüler lezyonlar oluşur.

Damar tutulumu (arteryel ve venöz tromboz, arteryel anevrizma) artrit, gastrointestinal ve merkezi sinir sistemi tutulumu minör bulgular içinde yer alır. (1-2)

Behçet hastalığı İtalya, İran, Irak, İspanya ve Türkiye gibi Akdeniz'e komşu ülkelerde, Japonya, Çin ve Kore'de sık görülür. Dağılım Eski İpek Yolu üzerinde yoğunlaşmaktadır. Yirmili ve kırklı yaşların hastalığı olan Behçet'e çocukluk çağında ve elli yaşın üzerinde pek rastlanmaz. (3) Hastalığın prevalansı coğrafi ve etnik farklılıklar gösterir; Japonya Hokkaido'da 1/10.000, Amerika Minnesota'da 1/15.000, Türkiye'de 8/10.000, İskoçya'da 15/6 milyon olarak bildirilmiştir. Tanı kriterleri içinde yer alan paterji testinin prevalansı ise batı ülkelerinde % 10-20, doğu ülkelerinde % 50-75, Türkiye'de % 33-82 arasındadır. Ordu'da yürütülen saha taramasında % 33 olarak bulunmuştur. (4-5-6)

Hastalık erkeklerde ciddi göz ve damar tutulumu ile daha ağır seyreder. Japon halkında da gastrointestinal sistem tutulumu daha sık ve daha ağır seyirlidir. (3)

### **Etyoloji:**

Viral ve bakteriyel mikroorganizmaların genetik yatkınlığı olan kişilerde, Behçet hastalığına neden olduğu düşünülmektedir. Sorumlu tutulan ajanlar Streptokok suşları (S.Sangius, S.Pyogens, S.Fecalis, S.Salivarius) ve Herpes Simplex Virus (HSV) I dir. Streptokokal deri testi uygulanan stabil Behçetli hastalarda hastalığın alevlendiği, yeni organ tutulumlarının ortaya çıktığı gösterilmiştir. Nitekim bazı hastaların öyküsünde sık tekrarlayan tonsillit atakları,

tedavi edilmemiş diş çürükleri vardır. Behçetli hastalara ait lenfositlerin streptokokal antijenlere karşı hücrel immün yanıtı da artmıştır.

Anti HSV-I antikoru da hasta kanında yüksek titrelerde bulunabilir. Son yıllarda Ugandalı bir hastada Human Immunodeficiency Virus (HIV) ve Behçet birlikteliği gösterilmiştir. (7-8-9)

Behçet hastalığı ile İnsan doku grubu antijenlerinden (Human Leucocyte Antigen) (HLA B<sub>5</sub>) arasında bilinen güçlü bir ilişki vardır. Hastalık,HLA B<sub>5</sub> ve onun bir alt grup antijeni olan HLA B<sub>51</sub> ile benzer bir coğrafi dağılım gösterir. Yapılan çalışmalarda HLA B<sub>5</sub> Japonya'da % 71.4, Türkiye'de % 80, HLA B<sub>51</sub> Japonya'da % 57, İsrail ve Irak'ta % 63 ve % 62 oranında bulunmuştur. (5-6-10-11) İngiltere'de ise Behçet ve HLA B<sub>5</sub> ilişkisi gösterilememiştir. (12)

Farklı stres şartlarında (ısı,anoksi, enfeksiyonlar) hücre tarafından sentezlenen ısı şoku proteinlerinden özellikle 65 kD'luk mikobakteryel ısı şoku proteinine karşı,Behçet hastalarında artmış hücrel ve humoral yanıt gösterilmiştir. (13-14) Bu proteine ait bazı sentetik peptidler ve insan 60 kD ısı şoku proteini üstündeki homologların-, sıçanlarda üveit yapabildiğinin gösterilmesi de ilk kez Behçet'e benzer bir hayvan modelini oluşturmuştur. (15)

## **İmmünoloji :**

### **a . Mononükleer hücreler :**

Behçetli hastalarda antijenin tetiklediği immünolojik yanıt çok zengindir. Aktif hastalarda spontan olarak immünoglobülin salgılayan iyi olgunlaşmış B hücreleri sayıca artmış, dinlenme fazındaki ve parsiyel olgunlaşmış B hücreleri de sayıca azalmıştır. (16) Önceleri antijen ile karşılaşmış olan hafıza T lenfosit hücrelerinden (CD45RO+) artarken, CD 8 hücrelerini aktive ederek B



hücrelerinden antikor salınımını engelleyen CD CD45RA+ hücreleri sayıca azalmıştır. (17-19)

Poliklonal B hücre aktivasyonunun bir göstergesi olarak özellikle oküler ve mukokütanöz tutulumu olanlarda IgA, IgM, IgG antikor titreleri yüksektir. (18)

Olgunlaşmamış NK (Natural killer) aktivitesindeki artış sonucunda NK aktivitesi azalmıştır. (19-20)

#### **b : Sitokinler :**

Aktif T hücreleri, monosit ve makrofajların ürünü olan sitokinler immün sistem elemanları arasında iletişimi sağlarlar. Behçet hastalığında serum interleokin (IL)-1B, IL-2 reseptörü, tümör nekroz faktörü (TNF)  $\alpha$ , IL-6, IL-8 ve interferon gama düzeyleri yüksek bulunmuştur. (21-22- 23-24)

#### **c: Nötrofiller:**

Yapılan çalışmalarda HLA B<sub>51</sub>(+) Behçetli hastalarda nötrofil hiperfonksiyonu, nötrofillerden artmış IL-8, TNF  $\alpha$  ve süperoksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) salınımı gösterilmiştir. (24-25) HLA B<sub>51</sub>(+) transgenik fare nötrofillerinde de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yapımı artmıştır. (26)

Nötrofil hiperfonksiyonundan kısmen HLA B<sub>51</sub> molekülü, kısmen de TNF  $\alpha$ , IL-1,IL-6 ve IL- 8 arasındaki iletişim zinciri sorumludur . (24)

### **d : İmmünohistoloji :**

Mukokütanöz lezyonlardan erken dönemlerde alınan biopsilerde perivasküler lökosit infiltrasyonu, endotelial hasar ve fibrinoid nekroz gösterilmiştir. Geç dönemlerde ise mononükleer hücre hakimiyeti vardır. (27-28) Ancak bunun tam tersini savunan ve ilk 48 saat içinde paterji lezyonlarında perivasküler, epidermal ve dermal lenfosit, monosit ve makrofaj infiltrasyonu, endotelial hasar gösteren çalışmalar da vardır. Mononükleer hücrelerin %43 ünü CD 4 (+), %19 unu CD 8 (+), %30 unu CD7 (+) hücreler oluşturur. CD 56 (+) NK hücreleri %1 den azdır . Nötrofiller ise sadece steril iğne ucunun girdiği yerde %5 oranında görülür. Sonuçta paterji reaksiyonu, steril iğne ucu ile oluşturulan epidermal-dermal travmanın neden olduğu, ilk 48-72 saat içinde pustuler lezyonlar şeklinde ortaya çıkan, gecikmiş tipte bir hücre reaksiyonudur. (29)

Oral lezyonlarda da benzer şekilde T lenfosit ve makrofaj hakimiyeti vardır. Keratinositlerin HLA-DR sunumu artmıştır. (30)

Göz lezyonlarında, enükleasyon sonrasında yapılan immünohistokimyasal inceleme ile koroid ve periretinal dokuda CD4(+) T lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu gösterilmiştir. B ve NK hücreleri sayıca azdır. Lenfosit ve makrofajlar HLA DR pozitifdir. (31)

### **Behçet Hastalığında Vasküler Tutulum**

Behçet hastalarının %27.7sinde görülen, nadiren hastalığın ilk belirtisi de olabilen vasküler tutulum genellikle ilk 6 yıl içinde ve otuzlu yaşlarda ortaya çıkar. Erkek/ Kadın oranı 4.4/ 1 dir.

Damar tutulumu venöz tromboz, arteryel tromboz ve anevrizma şeklindedir. Dünya literatüründe venöz tutulum için %7.7 ile %60 arasında değişen değerler bildirilmiştir .Arteryel tutulumun prevalansı %2.2 ile %7 arasındadır .Yedi hastada ise ilk semptom vasküler tutulumdur. (34)

1967 ve 1990 yılları arasında yapılan tüm çalışmaların özetinde 728 büyük damar tulumu olan hastanın 49 unda arteryel, 181 inde venöz, 498 inde arteriövenöz tutulum saptanmıştır. (32-33)

Süperiör ve inferiör vena kava %15.8, femoral ven %10.5, serebral sinüs %7.9, subklavian ve hepatik ven %5.2, brakial ve aksiller ven %2.6 oranında tutulur. Hastaların %7.9unda pulmoner arter, %2.6 sında karotid, popliteal ve radial arter tutulumu vardır . Subkütan tromboflebitin görülme sıklığı %47.7 dir. (32)

Alevlenmeler ve sessiz dönemlerle seyreden Behçet hastalığındaki önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biri olan vasküler tutulumun patojenezi bilinmemektedir. Von Willebrand faktör (vWF:Ag), antiendotelial hücre antikoları (AECA) ve antikardiolipin antikolarını (ACA) hasta serumunda yüksek, prostosiklin (PGI<sub>2</sub>) düzeylerini düşük bulan çalışmalar vardır. Azalmış fibrinolitik aktivite ve bozuk trombosit fonksiyonları da vaskülitik tutulumdan kısmen sorumlu tutulmuştur.

