

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**PRİMER SJÖGREN SENDROMLU HASTALARDA İNHİBİTÖR  
KAPPA B ALFA PROMOTOR  
POLİMORFİZMLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ  
DR. EMİNE KAVALCI**

**TEZ DANIŞMANI  
PROF. DR. SİMİN ROTA**

**DENİZLİ-2011**

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**PRİMER SJÖGREN SENDROMLU HASTALARDA İNHİBİTÖR  
KAPPA B ALFA PROMOTOR  
POLİMORFİZMLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ  
DR. EMİNE KAVALCI**

**TEZ DANIŞMANI  
PROF. DR. SİMİN ROTA**

**DENİZLİ-2**

Prof. Dr. Simin Rota danışmanlığında Dr. Emine Kavalcı tarafından yapılan “Primer Sjögren Sendromlu Hastalarda İnhibitör Kappa B Alfa Promotor Polimorfizmlerinin Araştırılması” başlıklı tez çalışması 27/09/2011 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Prof.Dr. S. Simin ROTA



ÜYE: Prof.Dr. Süleyman DEMİR



ÜYE: Doç.Dr. Hülya AYBEK



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.  
.21.11.2011



Prof. Dr. Mustafa KILIÇ  
Pamukkale Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanı

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocam tez danışmanım Prof. Dr. Simin ROTA'ya, hocalarım Prof. Dr. Diler ASLAN'a, Prof. Dr. Süleyman DEMİR'e, Prof. Dr. Bünyamin KAPTANOĞLU'na, Doç. Dr. Hülya AYBEK'e, Doç. Dr.Yaşar ENLİ'ye, desteklerinden dolayı arkadaşlarım Dr. R. Didem TUNCER'e, Dr. Koray KORKMAZCAN'a, Dr.Fatih YAMAN'a, Dr.Cafer GÖNEN'e, Dr.Mahmut ŐENYURT'a, Dr.Dilek İREN EMEKLİ'ye, Dr.Esin AVCI ÇİÇEK'e, Dr.Cuma DEMİRAL'a, Dr.Nergiz GİRGİN'e, tüm Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına, tezime katkılarından dolayı Yrd.Doç.Dr.Nedim KARAGENÇ'e, Doç. Dr. Vildan CANER'e, Biyolog Ayşen KARDEŐLER'e, verilerimi toplamamda yardımcı olan Kan Alma Birimimizin tüm çalışanlarına, verilerimi değerlendirmemde yardımcı olan öğretim üyesi Doç.Dr.Beyza AKDAĞ'a teşekkür ederim.

Dr. Emine KAVALCI

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VI
TABLolar DİZİNİ .....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VIII
ÖZET.....	X
SUMMARY.....	XI
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
Sjögren Sendromu.....	3
Epidemiyoloji.....	3
Etiyoloji ve Patogenez.....	4
İmmünopatoloji.....	8
Histopatoloji.....	8
Klinik Bulgular.....	8
Laboratuvar Bulguları.....	10
Sjögren Sendromu Sınıflandırması.....	11
NFκB (Nükleer Faktör Kappa B).....	18
NFκB İnhibitörleri (IκB).....	18
IκBα (İnhibitör Kappa B Alfa).....	18
GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
BULGULAR.....	31
TARTIŞMA.....	33
SONUÇLAR.....	41
KAYNAKLAR.....	42

## TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Tablo -1. Amerika-Avrupa Uzlaşma Grubu Kriterleri.....</b>	<b>9</b>
<b>Tablo -2. PCR karışımı .....</b>	<b>26</b>
<b>Tablo -3. PCR Protokolu .....</b>	<b>27</b>
<b>Tablo -4. Restriksiyon protokolu .....</b>	<b>28</b>
<b>Tablo -5. -826 C/T genotip ve allel taşıyıcılığı sıklığı.....</b>	<b>31</b>
<b>Tablo -6. -881 A/G ve allel taşıyıcılığı sıklığı .....</b>	<b>32</b>
<b>Tablo -7. 881 A/G ve -826 C/T Allel sıklıkları.....</b>	<b>32</b>
<b>Tablo -8. Bizim çalışmamız ile Ou ve arkadaşlarının çalışması.....</b>	<b>35</b>
<b>Tablo -9. Kontrol gruplarındaki genotip dağılımlarının karşılaştırılması</b>	<b>38</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Primer Sjögren sendromunda otoimmün etyopatogenez.....	5
Şekil 2. A: NFκB'yi aktive eden uyaranlar .....	14
B: NFκB ile düzenlenen olaylar	
Şekil 3. Kanonikal ve non-kanonikal NFκB sinyal yolu .....	17
Şekil 4. Memeli NFκB ve IκB polipeptidleri ailesi.....	18
Şekil 5. Kromozom 14 üzerinde <i>IκBα</i> geninin gösterilmesi.....	19
Şekil 6. <i>IκBα</i> geni ve proteininin şematik gösterimi .....	20
Şekil 7. <i>IκBα</i> promotor bölge -826 elektroforez görüntüsü .....	28
Şekil 8. <i>IκBα</i> promotor bölge -826, RFLP elektroforez görüntüsü .....	29
Şekil 9. <i>IκBα</i> promotor bölge -881,RFLP elektroforez görüntüsü.....	30

