

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ALFA İNTERFERON İLE TEDAVİ EDİLEN KRONİK
MYELOİD LÖSEMİ HASTALARINDA PATERJİ TESTİ
POZİTİFLİĞİ VE NÖTROFİL ADEZYON
MOLEKÜLLERİ DEĞİŞİMİ - BEHÇET HASTALIĞI İLİŞKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr.Derya KARACA

Trabzon-2003

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ALFA İNTERFERON İLE TEDAVİ EDİLEN KRONİK
MYELOİD LÖSEMİ HASTALARINDA PATERJİ TESTİ
POZİTİFLİĞİ VE NÖTROFİL ADEZYON
MOLEKÜLLERİ DEĞİŞİMİ - BEHÇET HASTALIĞI İLİŞKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr.Derya KARACA

Tez Danışmanı: Yrd.Doç.Dr.S.Sami KARTI



Trabzon-2003

Bu alışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Hematoloji Bilim Dalı, Dermatoloji Ana Bilim Dalı ve Patoloji Ana Bilim Dallarının işbirliği ile gerçekleştirildi.çalışma boyunca bana yön veren ve sınırsız desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Sami Kartı ve Prof. Dr. Ercüment Ovalı'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışmanın yürümesinde büyük katkılarından dolayı Doç. Dr. Gülseren Cimřit, Dr. Hikmet Akyazı, Dr. şafak Ersöz, Fatma Sümer, Alper Pakdemir, Münir İnan, Yıldıray Karayavuz ve emeği geçen tüm doktor arkadaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca çalışmamıza yaptığı maddi desteklerinden ötürü hematoloji derneğine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ VE AMAÇ	2
2.GENEL BİLGİLER	2-15
2.1. İnterferon	2-8
2.2. Behçet hastalığı	8-11
2.3. Kronik myeloid lösemi	11-13
2.4. Kronik viral hepatitler ve interferon kullanımı	14-15
2.5. Adezyon molekülleri	15
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER	15-18
3.1. Hasta grupları ve kontroller	15-16
3.2. Paterji testi	16
3.3. PCR	16-17
3.4. Akım sitometri yöntemi	17-18
4.SONUÇLAR	18-21
5. TARTIŞMA	22-24
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER	25
7. ÖZET	26
8.İNGİLİZCE ÖZET	27
9.KAYNAKLAR	28-33

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Alfa interferon (α -IFN), son yıllarda kronik myeloid lösemi (KML) tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. α -IFN kullanan birkaç KML hastasında oral, genital ülserler ve artrit ile seyreden Behçet benzeri sendrom tanımlanmıştır (1, 2). α -IFN almayanlarda bu ve benzeri bulgulara rastlanmaması, bu tablodan IFN'un sorumlu olabileceğini akla getirmektedir. IFN normal insan lökositlerini aktive edebilmektedir (3,4). KML'li hastaların nötrofillerinin ve prekürsörlerinin, sağlıklı kişilerin nötrofillerine göre kemotaktik ve fagositik özelliklerinin daha fazla olduğu bilinmektedir (5). Bir çalışmada Behçet hastalarındaki cilt hiperaktivliği (paterji reaksiyonu) IFN alfa kullanan KML'li hastaların % 24'ünde tespit edilmiştir (6). Kartı ve ark. α -IFN'un doza bağımlı olarak, normalden aktif olan KML nötrofillerini, daha aktif hale getirerek, Behçet benzeri bir nötrofil profili oluşturduğunu in vitro olarak göstermişler ve α -IFN tedavisi altındaki KML hastalarında gelişen Behçet benzeri tablodan, α -IFN'un nötrofiller üstündeki bu etkisinin sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir (7).

Biz bu çalışmamızda sağlıklı bireyler, Behçet hastaları, IFN tedavisi alan ve almayan KML hastalarıyla, IFN tedavisi alan kronik hepatit B ve C'li hastalarda, lökosit adezyon moleküllerinin tayini ve bunun, paterji ile ilişkisini ortaya koymayı amaçladık. KML hastalarında hiperaktif olduğu bilinen nötrofillerin adezyon molekül ekspresyonunun, IFN ile değişip değişmediğini inceledik ve oluşan yeni nötrofil adezyon profilinin Behçet Hastalığı (BH) ile ilişkisini kurmaya çalıştık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İNTERFERONLAR

İnferonlar (IFN) değişik indükleyicilerin etkisi ile ökaryotik hücreler tarafından üretilen, antiviral, immunmodülatör ve antiproliferatif etkili, hücresel veya glikozile proteinlerdir (8-10). İnterferon terimi ilk olarak 1957 yılında Isaac ve Lindeman tarafından kullanılmıştır. 1961'de Gresser tarafından IFN'un insan lökositlerince üretildiği gösterilmiş ve 1960'lı yılların sonlarında ilk defa Cantell tarafından IFN üretimi gerçekleştirilmiştir. Son yıllarda rekombinant DNA teknolojisi sayesinde IFN üretimi ve kullanımı artmıştır.

İnterferonlar indükledikleri hücre tipine, fizikokimyasal özelliklerine ve etki ettikleri sistemlere göre alfa, beta ve gamma olmak üzere 3 tipe ayrılırlar.

a. Alfa-interferon (α -IFN)-Lenfoblastoid veya lökosit IFN

Viral enfeksiyon ve diğer stimuluslara karşı endojen olarak, aktive olmuş B lenfositler ve monositlerce yapılmaktadır. Moleküler ağırlığı 16-27 kd arasındadır. Aktiviteleri benzeyen farklı iki tipi vardır; alfa-2a ve alfa-2b. İnsanlarda 23 çeşit α -IFN geni mevcuttur ve bunların 15 tanesi fonksiyoneldir; ancak, en önemlisi 9'uncu kromozomdadır. α -IFN farklı hücreler üzerinde bulunan birçok hücre yüzey reseptörü ile ilişkiye girer (8,10).

b. Beta-interferon (β -IFN)-Fibroblastoid IFN

Fibroblastlardan salgınır. Bir tipi vardır. Vücutta bilinen sadece bir tane β -IFN geni mevcuttur ve 9'uncu kromozomun kısa kolundadır. β -IFN 166 amino asitten oluşan bir proteindir. Moleküler ağırlığı 20 kd'dur. Viral enfeksiyonlar hem α hem de β interferonları indüklerken, poliribonükleotidler yalnız β -IFN'u indükler. β -IFN'un sentetik indüktörleri arasında bazı anyonik polimerler, düşük moleküler ağırlıklı lipidler ve peptidler de vardır (8-10).

c. Gama-interferon (γ -IFN)-İmmun interferon

Antiviral etkilerinden çok immün modülatör etkileri ön plandadır. Antijen ve fitohemaglutinin gibi mitojenlerin uyarısı ile T lenfositlerce salgınır. Mevcut tek gen 12'inci kromozomun uzun kolundadır. 143 amino asitten oluşur ve moleküler ağırlığı 17-25 kd arasındadır (8-10).

Tablo 1. İnsan interferonları (9)

İnterferon	Alfa	Beta	Gama
Gen sayısı	23	1	1
Gen lokasyonu	9	9	12
Reseptör lokasyonu	21	21	6
Moleküler ağırlık (kd)	16-27	20	17-25
Amino asitler	165-166	166	143
pH stabilitesi	stabil	stabil	değişken
Kaynağı	monositler B hücreleri	fibroblastlar	T hücreleri
İndükleyiciler	virüsler	dsRNA, virüs	antijen, mitojen

β -IFN indükleyicilerinin çoğu, α -IFN yapımını da indükler ve bu iki IFN'un genleri arasında % 45 homoloji mevcuttur. Bu benzerlikleri nedeniyle α ve β IFN'lar, tip 1 IFN olarak gruplandırılır. Ortak etkileri olmasına rağmen, farklı hücre yüzey reseptörlerini kullanırlar. Gama IFN ise geninin farklı lokus ve yapıda olması nedeniyle tip 2 IFN olarak da sınıflandırılmaktadır (8,9).

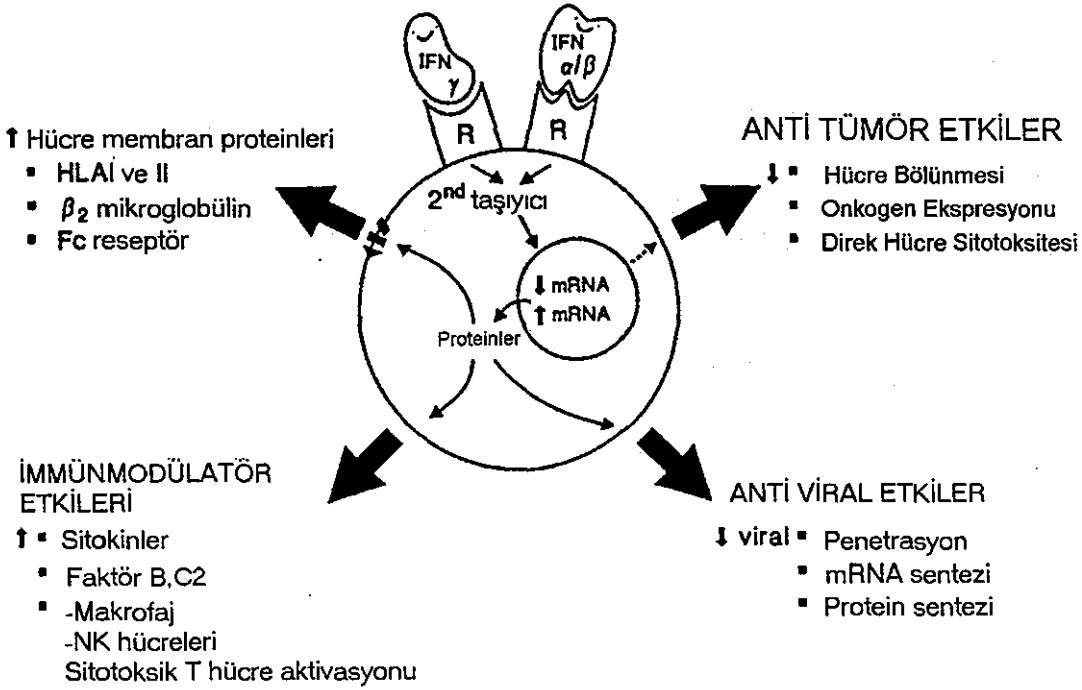
IFN'lar immünomodülatör ve antiviral etkilerini, hücrelerde birçok proteinleri indükleyerek yaparlar. Bu proteinlerden en iyi bilinen ikisi 2'5' oligo-adenilat sentetaz (2'5'OAS) ve protein kinazdır. Diğerleri MX protein, HLA antijenleri ve DNA bağlayıcı proteinlerdir (9).