**vWF:Ag** (Faktör 8 ile ilişkili antijen) miks konnektif doku hastalığı (MCTD), sistemik lupus eritematosus (SLE), progresif sistemik skleroz (PSS),romatoid artrit (RA) ve polimiyozit (PM) gibi konnektif doku hastalıklarında ve özellikle ağır vaskülitik tutulumu olan MCTD ve RA'da yüksek titrelerde pozitifdir. (35) Behçet hastalığında ise endotel hasarının bir göstergesi olarak damar tutulumu olan ve olmayan grupta yüksek bulunmuştur .Birinci grupta vWF:Ag'nin hasara uğramış endotelden salındığı, ikinci grupta ise Behçet hastalığında yüksek olduğu bilinen IL-1 ve TNF  $\alpha$  gibi sitokinlerin vWF:Ag düzeyini arttırdığı düşünülmüştür. (36-37)

**AECA** ve güçlü bir vazokonstriktör ajan olan **endotelin 1,2** düzeyleri de vasküler tutulumu olan hasta grubunda daha yüksek titrelerde pozitifdir.Endotelin 1,2'nin hasara uğramış endotelden salınabileceği veya Behçetli hastalarda artmış olduğu bilinen TNF  $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 nın etkisi altında salınarak vasküler hasara neden olabileceği düşünülmüştür. (38-39-40) .

Antitrombotik etkisi olan PGI<sub>2</sub>'ni hasta serumunda ve damar yüzeyinde düşük (41-42) ve normal (43) bulan çalışmalar vardır.

Behçet hastalarında **trombosit** fonksiyonları da bozuktur. Aktif hastalarda trombositlerin lökositlerin çevresinde rozet oluşturduğu (44), sayıca normal olan plateletlerin agregasyon kapasitesinin ve faktör 4 düzeyinin arttığı gösterilmiştir. (45)

Euglobulin Lysis Time (ELT) ile değerlendirilen **fibrinolitik aktivite** düşük doku plasminojen aktivatör (t-PA) düzeyine bağlı olarak azalmıştır. (46) Endotelden vWF:Ag ve t-PA salınımını arttıran DDAVP (1 des-amino-8-D- arginine vasopressin) de fibrinolitik kapasitenin göstergesi olarak kullanılabilir. Nitekim, DDAVP infüzyonu uygulanan Behçet'li hastalarda, vWF ve t-PA düzeylerinde yeterli artış gösterilememiştir. (47)

## ANTİFOSFOLİPİD ANTİKORLARI

Antifosfolipid Antikorları negatif yüklü fosfolipidlerin fosfodiester grubuna karşı gelişen antikorların genel adıdır. Üç başlık altında incelenebilir :

- Antikardiolipin Antikorları
- Lupus Antikoagulanı (LA)
- Sifilis için biyolojik yanlış pozitif testler (BFP-STs)

(Biologic False Positive Tests for Syphilis) (48)

İlk kez 1906 yılında Wasserman sifilisi bir hastada antifosfolipid antikorlarını tanımlamış, daha sonra Pangborn sığır kalbinin alkol ekstresinden elde ettiği fosfolipide kardiolipin adını vermiştir. 1952 yılında da Conley ve Hartman kanamalı iki lupus hastasında lupus antikoagulanını tarifler. Başlangıçta LA'nın kanamaya neden olduğu düşünülse de, yapılan çalışmalar paradoksik olarak tromboza neden olduğunu göstermiştir.

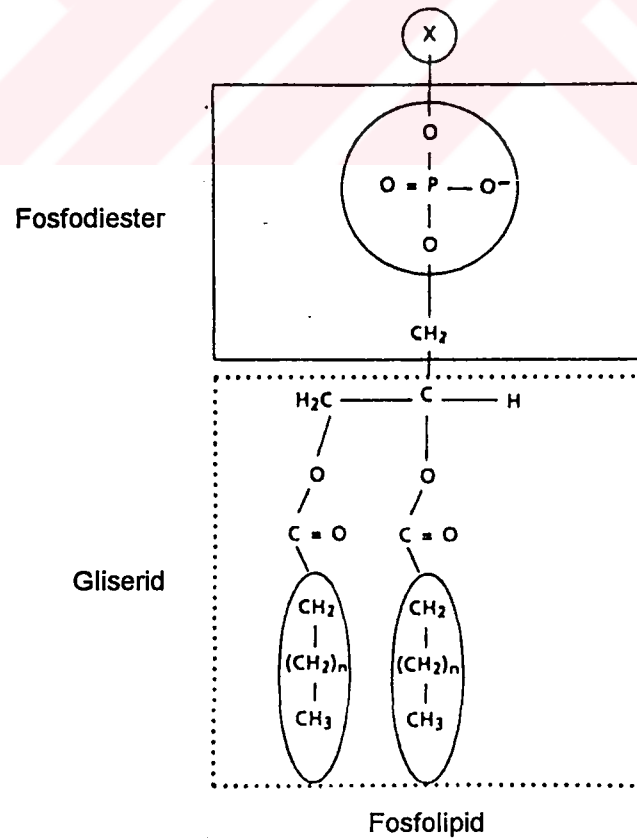
ACA genel olarak tüm negatif yüklü fosfolipidlere, LA ise koagulasyon basamaklarındaki fosfolipid epitoplarına karşı gelişir.

Venereal Disease Research Laboratories (VDRL) testinde kullanılan antijen kardiolipin, fosfotidil kolin ve kolesterolden oluştuğu için, ACA pozitif hasta grubunda VDRL testi yanlış pozitif olabilir. (49-50)

### a : Antifosfolipid Antikorlarının Bağlanma Özellikleri

Fosfolipid antijenin yükü, konfigürasyonu ve kimyasal yapısı antifosfolipid antikorlarının bağlanma özelliklerini belirler.

Antifosfolipid antikorları fosfotidil serin ve fosfotidil inositol gibi negatif yüklü fosfolipidlerin fosfodiester grubuna bağlanır. Nötral bir fosfolipid olan fosfotidil koline, taşıdığı pozitif yüklü kolin grubu nedeniyle, bağlanma olmaz.



Şekildeki X serin, inositol ve kolin grubunun pozisyonunu göstermektedir.

Fosfolipidin tipi, ortamdaki diğler lipidler ve ısı fosfolipidin konfigürasyonu üzerinde belirleyici rol oynar. Sıvı ortamlarda lamellar yapıda olan kardiolipin, fosfotidil kolin ve kolesterol ile karıştırıldığında sadece sifilisli serumdaki antikorların bağlanabildiği küboidal şeklini alır. (51)

Membran fosfolipidleri genellikle lamellar veya hegzagonal yapıdadır ; lamellar yapı membran geçirgenliğinden, hegzagonal yapı ise hücre füzyonundan sorumludur.(52) LA hegzagonal yapıdaki fosfolipidlere bağlanırken, ACA lamellar yapıdaki fosfolipidlere bağlanır. (53)

Bir apolipoprotein olan  $\beta_2$  glikoprotein negatif yüklü fosfolipidlerin fosfodiester grubunu açığa çıkararak oluşturduğu yapısal değışiklikle antikorların bağlanmasını kolaylaştırır. (54-55) Bu protein plasmadaki fosfolipidlerin prokoagulan etkisini nötralize eden doğal bir antikoagulandır. İntrinsik yoldaki koagülasyon basamaklarını, trombosit agregasyonunu ve trombosit protrombinaz aktivitesini inhibe eder. (55-56)

SLE, RA PM gibi otoimmün hastalıklarda ve primer antifosfolipid sendromunda antifosfolipid antikorları ancak  $\beta_2$  glikoprotein varlığında fosfolipidlere bağlanırken, enfeksiyöz hastalıklarda (sifilis, HIV enfeksiyonu, lepra, enfeksiyöz mononükleoz) ve ilaç kullanımında  $\beta_2$  glikoprotein ihtiyacı yoktur. Bu nedenle otoimmün hastalıklarda tromboz görülürken, enfeksiyöz hastalıklarda görülmez. (57-58)

### **b : Koagülasyon Testleri ve Fosfolipid ELİSA**

LA, protrombinin trombine dönüşümünü sağlayan protrombinaz kompleksinin bağlandığı fosfolipid yüzeyi azaltarak koagülasyon zamanını uzatır. Benzer mekanizma ile Faktör 10'nun Faktör 10a' ya aktivasyonunu da engeller. ACA ise koagülasyon zamanını uzatmaz.

Uzamış aktive parsiel tromboplastin zamanı (aPTT), LA için iyi bir tarama testi değildir. Tanısal değeri en yüksek ve en duyarlı test dilüe Russell viper venom zamanı (dRVVT) dır. Kaolin pıhtılaşma zamanı (KCT) az tercih edilmekle birlikte kullanılabilir. Eğer bu üç testten herhangi biri pozitifse, test hasta serumu sağlıklı serum ile karıştırılarak tekrarlanır. Testin normalleşmesi faktör eksikliğini normalleşmemesi ise LA nı düşündürür. LA nın varlığı ortama trombosit veya fosfolipid (sefalin) eklenmesi ile kanıtlanır. Trombosit veya sefalin nötralizasyon prosedürü adı verilen bu testlerde ortama fosfolipitten zengin trombositler veya sefalin eklenince uzun koagülasyon zamanı normale döner. (50-59)

ACA ise Radioimmunoassay (RIA) ve Enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA) ile saptanır. (60-61) RIA günümüzde kullanılmamaktadır.