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AECG</b>	<b>: Amerika Avrupa Uzlaşma Grubu</b>
<b>AIDS</b>	<b>: Edinilmiş immün yetmezlik sendromu</b>
<b>ANA</b>	<b>: Antinükleer antikor</b>
<b>Anti-M3</b>	<b>: Asetil kolin antikoru</b>
<b>BAFF</b>	<b>: B hücre aktive edici faktör</b>
<b>BAFFR</b>	<b>: B hücre aktive edici faktör reseptörünün</b>
<b>BCL-2</b>	<b>: B hücre lenfoma 2 protein</b>
<b>BCR</b>	<b>: B-hücre reseptörü</b>
<b>CRP</b>	<b>: Serum reaktif protein</b>
<b>DNA</b>	<b>: Deoksiribonukleik asit</b>
<b>dNTP</b>	<b>: Deoksinükleotid trifosfat</b>
<b>EDTA</b>	<b>: Etilen diamin tetra asetik</b>
<b>FasL</b>	<b>: Fas ligand</b>
<b>HLA</b>	<b>: İnsan lokosit antijeni (Human leucocyte antigen)</b>
<b>IAP</b>	<b>: Apoptozis inhibitörü protein</b>
<b>IKK</b>	<b>: Serin-spesifik IκB kinaz</b>
<b>IL-1R</b>	<b>: interlökin-1 reseptörü</b>
<b>IκBα</b>	<b>: İnhibitör kappa B alfa</b>
<b>LTβR</b>	<b>: Lenfotoksin-beta reseptör</b>
<b>MgCL<sub>2</sub></b>	<b>: Magnezyum klorür</b>
<b>mRNA</b>	<b>: Haberci ribonükleik asit</b>
<b>NEMO</b>	<b>: NFκB esansiyel modülatör</b>
<b>NES</b>	<b>: Nükleer dışarı taşınma dizileri</b>
<b>NFκB</b>	<b>: Nükleer Faktör Kappa B</b>
<b>NIK</b>	<b>: NFκB indükleyici kinaz</b>
<b>PCR</b>	<b>: Polimeraz zincir reaksiyonu</b>
<b>PEST bölgesi</b>	<b>: Prolin-glutamat-serin-treonin amino asitlerinden zengin bölge</b>
<b>pSS</b>	<b>: Primer Sjögren sendromu</b>
<b>RA</b>	<b>: Romatoid artrit</b>
<b>RANK</b>	<b>: NFκB reseptör aktivatörü</b>



<b>RF</b>	<b>: Romatoid faktör</b>
<b>SS</b>	<b>: Sjögren sendromu</b>
<b>SS-A</b>	<b>: Sjögren sendromu ilişkili protein A</b>
<b>SS-B</b>	<b>: Sjögren sendromu ilişkili protein B</b>
<b>sSS</b>	<b>: Sekonder Sjögren sendromu</b>
<b>TAK</b>	<b>: Transforme edici büyüme faktörünü aktive eden kinaz</b>
<b>TCR</b>	<b>: T hücre reseptörü</b>
<b>TGF</b>	<b>: Transforme edici büyüme faktörü</b>
<b>TLR</b>	<b>: Toll benzeri reseptör</b>
<b>TNFR</b>	<b>: Tümör nekroz faktör reseptörü</b>
<b>TRAFs</b>	<b>: TNF reseptör ilişkili faktörler</b>
<b>XIAP</b>	<b>: X'e bağlı apoptozis inhibitörü protein</b>

## ÖZET

### **Primer Sjögren sendromlu hastalarda *IκBα* promotor polimorfizmlerinin araştırılması. Dr. Emine Kavalcı**

Primer Sjögren sendromu (pSS) tüm dünyada ve ülkemizde yaygın olarak görülen otoimmün bir hastalıktır. Bu hastalık genetik temel üzerine çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkmaktadır.

NFκB, immün cevap, antiapoptotik genler ve proinflamatuvar sitokinler ile ilişkili bir transkripsiyon faktörüdür. *IκBα*, NFκB'yi sitoplazmada bağlamakta ve transkripsiyon faktörleri ile etkileşim yolu ile transkripsiyonel aktiviteyi düzenlemektedir. *IκBα* geninin promotor bölgesindeki allel farklılıkları transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasında, *IκBα* ekspresyonunda değişikliğe neden olabilmektedir. Bu nedenle, *IκBα* promotor bölgesindeki polimorfizmlerin inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir.

*IκBα* geninin promoter bölgesinde çeşitli polimorfizmler tanımlanmıştır. Primer Sjögren sendromunda *IκBα* promotor bölge -881A/G ve -826 C/T polimorfizmlerini araştırarak bildiğimiz kadarı ile sadece bir çalışma vardır. Biz bu çalışmada, *IκBα* promotor bölgesi -881 A/G ve -826 C/T polimorfizmleri ile pSS arasındaki ilişkiyi araştırdık.

Primer Sjögren sendromu tanısı almış, 103 hasta çalışmamızın hasta grubunu, sağlıklı olarak kabul edilen 99 birey kontrol grubunu oluşturdu. Tüm katılımcıların PCR ve RFLP yöntemleri ile *IκBα* promotor bölge -881 A/G ve -826 C/T genotipleri belirlendi.

Çalışmamızda pSS grubu ve sağlıklı kontrol gruplarındaki -826 C/T ve -881 A/G polimorfizm sıklıkları anlamlı olarak farklı bulunmadı. Sonuç olarak araştırılan *IκBα* promotor bölgesi polimorfizmleri ve pSS arasında bir ilişki saptanmadı.

Anahtar kelimeler: Primer Sjögren sendromu, otoimmün hastalık, NFκB, *IκBα*, PCR, RFLP.

## SUMMARY

### **Investigation of *IκBα* promoter polymorphisms in Patients with Primary Sjögren's Syndrome. Dr. Emine Kavalcı**

Primary Sjögren's syndrome (pSS) is an autoimmune disease frequently seen in Turkey and worldwide. In the aetiopathogenesis of the disease genetic and environmental factors are the main determinants.