İnterferonun hücre yüzeyindeki spesifik reseptörüne bağlanması, 2'5'OAS için mRNA'nın transkripsiyonunu başlatır. Ayrıca IFN'a maruz kalan hücrelerde bu enzimatik aktivitenin düzeyi ile IFN'ların antiviral etkileri korelasyon gösterir. 2'5'OAS aktive olunca RNase L'i aktive eder, bu da hem konakçı hem de viral RNA'ları parçalar. 2'5'OAS'ın DNA virüslerine etkisi açık değildir. IFN'lar, viral replikasyon sikluslarının birçok noktasında etkilidirler. Virüsün hücre içine girişini inhibe eder, mRNA translasyonunu ve viral çoğalmayı önler. Alfa ve gama IFN'lar 2'5'OAS'ı indüklemeye sinerjistik etki gösterirler. Kronik viral hepatit ve bazı malignansilerin tedavisinde Alfa IFN kullanıldığında 2'5'OAS seviyelerinde artış olduğu tespit edilmiştir.

2.1.1. İnterferonların Etki mekanizmaları:

Etkilerini 3 grupta özetlemek mümkündür (şekil.1):

1. Antiviral etki
2. İmmunmodülatör etki
3. Antitümöral etki



Şekil 1: İnterferonun Etki Mekanizması

Bir hücre virusla enfekte olunca IFN genleri aktive olur ve ekstrasellüler sıvılara interferon salgılanır. Bunlar yayılarak diğer hücrelerin yüzeylerindeki reseptörlerine bağlanır. IFN-reseptör kompleksi, antiviral genleri aktive ederek antiviral proteinlerin üretimi ile virus replikasyonunun baskılanmasını sağlamaktadır. Hücre içi antiviral etkiyi nasıl gerçekleştirdikleri henüz aydınlatılmış olmasa da, 2'5' oligoadenilat sentetaz, protein kinaz gibi bazı hücre içi enzimlerde artışa sebep oldukları gösterilmiştir (9, 10).

IFN'ların immün sistem üzerindeki düzenleyici rolleri çok yönlüdür. Özellikle gama IFN immüno-regülatuar etkiye sahiptir. İmmün hücreler ile IFN'lar arasında karmaşık bir iletişim vardır. B lenfositler, T lenfositler, Natural Killer Hücreler

(NKH), makrofajlar, bazofiller, kemik iliğinin kök hücreleri hem IFN yapma, hem de interferondan etkilenme yeteneğine sahiptir. IFN'lar hücrel immüniteyi aktive ve stimüle etme yoluyla hedef hücrenin tanınmasını sağlarlar. Bütün IFN'lar, hücre yüzeyinde MHC sınıf I (HLA-1) antijeninin belirlenmesini stimüle ederler (8, 9). Hücre yüzeyinde diğer aktive olan antijenler, MHC sınıf II, beta2 mikroglobulin, tubulin ve tümör antijenleridir. Makrofajlar, T ve B hücrelerine viral antijenleri sunan hücrelerdir. Viral antijenin immün sistem hücreleri tarafından makrofaj yüzeyinde tanınması için MHC sınıf II antijeni ile birlikte sunulması gerekir. IFN'lar, özellikle makrofaj yüzeyinde MHC sınıf II antijeninin belirlenmesini sağlayarak, antijenin sunulmasına yardımcı olur. Ayrıca interferonlar makrofajların fagositoz ve tümör lizis aktivitesini artırırlar. Sitotoksik ve supresör T hücrelerinin viral antijeni tanınması ise, viral antijenin hedef hücrede MHC sınıf I antijeni ile sunulmasına bağlıdır. Aslında birçok sitokinler interferonlarca indüklenir veya interferonları indükler. İnterlökin 1 β , interferon sentezini inhibe eder. TNF, antiviral ve antiproliferatif etkiler yönünden gama IFN'la sinerjizm gösterir. İnterlökin 2, hücrel siklik guanozin monofosfat düzeylerini etkileyerek gama IFN yapımını düzenler. Gama IFN, interlökin 2'nin lenfositler üzerindeki reseptörlerini artırır. Sitotoksik T lenfosit yanıtının uyarılması için hem interlökin, hem de gama IFN gerekir (8, 10).

IFN'ların immünmodülasyon üzerindeki etkileri şu şekilde özetlenebilir :

- Makrofajların aktivasyonuna neden olurlar,
- İmmün sistem hücrelerinde MHC antijenlerinin ve Fc reseptörlerinin hücre yüzeyinde belirlenmesini artırırlar,
- B hücrelerinin antikor üretimini artırır veya azaltırlar,
- T hücrelerinin proliferasyonunu baskılar ve artan düzeyde lenfokinlerin salınmasına neden olurlar,
- T helper (Th) hücrelerinde gecikmiş tip aşırı duyarlılığı azaltır veya artırır,
- T sitotoksik (Tc) hücrelerinin sitotoksitesini artırır,
- NKH'nin olgunlaşmasını sağlar ve sitotoksitesini artırır.

Nötrofil fonksiyonları üzerine yaptıkları etkilere dair çelişkili raporlar yayınlanmıştır. İnterferonların doza bağımlı olarak nötrofil fonksiyonlarını arttırdığını gösteren yayınların yanında (3,11,12), alfa-IFN'un oksidatif metabolizmayı

etkilemediği (13,14), hatta nötrofil fagositozunu azalttığını (15,16) ileri süren yayınlar da vardır.

Ayrıca IFN'lar normal hücrede reversibl, neoplazik hücrede irreversibl sitostaz yaparlar. Onkojen virusların transforme edici etkisini inhibe ederler (8, 9).

α -IFN'nun anti tümör etkisi KML (17), malign melanom (18), renal hücreli kanser (19), NHL (20) ve multipl myelomada (21, 22) gösterilmiştir. α -IFN hair cell lösemi (23, 24) ve Kaposi sarkomunun (8) tedavisinde de kullanılmaktadır.

2.1.2. İnterferonların yan etkileri:

Doğal kaynaklı ve rekombinant α -IFN, yaklaşık 20 yıldır klinik kullanımdadır. Klinik kullanımda IFN-alfa'nın iki türü vardır: IFN-alfa2a (Roferon-A; Hoffman-La Roche, Nutley, NJ) ve IFN-alfa2b (İntron-A; Schering Corporation, Kenilworth, NJ).

Bu ilaçlar başlangıçta çeşitli kanserlerin tedavisinde adjuvan olarak çok yüksek dozlarda kullanılmıştır. Kardiyomiyopati, aritmi, konvülsiyonlar, ensefalopati, retinopati gibi ciddi yan etkileriyle oldukça sık karşılaşılmıştır. Bu ciddi yan etkilerin çoğu viral hepatitler için önerilen orta dozlarda gözlenmez. Ancak dozajı azaltmaya, tedaviye ara vermeye neden olabilecek birçok yan etki gözlenebilmektedir (25, 26).

IFN'ların yan etkileri erken ve geç etkiler olarak sınıflandırılmaktadır. Erken yan etkiler, tedavinin ilk 2 haftası içinde görülenlerdir. Geç yan etkiler ise, 2 hafta sonrasında görülür. Geç yan etkiler daha nadiren görülmelerine karşın, tedavinin devamını olumsuz etkileyebilirler (27).

Erken yan etkiler genellikle benzerdir. Bir milyon IU veya daha fazla IFN verilen hastaların hemen tümünde "influenza benzeri sendrom" olarak adlandırılan yorgunluk, halsizlik, uyku bozukluğu, miyalji, baş ağrısı, bulantı, iştahsızlık, titreme ve ateş görülebilir. Ara sıra karın ağrısı ve diare de görülebilir. İlk enjeksiyondan yaklaşık 4-8 saat sonra başlayan ateşi diğer semptomlar izler, 6-12 saat sonra sonlanır (18). Bu yüzden IFN tedavisinin gece yatmadan önce ve asetaminofen ile verilmesi önerilir. Semptomlar genellikle tedavinin 2. haftası sonrasında geçer (8, 9, 25).

Geç yan etkiler infeksiyöz, hematolojik, otoimmün, nöropsikiatrik ve sistemik etkileri kapsar (25). Bakteriyal infeksiyonlar, tedavinin en önemli ve en ciddi yan etkileridir. Akciğer, sinüsler ve idrar yolu enfeksiyonlarını içerir. Tedavinin ikinci haftasından sonra görülen ateş, genellikle bakteriyal süperenfeksiyon nedeniyledir (10, 25).

Geç yan etkilerden en sık görüleni hematolojik bozukluklar olup, kemik iliği süpresyonuna sekonder lökopeni, trombositopeni ve daha nadir olarak anemi görülebilir. Lökopeni genellikle tedavinin ikinci haftasında, trombositopeni ise dördüncü haftasında görülür. Trombosit sayısı $50.000 / \text{mm}^3$, nötrofil sayısı $3000 / \text{mm}^3$ altına indiğinde tedavinin kesilmesi gerekir. Tedavinin uzun süre devamı halinde hafif anemi görülebilir (9, 18).

Ayrıca daha az görülen yan etkiler olarak otoimmün tiroidit, otoimmün hemolitik anemi, psoriasis alevlenmesi, sistemik lupus eritematoz ve sarkoidoz rapor edilmiştir. IFN'a bağlı gelişen bu otoimmün hastalıklar, IFN'un immünglobülin üretimini arttırması, T supresor hücre fonksiyonunu engellemesi, sitotoksik T hücre fonksiyonlarını arttırması, büyük granüler lenfositleri aktive etmesi, sitokinler, lökotrienler ve prostaglandin salgılayan monosit ile makrofajları aktive etmesine bağlı olarak gelişmiş olabileceği ileri sürülmektedir.(28, 29). IFN tedavisi sonrası gelişen anti-IFN antikörlerinin dolaşan immün komplekslere yol açması ve alfa-IFN'un MHC klas I ve klas II antijenlerinin ekspresyonunu arttırması da bu otoimmün hastalıkların gelişim sebeplerinden biri olabilir (30-33).

Düşük doz ve uzun süreli IFN tedavisi ile görülen en sık yan etkilerden biri de psikiyatrik bozukluklara ve zeminde var olan psikiyatrik hastalığın alevlenmesine neden olmasıdır (34). Sistemik geç yan etkiler yorgunluk, miyalji, subfebril ateş, baş ağrısı, iştahsızlık, kilo kaybı, uyuma isteği, libidoda azalma, geçici hipertrigliseridemi, hafif ve geçici saç dökülmesidir (25, 35).

Tedavi amacı ile alfa-IFN alan KML'li hastalarda 1995'te Japonya'dan bir vakada (2), 1996'da Türkiye'den iki vakada (1) Behçet veya Behçet benzeri tablo bildirilmiş ve alfa-IFN'nin yan etki spektrumu içinde sunulmuştur.

2.2. BEHÇET HASTALIĞI

İlk kez 1937 yılında bir Türk dermatolog olan Prof. Dr. Hulusi Behçet (İÜTF, Dermatoloji ABD) tarafından; tekrarlayan oral, genital ülserler ve iridosiklit gibi göz lezyonları olan 3 hastada yeni bir hastalık olarak tanımlanmıştır.