ACA ile beraber görülen vasküler komplikasyonlar (arteryel ve venöz tromboz, düşük, trombositopeni, pozitif coomb's testi ) en sık IgG izotipinde görülür. (62-63) Bunun tam tersini savunan, komplikasyonlar ile antikor izotipi arasında anlamlı bir ilişki gösteremeyen yayınlar da vardır. (60-64) Antikor titreleri arttıkça komplikasyon gelişme riski de artar. (62)

LA ve ACA arasında güçlü bir korelasyon varken, ACA ile anti DNA ve antinükleer antikorlar arasında benzer ilişki gösterilememiştir. (63-64-65)

### **c : ACA ve LA Arasındaki Klinik İlişki :**

ACA ve LA farklı fakat ilişkili iki hasta popülasyonunu tanımlar. 1000 lupus hastasını içeren 29 çalışmanın özetinde ACA, LA pozitif hastaların ortalama % 59 unda, LA ise ACA pozitif hastaların %45 inde pozitif bulunmuştur. (64-65)

Her iki antikorun pozitif olduğu hastalıklar şöyle sıralanabilir :

-tekrarlayan arteryel ve venöz tromboz (62-63-65-66-67)

-trombositopeni (62-63-65-66)

-abortus (68-69)

-hemolitik anemi (62)

-konnektif doku hastalıkları (SLE (57-66), RA (70), Jüvenil RA (70), Sjögren (71))

-tekrarlayan inme (72)

-ilaç kullanımı (kinidin, fenitoin, prokainamid, klorpromazin, hidralazin, propranolol, amoksisilin, interferon ve kokain) (50-65)

-enfeksiyonlar (sifilis, lepra, Q ateşi, HIV enfeksiyonu (57) mikoplazma ve adenovirüs enfeksiyonları, kızamık, kızamıkçık, kabakulak, ornithozis (73)

-livedo retikularis, sneddon sendromu (74)

-addison hastalığı (75)

-malinite (76)

ACA sağlıklı popülasyonun %0 ile %7.5 inde , LA % 2 sinde pozitif olabilir. Yaşlı (>67 yaş) sağlıklılarda yüksek ACA titreleri bildirilmiştir. (64-77)

Antifosfolipid antikorları konnektif doku hastalıkları, enfeksiyonlar, malinite veya ilaç kullanımına bağlı olarak ortaya çıkmışsa sekonder antifosfolipid sendromu, bu hastalıklardan bağımsız gelişmişse primer antifosfolipid sendromu olarak adlandırılır. Her iki sendromun ortak özelliği tekrarlayan arteriövenöz tromboz, abortus ve trombositopenidir. (76)

Tromboz mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, antifosfolipid antikorlarının koagülasyon sisteminde farklı basamaklardaki fosfolipidlere



bağlanarak veya endotel fonksiyonlarını bozarak tromboza neden olduğu düşünülmektedir.

Endotel hücreleri PGI<sub>2</sub>, antitrombin III, protein C ve S, doku plasminojen aktivatörü (t-PA) gibi önemli antikoagulan faktörleri ve t-PA inhibitörü (t-PAI), platelet aktive edici faktör (PAF), vWF:Ag ve doku faktörü gibi güçlü prokoagulan maddeleri salgılar. Antifosfolipid antikor titreleri yüksek trombozlu hastalarda, AECA titrelerinin arttığı gösterilmiştir. (78) Yine bu hastalarda PGI<sub>2</sub> düzeylerini azalmış (79) veya normal (80-81-82) bulan çalışmalar vardır. Endotelial PAF sentezi artmıştır. (81) Protein C ve S in trombomodulin ile aktivasyonu bozuktur. (82-83) Aktif protein C ve S fosfolipid içeren bir ortamda faktör 5 ve 8'i inhibe ederek koagulasyonu durdurur. (83-84-85-86) Antifosfolipid antikorları antitrombin III-trombin kompleksinin oluşumunu engeller (87) ve trombin oluşumunu artırır. (88) Fibrinoliz, artmış t-PAI ile orantılı olarak azalmıştır. (89) Prekallikreinin kallikreine dönüşümü engellenmiş (90) ve trombosit aktivasyonu artmıştır. (90-91)

Antifosfolipid sendromunda trombotik olayların %70 i venöz, %30 u arteryeldir. Derin ven trombozu ve pulmoner emboli en çok karşılaşılan venöz tutulum şeklidir. Renal ve hepatik ven trombozu da bildirilmiştir. En sık tutulan arterler içinde serebral, brakial, radial, ulnar, dijital, ve femoral arterler, aorta, mezenterik, koroner ve retinal arterler sayılabilir. (92)

#### **d : Konnektif Doku Hastalıklarında Antikardiolipin Antikorları :**

1966-1989 yılları arasında yayınlanan 29 çalışmanın özetinde, yaklaşık 1000 Lupus hastasının %34 ünde LA, %44 ünde ACA pozitif bulunmuştur. ACA pozitif hastaların %40 ında, negatif hastaların %18 inde, LA pozitif hastaların ise %53 ünde tromboz saptanmıştır. Tromboz öyküsü olan hastaların ise %64 ünde ACA, %68 inde LA pozitifdir.

Benzer şekilde antifosfolipid antikor titreleri yüksek lupus hastalarında nörolojik tutulum (inme, retinal ve dijital arter oklüzyonu) ve trombositopeni daha sık görülür. Abortus, hemolitik anemi , livedo retikularis riskini de artmış bulan çalışmalar vardır. (64-93-94-95-96)

Lupus grubu dışındaki, örneğin RA lı, hastalarda ise tromboz ile antifosfolipid antikorları arasında benzer güçlü ilişki gösterilememiştir. ACA, RA lı hastaların % 33 ünde, özellikle romatoid nodülleri olan grupta pozitiftir. Romatoid nodüllerdeki nekrotik alanlardan açığa çıkan fosfolipidlerin antikor oluşumunu tetiklediği düşünülmektedir. Romatid faktör ile ACA arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (64-97-98) Farklı bir çalışmada ise ACA pozitif RA'lı hastalarda artmış tromboz, düşük HDL kolesterol düzeyi ile ilişkili bulunmuştur. (99)

#### **e: Behçet Hastalığı ve Antikardiolipin Antikorları**

1984 ve 1994 yılları arasında yapılan 14 çalışmada 496 Behçet hastasının 92 sinde (% 18.5) ACA pozitif bulunmuş, hastaların 38 inde (%7.7) IgG, 41 inde (%8.2) IgM, 12 sinde (%2.9) IgG ve IgM ve 1 inde IgG ve IgA ACA birlikte yüksek titrelerde saptanmıştır.

Çalışmaların birinde ACA pozitif 13 (% 18.6) hastanın 8 inde (% 11.4) retinal vaskülit<sup>(100)</sup> , bir diğerinde 7 hastanın (% 35) 4 ünde (% 20) üveit<sup>(103)</sup> vardır. Başka bir çalışmada ise, 14 (% 46.7)ACA pozitif hastanın hepsinde kütane vaskülit ve 12 sinde (%40) eritema nodosum<sup>(108)</sup> saptanmıştır. (Bakınız Tablo 1)

Ayrıca ciddi damar ve intestinal tutulumu olan, perfore ileoçekal ülser öyküsü veren bir Behçet hastasında IgA ACA pozitif bulunmuştur. (113) Farklı bir çalışmada ise aktif Behçetlilerin beyin-omurilik sıvısında yüksek IgM ACA ve IL6 titreleri gösterilmiştir. (114)

Tablo 1. Behçet hastalığında ACA prevalansı (Literatür özeti)

Yıl	Referans	Hasta sayısı	Pozitif ACA	%	IgG	IgM	IgG ve IgM	IgG ve IgA	Metod	Eşlik eden Klinik bulgu	(İzotip (+))	
											IgG	IgM
1984	100	70	13	18.6	7	3	3	-	RIA	retinal vaskülit		
1985	101	25	2	8	-	2	-	-	RIA	-		
1986	102	37	0	0	-	-	-	-	ELİSA	-		
1989	103	20	7	35	3	3	1	-	ELİSA	üveit		
1990	104	25	13	50	2	9	2	-	ELİSA	-		
1992	105	35	10	28.5	4	4	1	1	ELİSA	-		
1992	106	10	0						?			
1993	107	25	5	20	2	2	1	-	ELİSA	-		
1993	108	30	14	46.7	3	9	2	-	ELİSA	kütane vaskülit eritema nodosum		
1993	109	40	19	47.5	12	5	2	-	ELİSA	-		
1993	38	72	0	0	-	-	-	-				
1993	110	19	0	0	-	-	-	-				
1994	111	36	3	8.3	2	1	-	-	ELİSA			
1994	112	51	6	11.8	3	3	-	-	ELİSA			
TOPLAM		496	92	% 18.5	38 (%7.7)	41 (%8.2)	12 (%2.9)					

## GEREÇ VE YÖNTEM

### ÇALIŞMA ve KONTROL GRUPLARI

Çalışmaya Marmara ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Behçet polikliniklerinde takip edilen ve uluslararası çalışma gruplarınca tanımlanan Behçet (1), RA (115) ve SLE (116) kriterlerine uygun 128 Behçet, 20 SLE, 32 RA hastası ve 143 sağlıklı kontrol alındı. Grupların özellikleri Tablo 2. de gösterilmiştir.

Tablo 2.

Klinik Özellikler	Behçet	SLE	RA	Kontrol
Kadın/Erkek Oranı	45/83	19/1	26/6	72/71
Yaş Ortalaması (yıl)	33.8	31	51	33.7
Hastalık Süresi (yıl)	4.1			
Oral ülser	%100			
Genital ülser	%85			
Deri lezyonları	%55.5			
Göz tutulumu	%60.9			
Artrit	%32.8			
Vasküler tutulum	%42.2			
İmmunosupresif kullanımı	% 55.5			
Paterji	%63.2 (+) %31.2 (-) %5.4 bilinmiyor			
HLA B5	%44.5 (+) %21.8 (-) %33.5 bilinmiyor			

120 (%93.7) kütanöz tutulumu olan hastanın 18 inde (%14) eritema nodosum, 42 sinde (%32) follikülit, 60 ında (%46.8) her iki lezyon birden vardı.

Vasküler tutulumu olan 54 (%42) hastanın 11 inde derin ven trombozu (DVT), 9 unda DVT ve süperfisyal tromboflebitis migrans (STM), 6 sında STM, 4 ünde epididimit, 2 sinde DVT ve epididimit, 1 inde vena kava inferiör trombozu ve DVT, 1 inde vena kava süperiör trombozu ve frontal arteriövenöz malformasyon, 1 inde popliteal arter anevrizması ve DVT, 19 unda ise retinal vaskülit saptandı.

İmmunosupresif kullanan 71 (%55.5) Behçet hastasının 29 u azatioprin (AZA), 32 si siklosporin-A ve AZA, 4 ü siklofosamid, 6 sı steroid ve 10 u adı geçen diğer immunosupresif ilaçlarla birlikte steroid tedavisi alıyordu.