NFκB, is a transcription factor related with immune response, antiapoptotic genes and proinflammatory cytokines. IκBα binds NFκB in the cytoplasm and regulates the transcriptional activity by interacting with the transcriptional factors. The allelic differences in the IκBα gene promoter region results with altered binding of transcription factors and expression of IκBα. Consequently polymorphisms in the promoter region of IκBα may be important in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases.

Various polymorphisms were defined in the promoter region of the IκBα gene. To our knowledge there is only one study related with *IκBα* promoter region -881A/G and -826 C/T polymorphisms in Primary Sjögren's syndrome. In our study we investigated the relation among pSS and -881 A/G and -826 C/T polymorphisms.

The patient group was consisted of 103 pSS patients and the control group was consisted of 99 healthy individuals. -881 A/G and -826 C/T genotypes were detected by PCR and RFLP methods.

In our study no significant differences were detected in -826 C/T and -881 A/G polymorphisms among the pSS and control group. As a result, we concluded that relation was not observed among the two *IκBα* promoter polymorphisms and pSS.

Keywords: Primary Sjögren's syndrome, autoimmune disease, NFκB, IκBα, PCR, RFLP.

## GİRİŞ

Sjögren sendromu (SS) temel olarak, gözyaşı ve tükürük bezini etkileyen kronik(1), otoimmün hastalıklardan biridir (2). Ekzokrin bezlerde lenfosit infiltrasyonu (1) ve fonksiyon bozukluğu (3) sonucu ağız ve göz kuruluğu ortaya çıkmaktadır (1). Genetik, endokrin, psikoimmünolojik mekanizmaların ve enfeksiyonların hastalığın oluşumunda katkısı olduğu bilinmektedir (4). Karmaşık genetik temel üzerine çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıktığı sanılmaktadır, ancak patofizyolojik temel tam olarak anlaşılamamıştır (5). Nükleer faktör kappa B (NFκB, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) yolundaki etkileşimlerin hastalığın ortaya çıkmasında etkili olduğu düşünülmektedir (6).

NFκB, hücrel genlerin düzenlenmesinde rol oynayan transkripsiyon faktörü (7,8) olan bir protein kompleksidir (8). İnflamasyon, hücre proliferasyonu, apoptozis (7,8) ve metastaz gelişimine (8) katılan birçok genin ekspresyonunu aktive eder. Çalışmalar, NFκB'nin aktivasyonundaki değişikliklerin otoimmün artrit, astım, septik şok, akciğer fibrozisi, ateroskleroz ve AIDS ile birlikte olan inflamatuvar olaylarla ilişkili olduğunu göstermiştir (8). Normalde NFκB, sitoplazmada inhibitör kappa B (IκB) proteinlerine sıkı bir şekilde bağlı ve inaktif olarak bulunur (7). IκB, NFκB fonksiyonlarını inhibe eder (9). Primer Sjögren sendromunun gelişimine birçok proinflamatuvar sitokin ve antiapoptotik molekül katılmaktadır. Sitokinlerin ve antiapoptotik moleküllerin transkripsiyonu ile ilişkili olan NFκB'nin pSS'deki inflamatuvar süreç ile ilgili olabileceği bildirilmektedir (10).

İnhibitör kappa B alfa (IκBα, NFKBIA, nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor alpha) geninin promotor bölgesindeki allel farklılığı transkripsiyon faktörlerinin bağlanması (10), IκBα ekspresyonunda ve NFκB aktivasyonunda (11) değişikliğe neden olabilmektedir (8,10). Bu nedenle, *IκBα* promotor bölgesindeki polimorfizmler inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların patogeneğinde rol oynayabilir (10).

Otoimmün bir hastalık olan primer Sjögren sendromu (pSS) tüm dünyada (12, 13) ve ülkemizde (14) yaygın olarak görülmektedir. *IκBα* promotor bölgesinde -881A/G, -826 C/T, -297 C/T, -519 C/T, -550 A/T (10,15,16,17,18)

polimorfizmleri çeşitli hasta gruplarında saptanmıştır. Primer Sjögren sendromunda *IκBα* promotor bölge -881A/G ve -826 C/T polimorfizmlerini araştıran tek çalışma bildiğimiz kadarıyla Ou ve arkadaşlarının (10) çalışmasıdır. Biz de bu çalışmada, *IκBα* promotor bölge -881. pozisyonunda bulunan adenin bazı yerine guanin bazının ve -826. pozisyonunda bulunan sitozin bazı yerine timin bazının geçmesi ile oluşan allel farklılıkları ile pSS arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### Sjögren Sendromu

Sjögren sendromu (SS) primer olarak tükürük ve gözyaşı bezi olmak üzere (19) ekzokrin bezleri etkileyen ayrıca çeşitli sistemleri aynı anda tutan (3) kronik (20), otoimmün, inflamatuvar (21) bir hastalıktır. SS, romatoid artrit (RA) sonra en yaygın görülen otoimmün hastalıktır (12,13). Hastalık tek başına olduğunda, primer Sjögren sendromu (pSS), RA, sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi otoimmün bir hastalık varlığında ortaya çıktığında ise sekonder Sjögren sendromu (sSS) olarak tanımlanmaktadır (19,22).

İsveçli oftalmolog Henrik Samuel Conrad Sjögren, 1933 yılında 13'ünde kuru ağız ve kuru göz semptomları olan 19 RA'li hastada klinik ve histolojik bulguları tanımlamıştır (23). Bu tabloya, vitamin A eksikliğinden kaynaklanan kuru gözü ayırt etmek için keratokonjonktivitis sikka adını vermiştir (2,23). Son yıllarda, hastalık patogenezinde epitel hücresinin temel rolü nedeni ile etiyolojik adının "otoimmün epitelit" olması gerektiği ileri sürülmüştür (20).