Yaklaşık olarak 2450 yıl önce Hipokrat'ın Behçet hastalığına benzer klinik bulgulara sahip ancak ateşli ve salgın bir hastalık tanımladığı bilinmektedir. H.

Behçet'in tanımladığı semptom kompleksine uygun örnekler 1908 yılında Blithe tarafından bildirilmiş, ardından Planner ve Remenovsky (1923), Shigeta (1924), Adamantiadis (1931) ve Whitwell (1934) ile devam etmiştir. Ancak bu yazarlar semptom kompleksinin rastlantısal olarak bir arada olduğunu düşünmüşlerdir (36).

İlk kez Prof. Dr. Hulusi Behçet'in "Dermatologische Wochenschrift" dergisiyle tıp dünyasına tanıttığı hastalığın, geçen zamanla birlikte sadece üçlü semptom kompleksinden ibaret olmadığı, vasküler, nörolojik lökomotor, intestinal, ürogenital, kardiyopulmoner semptomlarla daha yaygın ve kronik bir hastalık olduğu anlaşılmıştır (36).

Hastalığın başlangıcı genellikle 15-30 yaşır. Vakaların ancak % 1-2'si çocukluk çağı ve 50 yaş sonrasında. BH erkeklerde nispeten daha sıktır (E/K: 1.78, Türkiye). Hastalık Kuzey yarım kürede ve dikkat çekici şekilde "İpekyolu" sınırlı ülkelerde oldukça sıktır. Genç erkeklerde hastalık daha şiddetli seyretmektedir. Ülkemizde yapılan ileri saha çalışmasında erişkin kişilerde hastalık prevalansı 7-37 / 10.000 oranındadır. Hastalığın Akdeniz ülkeleri ile Japonya'da HLA B51 ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (37).

Etyopatogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte, birinci derecede akrabalar arasında birden fazla vakanın olması genetik faktörlerin etkili olduğunu göstermiştir. Ülkemizde ailesel görülüm sıklığının % 8 olduğu bildirilmiştir (38). İmmünogenetik yatkınlığı olan bireylerde hastalığın başlamasında viral (Herpes virüsleri) veya bakteriyel (Streptokoklar, Mikobakteriumlar) tetikleyicilerin rolü olduğu düşünülmektedir (39). BH'nın HLA antijeni ile birlikteliği konusunda 1973'den beri fikir birliği vardır. HLA B5 ve özellikle alt grubu olan B51'in BH'a yakalanma riskini artırdığı üzerinde durulmaktadır. Ancak HLA B51'in Behçet hastalığının görüldüğü toplumdaki genel prevalansı % 10-20 arasındadır. Buna karşın hastalığın prevalansı 1:10000 düzeyindedir. Bu fark HLA-B51'in Behçet hastalığının patogenezi tek başına açıklayamayacağını düşündürmektedir. HLA-B51 pozitif olan BH'larında ve aynı zamanda B-51 pozitif sağlıklı popülasyonda B-5101 dominant allel olup, tüm Behçet hastalarında %62 oranında tespit edilmiştir (40). HLA B5101 alelinin BH'da nötrofillerdeki hiperaktiviteden sorumlu olduğu ve tetiklenmiş immün yanıtın şiddetini artırmada önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Bu hastalığa genetik yatkınlıkta düşük TNF-β sentezinin rolü olduğu da düşünülmektedir (36).

BH'da hücrel ve hümorale immünitede çeşitli bozukluklar tespit edilmiştir. Hastalığın aktif döneminde, sağlıklı kontrol gruplarına göre periferik kandaki T

hücrelerinin sayısının anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir (38, 41). Bu hücrelerin alt gruplarına bakıldığında, CD8 (+) hücre sayısının normal ya da hafifçe arttığı, CD4 (+) hücrelerinde hafif bir azalma tespit edilmektedir. CD8 (+) hücrelerin baskılayıcı fonksiyonlarında azalma olduğu ve bunun geneelde aktif hastalıkla birlikteliği gözlenmiştir (41-43).

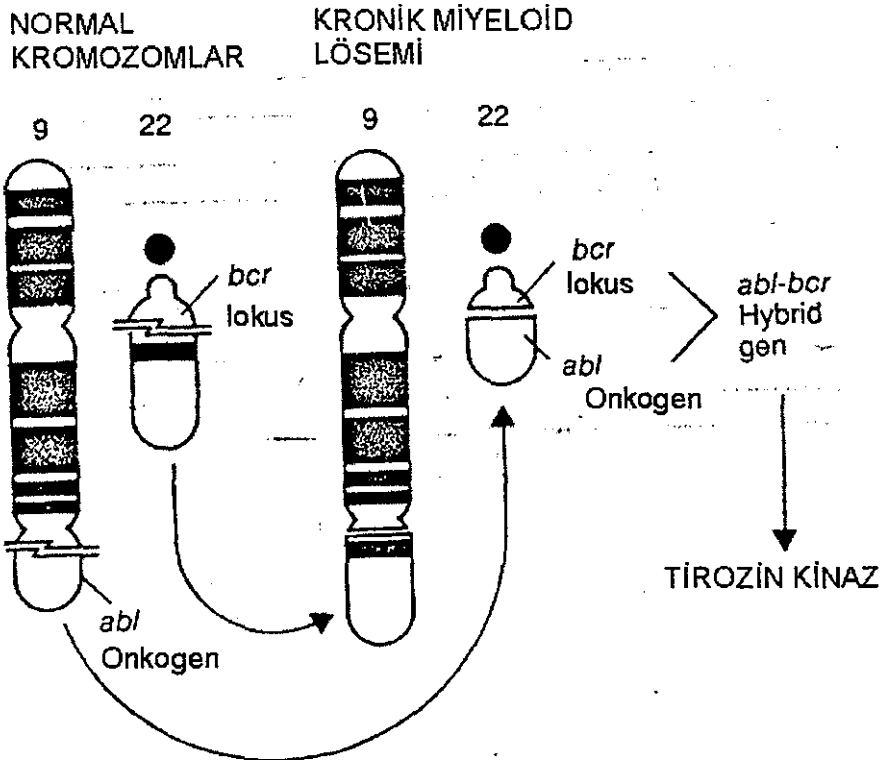
Lenfomononükleer hücrelerde yapılan çalışmalarda çeşitli sitokinlerin spontan veya uyarılma sonucu salınımlarında artış gösterilmiştir. IL-6 , IL-8, IL-10 ve TNF- α 'nın spontan sekresyonunda artış tanımlanmıştır (44). IL-12 artışının ise klinik alevlenmeyle birlikteliği gösterilmiştir (45). BH'nda IFN- γ 'nın serum düzeylerinde artış bildirilmiştir (46-47). İnaktif dönemdeki hastaların periferik mononükleer hücrelerinin kendiliğinden artmış oranda IFN- γ ürettiği, aktif dönemde bu üretimin çok azaldığı saptanmıştır (46). BH'nda aktif dönemde immünglobülin (Ig) salgılayan B hücrelerinin sayısı artmaktadır (48). Hastalıkta Ig A, G, M seviyelerinde poliklonal artış sözkonusudur (49). Hastalığın en sık görülen bulgularının mukozalarda olması nedeniyle özellikle Ig A sistemi araştırılmış ve serumda yüksek, tükrükte azalmış olduğu saptanmıştır (48, 50).

Behçetli olgularda nötrofil kemotaksisi ve migrasyonunun arttığı, hasta serumunun da sağlıklı nötrofillerinin migrasyonunu artırdığı bildirilmiştir (51-53). Behçetli hasta nötrofillerinin endotel hücresi yüzeyine daha fazla yapıştığı gözlenmiştir (53). Eğer endotel hücresi önceden IL-1, TNF- α ve lipopolisakkarit ile uyarılırsa bu adezyonun çok daha belirgin olduğu tespit edilmiştir (54). Yapılan deneysel çalışmalarda Behçetli hastanın serumu normal nötrofillerle aynı ortama konduğunda, sağlıklı nötrofillerin ve endotelin önemli ölçüde uyarıldığı gösterilmiştir (54). Bu uyarılma sonucunda Behçetli nötrofillerin yüzeylerindeki bazı adezyon moleküllerinin de sayı ve yoğunluk olarak arttığı tespit edilmiştir (54). En önemli artış CD11a ve CD18'de olmaktadır. Bu iki molekül LFA-1 isimli bir adezyon molekülünü oluşturur. Normal nötrofiller ve endotel hücresi, Behçetli hasta serumu ile inkübe edilirse yüzeyde eksprese ettikleri CD11a ve CD18 molekülleri, endotel yüzeyinde ise LFA-1'in ligandı olan ICAM-1 molekülü artmaktadır (48, 54).

Sonuç olarak bu çalışmalarda; BH'da hem nötrofillerin kendilerinde hiperaktivasyon, hem de serumun zaten aktif olan nötrofilleri daha aktif hale getirdiği anlaşılmaktadır.

2.3. KRONİK MYELOİD LÖSEMİ (KML)

Kronik myeloid lösemi, granülositer serinin artmış üretimi ile karakterize myeloproliferatif bir hastalıktır. Periferik kanda artmış granülositler ve immatür formları mevcuttur. Yirmiikinci (22) kromozomun uzun kolu ile 9'uncu kromozom arasındaki resiprokal translokasyon ile karakterizedir. Bu translokasyonla 22'inci kromozomun uzun kolunda kısıklık meydana gelmiştir. Bu durum ilk kez Nowell ve Hunger Ford tarafından tanımlanmış ve Philedephia (Ph⁺) kromozomu olarak adlandırılmıştır. Bu translokasyon hastaların % 95'inden fazlasında mevcuttur. Translokasyon sonucu onkogen olan ABL, 9'uncu kromozom uzun kolundan, 22'inci kromozom uzun kolundaki BCR bölgesine lokalize olur. Oluşan BCR-ABL füzyon geni, tirozin kinaz aktivitesi ile şimerik proteini kodlar (şekil2). Bu protein KML oluşumunda rol oynar. BCR-ABL füzyon geninin varlığı KML için belirleyicidir (55, 56). KML genellikle 4 ve 5'inci dekadlarda görülür. Tüm lösemilerin yaklaşık % 15'ini teşkil eder.