İmmünosupresif kullanmayan 57 (% 44.5) hastanın 26 sı kolşisin, 2 si aspirin, 2 si salazopirin, 2 si NSAID ve 4 ü kolşisin ve aspirin tedavisi görüyor, 21 i (% 16.4) ise hiç ilaç kullanmıyordu.

4 hastada (%3) merkezi sinir sistemi tutulumu, 2 hastanın (%1,5) birinci dereceden akrabasında Behçet hastalığı, 3 (%2.3) hastanın birinci dereceden akrabasında rekürren aft öyküsü vardı.

### **Antikardiolipin Antikorlarının ELİSA yöntemi ile tayini: (60-61)**

Hastalardan ve sağlıklı kontrollerden alınan 10 cc'lik kan örneklerinin serumları, 1500 rpm.de santrifüj edilerek ayrıldı ve -20°C de donduruldu.

Araştırma 1987 yılında toplanan ACA Workshop çerçevesinde standardize edilen yöntemle göre yapıldı.

Sigma'nın 5.2 mg/ml konsantrasyonundaki kardiolipin antijeni etanol içinde 50 mikro gr/ml konsantrasyonunda eritilerek, 96 kuyuluk ELİSA plağı 30 mikrolitre/kuyu olacak şekilde antijenle kaplandı ve plaklar + 4°C de bir gece oda ısısında açıkta bırakılarak solüsyon uçuruldu.

İkinci gün PBS (pH:7.3, 150 mikrolitre/kuyu) ile üç kez yıkanan plaklar, nonspesifik bağlanmayı önlemek için, 75 mikrolitre %10 luk erişkin bovine serumu (ABS) ile kaplandı. Oda ısısında bir saatlik inkübasyon aşamasından sonra, tekrar bir kez PBS ile yıkandı.

**Standartlarının hazırlanması:** Her dilüsyonu için IgM ve IgG konsantrasyonu bilinen standart serumun 12 mikrolitresi 600 mikrolitre %10 luk ABS+PBS ile karıştırılarak 1/50 lik ilk dilüsyon hazırlandı. Daha sonra 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200, 1/6400 lük seri dilüsyonlar hazırlanarak ELİSA plağının 1. ve 2.sıralarına 50 mikrolitre/kuyu olacak şekilde çift olarak kondu.

**Hasta örneklerinin hazırlanması:** 10 mikrolitre hasta serumu 500 mikrolitre %10 luk ABS+PBS ile karıştırıldı. 1/50 dilüsyonundaki hasta örnekleri, 50 mikrolitre/kuyu olacak şekilde, ELİSA plağının 3.ve 12.sıraları arasına çift olarak eklendi.

Standart ve hasta serumlarının eklenmesinden sonra üç saat oda ısısında inkübe edilen ELİSA plağı, üç saat sonunda PBS ile dört veya beş kez yıkandı.

**İkinci antikorun hazırlanması:** %10 luk ABS+PBS içinde 1/15.000 oranında dilüe edilen alkalin fosfatazla konjüge keçi-antiinsan IgM veya IgG veya 1/5000 oranında dilüe edilen IgA 50 mikrolitre/kuyu olacak şekilde eklendi.

90 dakika oda ısısında bekletilen plak, 90 dakika sonunda üç kez PBS ile yıkandı.

**Substratın hazırlanması:** 0.1 gr Magnesium klorid ve 0.2 gr sodyum azit 903 ml. distile su ile karıştırıldı. Karışıma 97 ml dietanolamine eklendikten sonra, ortalama 11 dolayındaki pH HCl ile 9.8'e indirildi. Elde edilen substrat solüsyonunun 5 ml.si içinde Sigma'nın 5 mg.lık para nitrofenil fosfat substrat tableti, 15-20 dakika karanlık bir ortamda bekletilerek eritildi.

90 dakika sonunda, üç kez PBS ile yıkanan ELİSA plağına substrat karışımından 50 mikrolitre/kuyu kondu ve ELİSA plağı 37 °C de su banyosunda kapalı olarak tutuldu.

Ortalama yarım veya bir saat sonra, kontrol serumunun 1/50 dilusyonuna ait optik dansite 1 dolayındayken, absorbans 405 nm'de okundu.

**Sonuçların değerlendirilmesi:** Bu aşamada, ilk önce her çift kuyunun absorbans değerinin ortalaması alındı.

St.Thomas Hastahanesi Lupus Araştırma Ünitesi'nden elde edilen standart serumların 1/50 dilüsyonundaki ACA miktarı Workshop çerçevesinde IgG için 200 GPL ve IgM için 150 MPL olarak belirlenmiştir. Serum örneğinde 1 mg/ml deki IgG veya IgM nin bağlanma aktivitesi, 1 GPL veya 1 MPL ünitesi olarak ifade edilmiş ve aşağıda, standardize edilmiş serumların her dilüsü için belirlenen ACA miktarları verilmiştir.

	<u>IgG ACA konsantrasyonu (GPL)</u>	<u>IgM ACA konsantrasyonu (MPL)</u>
1/50 dilusyon	200	150
1/100	100	71
1/200	50	19.5
1/400	25	5.6
1/800	12.5	3
1/1600	6	1
1/3200	3	0.3
1/6400	1.5	0.1

Okunan standart serum optik dansitesi ve bilinen standart serum ACA konsantrasyonu arasında logaritmik regresyon analizi yapılarak korelasyon değeri hesaplandı. Korelasyon değeri %95'in üzerinde ise, ELİSA sonuçları güvenilirdir. Hesaplanan korelasyon değeri doğrultusunda, hasta serumların absorbans değerlerinden ACA konsantrasyonu öğrenildi.

IgA ACA için standardize edilmiş kontrol serumu olmadığından 10 sağlıklı kişinin serumu karıştırılarak kontrol serumu elde edildi ve hasta serumlarının optik

dansite ortalaması, kontrol serumunun yüzdesi şeklinde ifade edilerek IgA BI hesaplandı

**İstatiksel Yöntem:** Gruplar arası IgM, IgG veya IgA titrasyonunun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı.

## SONUÇLAR

### Gruplar arasında ACA titrelerinin karşılaştırılması:

Behçetli hastaların IgA BI sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunurken, IgM ve IgG ACA ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. (Tablo 3)

Tablo.3

	Behçet n:128	Kontrol n:143	P değeri
IgM (MPL)	0.7 + 0.9	0.9 + 1.3	0.6
IgG (GPL)	2.5 + 2.4	2.8 + 3.6	0.6
IgA (BI%)	119.9 + 52.9	107 +45.7	0.02

SLE ve RA grubunun IgM, IgG ve IgA ACA ortalamaları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksekti. (Tablo 4)

Tablo 4.

	SLE n:20	RA n:32
IgM (MPL)	4.7 ± 8.9 (p< 0.01)	1.9 ± 3.1 (p< 0.03)
IgG (GPL)	17.2 ± 26.2 (p< 0.005)	10.1 ± 23.1(p< 0.01)
IgA (BI %)	188.1 ± 116.1 (p< 0.0001)	134.8 ± 54.6 (p< 0.0002)



**ACA prevalansı:** 143 sağlıklı kontrolün IgM, IgG ve IgA ortalamalarının 3 standart deviasyon üzeri sınır kabul edildiğinde IgG için 13.6 GPL, IgM için 4.7 MPL ve IgA için 244 BI ve üstü pozitif olarak değerlendirildi.

Bu sonuçların doğrultusunda, Behçetli 1 hastada (%8) IgG, 2 hastada (%1.6) IgM ve 6 hastada (%4.6) IgA ACA pozitifliği.

20 SLE hastasının 6 sinda (%30) IgG, 1 inde (%5) IgM, 1 inde (%5) IgM ve IgG, 1 inde (%5) IgM ve IgA ACA ve 1 inde de (%5) üç antikor birden pozitif bulundu.

32 RA hastasının, 2 sinde (%6.2) IgG, 1 inde (%3) IgM, 1 inde (%3) IgA, 1 inde (%3) IgG ve IgA, 2 sinde (%6.2) IgM ve IgG ACA yüksek titrelerdeydi.

Kontrol grubunda ise 3 hastada IgM (%2), 2 hastada IgG (%1.3) ve 2 hastada (%1.3) IgA ACA pozitifliği.

IgM ACA değeri çok hafif yüksek SLE'li bir hastanın öyküsünde iki abortus, IgG değeri yüksek başka bir hastada ise bir abortus vardı. IgM ve IgG değerleri çok yüksek olan bir hastada trombositopeni, bacakta ülser ve vaskülit saptandı. Hastaların hiç birinde hemolitik anemi, arteriel oklüzyon, pulmoner hipertansiyon, transverse myelit, transient iskemik atak ve Raynaud fenomeni gözlenmedi.

IgM ve IgG ACA değerleri çok yüksek olan iki RA hastasında romatoid nodüller saptandı. Romatoid nodülleri olan farklı iki hastada ise ACA titreleri normal sınırlardaydı.

**Behçet Hastalığında çeşitli klinik ve laboratuvar parametrelerle antikor titreleri arasındaki ilişki:**

Behçetli hastalarda HLA B<sub>5</sub> (-) grupta, HLA B<sub>5</sub> (+) gruba oranla IgA ACA ortalaması daha yüksek bulundu. (Tablo 5)

Tablo 5.

	HLA B <sub>5</sub> (+) n:57	HLA B <sub>5</sub> (-) n:28	P değeri
IgM (MPL)	0.7 ± 1	0.6 ± 0.8	0.4
IgG (GPL)	2.4 ± 1.9	2 ± 1.3	0.9
IgA (BI %)	113.2 ± 57.7	146.6 ± 63	0.005*

Göz tutulumu olan Behçetli hastaların IgM ortalaması göz tutulumu olmayan gruba göre anlamlı olarak yüksekti. Fakat, istatistiksel olarak aynı anlamlı değere göz tutulumu olan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ulaşılamadı (p:0.6). (Tablo 6)

Tablo 6.