### Epidemiyoloji

Sjögren sendromu, daha çok kadınlarda görülür (2) ve kadın erkek oranı 9:1'dir (2,22). Pediyatrik olgular da tanımlanmıştır (20). Prevalansı yaklaşık olarak % 0.5 (2) ile % 5 (24,25) arasındadır. Türkiye'de prevalansı bir çalışmada, Avrupa kriterlerine göre tanı konulduğunda % 1.56, Avrupa–Amerika Uzlaşma Grubu (AECG, American–European Consensus Group) kriterlerine göre ise % 0.72 olarak bildirilmiştir (14). Bu hastalığın herhangi bir yaşta ortaya çıkabildiği ve 40-50 yaş arasında pik yaptığı bildirilmekle birlikte (19) 20'li ve 50'li yaşlarda iki kez pik yaptığı da belirtilmektedir (2,23). Primer Sjögren sendromu ve sSS arasındaki önemli fark, pSS'in daha belirgin ekstrasgladüler belirtiler göstermesi ve lenfositlerle ilgili bozuklukların daha ciddi olmasıdır (26). Vakaların yaklaşık % 50'si pSS'dur.

Sjögren sendromunun lenfoma ile ilişkisi iyi bilinmektedir. Benign otoimmün hastalığı olan hastaların yaklaşık % 5'inde lenfoid malignensiye dönüşüm olmaktadır

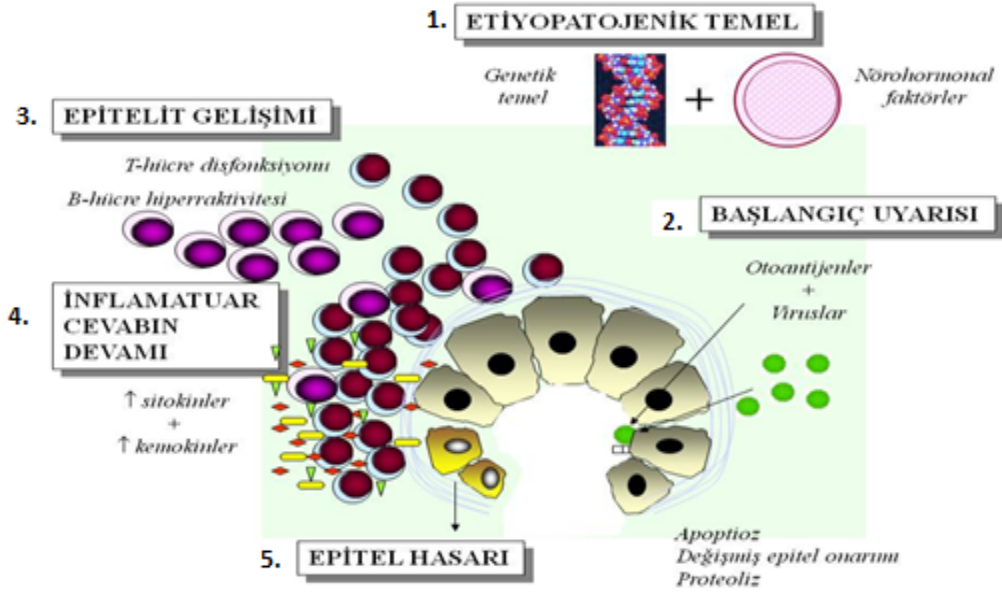
(20). Genel topluma göre lenfoma riski 44 kat daha fazladır (5,22) ve bu nedenle hastalarda lenfoproliferatif hastalıklar önemli bir sorundur (25).

### **Etiyoloji ve Patogenez**

Sjögren sendromunu başlatan neden tam olarak bilinmemektedir (4,27). Hastalığın oluşması için birkaç adım gerektiğinden patogenez multifaktöriyeldir (2). Genetik yatkınlığı olan bireylerde çevresel faktörlerin otoimmüniteyi (26) ve inflamasyonu tetiklediği düşünülmektedir (2).

İmmün sistem, bireyin kendi antijenleri ile yabancı antijenleri ayırt edebilir ve kendi antijenlerine immünolojik tolerans gösterir (28). Bu nedenle normal otoimmün cevap zayıftır ve patolojik bulgulara dönüşmez (29). Buna karşılık, yabancı antijenlere karşı hücrel veya humoral immün cevap oluşur. Fakat bazı durumlarda immün sistemin kendi antijenlerine olan toleransı bozulur ve bu antijenlere karşı da immün cevap gelişebilir (28,30).

Tam olarak anlaşılammış olsa da, tüm SS'u hastalarında bir dizi olayın meydana geldiği düşünülmektedir (2,27). Bu olaylar dizisi: 1) Başlangıç uyarısı, 2) Timusta otoimmün T-hücreli harabiyetinin olmaması, 3) Ekzojen glandlara T lenfosit göçü ile sitokin salınımı, 4) Ana histokompatibilite antijenleri ve adhesiv moleküllerin artışı, 5) B lenfosit hiperreaktivitesi, RF ve otoantikor üretimi [Ro(SS-A) ve La(SS-B)], 6) İnflamatuvar cevabı devam ettirecek proinflamatuvar sitokinlerin salınımı, 7) Hasarlı bezden sekresyonların azalması, 8) Tükürük, gözyaşı ve diğer bezlerde T-hücrelerine direnç ile apoptozdur (2,27) (Şekil 1).



**Şekil 1.** pSS'da otoimmün etiopatogenez: Etiyopatojenik zemin, otoimmün sürecin başlaması, epitelit oluşumu, otoimmün cevabın devamı ve epitel hasarı (31).

### Genetik Yatkınlık

Sjögren sendromunda genetik yatkınlık olduğu fare çalışmaları ve çeşitli çalışmalar ile doğrulanmıştır (19). SS için belirli bir HLA bölgesi ve/ veya HLA gen ürünü üzerinde fikir birliği yoktur. Farklı etnik gruplar üzerindeki çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir (5).