Şekil 2: BCR/ABL Füzyon Geni

KML genel olarak kronik faz, akselere faz ve blastik faz olarak üç evreye sahiptir. Hastaların %90'dan fazlası tanı anında splenomegali, lökositoz ve bazı genel semptomlarla karakterize olan kronik fazdadır. Bu fazda anemi, trombositopeni, lökositoz ve splenomegali gibi semptomların kontrolü tedavi ile mümkündür. Ancak bu tedavi cevabı geçicidir. Kronik fazın seyri esnasında, hastalar daha malign blastik faza girme eğilimindedirler. Teşhisten itibaren 6-12 ay sonra, hastaların %25'i blastik faza girerler. Nadiren hastalar blastik fazda başvururlar. Bu faz akut lösemi ile aynıdır. Blastik kriz aniden gelişebileceği gibi, bir geçiş periyodunun ardından da gelişebilir. Bu geçiş dönemine akselere faz veya transizyonel faz denir. Hastanın blastik faza gireceği zamanı belirleyecek herhangi bir test yoktur, ancak lökositozun derecesi, karaciğer ve dalağın ileri derecede büyümesi, kemik iliğindeki immatür hücrelerin yüzdesi ve fazla sayıda eozinofil veya bazofil varlığı erken transformasyon için iyi birer göstergedir. Teşhisten itibaren ortalama yaşam süresi 3,5 yıldır. Recombinant alfa-IFN, Ph1 (+) KML'li hastaların tedavisinde 1986 yılından beri başarılı olarak kullanılmaktadır (10). Hastaların yaklaşık olarak %70'inde hematolojik remisyona sağlayabilmektedir. Sitotoksik ilaç kullanılan hastaların aksine, IFN'a cevap veren hastaların %56'sında Ph1 kromozomu baskılanır. Bu supresyon yavaş yavaş gelişmekle beraber, hastalar genellikle 6 ay veya daha fazla Ph1 (-) kalırlar (10).

KML'de IFN tedavisi sırasında ençok ateş, titreme ve grip benzeri semptomlar görülür. Hastaların küçük bir kesiminde de iştahsızlık, kilo kaybı ve Parkinson benzeri nörotoksisite geç yan etkiler olarak görülebilir. Alfa-IFN alan KML'li hastalarda Behçet veya Behçet benzeri sendrom geliştiği, Türkiye'den iki, Japonya'dan bir vaka ile rapor edilmiştir (1, 2). Literatürde KML'de IFN tedavisi ve Behçet ilişkisi, ilk olarak Japonya'dan bildirilen bir vaka ile kurulmuştur. 59 yaşındaki bu kadın hastaya, KML tanısı konduktan sonra IFN başlanmış ve sonrasında rekürren oral aftlar, genital ülserasyonlar, eritema nodozum ve hafif ateşle seyreden Behçet benzeri bir tablo rapor edilmiştir. Alfa-IFN kesildikten sonra, hastaya steroid ve azatioprin başlanmış ve tüm belirtilerin kaybolduğu gözlenmiştir. Türkiye'den bildirilen vakalardan ilki, 54 yaşında erkek Ph (+) KML'li hastaya, günlük 5 milyon IU/m²'den başlanan IFN dozu şiddetli diyare, artralji, miyalji ve kilo kaybı sebebiyle 3 milyon IU/gün'e düşürülmüştür. Aynı hasta tedavinin beşinci ayında rekürren oral ülserler, altıncı ayında sol dizde artrit ile

başvurmuştur. Tedavinin sekizinci ayında ateş, sağ plevral efüzyon ve genital ülserasyonlarla başvuran hastada HLA B5 negatifliği ve paterji pozitifliği saptanmıştır. Periferde normal lökosit sayısı ve kemik iliğinde normal blast sayısına rağmen, plevral biyopsi sonucu ekstramedüller infiltrasyon olarak gelince, IFN terkedilerek intensif kemoterapi başlanmıştır. Hasta kırk gün sonra sepsise bağlı erişkin solunum zorluğu sendromu (ARDS) sonucu kaybedilmiştir. Türkiyeden bildirilen ikinci vaka olan 33 yaşında, Ph (+) kronik faz KML'li erkek hasta, günde 5 milyon ünite IFN tedavisinin dördüncü ayında rekürren oral ülserlerle başvurmuştur. Altıncı ayda sol kaçada artriti gelişmesi üzerine, IFN kesilmiştir. IFN kesildikten iki hafta sonra artriti tamamen gerilemiştir. İki kez daha IFN başlanmış, fakat her defasında skrotal ülserasyonlar ve vücutta folikülitik lezyonlar çıkmıştır. Bu hastada da HLA B5 (-), paterji (+) olarak bulunmuştur.

IFN'un KML'de hangi yoldan Behçet benzeri tabloya yol açtığı bilinmemektedir. KML'de sitoplazmik matürasyon, nükleer matürasyona göre daha hızlıdır ve bunun sonucu olarak promiyelositlerde normalden daha fazla granül izlenmekte ve immatür nükleusları bulunmaktadır. Muhtemelen bu sebepten dolayı, KML'li hastaların blastları ve promyelositleri normallere göre daha hareketli ve fagositik potansiyelleri daha fazladır (5).

α -IFN'un aktif olan KML nötrofillerini daha aktif hale getirdiğini ve Behçet benzeri tablodan bu etkisinin sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (7). KML'de periferik lökositoz ve ekstramedüller tutulum gibi iyi tanımlanmış özellikler vardır. Bu özellikler KML klonunun anormal adhezyon karakteristiğine bağlanmaktadır. KML klonunun primitif hücrelerinin, kemik iliği stromal hücrelerine ataçmanının defektif olduğu rapor edilmiştir (57). Daha yakın bir zamanda yapılan bir çalışmada, alfa-IFN'un bu hücrelerdeki defektif adhezyonu düzelttiği gösterilmiştir (58, 59). Ayrıca alfa-IFN'un KML progenitör hücrelerinde ekspresyonu eksik olan lenfosit fonksiyon antijeni- 3 (LFA-3) gibi sitoadezyon moleküllerinin ekspresyonunu düzelttiği ileri sürülmektedir (60).

2.4. KRONİK VİRAL HEPATİTLER

Hepatit çok farklı etyolojik ajanlarla oluşmuş karaciğer iltihabıdır. İltihabın süresi, doku harabiyeti ve özelliğine göre olay akut ve kronik dönemlerden oluşmaktadır. Siroz gelişsin ya da gelişmesin karaciğerin altı aydan uzun süreli iltihabi parankimal hastalığına “Kronik Hepatit” denmektedir. Etken virüs ise kronik viral hepatitten bahsedilir. Bugün için en önemli kronik viral hepatit etkenleri Hepatit B (HBV), Hepatit C (HCV) ve HBV varlığında infeksiyöz ve patojen olabilen Hepatit D (HDV) virüsleridir.

2.4.1. Kronik hepatit B infeksiyonu ve IFN kullanımı

Kronik HBV infeksiyonu bugün dünya popülasyonunun % 5’ini etkilemektedir. HBV siroz, kronik hepatit ve hepatoselüler kanserlerin en önemli nedenlerindedir.

Kronik hepatit B tedavisinde şimdiye kadar çok sayıda antiviral ve immünmodülatör ilaç kullanılmış, fakat ya etkisiz ya da çok toksik bulduklarından terk edilmiştir. 1970’lerden beri denenmekte olan IFN alfa , kronik hepatit B tedavisinde kullanım için 1992 yılında onay almıştır. IFN tedavisinin replikatif fazda uygulanması önerilmektedir. Tedaviye yanıt ALT normalizasyonu, HbeAg ve HBV DNA’nın kaybolması olarak özetlenebilir. IFN HBV hepatitinde % 25-40 remisyon sağlamaktadır (25, 61).

2.4.2. Kronik hepatit C infeksiyonu ve IFN kullanımı

Hepatit C virüsü (HCV)’nün neden olduğu viral hepatitin dünyadaki prevalansı % 3 kadardır. Ülkemizde Anti-HCV pozitifliği % 1 civarında olmasına rağmen, karaciğer sirozundaki katkısı yaklaşık % 25’tir. Akut hepatitli vakaların % 20’si HCV ile enfekte iken, kronik hepatitli vakaların % 70’i HCV ile enfekte durumdadır. Hastalık genellikle sessiz seyredir.

Klasik olarak HCV RNA pozitif, ALT düzeyi yüksek ve biyopside kronik hepatiti olan hastalar tedavi adayıdır. Tedaviye cevabın ölçütleri tedavi sonunda HCV RNA negatifleşmesi ve ALT’nin normale dönmesidir. Bu cevabın tedavi bittikten sonraki 6-12 ay süresince devamı halinde kalıcı cevap, daha uzun süreli olmasına

uzun süreli cevap, hatta kür de denebilir. Hastalıkta tek başına IFN kullanımıyla kalıcı cevap elde etme % 10-40 oranlarındadır. Türkiye’de yapılan çalışmalarda da IFN-alfa tedavisine tam ve devamlı cevabın % 15-42 arasında değiştiği, 108 vaka içeren çok merkezli bir çalışmaya göre ise bu oranın % 18 olduğu bildirilmiştir (62, 63).

2.5. ADEZYON MOLEKÜLLERİ

Hücrelerin diğer hücrelerle veya ekstraselüler matriks ile temas ve etkileşimlerini sağlayan bazı yüzey moleküllerine "Hücre Adezyon Molekülleri" denmektedir. Bu moleküller hücre membranına bağlı durumda bulunur ve sıklıkla hücre membranını geçerek hücre içine uzanırlar. Başlıca, lökositler ve damar endoteli üzerinde yer alan bu moleküllerden bazıları, dolaşımında ve bazı vücut sıvılarında serbest olarak da bulunabilirler. Hücre adezyon molekülleri lenfosit gelişimi, embriyonal gelişim, normal doku yapısının devamı, yara iyileşmesi, immün yanıtın oluşumu, lökosit migrasyonu, inflamasyon ve kanser metastazı gibi süreçlerde önemli rol oynamaktadır (64). Hücre adezyon molekülleri bazı özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. Başlıcaları: İmmünglobülin süpergen ailesi, integrinler, selektinler, müsin benzer adezyon molekülleri, kadherinler ve sınıflandırılmayan adezyon molekülleridir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Hasta grupları ve kontroller

Bu çalışmada yer alan 4 grup hastaya paterji reaksiyonu, HLA B5, HLA B51 ve nötrofil adezyon molekülleri (CD11a, CD49d, CD49e) çalışıldı. Paterji pozitifliği gösterilen hastalara punch cilt biopsi yapıldı.

Birinci grup (Kontrol grubu) : Yaşları 30-60 arası değişen 20 sağlıklı bireyden oluştu. Bunların 4’ü bayan, 16’si erkekti.

İkinci grup (Behçet grubu) : Yaşları 30-60 arası değişen, Uluslararası Çalışma Grubu kriterlerine göre Behçet tanısı konmuş 10 kadın, 12 erkek toplam 22 hastadan oluştu. Hastaların aktif dönemde idi. Aktivasyon kriteri olarak oral aft, genital ülserler ve üveitten en az iki tanesinin bulunması gerekli kılındı. Paterji testi pozitif olan hastalardan cilt biyopsisi alındı.

Üçüncü grup (Kronik viral hepatit grubu) : Yaşları 30-60 arası değişen kronik hepatit B ve C'li kişilerdi. İki alt grupta incelendi:

1. IFN kullanmayan hastalar; Kronik hepatit B'li 4 erkek, 2 kadın ile kronik hepatit C'li 2 erkek, 2 kadın olmak üzere toplam 10 hasta .
2. IFN kullanmakta olan hastalar; Kronik hepatit B'li 7 erkek, 4 kadın ile kronik hepatit C'li 3 kadın, 3 erkek olmak üzere toplam 17 hasta .