	Göz tutulumu (+) n:78	Göz tutulumu (-) n:50	P değeri
IgM (MPL)	0.9 ± 1.1	0.5 ± 0.5	0.002*
IgG (GPL)	2.6 ± 2.7	2.2 ± 1.9	0.2
IgA (BI %)	118.8 ± 52	125.5 ± 56.6	0.5

Vasküler tutulum, artrit sedimantasyon yüksekliği, paterji pozitifliği, hastalık süresi ile ACA arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. (Tablo 7-11)

Tablo 7

	Vasküler tutulum (+) n:54	Vasküler tutulum (-) n:74	P değeri
IgM (MPL)	0.7 ± 0.9	0.8 ± 1	0.4
IgG (GPL)	2.4 ± 1.6	2.6 ± 2.9	0.5
IgA (BI%)	126. ± 54.2	118 ± 51.7	0.4

Tablo.8

	Artrit (+) n:42	Artrit (-) n:86	P değeri
IgM (MPL)	0.8 ± 1	0.8 ± 1	0.5
IgG (GPL)	2.9 ± 3.4	3 ± 7.2	0.5
IgA (BI %)	116.2 ± 53	120.3 ± 56	0.6

Tablo.9

	Sedimantasyon (>30 mm/sa) n:26	Sedimantasyon (<30 mm/sa) n:49	P değeri
IgM (MPL)	1.2 ± 1.4	0.7 ± 0.7	0.1
IgG (GPL)	3 ± 4	2.5 ± 1.6	0.4
IgA (BI %)	130.8 ± 64.6	110.4 ± 48.5	0.2

Tablo.10

	Paterji (+) n:81	Paterji (-) n:40	P değeri
IgM (MPL)	0.8 ± 1	0.6 ± 0.8	0.1
IgG (GPL)	2.5 ± 2.6	2.4 ± 1.9	0.3
IgA (BI %)	123 ± 54.5	117.3 ± 53	0.7

Tablo.11

	Hastalık süresi (5 yıl ve üstü) n:87	Hastalık süresi (5 yıldan az) n:41	P değeri
IgM (MPL)	0.5 ± 0.5	0.9 ± 1	0.1
IgG (GPL)	2.3 ± 1.6	3.3 ± 7.4	0.8
IgA (BI %)	126.7 ± 65.3	119.6 ± 52.3	0.9

İmmünoşpresif ilaç kullanan grupta IgM ACA ortalaması kullanmayan gruba göre anlamlı olarak yüksekti. Fakat istatistiksel olarak aynı anlamlı değere ilaç kullanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ulaşılamadı (p: 0.6). (Tablo 12)

Tablo 12

	İmmünoşpresif kullananlar n:71	İmmünoşpresif kullanmayanlar n:57	P değeri
IgM (MPL)	0.9 ± 1.2	0.5 ± 0.4	0.005*
IgG (GPL)	2.8 ± 2.8	3.4 ± 9	0.1
IgA (BI %)	118.6 ± 54.4	121.2 ± 56.8	0.6

## TARTIŞMA

ELİSA yöntemi kullanılarak yürütülen bu çalışmada, ACA prevalansı ülkemizdeki Behçet hastalarında % 7, sağlıklı kontrollerde % 5.6 olarak bulundu. Pozitif kontrol grubunda yer alan 20 SLE hastasının % 50 sinde ve 32 RA hastasının % 21 inde ACA pozitifliği.

SLE ve RA grubunda saptanan yüksek ACA pozitifliği ve sağlıklı kontrol grubuna ait % 5.6 lık ACA prevalansı literatür ile uyumluyken (64-93-94-95-96-97-98) , literatürdeki bazı çalışmalardan (100-101-103-104-105-107-108-109) farklı olarak Türk Behçetlilerde yüksek IgG ve IgM ACA titreleri gösterilemedi.

1984 ve 1985 yıllarında İngiltere'de yürütülen iki çalışmadan birinde, hastaların % 18.6 sında ve özellikle retinal vaskülit olanlarda IgM ve IgG ACA titreleri yüksek bulunmuştur (100). Benzer şekilde RİA yöntemi ile yürütülen ikinci çalışmada, 25 tromboflebitli hastanın ancak % 8 inde IgM ACA titreleri yüksek saptanmış, vasküler tutulum ile ACA pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir (101). Ancak bu çalışmalar günümüzde standardize edilmiş olan ELİSA yöntemi ile yapılmamıştır.

1989'da Brezilya'dan 20 kişilik bir hasta grubunun üçte iki olan % 35 inde, IgM ve IgG ACA titreleri yüksektir (103).

1993 yılında Almanya'da yürütülen farklı bir çalışmada 30 hastanın kütane vaskülit ve eritema nodosum olan % 46.7 sinde IgM ve IgG ACA pozitif bulunmuş, aynı çalışmada ACA'nın retinal vaskülit, tromboz, nörolojik tutulum, yaş, cins ve etnik farklılıklar ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (108).

İsrail (104), İtalya (105), Türkiye (107) ve Suudi Arabistan'da (109) yürütülen diğer çalışmalarda ise yüksek ACA titreleri ile ilişkili olabilecek bir organ tutulumu yoktur.

Tunus (102), Türkiye (38-111-112), Hollanda (106) ve Fransa'dan (110) bildirilen altı çalışmada Behçetli hastalardan ciddi vasküler tutulumu (102-110-112) ve üveiti (106-112) olanlarda yüksek ACA titreleri gösterilememiştir.

Görüldüğü gibi, ikisi RIA ve diğerleri ELISA yöntemi uygulanarak yürütülen bu çalışmalarda, % 0 ile % 50 arasında değişen ACA pozitifliği bildirilmiştir. Bu farklı sonuçları sadece klinik veya etnik özellikler ile açıklamak zordur. Nitekim bir çalışmada etnik farklılığın ACA titrelerini etkilemediği gösterilmiştir (108). Her toplumun kendi ACA prevalansını belirlemesi doğru olmakla birlikte asıl önemli olan ve literatürdeki karışıklığı yaratan metodolojik farklılıklar ve kabul edilen değişken cut-off (sınır) değerleridir.

Örneğin, çok yüksek pozitivite (% 46.7) bildiren çalışmalardan birinde normalin 2 standart deviasyon üzeri (109), bazılarında 3 standart deviasyon üzeri (100-101-105-107-110), birinde 4 standart deviasyon (104), bir diğerinde 10 GPL ve 6 MPL nin üstü pozitif kabul edilmiştir. (108) Bazılarında ise sınır değeri belirtilmemiştir (38-102-103-106-111-112).

Sonuçta bir laboratuvar için negatif olan değer, kabul edilen farklı sınır değerleri nedeniyle diğer bir laboratuvar için pozitif olabilmektedir.

1986 yılında yayınlanan uluslararası bir çalışmanın sonuçlarına göre ortak bir dil oluşturmak için, ELISA sonuçlarını düşük, orta ve yüksek pozitif olarak değerlendirmek daha doğru olacaktır. IgG ACA için 15 GPL nin altı düşük pozitif, 15-80 GPL arası orta pozitif ve 80 GPL nin üstü yüksek pozitifdir. IgM ACA içinse 6 MPL nin altı hafif pozitif, 6-50 MPL arası orta pozitif ve 50 MPL üstü yüksek pozitifdir. Kaba bir sınırlama olmakla birlikte, önemli klinik komplikasyonlar IgM ve IgG ACA titreleri 15 GPL ve 6 MPL ye ulaştığı zaman ortaya çıkmaktadır. IgA ACA içinse böyle bir sınır belirlenmemiştir. (61)

Biz çalışmamızda, 143 sağlıklı kontrolün ACA ortalamasınının 3 standart deviasyon, yani 13.6 GPL, 4.7 MPL ve IgA için 244 BI üzerini pozitif kabul ettik.

Görüldüğü gibi bu değerler, uluslararası çalışma grubunun orta pozitif olarak belirlediği sınıra çok yakın değerlerdir.

Literatürdeki sonuçların değerlendirilmesinde ikinci sorun ise metodolojik farklılıklardır. ACA bağlamak için  $\beta_2$  glikoprotein içeren serumun varlığı gereklidir. Bu nedenle güvenilir çalışmalarda bloke edici ajan olarak %10 luk fetal calf serum (FCS) veya %10 luk ABS kullanılır. Sadece PBS, PBS Tween veya %3 lük jelatinin kullanıldığı çalışmalar güvenilir değildir (61).

Örneğin, ACA titrelerini yüksek bulan iki çalışmada (100-105) bloke edici ajan olarak % 1 lik jelatin solüsyonunda % 1.5 luk BSA kullanılmıştır. Oysa önerilen % 1.5 luk BSA yı % 3 lük jelatin ile kullanmaktır. ACA pozitifliği bildiren farklı bir çalışmada ise % 1 BSA/PBS eklendikten sonra plak gece boyunca + 4 °C de bekletilmiştir (104). Oysa önerilen kabul edilebilir metodlarda, plak + 4 °C de değil oda ısısında inkübe edilmelidir (61).

Sonuçta literatürdeki bazı çalışmalarda saptanan, bizim gösteremediğimiz yüksek ACA pozitifliği metodolojik farklılıklardan, nonspesifik bağlanmanın etkin şekilde önlenememesinden ve kabul edilen düşük sınır değerlerinden kaynaklanabilir.

Literatürde çok az çalışmada (105-106-113-114) Behçet hastalığında serum IgA ACA düzeylerine bakılmıştır. Bir çalışmada ciddi intestinal tutulumu olan Behçet hastasında yüksek IgA ACA düzeyleri gösterilmiş (113), bir diğerinde ise üveitli on hastada diğer antikor izotipleri ile birlikte IgA ACA saptanamamıştır (106). Taiwan'dan farklı bir çalışmada da beş Behçetlinin beyin omurilik sıvısında yüksek IgM ACA ve IL-6 düzeyleri gösterilmiş, serumda ve beyin omurilik sıvısında ise IgA ACA gösterilememiştir (114).