Hastalığın aynı ailenin iki veya daha fazla üyesinde bildirilmesi (19,27), ikizlerde (19) ve bu hastaların akrabalarında diğer otoimmün hastalıkların görülme sıklığının artmış olması (32) nedeni ile genetik bir yatkınlık olduğu ileri sürülmüştür. SS hastalarında otoantikörlerin oluşması için de genetik bir yatkınlık olduğu bildirilmektedir (27).

### Viruslar

Çevresel faktörler arasında önde gelen nedenlerden biri olduğu bildirilen virusların kesin ilişkisi gösterilmemiş olmakla birlikte, tükürük bezlerinin latent virusların yerleşme yerlerinden biri olması nedeni ile patogenezde rolünün



olabileceği düşünülmektedir (32). Hayvan deneylerinde, bazı virusların SS benzeri semptomların gelişimine yol açtığı gösterilmiştir. Bunun insanlarda da olabileceği (19) ve virusların moleküler benzerlik yolu ile otoantikor üretimini artırdığı hipotezi ileri sürülmüştür (27).

### **Cinsiyet Hormonları**

Genel olarak androjenlerin otoimmüniteden koruduğu ve androjen eksikliği olan kadınlarda hastalığın ortaya çıktığı ileri sürülmüştür (19). Kadınlarda SS'nun erkeklere göre daha fazla görülmesi, cinsiyet hormonlarının bağışıklığı düzenleyici özelliklerinin hastalığın gelişiminde rol oynadığını düşündürmektedir (5,27).

Östrojen; lenfosit büyümesinde, farklılaşmasında, proliferasyonunda, antijen sunumunda, sitokin üretiminde, antikor üretimi, hücre sağkalımı ve Apoptozda etkili bir immün uyarıcıdır (27). Östrojenin otoimmünitede çift yönlü etkisi vardır. SS'in hormonal yönünü açıklamak için, farelerde yapılan çalışmalar çelişkili sonuçlar vermiş olmasına rağmen, östrojenin azaldığı menopoz dönemi kadınların SS gelişmesinde en duyarlı olduğu dönemdir (19).

Prolaktin, östrojen üretimini uyaran proinflatuvar bir hormondur. Otoimmün uyarıcı olan prolaktin, T hücre proliferasyonu, interlökin-2 (IL-2) reseptör ekspresyonu, interferon gamma üretiminin desteklenmesi ve antikor üretiminin stimülasyonunda etkilidir (27).

### **Apoptozun Düzenlenmesindeki Bozukluk**

Vücut, hücresel büyümeyi önlemek ve işlevsel olarak artık gerekli olmayan hücreleri ortadan kaldırmak için bu mekanizmayı kullanır. Apoptotik yolların düzensizliği kanser gibi çeşitli hastalıkların patogenezinde önemli bir mekanizma olarak bilinir. Apoptoz, çeşitli hastalıklarda önemli bir mekanizma olmasına rağmen SS'in patogenezindeki rolü henüz belli değildir (5).

Yapılan çalışmalarda SS'li hastaların tükürük bezindeki T hücrelerinin azalmış apoptozuna karşın, çevresel kan T hücreleri normal kontrollere göre artmış apoptoz gösterir (26). Ekzokrin bezlerde apoptoz hızlanmıştır (33). Etkilenen dokuyu

infiltrate eden mononükleer hücrelerde apoptoz ile ilişkili moleküller olan, Fas, FasL ve Bcl-2 düzeyleri yüksektir (24).

İnvivo olarak kaspaz inhibitörleri ile tedavinin tükürük ve gözyaşı bezindeki otoimmün lezyonların gelişimini önlediği gösterilmiştir. Kaspaz kaskadındaki aktivite artışının, SS gelişimi, doku yıkımı ve alfa fodrin proteolizinin ilerlemesi ile ilgili olabileceği bildirilmiştir (34).

### **Otoantikolar**

Primer Sjögren sendromu ekzokrin bezlerde lenfosit infiltrasyonu ve B lenfosit hiperreaktivitesi ile karakterizedir (21). Poliklonal hipergammaglobulinemi, organa spesifik ya da spesifik olmayan çeşitli antikolar görülmektedir (35).

Otoantikolar hem pSS'de, hem de sSS'de bulunmaktadır (27). En sık Ro/SSA ve La/SSB antikolarına rastlanır (5,27). Ribonükleoprotein parçacıklarına karşı gelişen bu antikolar hastalığın sistemik aktivitesinde ve tanısında önemlidir (35). Anti-alfa fodrin ve anti-M3 reseptör antikoları da bulunabilmektedir (5,36).

Otoantikoların varlığı, hastalığın erken başlangıçlı olması, hastalık şiddetinin artışı, hastalığın uzun süreli olması, tekrarlayan parotis bezi şişliği ve ekstraplandüler belirtilerle ilişkili bulunmuştur. Yeni tanı konulmuş hastalarda hastalık şiddeti göstergesi olarak bu antikoların varlığı kullanılabilir. Başlangıç yaşı genç olan hastalarda, Ro/SSA ve La/SSB antikolarının ve RF'nin daha yüksek düzeylerde olduğu gösterilmiştir (27).

### **Mikrokimerizm**

Fetal hücrelerdeki mikrokimerizm hamile kadınlarda potansiyel otoimmün bir role sahip olabilir (19). Mikrokimerizm birçok gebelikten sonra ortaya çıkar. Bazı gebe kadınlarda fetal hücreler tarafından bir antimaternal reaksiyon olabileceği ileri sürülmüştür. SS'li hastaların %50'sinde Y kromozomuna spesifik dizi belirlenmiştir. Buna karşılık, başka bir çalışmada sistemik SS için mikrokimerizmi gösteren hiçbir kanıt bulunmamıştır. Yaşa bağlı immün toleranstaki azalma sessiz durumdan otoimmüniteye geçişe neden olabilir (19,33).