Dördüncü grup (KML grubu) : Yaşları 40-70 arası değişiyordu. İki alt grupta incelendi :

1. IFN kullanmayan hastalar; 9 kadın, 3 erkek olmak üzere toplam 12 KML hastası
2. IFN kullanmakta olan hastalar; 3 erkek, 5 kadın toplam 8 KML hastası alındı.

Hastaların hepsi kronik fazda idi.

Çalışmaya alınan tüm hastalardan yazılı onay alındı.

3.2. Paterji testi:

Ön kol cildinin avasküler, tüysüz kısmına her kola 3'er adet olmak üzere 6 iğne deliği steril, keskin (20 G) iğnelerle uzman bir dermatolog tarafından oluşturuldu. Kırk sekiz saat sonra aynı kişi tarafından değerlendirildi (65). Altı noktadan birinde papül veya püstül olması pozitif paterji reaksiyonu olarak kabul edildi. Testin sonucu pozitif gelen 2 Behçet hastasından cilt biopsisi alındı.

HLA B5 ve B51, hematoloji laboratuvarında PCR metodu ile çalışıldı.

3.3. PCR

3.3.1. PCR-SSP DNA izolasyonu

Hastalar ve kontrol grubundan EDTA'lı tüplere 3 ml periferik kan alındı. Alınan kan örneklerinden standart protokollere göre Machery-Nagel filtre sistemiyle DNA izole edildi. Elde edilen DNA örneklerinin saflığı, spektrofotometrik olarak 260/280 nm'de ölçülüp konsantrasyonları 30 ng/ml'ye ayarlandı. Çalışma zamanına kadar bu DNA'lar -30 °C'de saklandı.

3.3.2. PCR-SSP doku tipleme

Tüm numunelerin HLA B5, B51 doku tipleme düşük rezolüsyonlu HLA B PCR-SSP (Genovision) kitleriyle yapıldı. Her bir kuyucuk kontrol primerlerini ve

ilgili gruplar için primerleri içermekte idi. Her bir kuyucuk için 10 µl PCR reaksiyon karışımı hazırlandı. Bir kuyucuk için 200 µM dNTP karışımı, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 10 mM trisHCl pH: 8.3, %0.001 w/v (w: ağırlık, v: hacim) jelatinden oluşan PCR tamponu, final konsantrasyonu % 5 olacak şekilde gliserol, final konsantrasyonu 100 µg/ml olacak şekilde Cresol red, 10 µl SSP reaksiyon için 0.4 µl Taq polimeraz enzimi ve 2 µl hasta DNA'sı eklendi. Çalışmaların kolay olması için PCR master miksi (KCl, MgCl₂, tampon, çalışılan DNA bölgesi) hazırlandı. Toplam 48 kuyucuklu HLA B kiti için 104 µl DNA, 156 µl PCR master miks, 260 µl dd (double distile) H₂O ve 4.2 µl Taq polimeraz eklendi, karıştırıldı ve 10'ar µl tüm kuyucuklara paylaştırıldı.

3.3.3. PCR siklus parametreleri

TechnoGenius thermal cyclers sistemi kullanılarak PCR amplifikasyonu yapıldı.

a. Başlangıç denatürasyon kademesi

1. siklus	94 °C	2 dk	denatürasyon
-----------	-------	------	--------------

b. 10 siklusluk bölüm

10 siklus	94 °C	10 sn	denaturasyon
	65 °C	60 sn	annealing

c. 20 siklusluk bölüm

20 siklus	94 °C	10 sn	denaturasyon
	61 °C	50 sn	annealing
	72 °C	30 sn	extension

Bu döngüler bittikten sonra PCR ürünleri 0.5 X TBE tamponuyla hazırlanan %2'lik DNA grade agar jeli elektroforezine transfer edildi. Otuzbeş dakika 70 volt, 50 amperde yürütüldü. Uv transilluminatörde görüntülendi. Çift bantların görüldüğü kuyucuklar (bir tanesi internal kontrol) pozitif kabul edildi. Score software programına aktarılıp analiz edilerek sonuçlar alındı.

3.4. Akım sitometri (FCM) yöntemi

Adezyon molekülleri (CD11a, CD49D, CD49E), hastalar ve kontrol grubundan alınan PMNL'de akım sitometri yöntemiyle çalışıldı.

Hastalardan 2 cc periferik kan örnekleri EDTA içeren Vacuette tüplerine konularak pıhtılaşmaları önledi. Fenotipleme için hazırlanan tüplere 20 µl Immunotech CA11A PE (Cat. No: 1433), CD49d VLA4 FITC (Cat. No: 1404), CD49E FITC (Cat. No: 1854), monoklonal antikor ilaveleri yapıldı. Üzerlerine 100 µl hasta periferik kan örnekleri eklenip +4 °C'de, 20 dakika karanlıkta inkübe edildi. Coulter Immunoprep Reagent System (Immunoprep A, Immunoprep B, Immunoprep C (Cat. No: PN: 7546999) solüsyonları ile Coulter Multi Q prep cihazından geçirilerek 15 dakikalık inkübasyondan sonra akım sitometrik (FCM) analize hazır hale getirildi. Olguların FCM analizlerinde en az 5000 (beşbin) hücre sayılarak monoklonal antikor pozitifliği tespit edildi.

4. SONUÇLAR

Çalışma gruplarının tamamına paterji testi uygulandı ve Behçet hastalarında paterji testinin 22 hastadan 2'sinde (% 9) pozitif olduğu gözlemlendi. Diğer hasta gruplarında ise paterji pozitifliğine rastlanmadı.

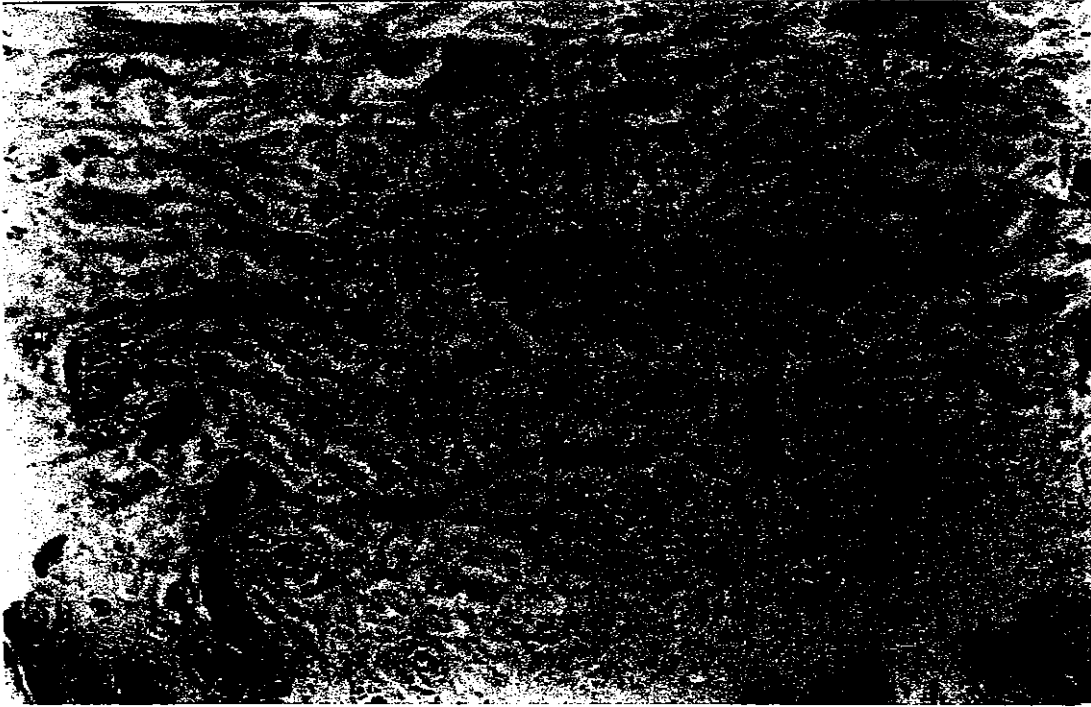
Paterji pozitif olan hastalardan alınan biyopsilerin histopatolojik incelemesinde tüm dermis katlarında, damarlar çevresinde yoğunlaşan lenfositler zengin mononükleer ve polimorfonükleer (PMNL) iltihabi hücre infiltrasyonu görüldü. (Resim 1a-1b).

CD11a ekspresyon oranları tüm gruplar için tablo 2'de gösterilmiştir. Lökosit adezyon moleküllerinden CD11a yüzdesi Behçet hastalarında diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.001$). (Şekil 3a-3b) Diğer gruplara baktığımızda, IFN alan KML ile almayan KML kıyaslandığında anlamlı fark bulunamadı ($28,8 \pm 21,6$ 'ya karşı $30,8 \pm 26,5$). IFN alan KML ile kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu ($28,8 \pm 21,6$ 'ya karşı $29,9 \pm 26,4$). IFN almayan KML ile kontrollere bakıldığında da anlamlı farklılığa rastlanmadı ($30,8 \pm 26,5$ 'a karşı $29,9 \pm 26,4$). IFN alan kronik viral hepatitler ile almayanlarda CD11a açısından anlamlı bir fark gözlenmedi ($33,8 \pm 39,4$ 'e karşı $36,4 \pm 22,4$). IFN alan hepatitler ile kontrol grubu kıyaslandığında da anlamlı fark bulunamadı ($33,8 \pm 39,4$ 'e karşı $29,9 \pm 26,4$). IFN almayan hepatit ile kontrol grubu arasında yine anlamlı farklılık yoktu ($36,4 \pm 22,4$ 'e karşı $29,9 \pm 26,4$).

CD49d ve CD49e sonuçları tablo 2 de gösterilmiştir. Çalışılan CD49d için hiçbir grup arasında anlamlı farklılık bulunamadı.



Resim 1a: Paterji pozitif Behçet hastasından alınan punch cilt biopsisi (x10)



Resim1b: Büyük büyütmede (x100) tüm dermis katlarında, damarlar çevresinde yoğunlaşan lenfositler zengin mononükleer ve polimorfonükleer (PMNL) iltihabi hücre infiltrasyonu

CD 49e Behçet hastalarının nötrofillerinde kontrollere göre artmış olarak bulunmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($5,89 \pm 8,91$ 'e karşı $2,26 \pm 3,11$). Ancak Behçet hastalarında CD 49e ekspresyonu, α -IFN alan ve almayan viral hepatitlerden anlamlı olarak yüksek bulundu ($5,89 \pm 8,91$ 'e karşı sırasıyla $1,39 \pm 1,6$ ile $0,76 \pm 0,71$, $p < 0.05$). α -IFN alan ve almayan viral hepatit hastalarında da CD49e değerleri açısından farklılık yoktu ($1,39 \pm 1,6$ ile $0,76 \pm 0,71$). Bu iki grupla kontrol arasında da anlamlı farklılık yoktu. CD49e ekspresyonu açısından α -IFN alan ve almayan KML hastaları kıyaslandığında anlamlı fark bulunmadı ($2,31 \pm 1,78$ 'e $3,09 \pm 3,03$). Bu iki grup kontrolle karşılaştırıldığında yine aralarında anlamlı farklılık yoktu.