Biz çalışmamızda, Behçetli hastalarda ortalama IgA bağlanma indeksini yüksek bulduk ( $p<0.02$ ). Hastaları HLA B<sub>5</sub> (+) ve HLA B<sub>5</sub> (-) olarak grüpladığımızda

da özellikle HLA B<sub>5</sub> (-) grupta IgA ACA ortalamasının yüksek olduğunu gördük (p<0.005).

HLA B<sub>5</sub> (-) Behçetli hastalar, mukokütanöz tutulumun daha sık görüldüğü hastalardır.(117). Oral ve genital bölgelerdeki mukozal ülserasyonlar Behçetli hastaların IgA immun cevabını değiştirebilir. Nitekim literatürde serum IgA titrelerini Behçet hastalarında yüksek bulan, (18-119) B lenfositlerin toplam sayısında değişiklik olmaksızın IgA izotipini taşıyanlarda artış gösteren çalışmalar vardır. Ayrıca CD4 ve CD 8 hücreleri üzerinde sitofilik IgA 1 de artmıştır (118). Behçet hastalarında serum IgA titreleri de yüksektir. IgA immün cevabındaki bu artış, IgA ACA için de geçerli olabilir. IgA ACA nın özellikle HLA B<sub>5</sub> (-) grupta yüksek olması bu düşüncüyü desteklemektedir.

Çalışmamızda IgM ACA göz tutulumu olan veya immünosupresif kullanan gruplarda daha yüksek olmakla birlikte (p<0.002 ve p<0.005), bu gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aynı anlamlı değere ulaşamamıştır (p:0.6 ve p:0.6).

Ayrıca, çalışmamızda ACA ile vasküler tutulum, artrit, sedimantasyon yüksekliği, paterji pozitifliği ve hastalık süresi arasında ilişki gösterilememiştir.

Türkiye’de yürütülen dört çalışmanın ikisinde Behçetlilerde %20 ve %11.8 gibi yüksek, ikisinde de %0 ve %8.3 gibi normal ACA pozitifliği bildirilmiştir (38-107-111-112). Bu çalışmaların ortalaması olan % 8 (14/184) literatürdeki diğer çalışmalardan (%25, 78/312) daha düşüktür. Bu da etnik farklılıkların ACA prevalansını etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Antifosfolipid antikor pozitifliği ile seyreden antifosfolipid sendromu, tekrarlayan arteriovenöz tromboz ile birlikte, abortus ve trombositopeni ile de karakterizedir. Oysa Behçet hastalığında, artmış tromboz riski dışında, abortus ve trombositopeni gözlenmemektedir.



Tüm bu veriler, ACA'nın Behçet hastalığında önemli rolü olmadığını düşündürmektedir. Nitekim, literatürde bir etnik grupta düzenlenen en büyük çalışma olan bu çalışmada, Behçet hastalığında yüksek IgG ve IgM ACA titreleri gösterilememiştir. HLA B<sub>5</sub> (-) Behçetli hastalarda saptanan IgA ACA titrelerindeki artış ise mukokütanöz tutulum farklılığından kaynaklanabilir veya artmış olduğu bildirilen serum IgA düzeyleri ile ilişkili olabilir.



## KAYNAKLAR

1. International Study Group for Behçet's Disease. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. *Lancet* 1990; 335:1078-1080.
2. Behçet's disease. *Lancet* 1989; 8: 761-762.
3. Wechsler B, Piette JC. Behçet's disease. Retains most of its mysteries. *BMJ* 1992; 304:1199-1200.
4. O'Duffy JD. Behçet's disease. *Current Opinion in Rheumatology* 1994; 6:39-43.
5. Yurdakul S, Günaydın İ, Tüzün Y, Tankurt N, Pazarlı H, Özyazgan Y, Yazıcı H. The prevalence of Behçet's syndrome in a rural area in Turkey. *The Journal of Rheumatology* 1988; 15:820-22.
6. Al-Rawi Z.S, Sharquie K.E, Khalifa S.J, Al-Hadith F.M , Munir J.J. Behçet's disease in Iraqi patients. *Annals of Rheumatic Diseases* 1986; 45: 987-990.
7. The Behçet's Disease Research Committee of Japan. Skin hypersensitivity to streptococcal antigens and the induction of systemic symptoms by the antigens in Behçet's disease -A multicenter study .*The Journal of Rheumatology* 1989; 16: 506-511.
8. Mizushima Y, Matsuda T, Hoshi K, Ohno S. Induction of Behçet's disease symptoms after dental treatment and streptococcal skin test. *The Journal of Rheumatology* 1988; 15:1029-1030.
9. Buskila D, Gladman DD, Gilmore J, Salit IE. Behçet's disease in a patient with immunodeficiency virus infection . *Annals of Rheumatic Diseases* 1991; 50: 115-116.
10. Ohno S, Aoki K, Sugiura S, Nakayama E, Itakura K, Aizawa M. HLA -A5 and Behçet's disease. *The Lancet* 1973 ;15 1383-84 .
11. Arber N, Klein T, Meiner Z, Pras E, Weinberger A. Close association of HLA-B51 in Israeli patients with Behçet's syndrome. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1991; 50: 351-53.
12. Jung RT, Chalmers TM, Joysey VC. HLA in Behçet's disease .*The Lancet* 1976; 27: 694.
13. Direskeneli H, Adam H, Shinnick T. Recognition of B cell epitopes of 65 kD HSP in Behçet's disease. *Scandinavian Journal of Immunology*, 1996 (Basımda).
14. Lehner T, Shinnick T, Stanford MR, Childerstone A, Pervin K, Direskeneli H, Whiston R, Kasp E, Dumonde DC, van der Zee R, Mizushima Y. T and B cell

epitope mapping with heat shock protein in Behçet's disease and induction of uveitis in rats. Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Conference on Behçet's disease, France 1993; 19-27.

15. Stanford MR, Kasp E, Whiston R, Hasan A, Todryk S, Shinnick T, Mizushima Y, Dumonde DC, van der Zee R, Lehner T. Heat shock protein peptides reactive in Behçet's disease are uveitogenic in Lewis rats. *Clinical Experimental Immunology* 1994; 97: 226-231.
16. Suzuki N, Sakane T, Ueda Y, Tsunematsu T. Abnormal B cell function in patients with Behçet's disease. *Arthritis and Rheumatism* 1986; 29: 212-219.
17. Kahan A, Hamzaoui K, Ayed K. Abnormalities of T lymphocyte subsets in Behçet's disease demonstrated with anti-CD45RA and anti-CD29 monoclonal antibodies. *The Journal of Rheumatology* 1992; 19: 742-746.
18. Taylor PV, Chamberlain MA, Scott JS. Autoreactivity in patients with Behçet's disease. *British Journal of Rheumatology* 1993; 32: 908-910.
19. Hamzaoui K, Ayed K, Hamza M, Touraine JL. Natural killer cells in Behçet's disease. *Clinical Experimental Immunology* 1988; 71: 126-131.
20. Kaneko F, Takahashi Y, Muramatsu R, Adachi K, Miura Y, Nakane A, Minagawa T. Natural killer cell numbers and function in peripheral lymphoid cells in Behçet's disease. *British Journal of Dermatology* 1985; 113:313-318.
21. Yosipovitch G, Shohat B, Bishara J, Wysenbeek A, Weinberger A. Elevated serum interleukin 2 receptors and interleukin 1B in patients with Behçet's disease. Correlations with disease activity and severity. Proceedings of 6<sup>th</sup> International Conference on Behçet's Disease, France 1993; 37-41.
22. Akoğlu TF, Direskeneli H, Yazıcı H, Lawrence R. TNF, soluble IL2R and soluble CD 8 in Behçet's disease. *The Journal of Rheumatology* 1990; 17:1107-1108.
23. Hirohata S, Oka H, Mizushima Y. Streptococcal related antigens stimulate production of IL6 and interferon gamma by T cells from patients with Behçet's disease. *Cellular Immunology* 1992; 140: 410-419.
24. Kaneoka H, Furukawa H, Takeno M, Mizushima Y, Sakane T. HLA B51 involved in the hyperfunction of peripheral blood neutrophils from patients with Behçet's disease. Proceedings of 6<sup>th</sup>. International Conference on Behçet's Disease, France 1993; 29-33.
25. Chajek-Shaul T, Pisanty S, Knobler H, Matzner Y, Glick M, Ron N, Rosenman E, Brautbar C. HLA B51 may serve as an immunogenetic marker for a subgroup of patients with Behçet's syndrome. *The American Journal of Medicine* 1987; 83: 666-672.