## **İmmünopatoloji**

Dokuları infiltre eden lenfositlerin çoğu T hücreleridir. T lenfositlerin % 60-70'i CD4+T hücreleridir. B hücreleri %20-25 ve dendritik hücreler, monosit, makrofaj, doğal öldürücü hücreler % 5 civarındadır (19,33). Epitel hücreleri ve mononükleer hücreler tarafından sitokinlerin lokal üretimi pSS'de ekzokrin bezlerin immün aracılı yıkımına katkıda bulunabilir (2).

## **Histopatoloji**

Histolojik değerlendirmeler tükürük ve gözyaşı bezlerinin içinde fokus olarak adlandırılan büyük ve kalıcı mononükleer hücre infiltrasyonu ve proliferasyonu (3,19) olduğunu göstermiştir. İnfiltratlar esas olarak T hücreleri, (3,19,37) ve daha az olarak B hücreleri, dendritik hücreleri ve makrofajları içermektedir (19). SS'lu hastaların tükürük bezleri ve konjonktivalarında, interlökin-1, interlökin-6, interlökin-8, tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) (2,5), interferon- $\gamma$ , transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- $\beta$ ) saptanmıştır (5).

Patogenez primer olarak glandüler dokunun yıkımı ile sonuçlanan otoimmün bir ekzokrinopati olarak tanımlanmıştır. Epitelde atrofi ve ilerleyen fibrozis görülebilir. Bu nedenle, asiner hücre Apoptozundaki bozulmanın SS'in patogenezine anlamlı şekilde katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (19).

## **Klinik Bulgular**

Sjögren sendromu (SS) yavaş ilerlemekte (21,22), organa spesifik ve çeşitli sistemik belirtiler göstermektedir (22). Hastalık değişken klinik bulgular ile karşımıza çıkabilir. Bu klinik bulgular otoimmün ekzokrinopatiden, akciğer, böbrek, kan damarları ve kasları etkileyen tutulumu kadar geniş bir aralıkta değişmektedir. Primer SS sinsi başlangıçlı bir hastalıktır ve ilk belirtiler genellikle özgün değildir. Hastalık ilk bulgulardan yaklaşık 6 yıl sonra klinik olarak SS tablosunu gösterir (20).

Hastalarda, tükürük ve gözyaşı bezinin fonksiyonunun azalması ile ilişkili ağız kuruluğu, keratokonjonktivitis sikka ve parotis bezinin genişlemesi gibi

semptomlar sıklıkla bulunmaktadır ( 22). Ekzokrin bezler yanında cilt, karaciğer, akciğer, böbrek ve sinir sistemi gibi ekzaglandüler tutulum da gösterir (10,21).

Klinik bulgular ekzokrin bez tutulumu ve non ekzokrin organ (sistemik) tutulumu olmak üzere iki başlık altında incelenebilir.

### **Ekzokrin Bez Tutulumu**

Etkilenen bezlerde lenfoid proliferasyonu ve infiltrasyonu ile karakterize progresif ekzokrinopati görülür (38).

### **Göz Kuruluşu (Keratokonjunktivitis Sikka, Kseroftalmi)**

Hastalarda gözyaşı bezi tutulumuna bağlı olarak gözyaşının azalmasıyla gözde yanma, batma hissi, kaşınma, kanlanma, ışığa karşı duyarlılık, kum gibi yabancı cisim kaçma hissi olur (20,36). Bunun sonucu olarak kornea ve konjonktivada hasar oluşur (20,25). Tanıda Schirmer testi ve Rose Bengal boya testi kullanılır.

### **Ağız Kuruluşu (Kserostomi)**

Sjögren sendromunun en belirgin semptomu olan ağız kuruluşu (25) otoimmün inflamasyon nedeni ile olur (36). Tükürük bezlerinde tükürük üretimi azalmaktadır (20). Hastalar kuru gıdaları yutmada güçlük, sürekli konuşmada zorluk ve yanma hissinden bahsederler (20,25). Diş çürükleri görülebilir (36). Dil kuru, hiperemik, parşömen görünümde olabilir (20,25). Primer Sjögren sendromlu hastaların yaklaşık %50'sinde çoğunlukla çift taraflı parotis bezi şişliği gelişebilir (25,26).

### **Diğer Ekzokrin Bezlerin Tutulumu**

Burun mukozasındaki kuruluk nedeniyle epistaksis ve tıkanıklık hissi gelişebilir. Trakea ve bronşlardaki salgı azalması ile kuru öksürük gelişebilir (25,26). Ürogenital sistemde kuruluk, pankreas salgılarında azalma meydana gelebilir (36).

### **Sistemik Tutulum**

Sistemik tutulum hastaların yaklaşık 1/3'ünde görülür (23 ). Romatolojik bulgular miyalji, artralji, sabah tutukluğu, sinovit, kronik poliartrit (20), Raynaud fenomeni şeklindedir (5). Cilt kuruluşu, vaskülit ortaya çıkabilir (5). Kronik yorgunluk pSS'unun iyi tanınan bir komponentidir ve siktir (38), günlük yaşam

kalitesi üzerinde büyük etkisi vardır (5). Yorgunluk pSS'lu hastaların yarısında mevcuttur ( 22).