Tüm hasta grupları ve kontrollerde HLA B51 sonuçları ve istatistikleri Tablo3'de gösterilmiştir. HLA B51 Behçet hastalarında kontrol ve diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

Tablo 2. Grupların adezyon molekülleri sonuçları ile istatistiksel karşılaştırmalar

	Kontrol	Behçet	KML	KML+IFN	V.Hepatit	V.Hepatit+IFN
CD49a (%)	$29,9 \pm 26,4^a$	$79,1 \pm 34,2^b$	$30,8 \pm 26,5^c$	$28,8 \pm 21,6^d$	$36,4 \pm 22,4^e$	$33,8 \pm 39,4^f$
CD49d (%)	$9,38 \pm 8,38$	$10,6 \pm 19,4$	$10,7 \pm 9,9$	$9,24 \pm 3,86$	$3,52 \pm 4,03$	$5,8 \pm 6$
CD49e (%)	$2,26 \pm 3,11$	$5,89 \pm 8,91^g$	$3,09 \pm 3,03$	$2,31 \pm 1,78$	$0,76 \pm 0,71^h$	$1,39 \pm 1,6^i$

$a-b < 0.05$, $b-c < 0.05$, $b-d < 0.05$, $b-e < 0.05$, $b-f < 0.05$, $g-h < 0.05$, $g-i < 0.05$

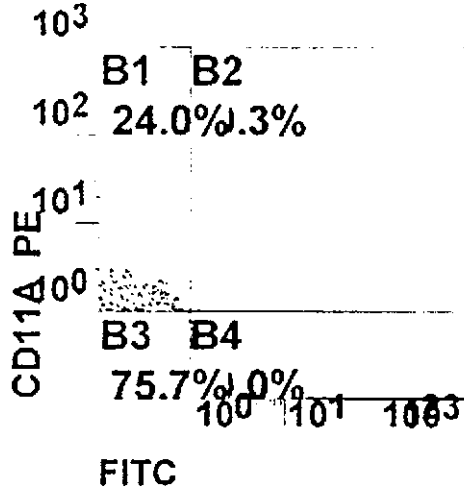
Tablo 3. Grupların HLA B51 sonuçları ile istatistiksel karşılaştırmalar

	Kontrol	Behçet	KML	V.Hepatit
HLA B51 pozitifliği	$7/19$ (%37) ^j	$15/22$ (%68) ^k	$5/20$ (%20) ^l	$5/27$ (%18,5) ^m

$j-k < 0.05$

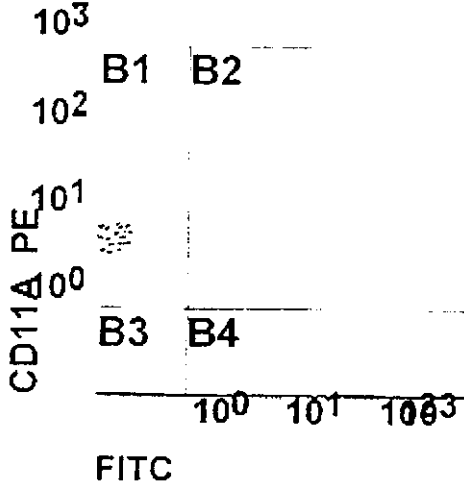
$k-l < 0.05$

$k-m < 0.05$



Region	Number	%Gated
B1	618	24.04
B2	7	0.27
B3	1946	75.69
B4	0	0.00

Şekil 3a: Flow sitometri yöntemi ile Behçet hastasında CD11a ekspresyonu



Region	Number	%Gated
B1	2859	99.90
B2	1	0.03
B3	2	0.07
B4	0	0.00

Şekil 3b: Flow sitometri yöntemi ile sağlıklı kişide CD11a ekspresyonu

5. TARTIŞMA

Paterji testi Behçet hastalığı tanısında yaygın olarak kullanılmakla beraber cinsiyet, ırk, HLA B51 durumu, hastalığın şiddeti ve testin uygulama metodu gibi pekçok faktörün pozitifliği etkilediği yönünde birçok çalışma vardır (66-68). Özellikle 1995 tarihinden önce yayınlanan yazılarda paterji pozitif Behçet hastalarının oranları %50 ve üzerinde iken, son yazılarda bu oranlar giderek düşmektedir. Bazı Arap ülkelerinde; Kuveyt'de % 34, Ürdün'de % 20, Suudi Arabistan'da % 17,7, Irak'da % 71 ve İsraili Araplarda % 36,8-50 paterji pozitifliği rapor edilmiştir (69). En son Kore'de yapılan bir çalışma da paterji pozitifliğinin oldukça düşük bulunduğu (% 15,4) bildirilmiştir (70). Sağlıklı ve hematolojik hastalıklar gibi diğer bazı gruplarda paterji reaksiyon (PR) pozitifliğinin % 3'ü aşmadığı bildirilmiştir (6). Dinç ve ark. Behçet hastalarında dermografizmin sık olduğunu ama hiçbirinde PR'nun pozitif olmadığını görmüşlerdir (71). Bizim çalışmamızda da 22 Behçet hastasından sadece 2'sinde (% 9) PR pozitifliği tespit edilmiştir ve son yapılan çalışmalarını desteklemektedir. BH'daki PR'da gözlenen bu düşüşün, kullanılan metoda ve iğnenin çapına bağlı olabileceği söylenmektedir (72). Gürler ve ark. ise PR pozitifliğinin 35-44 yaş grubunda ve ilkbahar-yaz aylarında daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (73). Dilşen ve arkadaşları da paterji testinin duyarlılığının düştüğünü görüp "Dilşen modifiye tanı kriterleri 1997" arasında bu teste yer vermemişlerdir (74).

Alpdoğan ve ark. IFN kullanan 3 KML hastasının hepsinde BH benzeri sendrom geliştiği ve ikisinde de PR pozitifliği bildirdiler (1). Aynı şekilde Japonya ve İspanya'dan da birer KML vakasında BH benzeri tablo geliştiği rapor edilmesi (2, 75) üzerine, BH ile KML arasında bağlantı olduğu düşünülerek çalışmalar sürdürülmüştür. Alpdoğan ve arkadaşları yaptıkları diğer bir çalışmada IFN kullanan 29 KML hastasından 7'sinde PR (+)'liği (% 24) bulmuşlardır. α -IFN kullanan diğer hasta gruplarında PR pozitifliği saptamadıkları gibi BH semptomlarına da rastlamamışlardır (6). Kartı ve ark da α -IFN'nin in vitro koşullarda KML'li hastaların nötrofil ve prekürsörlerinin fagositoz ve adezyon kapasitelerini arttırarak Behçet hastalarının nötrofil profiline benzer nötrofil profili oluşturduğunu ve bu durumun α -IFN alan KML hastalarında gelişen BH benzeri tablodan sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir (7). Fakat bizim çalışmamızda α -IFN tedavisi altındaki KML hastalarının

hiç birinde paterji pozitifliğine rastlanmadı. Bu durum bizim hasta sayımızın düşük olmasından kaynaklanıyor olabilir. Fakat Behçet grubunda da PR oranımızın düşük olması bu farkın paterji metodu, ırksal ve mevsimsel değişkenlerden de olabileceğini akla getirmektedir. Ayrıca α -IFN kullanım süresi ve dozu da iki çalışma arasındaki farkın önemli bir sebebi olabilir.

PR pozitif olan 2 Behçet hastasından alınan cilt biopsilerinin histopatolojik incelemesinde literatürle uyumlu olarak, perivasküler alanda yoğunlaşan mononükleer ve PMNL infiltrasyonu mevcuttu (76).

HLA B51 (+)'liği Behçet hastalığı patogenezinde önemli bir yer tutmaktadır. Türkler, Avrupa ve Asya'lılarda değişen oranlarda (% 40-80) pozitiflik bildirilmiştir (76). Özellikle de HLA B51 pozitifliğinin genital ülserler, cilt lezyonları, tromboflebit ve derin trombozlarda görülme sıklığını artırdığı rapor edilmiştir (77, 78). Bizim çalışmamızda da Behçet hastalarında diğer gruplara göre HLA B51 pozitifliği anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Behçet hastalarında nötrofil adezyon molekül ekspresyonu konusunda literatürde sınırlı sayıda çalışma vardır. Şahin ve ark.'nın yaptığı çalışmaya göre Behçet hastalarının nötrofillerindeki CD11a ekspresyonunun sağlıklılara göre arttığı gösterilmiştir (52). Bununla uyumlu olarak biz de bu çalışmada CD11a'nın Behçet hastalarının nötrofil yüzeyindeki ekspresyonunun sağlıklılara göre belirgin olarak arttığını gösterdik. Fakat α -IFN tedavisi ile KML nötrofilleri veya prekürsörlerinde adezyon molekül değişimi gözlenmedi. Bu durumda; eğer gerçekten ileri sürüldüğü gibi α -IFN'ne bağlı olarak KML hastalarında Behçet benzeri tablo geliyorsa, altta yatan başka nedenler aramak gerekmektedir.

CD49e ekspresyonu Behçet hastalarında kontrol ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında yüksek bulunmakla beraber anlamlı fark sadece Behçet hastalarında ve viral hepatit vakalarında vardı. Literatür taramasında Behçet hastalarında ve viral hepatitlerde CD49 e ekspresyonu ile ilgili bir veri bulunamamıştır. Bu fark viral hepatitlerde viral enfeksiyona sekonder CD49e ekspresyonu azalmasına bağlı olabileceği gibi, Behçet hastalarında CD49e ekspresyonunun artmasına da bağlı olabilir. Bu konunun aydınlatılması için viral hepatit vakalarının artırılarak çalışmaların planlanması faydalı olabilir.