26. Takeno M, Kariyone A, Kaneoka H, Yamashita N, Mizushima Y, Takiguchi M, Sakane T. Neutrophil hyperfunction in HLA B51 transgenic mice : insights from the transgenic animals as a model of Behçet's disease. Proceedings of 6<sup>th</sup> International Conference on Behçet's Disease, France 1993; 3-6.
27. Plotkin GR, Patel BR, Shah VN. Behçet's syndrome complicated by cutaneous leukocytoclastic vasculitis .Archives of Internal Medicine 1985; 145: 1913-1915.
28. Jorizzo JL, White WL. Dermatologic aspects of Behçet's disease. Proceedings of 6<sup>th</sup> International Conference on Behçet's Disease, France 1993; 355-357.
29. Gül A, Esin S, Dilşen N, Koniçe M, Wigzell H, Biberfelds P. Immunohistology of skin pathology reaction in Behçet's disease. British Journal of Dermatology 1995; 132: 901-907.
30. Poulter LW, Lehner T. Immunohistology of oral lesions from patients with recurrent oral ulcers and Behçet's syndrome. Clinical Experimental Immunology 1989; 78: 189-195.
31. Charteris DG, Barton K, McCartney ACE, Lightman SL. CD4 + Lymphocyte involvement in ocular Behçet's disease. Autoimmunity 1992; 12: 201-206.
32. Koç Y, Güllü İ, Akpek G, Akpolat T, Kansu E, Kiraz S, Batman F, Kansu T, Balkancı F, Akkaya S, Telatar H , Zileli T .Vascular involvement in Behçet's disease .The Journal of Rheumatology 1992; 19: 402-410.
33. Lie JT. Vascular involvement in Behçet's disease; arterial and venous and vessels of all sizes. The Journal of Rheumatology; 19: 341-343.(editorial)
34. Demirkazık FB, Balkancı F, Çekirge S, Tacal T, Saatçı I, Besim A, Kansu E. Vaskuler involvement in Behçet's disease. Proceedings of 6<sup>th</sup> International Conference on Behçet's Disease, France 1993; 537 -540.
35. Kida S . Studies on von Willibrand factor antigen in endothelial cells and sera of patients with connective tissue disease. Japanese Journal of Rheumatology 1992;4: 21-32 .
36. Yazıcı H, Hekim N, Özbakır F, Yurdakul S, Tüzün Y, Pazarlı H, Müftüoğlu A. Von Willebrand Factor in Behçet's syndrome. The Journal of Rheumatology 1987; 14: 305-306.
37. Direskeneli H, Keser G, d'Cruz D, Khamashta MA, Akoğlu T, Yazıcı H, Yurdakul S, Hamuryudan V, Özgün Ş, Goral AJ, Huges GRV. Anti-Endothelial cell antibodies, endothelial proliferation and von Willebrand factor antigen in Behçet's disease. Clinical Rheumatology 1995 ; 14 :55-61.
38. Aydınтуğ A.O, Tokgöz G, d'Cruz D.P, Gürler A, Cervera R, Düzgün N, Atmaca L.S, Khamashta M.A, Hughes G.R.V. Antibodies to endothelial cells in patients with Behçet's disease. Clinical Immunology Immunopathology 1993; 67:157-162.

39. Cervera R, Navarro M, Lopez Soto A, Cid M.C, Font J, Esparza J, Reverter J. C, Monteagudo J, Ingelmo M, Marguez A.U. Antibodies to endothelial cells in Behçet's disease; cell binding heterogeneity and association with clinical activity. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1994; 53: 265-267.
40. Koç Y, Kansu E, Koray Z, Duru S, Batman F, Kansu T, Akkaya S, Eldem B, Şahin G, Telatar H, Zileli T. Endothelin 1,2 levels in Behçet's disease. *Proceedings of 6<sup>th</sup> International Conference on Behçet's Disease, France* 1993; 97-101.
41. Kansu E, Şahin G, Şahin F, Sivri B, Sayek I, Batman F. Impaired prostacyclin synthesis by vessel walls in Behçet's disease. *The Lancet* 1986; 15: 1154.
42. Hızlı N, Şahin G, Şahin F, Kansu E, Duru S, Karacadağ Ş, Batman F, Dündar S, Zileli T, Telatar H. Plasma prostacyclin levels in Behçet's disease. *The Lancet* 1985; 22: 1454.
43. Ritter J.M, Barrow S.E, Quigley C. Plasma prostacyclin levels in Behçet's disease (letter). *The Lancet* 1985; 2: 497.
44. Prchal J.T, Blakely J. Granulocyte platelet rosettes. *The New England Journal of Medicine* 1973 22: 1146.
45. Kirch W, Hutt H.J, Dührsen U, Ohnhaus E.E. Platelet function in patients with Behçet's syndrome and in healthy subjects. *Royal Society of Medicine Services. Recent Advances in Behçet's Disease* 1985; 139-143.
46. Aitchison R, Chu P, Cater D. R, Harris R. J, Powell R.J. Defective fibrinolysis in Behçet's syndrome; significance and possible mechanisms. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1989; 48 : 590- 593.
47. Huebner U.S, Knop J. Evidence for an endothelial cell dysfunction in association with Behçet's disease. *Thrombosis Research* 1984; 34: 277-285.
48. Reyes H, Dearing L, Shoenfeld Y, Peter J. Antiphospholipid Antibodies: A critique of their heterogeneity and hegemony. *Thrombosis and Hemostasis* 1994; 20: 89-100.
49. Triplett D.A. Antiphospholipid antibodies and thrombosis. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 1993; 117: 78-88.
50. Bick R.L The antiphospholipid thrombosis syndromes (editorial). *American Journal of Clinical Pathology* 1993; 100: 477-480.
51. Harris E.N, Phil M. Serological detection of antiphospholipid antibodies. *Stroke* 1992; 23 (suppl.1): 1-3--1-6.
52. Cullis P.R, Hope M.J, Tilcock C.P.S. Lipid polymorphism and the roles of lipids in membranes. *Chemistry and Physics of Lipids* 1986; 40: 127-144.

53. Rauch J, Tannenbaum M, Janoff A.S. Distinguishing plasma lupus anticoagulants from antifactor antibodies using hexagonal (II) phase phospholipids. *Thrombosis and Haemostasis* 1989; 62: 892-896.
54. Gharavi A.E. Antiphospholipid cofactor. *Stroke* 1992; 23 (suppl. 1): 1-7-1-10.
55. Shoenfeld Y, Meroni P.L. The beta -2- glycoprotein I and antiphospholipid antibodies. *Clinical and Experimental Rheumatology* 1992; 10: 205-209.
56. Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker H.C, de Baets M.H, van Breda Vriesman P.J.C, Barbui T, Zwaal R.F.A, Bevers E.M. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet* 1990; 335: 1544-1547.
57. Ordi J, Selva A, Monegal F, Porcel J.M, Costa X.M, Vilardel M. Anticardiolipin antibodies and dependence of a serum cofactor. A mechanism of thrombosis. *Journal of Rheumatology* 1993; 20: 1321- 1324.
58. Kaburaki J, Kuwana M, Yamamoto M, Kawai S, Matsuura E, Ikedo Y. Disease distribution of beta 2 glikoprotein I dependent anticardiolipin antibodies in rheumatic diseases. *Lupus* 1995; 4 (suppl.1) : S27-S31.
59. Triplett DA. Coagulation assays for the lupus anticoagulant : Review and critique of current methodology. *Stroke* 1992; 23 (suppl. 1): 1-11--1-14.
60. Gharavi A.E, Harris E.N, Asherson R.A, Hughes G.R.V. Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1987; 46:1-6.
61. Harris E.N, Gharavi A.E, Patel S.P, Hughes R.V. Evaluation of the anticardiolipin antibody test: report of an international workshop held 4 April 1986. *Clinical Experimental Immunology* 198; 68:215-222.
62. Harris E.N, Phil M, Chan J.K.H, Asherson R.A, Aber V.R, Gharavi A.E, Hughes G.R.V. Thrombosis, recurrent fetal loss and thrombocytopenia. *Archives of Internal Medicine* 1986; 146:2153-2156.
63. Harris E.N, Gharavi A.E, Boey M.L, Patel B.M, Mackworth-Young C.G, Loizou S, Hughes G.R. V. Anticardiolipin antibodies : Detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *The Lancet* 1983; 26:1211-1214.
64. Love P.E, Santaro SA. Antiphospholipid antibodies : Anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus and in non-SLE disorders. *Annals of Internal Medicine* 1990;112: 682-698.
65. Triplett D.A, Brandt J.T, Musgrave K.A, Orr C.A. The relationship between lupus anticoagulants and antibodies to phospholipids. *JAMA* 1988; 259:550-554.

66. Greisman S.G, Thayaparan R.S, Godwin T.A, Lockshin M.D. Occlusive vasculopathy in systemic lupus erythematosus. Association with anticardiolipin antibody. *Archives of Internal Medicine* 1991; 151: 389-392.
67. Ginsburg K.S, Liang M.H, Newcomer L, Goldhaber S.Z, Schur P.H, Hennekens C.H, Stampfer M. J. Anticardiolipin antibodies and the risk for ischemic stroke and venous thrombosis. *Annals of Internal Medicine* 1992; 117:997-1002.
68. Out H.J, Bruinse HW, Christiaens G.C.M.L, van Vliet M, Meilof J.F, de Groot P.G, Smeenk R. J, Derksen R.H.W.M. Prevalence of antiphospholipid antibodies in patients with fetal loss. *Annals of Rheumatic Diseases* 1991; 50: 553-557.
69. Lynch A, Marlar R, Murphy J, Davila G, Santos M, Rutledge J, Emlen W. Antiphospholipid antibodies in predicting adverse pregnancy outcome. *Annals of Internal Medicine* 1994; 120 :470-475.
70. Caporali R, Ravelli A, de Gennaro F, Neirrotti G, Montecucco C, Martini A. Prevalence of anticardiolipin antibodies in juvenile chronic arthritis. *Annals of Rheumatic Diseases* 1991; 50: 559- 601.
71. Ingram S. B, Goodnight Jr. S.H, Bennett R.M. An unusual syndrome of a devastating noninflammatory vasculopathy associated with anticardiolipin antibodies : report of two cases. *Arthritis and Rheumatism* 1987; 30: 1167-1172.
72. Levine S.R, Brey R.L, Joseph C.L.M, Havstad S. Risk of recurrent thromboembolic events in patients with focal cerebral ischemia and antiphospholipid antibodies. *Stroke* 1992; 23 (suppl. I):1-29--1-32.
73. Vaarala O, Palosuo T, Kleemola M, Aho K. Anticardiolipin response in acute infections. *Clinical Immunology and Immunopathology* 1986; 41: 8-15.
74. Lousa M, Sastre J.L, Cancelas J.A, Gobernado J.M, Pardo A. Study of antiphospholipid antibodies in a patient with Sneddon's syndrome and her family. *Stroke* 1994; 25:1071-1074.
75. Asherson R.A, Hughes G.R.V. Hypoadrenalism, Addison's disease and antiphospholipid antibodies. *The Journal of Rheumatology* 1991; 18 : 1-3.
76. Bick R.L, Baker W.F. The antiphospholipid and thrombosis syndromes. *The Medical Clinics of North America* 1994; 78: 667-685.
77. Manoussakis M.N, Tzioufas A.G, Silis M.P, Pange P.J. E, Goudevanos J, Moutsopoulos H.M. High prevalence of anticardiolipin and other autoantibodies in a healthy elderly population. *Clinical Experimental Immunology* 1987; 69: 557-567.
78. McCrae K.R, de Michele A, Smuels P, Roth D, Kuo A, Meng Q.H, Rauch J, Cines D.B. Detection of endothelial cell reactive immunoglobulin in patients with antiphospholipid antibodies. *British Journal of Haematology* 1991; 79: 595-605.