Akciğer bulguları, kronik interstisyel pnömoni ve obstrüktif akciğer hastalığı şeklinde ortaya çıkabilir (26,20). Gastrointestinal bulgular sıktır. Gastrointestinal belirtiler mukoza ve submukozanın atrofisine ve plazma hücreleri ve lenfositlerin infiltrasyonuna bağlıdır (26). Özofageal dismotilite, kronik atrofik gastrit, karaciğer yetmezliği olabilir (20). İnterstisyel nefrit ve glomerulonefrit görülebilir (20). Primer Sjögren Sendromu'nda otoimmün tiroid hastalığı artmıştır (20) ve antiRo/La, romatoid faktör pozitif olanlarda daha sıktır (39 ). Hipotiroidizm ile kendini gösteren Hashimoto hastalığının görülme oranı yaklaşık %30'dur (36).

Santral ve periferik nöral sistem bozukluğu, pSS'lu hastaların yaklaşık %20'sinde bulunabilir. Multiple skleroz benzeri demiyelinizasyon, anormal BOS bulguları (5), periferik ve kranial nöropati bildirilmiştir (20).

Primer Sjögren sendromunda lenfoma gelişebilir (5,40). Hastalığıdaki immün kompleksler sonucu ortaya çıkan C4 düzeylerinde düşüklük, lenfoma riskinde artış ve yüksek morbitide ile ilişkilidir. Anjiyoplastik lenfadenopati ve psödolenfoma gelişebilir (20).

### **Laboratuvar Bulguları**

Lökopeni, poliklonal hipergammaglobulinemi (5,33) ve bunun sonucunda, serum ve idrarda paraprotein artışı, IgM- $\kappa$  monoklonal romatoid faktörün bir bileşeni olan tip II mikst kriyoglobulin artışı sıktır (5). Hafif normokrom normositer anemi, eritrosit sedimentasyon hızında artma saptanır. CRP çoğu zaman normal, bazen yüksek olabilir. ANA ve RF anti-Ro veya anti-La antikorları pozitif olabilir (33).

### **Sjögren Sendromu Sınıflandırması**

Sjögren sendromu sınıflandırması 2002 yılında Amerika-Avrupa Uzlaşma Grubunun (AECCG, American–European Consensus Group) yayınladığı kriterlere (20) göre yapılmaktadır (Tablo 1).

**Tablo 1:** Amerikan-Avrupa Uzlaşma Grubunun SS sınıflandırılması için yayınladığı kriterler (20).

## Amerika- Avrupa Sınıflama Kriterleri

**I- Oküler Semptomlar:** Sorulardan en az birisine olumlu cevap varsa,

- 3 aydan uzun zamandır her gün, devamlı, rahatsız edici göz kuruluğu var mı?
- Gözlerde tekrarlayan kum veya çakıl taşı varlığı hissi var mı?
- Günde 3 kereden fazla yapay gözyaşı kullanılıyor mu?

**II- Oral semptomlar:** Aşağıdaki sorulardan en az birisine olumlu cevap varsa,

- 3 aydan uzun zamandır ağız kuruluğu duyusu var mı?
- Bir yetişkin olarak tekrarlayan veya kalıcı tükürük bezi şişliği oldu mu?
- Katı gıdaları yutarken sıklıkla sıvı gereksinimi var mı?

**III- Oküler tutulumunun objektif kanıtı:** Aşağıdaki testlerden en az birisinin pozitif sonuçlanması,

- Anestezisiz uygulanmış Schirmer testi ( $\leq 5$  mm / 5 dk).
- Rose Bengal veya diğer oküler boya skorları (Van Bijsterveld skorlamasına göre  $\geq 4$ ).

### IV- Histopatoloji

- Minor tükürük bezlerinde fokal lenfositik sialadenit,  $1 \geq$  fokus skoru (her  $4 \text{ mm}^2$ 'lik glanduler dokuda 50'den fazla lenfosit).

**V- Tükürük bezi tutulumu objektif kanıtı:** Aşağıdaki testlerden en az birinin pozitif sonuçlanması,

- Uyarısız total tükürük akımı (15 dk.da  $\leq 1.5$  ml).
- Parotis sialografisi: Major kanallarda tıkanıklık bulgusu olmaksızın , diffüz sialektazi.
- Tükürük bezi sintigrafisi; gecikmiş uptake, radyoaktif izotopun azalmış konsantrasyonu ve/veya gecikmiş atılımı.

**VI- Otoantikorlar:** Serumda, anti-Ro(SSA) veya anti-La (SSB) veya her ikisinin pozitifliği,

### Primer SS (pSS):

- 1- Altta yatan başka bir hastalık bulunmaksızın, yukarıdaki 6 kriterden 4'ünün pozitifliği, histopatoloji ya da seroloji pozitif olmalıdır.
- 2- 4 objektif kriterden (III, IV, V, VI) herhangi 3'ünün pozitifliği.

### Sekonder SS (sSS):

Altta yatan bir hastalık varlığında I. veya II. kriterden birisinin pozitifliğine ek olarak III. IV. ve V. kriterlerden herhangi ikisininin pozitifliği.

## **NFκB (Nükleer Faktör Kappa B )**

İlk kez 1986 yılında Sen ve Baltimore tarafından bulunan NFκB (41,42), tüm hücre tiplerinin sitoplazmasında inaktif şekilde bulunan (43) bir transkripsiyon faktörüdür. NFκB başlangıçta, B lenfositlere özgü immünoglobulin κ hafif zincir geninin ekspresyonunu düzenleyen bir protein olarak tanımlanmıştır (44,45 ).

NFκB memeli hücrelerindeki farklılaşma, aktivasyon, direnç ve hayatta kalma başarısı ile ilgili merkezi bir rol oynar. NFκB normal lenfositler için esansiyeldir, gelişimlerini ve lenfoid organ morfogenezisini düzenler (30). NFκB, sıra dışı düzenlenme mekanizması, aktive eden stimulusların, kontrol ettiği gen ve biyolojik cevapların çeşitliliği ve birçok hastalık ile ilişkili olması nedeni ile büyük ilgi görmektedir (42).