Sonuç olarak; bu çalışmada α -IFN alan KML hastalarında paterji pozitifliği gözlenmedi ve α -IFN tedavisi ile nötrofil adezyon molekülleri ekspresyonunda

önemli bir değişiklik oluşmadı. Bu konunun açıklığa kavuşturulması için daha geniş sayıda hastalarla yapılan çalışmalara ihtiyaç vardır ve sözü edilen KML hastalarında paterji pozitifliği gelişirse daha geniş bir panelde adezyon moleküllerine bakmak gerekmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızdan çıkan sonuçlar;

1. Paterji testi, Behçet hastalarında %9 oranında pozitif bulundu. Ancak diğer grupların hiçbirinde paterji pozitifliğine rastlanmadı.
2. CD11a ekspresyonu, Behçet hastalarında diğer tüm gruplardan yüksek bulundu. IFN alan ve almayan KML ve viral hepatitli hasta grupları arasında CD11a ekspresyonunda anlamlı farklılık yoktu.
3. CD49d ekspresyonu açısından gruplar arasında farklılık gözlenmedi.
4. CD49e ekspresyonu açısından sadece Behçet hastalarıyla viral hepatitler arasında anlamlı farklılık bulundu.
5. HLA B51 pozitifliği Behçet hastalarında, kontrol ve diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

Bu çalışmada α -IFN alan KML hastalarında paterji pozitifliği gözlenmedi ve α -IFN tedavisi ile nötrofil adezyon molekülleri ekspresyonunda önemli bir değişiklik oluşmadı. Bu konunun açıklığa kavuşturulması için daha geniş sayıda hastalarla yapılan çalışmalara ihtiyaç olduğunu ve sözü edilen KML hastalarında paterji pozitifliği gelişirse daha geniş bir panelde adezyon moleküllerine bakmak gerektiğini düşünüyoruz.

7.ÖZET

ALFA İNTERFERON İLE TEDAVİ EDİLEN KRONİK MYELOİD LÖSEMİ HASTALARINDA PATERJİ TESTİ POZİTİFLİĞİ VE NÖTROFİL ADEZYON MOLEKÜLLERİ DEĞİŞİMİ - BEHÇET HASTALIĞI İLİŞKİSİ

Literatürde IFN tedavisi alan KML hastalarında Behçet hastalığı benzeri tablo ve paterji pozitifliği tanımlanmıştır. IFN ile tedavi edilen KML hastalarında adezyon moleküllerinin değişimini incelemek ve bu değişimin paterji pozitifliği ile ilişkisini değerlendirmek amacıyla planlandı.

20 sağlıklı kişi, 22 Behçet hastası, IFN alan 17 ve almayan 10 kronik viral hepatit hastası, IFN alan 8 ve almayan 12 KML hastası çalışmaya alındı. Bu grupların hepsine paterji testi uygulandı. Hastalardan alınan polimorfonükleer lökositlerde adezyon molekülleri akım sitometri yöntemi ile çalışıldı. HLA B51 PCR ile değerlendirildi.

Paterji testi, Behçet hastalarında %9 oranında pozitif bulundu. Ancak diğer grupların hiçbirinde paterji pozitifliğine rastlanmadı. CD11a ekspresyonu, Behçet hastalarında diğer tüm gruplardan yüksek bulundu. IFN alan ve almayan KML ve viral hepatitli hasta grupları arasında CD11a ekspresyonunda anlamlı farklılık yoktu. CD49d ekspresyonu açısından gruplar arasında farklılık gözlenmedi. HLA B51 pozitifliği Behçet hastalarında, kontrol ve diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

Sonuç olarak; α -IFN tedavisinin, paterji pozitifliğine neden olmadığı ve adezyon molekülleri ekspresyonunda önemli bir değişiklik oluşturmadığını söyleyebiliriz.

8.SUMMARY

SKIN HYPERACTIVITY AND NEUTROPHIL ADHESION MOLECULES CHANGES IN ALPHA-INTERFERON TREATED CML PATIENT AND IT'S RELATION WITH BEHCET'S DISEASE

Behcet like disease and skin hyperactivity were defined previously in α - IFN treated CML patients. This study was designed to evaluate the changes in adhesion molecules in CML patients treated with α - IFN and to find out its relationship with the development of skin hyperactivity .

Twenty healthy individuals, 22 patient with Behçet disease, 27 patient with chronic viral hepatitis (17 of them under interferon alpha treatment) and 20 patient with CML (8 of them treated with interferon alpha) were enrolled to the study. Pathergy test was performed in all of the groups. Adhesion molecules in polimorphonuclear leukocyt were assessed by flow cytometry. HLA B51 positivity was assessed with PCR method.

Pathergy test was found to be positive in 9% of Behcet disease patients. No pathergy pozitivty was observed in other groups including α - IFN treated CML patients. CD11a expression was found to be higher in Behcet groups compare to other groups. No significant difference was noticed in CD11a expression in between any of the other groups. CD49e expression was higher in Behcet's disease patients compared to chronic viral hepatitis patients and no difference was observed in between any other groups with respect to CD 49e expression. HLA B51 positivity was found to be significantly higher in Behcet's disease compaired to control and other groups.

In conclusion, our findings indicate that alpha interferon does not lead to pathergy positivity or adhesion molecules changes in Chronic myeloid leukemia patients.

9. KAYNAKLAR

1. Budak-Alpdoğan T, Demirçay Z, Alpdoğan Ö, Direskeneli H, Ergun T, Bayık M, Akoğlu T : Behçet's disease in patients with chronic myelogenous leukemia: possible role of interferon-alpha treatment in the occurrence of Behçet's symptoms. *Ann Hematol.*, 74: 45-48, 1997.
2. Segawa F, Shimizu Y, Saito E, Kinoshita M: Behçet's disease induced by interferon for chronic myelogenous leukemia. *J Rheum.*, 22:1183-1184, 1995.
3. Ovalı E, Çetiner M, Örem A, Aydın F, Kavgacı H, Ulusoy Ş, Sönmez M, Kardeş B, Tekelioğlu Y: Alfa interferonun, nötrofil adherens, ingestion ve bakterisidal aktivite fonksiyonları üzerine etkisi. *Anadolu Tıp Dergisi*, C: 15, S1 69-81, 1993.
4. Vasilenko RN, Denisov LA, Galaktionov VG: Effect of recombinant alpha-interferon on macrophage functional activity in mice. *Mic Epid Immunobiol.*, 7: 100, 1989.
5. Perry S et al: Cell cycle characteristics, maturation and phagocytosis in vitro of blast cells from patients with chronic myelocytic leukemia., *Blood* 38: 153, 1971.
6. Budak-Alpdoğan T, Demirçay Z, Alpdoğan Ö, Direskeneli H, Ergun T, Bayık M : Skin hyperreactivity of Behçet's patients (pathergy reaction) is also positive in interferon alpha-treated chronic myeloid leukaemia patients, indicating similarly altered neutrophil functions in both disorders *Bri J of Rheu.*, 37:1148-1151, 1998.
7. Kartı S S, Ovalı E, Ratip S, Çetiner M, Direskeneli H, Bayık M, Akoğlu T: Effect of interferon- α 2a on neutrophil adhesion and phagocytosis in chronic myeloid leukemia and Behçet's disease. *Clin Rheumatol.*, 21: 211-214, 2002.
8. Wills RJ: Clinical pharmacokinetics of interferons. *Clin Pharmacokinet.*, 19: 390-399, 1990.
9. Peters M: Mechanisms of actions of interferons. *Seminars in Liver Disease*, 9: 235-239, 1989.
10. Hayden FG: Antiviral Agents. Mandell, Douglas, Bennett's principles and practice of infectious disease. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds), 4th ed, New York, Churchill Livingstone, pp 411-450, 1995.
11. Rubin BY, Anderson SL, Lunn RM, Smith LJ: Induction of proteins in interferon-alpha and interferon-gamma treated polymorphonuclear leukocytes. *J Leukoc Biol.*, 45: 396, 1991.
12. Lawman MJ, Gifford G, Gyangyassy-Issa M, Dragan R, Heise J, Babiuk LA: Activity of polymorphonuclear leukocytes during bovine herpes virus-1 induced respiratory disease: effect of recombinant bovine interferon alpha. *Antiviral Res.*, 8: 225, 1987.

13. Kapp A, Zeck-Kapp G: Activation of oxidative metabolism in human polymorphonuclear neutrophilic granulocytes: The role of immunomodulating cytokines. *J Invest Dermatol.*, 95: 945, 1990.
14. Sample AK, Czuprynski CJ: Recombinant bovine interferon- gamma, but not interferon-alpha, potentiates bovine neutrophil oxidative responses in vitro. *Vet Immunol Immunopathol.*, 25: 23, 1990.
15. Gyllenhammar H, Hafstrom I, Ringertz B, Uden AM, Palmblad J: Recombinant human leucocyte interferon modulates neutrophil function invitro. *J Interferon Res.*, 8: 441, 1988.
16. Bielefeldt Ohmann H, Babiuk LA: Alteration of some leucocyte functions following in vivo and in vitro exposure to recombinant bovine alpha and gamma- interferon. *J Interferon Res.*, 6:123, 1986.
17. Talpaz M, Kantarjian HM, McCredie K, Trujillo JM, Keating MJ, Gutterman JU : Hematologic remission and cytogenetic improvement induced by recombinant human interferon alfa in CML. *N Engl J Med.*, 314:1065-1069, 1986.
18. Borgstrom S, Von Eyben FE, Flodgren P, Axelsson B, Sjögren HO: Human leucocyte interferon and cimetidine for metastatic melanoma. *N Engl J Med.*, 307: 1080-1081, 1982.
19. Vugrin D, Hood L, Taylor W, Laszlo J: A phase II study of human lymphoblastoid interferon in patients with advanced renal carcinoma. *Cancer Treat Rep.*, 69:817-820, 1985.
20. Foon KA, Sherwin SA, Abrams PG et al: Treatment of advanced non-Hodgkin's lymphoma with recombinant leucocyte A interferon. *N Engl J Med.*, 311:1148-1152, 1984.
21. Costanzi JJ, Cooper MR, Scarffe JH et al: Phase II study of recombinant alfa-2 interferon in resistant multiple myeloma. *J Clin Oncol.*, 3: 654-659, 1985.
22. Quesada JR, Alexanian R, Hawkins M et al: Treatment of multiple myeloma with recombinant alfa-interferon. *Blood* , 67: 275-278, 1986.
23. Quesada JR, Reuben J, Manning JT, Hersh EM, Gutterman JU: Alpha interferon for induction of remission in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med.*, 310: 15-18, 1984.
24. Golomb HM, Jacob A, Fefer A et al: Alpha-2 interferon therapy of hairy-cell leukemia; multicenter study of 64 patients. *J Clin Oncol.*, 4: 900-905, 1986.
25. Jonas MM: Interferon- α for viral hepatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*, 23(Suppl 2): 93-106, 1996.
26. Brenard R: Practical management of patients treated with α -interferon. *Acta Gastroenterol Belgica*, 60: 211-213, 1997.
27. Bailly F, Mattei A, SiAhmed SN, Trepo C: Uncommon side-effects of interferon. *Journal of Viral Hepatitis* , 4 (Suppl 1): 89-94, 1997.