79. Watson K.V, Schorer A.E. Lupus anticoagulant inhibition of in vitro prostacyclin release is associated with a thrombosis prone subset of patients. *The American Journal of Medicine* 1991; 90:47-53.
80. Violi F, Valesini G, Iuliano L, Ghiselli A, Falco M, Balsano F. Anticardiolipin antibodies and prostacyclin synthesis. *Thrombosis and Haemostasis* 1987; 57: 374.
81. Silver R.K, Adler L, Hickmann A.R, Hageman J.R. Anticardiolipin antibody positive serum enhances endothelial cell platelet activating factor production. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1991; 165 1748-1752.
82. Cariou R, Tobelem G, Bellucci S, Soria J, Soria C, Maclouf J, Caen J. Effects of lupus anticoagulant on antithrombogenic properties of endothelial cells. Inhibition of thrombomodulin dependent protein C activation. *Thrombosis and Haemostasis* 1988; 60: 54-58.
83. Oosting J.D, Derksen R.H.W.M, Bobbink I.W.G, Hackeng T.M, Borna B.N, de Groot P.G. Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with prothrombin, protein C, or protein S : An explanation for their pathogenic mechanism? *Blood* 1993; 81: 2618-2625.
84. Walker F.J. Regulation of activated protein C by protein S. *The Journal of Biological Chemistry* 1981; 256: 11128-11131.
85. Marciniak E, Romond E.H. Impaired catalytic function of activated protein C: A new in vitro manifestation of lupus anticoagulant. *Blood* 1989; 74: 2426 -2432.
86. Malia R.G, Kitchen S, Greaves M, Preston F.E. Inhibition of activated protein C and its cofactor protein S by antiphospholipid antibodies. *British Journal of Haematology* 1990; 76: 101-107.
87. Shibata S, Harpel P.C, Gharavi A, Rand J, Fillit H. Autoantibodies to heparin from patients with Antiphospholipid Antibody Syndrome inhibit formation of antithrombin III-thrombin complexes. *Blood*; 83: 2532-2540.
88. Ginsberg J.S, Demers C, Edwards P.B, Johnston M, Bona R, Burrows R.F, Weitz J, Denburg J. A. Increased thrombin generation and activity in patients with systemic lupus erythematosus and anticardiolipin antibodies: Evidence for a prothrombotic state. *Blood* 1993; 81 :2958-2963.
89. Keeling D.M, Campbell S.J, Mackie I.J, Machin S.J, Isenberg D.A. The fibrinolytic response to venous occlusion and natural anticoagulants in patients with antiphospholipid antibodies both with and without systemic lupus erythematosus. *British Journal of Haematology* 1991; 77:354-359.
90. d'Cruz D, Hughes H. Antibodies, thrombosis and endothelium (editorial). *British Journal of Rheumatology* 1994; 33: 2-4.



91. Lin Y.L, Wang C.T. Activation of human platelets by the rabbit anticardiolipin antibodies. *Blood* 80: 3135-3143.
92. Shortell C.K, Ouriel K, Green R.M, Condemi J.J, deWeese J.A. Vascular disease in the antiphospholipid syndrome. A comparison with the patient population with atherosclerosis. *Journal of Vascular Surgery* 1992; 1 :158-166.
93. Kalunian K.J, Peter J.B, Middlekauff H.R, Sayre J, Ando D.G, Mangotich M, Hahn B.H. Clinical significance of a single test for anticardiolipin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *The American Journal of Medicine* 1988; 85: 602-608.
94. Vianna J.L, Khamashta M.A, Ordi-Ros J, Font J, Cervera R, Soto A.L, Tolosa C, Franz J, Selva A, Ingelmo M, Vilardell M, Hughes G.R.V. Comparison of the primary and secondary antiphospholipid syndrome : A European multicenter study of 114 patients. *The American Journal of Medicine* 1994; 96:3-9.
95. Söhngen D, Wehmeier A, Specker C, Schneider W. Antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus and Sneddon's syndrome. *Thrombosis and Haemostasis* 1994; 20:55-63.
96. Segovia D.A, Deleze M, Oria C.V, Guerrero J.S, Pacheco L.G, Cabiedes J, Fernandez L, De Leon S.P. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. *Medicine* 1989; 68: 353-365.
97. Fort J.G, Cowchock S, Abruzzo J.L, Smith B. Anticardiolipin antibodies in patients with rheumatic diseases. *Arthritis and Rheumatism* 1987; 30:752-760.
98. Wolf P, Gretler J, Aglas F, Grumbach P.A, Rainer F. Anticardiolipin antibodies in rheumatoid arthritis: their relation to rheumatoid nodules and cutaneous vascular manifestations. *British Journal of Dermatology* 1994; 131: 48-51.
99. Serio B, Cutolo M, Fasciola D, Traverso M, Accardo S. Lipids, lipoproteins and anticardiolipin antibodies in rheumatoid arthritis. VII. Mediterranean Congress of Rheumatology, Athens 1994; 63-67.
100. Hull R.G, Harris E.N, Gharavi A.E, Tincani A, Asherson R.A, Valesini G, Denman A.M, Froude G, Hughes G.R.V. Anticardiolipin antibodies : occurrence in Behçet's syndrome. *Annals of Rheumatic Diseases* 1984; 43:746-748.
101. Efthimou J., Harris E.N, Hughes G.R.V. U. negative anticardiolipin antibodies and vascular complications in Behçet's syndrome. *Annals of Rheumatic Diseases* 1985; 44: 725-726.
102. Hamza M, Meyer o. Anticorps anticardiolipide dans la maladie de Behçet. *La Presse Médicale* 1986; 15: 1281.

103. Pereira R.M.R, Gonçalves C.R, Bueno C, de Souza Meirelles E, Cossermelli W, de Oliveira R.M. Anticardiolipin antibodies in Behçet's syndrome: A predictor of a more severe disease. *Clinical Rheumatology* 1989; 8: 289-291.
104. Bergman R, Lorber M, Lerner M, Brik R, Birnbaum R.F. Anticardiolipin antibodies in Behçet's disease. *The Journal of Dermatology* 1990; 17: 164-167.
105. Pezzi P.P, Priori R, Catarinelli G, Meroni P.L, Federici A.B, Abdülaziz M, Falco M, Valesini G. Markers of vascular injury in Behçet's disease associated with retinal vasculitis. *Annals of Ophthalmology* 1992; 24: 411-414.
106. Klok A.M, Geertzen R, Rothova A, Baarsma G.S, Kijlstra A. Anticardiolipin antibodies in uveitis. *Current Eye Research* 1992; 11 (supp 1P): 209-213. (abstract)
107. Alper G, Özsan H, Girgin F, Onat T, Büyükkeçeci F, Gümüşdiş G. Anticardiolipin antibodies in Behçet's disease. *Proceedings of 6<sup>th</sup> International Conference on Behçet's Disease, France* 1993; 119-122.
108. Zouboulis C.C, Büttner P, Tebbe B, Orfanos C.E. Anticardiolipin antibodies in Adamantiades Behçet's disease. *British Journal of Dermatology* 1993; 128: 281-284.
109. Ramahi K.M, Al-Dalaan A, A-Balaa S, Sheth K, Al-Kawi M.Z, Bohlega S. Antiphospholipid antibodies in Behçet's disease. *Proceedings of 6<sup>th</sup> International Conference on Behçet's Disease, France* 1993; 109-113.
110. Karmochkine M, Boffa M.C, Wechler B, Piette J.C, Godeau P. Absence of antiphospholipid antibodies in Behçet's disease. *Annals of Rheumatismal Disease* 1993; 52:623.
111. Özbek S, Erken E, Güneşçar R, Güler T. The frequency of anticardiolipin antibodies in Behçet's disease. *Clinical Rheumatology* 1994; 13:388.
112. Erteli I, Çalgüneri M, Kiraz S, Karaaslan Y. Anticardiolipin antibodies in Behçet's disease. *Clinical Rheumatology* 1994; 13:389.
113. Anzai C, Ishii O, Yamada H, Matsuda T, Suzuki Y, Sakane T, Ichikawa Y, Mizushima Y. A case of vasculo-Behçet's disease associated with Lupus anticoagulant and circulating immune complex. *Proceedings of 6<sup>th</sup> International Conference on Behçet's Disease, France* 1993; 581-584.
114. Wang C.R, Chuang C.Y, Chen C.Y. Anticardiolipin antibodies and interleukin 6 in cerebrospinal fluid and blood of Chinese patients with neuro-Behçet's syndrome. *Clinical and Experimental Rheumatology* 1992; 10: 599-602.
115. Arnett F.C, Edworthy S.M, Bloch D.A, McShane D.J, Fries J.F, Cooper N.S, Healey L.A, Kaplan S.R, Liang M.H, Luthra H.S. *The American Rheumatism*

Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatism* 1988; 31: 315.

116. Tan E.M, Cohen A.S, Fries J.F. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatism* 1982; 25: 1271-1277.
117. Azizlerli G, Aksungur VL, Sarica R, Akyol E, Ovul C. The association of HLA B<sub>5</sub> antijen with spesifik manifestations of Behçet's disease. *Dermatology* 1994; 188: 293-295. (abstract)
118. Fortune F, Walker J, Lehner T. The expression of gamma delta T cell receptor and the prevalence of primed activated and IgA bound T cells in Behçet's syndrome. *Clinical Experimental Immunology* 1990; 82: 326-332.
119. Teplinskaia L.E, Kaliberdina A.F, Zaitseva N.S, Bulanova T.D, Katsnelson L.A. Clinico-immunological disorders in uveitis in patients with Behçet's syndrome. *Vestn. Oftalmol.* 1994; 110: 23-25. (abstract)