28. Braun W, Levy HB: Interferon preparations as modifiers of immune responses. *Proc Soc Exp Biol Med.*, 141: 769-773, 1972.
29. Heron I, Berg K, Cantell K. Regulatory effect of interferon on T cells in vitro. *J Immunol.*, 117: 1370-1373 , 1976.
30. Figlin RA, deKernion JB, Mukamel E, Palleroni AV, Itri LM, Sarna GP: Recombinant interferon alpha in metastatic renal cell carcinoma: Assessment of anti-tumor activity and anti-interferon antibody formation. *J Clin Oncol.*, 6:1604-1610, 1988.
31. Oberg K, Alm G, Magnusson A et al: Treatment of malignant carcinoid tumors with recombinant interferon alpha-2b: Development of neutralizing interferon antibodies and possible loss of antitumor activity. *J Natl Cancer Inst.*, 81: 531-535, 1989.
32. Todd JA, Acha-Orbea H, Bell JI et al: A molecular basis for MHC class II-associated autoimmunity. *Science*, 240:1003-1009, 1988.
33. Szein MB, Steeg PS, Johnson HM, Oppenheim JJ: Regulation of human peripheral blood monocyte DR antigen expression in vitro by lymphokines and recombinant interferons. *J Clin Invest.*, 73: 556-565, 1984.
34. Renault P, Hoofnagle JH, Park Y, Mullen KD, Peters M, Jones B, Rustgi V, Jones A: Psychiatric complications of long-term interferon alfa therapy. *Arch Intern Med.*, 147: 1577-1580, 1987.
35. Deutsch M, Dourakis S, Manesis EK, Gioustozi A, Hess G, Horsch A, Hadziyannis S: Thyroid abnormalities in chronic viral hepatitis and their relationship to interferon alpha therapy. *Hepatology*, 26: 206-210, 1997.
36. Doğanavşargil E, Keser G: Behçet Hastalığı. *Klinik Romatoloji. Gümüşdiş G, Doğanavşargil E (Editörler) Deniz Matbaası, İstanbul, s. 423-439, 1999.*
37. Yazıcı H: Behçet's Syndrome. *Textbook of Rheumatology. Klippel JH, Dieppe PA (eds), 2nd ed., 7:26, pp. 1-6, 1998.*
38. Ahmed AR: Lymphocyte studies in Behçet's syndrome. *Dermatologica*, 164:175-180, 1982.
39. Direskeneli H: Behçet's disease : infectious aetiology, new autoantigens, and HLA-B51. *Ann Rheum Dis.*, 60: 996-1002, 2001.
40. Paul M, Klein T, Krause I, Molad Y: Allelic distribution of HLA-B5 in HLA-B5 positive Israeli patient with Behçet's disease. *Tissue Antigens.*, 58: 185-6, 2001.
41. Lim SD, Haw CR, Kim NI, Fusaro RM: Abnormalities of T-cell subsets in Behçet's syndrome. *Arch Dermatol.*, 119: 307-310, 1983.
42. Sakane T, Kotani H, Takada S, Tsunematsu T: Functional aberration of T cell subsets in patients with Behçet's disease. *Arthritis Rheum.*, 25: 1343-1351, 1982.

43. Hamzaoui K, Kahan A, Hamza M, Ayed K: Suppressive T cell function of Epstein-Barr virus induced B cell activation in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol.*, 9: 131-135, 1991.
44. Mege JL, Dilşen N, Sanguedolce V, Gul A: Overproduction of monocyte derived TNF- α , 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.*, 20:1544-9, 1993.
45. Turan B, Gallati H, Erdi H, Gürler A, Michel AB, Villiger PM : Systemic levels of the T cell regulatory cytokines IL-10 and IL-12 in Behçet's disease; Soluble TNFR-75 as a biological marker of disease activity. *J Rheumatol.*, 24:128-132, 1997.
46. Fujii N, Minagawa T, Nakane A, Kato F, Ohno S: Spontaneous production of gamma-interferon in cultures of T lymphocytes obtained from patients with Behçet's disease. *J Immunol.*, 130:1683-1686, 1983.
47. Ohno S, Kato F, Matsuda H, Fujii N, Minagawa T: Studies on spontaneous production of gamma-interferon in Behçet's disease. *Ophthalmologica*, 185:187-192, 1982.
48. Düzgün N: Behçet hastalığında immünolojik özellikler. *MN Klinik Bilimler*, 1/5 Mayıs, 15 s.98-100, 1994.
49. Taylor PV, Chamberlain MA, Scott JS: Autoreactivity in patients with Behçet's disease. *Br J Rheumatol.*, 32: 908-10, 1993.
50. Scully CM, Lehner T, Harfitt R : Serum, salivary and lacrimal immunoglobulins in Behçet's syndrome and recurrent oral ulcers. In: Lehner T, Barnes CG (eds), *Behçet's syndrome*. London, Academic Press., pp: 77-89, 1979.
51. Sobel JD, Haim S, Obedean VM, Meshulam T: Polymorphonuclear leucocyte function in Behçet's disease. *J Clin Pathol.*, 30: 250-253, 1977
52. Kasukawa R, Miyata M, Takeda N et al: Studies on phagocytosis of PMNL of patients with Behçet's disease. In: Inaba G, ed. *Behçet's disease*. Tokyo, University of Tokyo Press., pp: 269-277, 1982.
53. Niva Y, Miyake S, Sakane T, Shingu M, Yokoyama M : Auto-oxidative damage in Behçet's disease. Endothelial cell damage following the elevated oxygen radicals generated by stimulated neutrophils. *Clin Exp Immunol.*, 49: 247-255, 1982.
54. Şahin Ş, Akoğlu T, Direskeneli H, Şen LS, Lawrence R: Neutrophil adhesion to endothelial cells and factors adhesion in patients with Behçet's disease. *Ann Rheum Dis.*, 55:128-133, 1996.
55. Beutler E, Lichtman M, Coller B, Kipps T, Seligsohn U, Williams Hematology, *Chronic myelogenous leukemia and related disorders*, 6th edition, 94: 1085-1123, 2001.
56. Chronic Myeloid Leukemia Trialists' Collaborative Group: Interferon alfa versus chemotherapy for chronic myeloid analysis of seven randomized trials: Chronic

Myeloid Leukemia Trialists' Collaborative Group. *J Natl Cancer Inst.*, 1:1616-1620, 1997.

57. Gordon MY, Dowding C, Riley G, Goldman JM, Greaves M: Altered adhesive interactions with stroma of hematopoietic progenitor cells in chronic myeloid leukemia. *Nature*, 328: 342, 1987.
58. Dowding C, Guo A-P, Osterholz J, Siczkowski M, Goldman J, Gordon M: Interferon-alpha over-rides the deficient adhesion of chronic myeloid leukemia primitive progenitor cells to bone marrow stromal cells. *Blood*, 78: 499-505, 1991.
59. Bhatia R, Wayner EA, McGlave PB, Verfaillie CM: IFN-alfa restores normal adhesion of chronic myelogenous leukemia hematopoietic progenitors to bone marrow stroma by correcting impaired beta-1 integrin receptor function. *J Clin Invest.*, 94: 384-391, 1994.
60. Upadhyaya G, Guba SC, Sih SA, Feinberg AP, Talpaz M, Kantarjian HM, Deisseroth AB, Emerson SG: Interferon-alpha restores the deficient expression of the cytoadhesion molecule lymphocyte-function antigen-3 by chronic myelogenous leukemia progenitor cells. *J Clin Invest.*, 88: 2131-2136, 1991.
61. Fried MW: Therapy of chronic viral hepatitis. *Medical Clinics of North America*, 80: 957-971, 1996.
62. Uzunalimoğlu Ö, Dönderici Ö, Karayalçın S et al: Interferon treatment in chronic hepatitis C *Gastroenterolgy*, 3: 477-482, 1992.
63. Şentürk Huzunalimoğlu Ö, Batur Y et al: Long term efficacy of interferon alfa and ursedeoxycholic acid treatment in chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci.*, 42:1438-1444, 1997.
64. Aydınтуğ O: Hücre adezyon molekülleri (I). *Güncel Gastroenteroloji*, 1: 503-10, 1997.
65. Budak-Alpdoğan T, Demirçay Z, Alpdoğan Ö, Direskeneli H, Ergun T, Öztürk A, Günay A, Yavuz Ç, Üskent E, Akoğlu T: Skin hyperreactivity of Behçet's patients (pathergy reaction) is also positive in interferon alpha-treated chronic myeloid leukemia patients, indicating similarly altered neutrophil functions in both disorders. *Br J Rheum.*, 37: 1148-1151, 1998.
66. Dilşen N, Koniçe M, Aral O, Öcal L, İnanç M, Gül A: Comparative study of the skin pathergy test with blunt and sharp needles in Behçet's disease. *Ann Rheum Dis.*, 52: 823-5, 1993.
67. Yazıcı H, Chamberlain MA, Tüzün Y, Yurdakul S, Müftüoğlu A: A comparative study of the pathergy reaction among Turkish and British patients with Behçet's disease. *Ann Rheum Dis.*, 43: 74-7, 1984.
68. Fresko I, Yazıcı H, Bayramiçli M, Yurdakul S, Müftüoğlu A, Mat C: Effect of surgical cleaning of the skin on the pathergy phenomenon in Behçet's syndrome. *Ann Rheum Dis.*, 52: 619-20, 1993.

69. Jaber L, Mino G, Halpern G J, Krause I, Weinberger A: Prevalance of Behçet's disease in an Arab community in Israel. *Ann Rheum Dis.* 61: 365-6, 2002.
70. Bang D, Lee J.H, Lee E.S, Lee S et al: Epidemiologic and clinical survey of Behçet's disease in Korea: The first multicenter study. *J Korean Med Sci.*, 16: 612-8, 2001.
71. Dinç A, Karaayvaz M, Çalışkaner AZ, Pay S, Erdem H, Turan M: Dermographism and atopy in patients with behçet's disease. *Investig Allergol Clin Immunol.*, 10: 368-71, 2000.
72. Özarmağan G, Saylan T, Azizlerli G, Ovul C, Aksungur VL: Re-evaluation of the parhergy test in Behçet's disease. *Acta Derm Venereol.*, 71: 75, 1991.
73. Gürler A: Behçet merkezinde takip edilen 1066 behçet olgusunun klinik gözlemleri. *MN Klinik Bilimler* , 1/5 Mayıs, s.92-5, 1995.
74. Dilşen N: Behçet hastalığında tanı, gidiş ve prognoz. *Aktüel tıp dergisi Behçet hastalığı sayısı*, Cilt 2, sayı 2, s.108-111, 1997.
75. Tassies D, Cervantes F, Feliu E et al: Enfermaded de Behçet de inicioprevio a la aparicion de leucemia mieloide cronica. *Med Clin.*, 99: 67-68, 1992.
76. Ergun T, Gürbüz O, Harvell J, Jorizzo J, White W: The histopathology of pathergy; a chronological study of skin hyperreactivity in Behçet's disease. *Int J Dermatol.*, 37: 929-33, 1998.
77. Kaya TI, Tursen U, Gürler A, Durt H: Association of class I HLA antigens with the clinical manifestations of Turkish patients with Behçet's disease. *Clinical and Experimental Dermatology* , 27: 498-501, 2002.
78. Gül A, Uyar FA, Inanç M, Öcal L, Tugal-Tutkun I et al: Lack of association of HLA B51 with a severe disease course in Behçet's disease. *Rheumatology*, 40: 668-72, 2001.