Memeli hücrelerinde NFκB ailesinin RelA (p65), RelB, c-Rel, p50/p105 (NF-κB1) ve p52/p100 (NF-κB2) olarak isimlendirilen 5 üyesi vardır (41,42,46 ). Tüm NF-κB üyeleri yaklaşık 300 aminoasitlik, "Rel-homoloji domain" (RHD) olarak adlandırılan N-terminal bölgesi içerir (46,47,48). Bu bölge nükleer lokalizasyon sinyali içermesinin yanı sıra (49) DNA'ya bağlanma, IκB'nin bağlanması ve dimerizasyona aracılık eder (46,47,48,49).

RelA, RelB ve c-Rel'in, C-terminal yarısı transkripsiyonel aktivasyon bölgesini içermektedir (47). p50 ve p52, her ikisi de, C-terminalinde ankirin tekrarları içeren, p100 ve p105 şeklinde uzun prekürsör proteinler olarak sentez edilirler (46,50). p100 ve p105, NFκB proteinleri ile dimer oluşturarak aktivitelerini inhibe eder (46 ).

Homodimer veya heterodimer olarak bulunurlar (49). Bu proteinlerin homodimer veya heterodimer oluşturmaları ile farklı NFκB kompleksleri ortaya çıkar (46). NFκB'nin birçok dimerik şekli tespit edilmiş olmasına rağmen, klasik formu p65 ve p50 alt birimlerinin oluşturduğu heterodimerdir (42). En yaygın bulunan dimerdir ve spesifik olarak NFκB olarak adlandırılmaktadır (47).

Yapısal olarak ve DNA dizilerine bağlanma özelliklerindeki benzerliklere rağmen, tüm NFκB altbirimleri birbirlerinden farklıdır ve birbirleri ile örtüşmeyen

işlevleri vardır (46). Örneğin, p50/p50 homodimerleri nükleusta bulunan NFκB bağlanma noktalarına bağlanmakta ancak p50/RelA formunun tersine inflamasyonda rol alan proteinlerin transkripsiyonunu engellemektedir (51). Bu kompleksler farklı transkripsiyonel aktivitenin yanı sıra, DNA dizilerine özgüllük ve hücre tip ve hücre evresine özgün dağılım gösterirler (41).

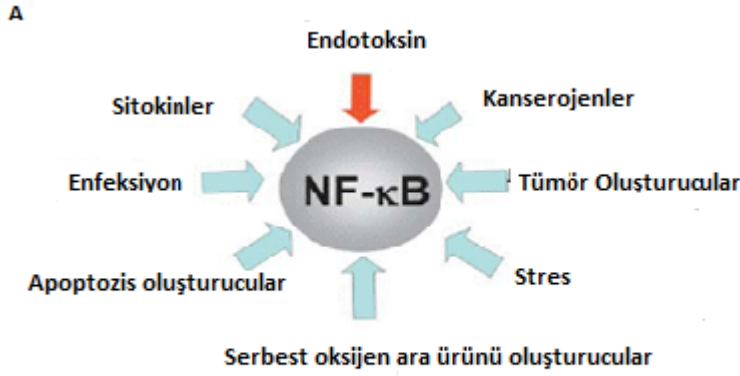
NFκB sitoplazmada IκB'ye bağlı ve inaktif olarak bulunur (43,52,49). NF-κB dimerlerinin DNA'ya bağlanma aktivitesi, birçok hücre tipinde, IκB tarafından kontrol edilmektedir (41,46).

NFκB transkripsiyon faktörleri, inflamasyon ve akut faz cevabında immün sistemin düzenlenmesinde anahtar rol oynar (47). Hücrelere dışarıdan bir uyarı geldiğinde NFκB aktive olarak çekirdeğe girer (43,52,53) ve DNA dizilerine dimerik şekilde bağlanarak (47,52) gen ekspresyonunu indüklemeye veya baskılamaya yolu ile etkilerini oluşturur (46).

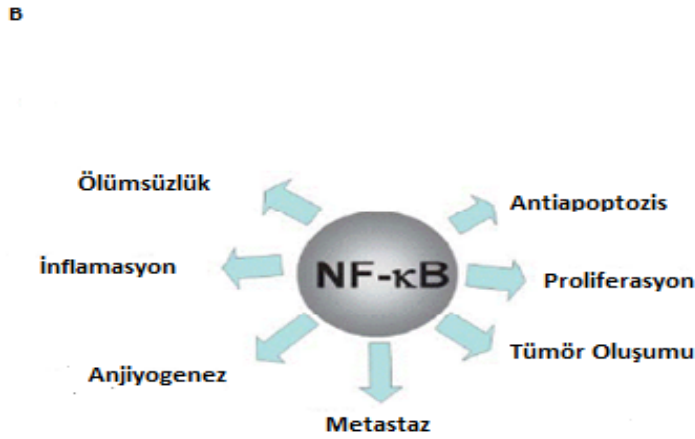
NFκB; Apoptoz, hücre adezyonu, hücre proliferasyonu, doğuştan ve sonradan kazanılan immün cevap, inflamasyon ve hücre stres üzerinde etkilidir (46,52,53). Bu etkilerini, enzimler, sitokinler, adezyon molekülleri, hücre döngüsünü düzenleyen moleküller, viral proteinler ve anjiyogenik faktörler gibi (43) birçok faktöre ait genin ekspresyonunu başlatarak yapar (43,46,52,53).

NFκB aktivasyonu stres, sigara içimi, bakteri, virus, inflamatuvar uyaranlar, sitokinler, serbest radikaller, karsinojenler, tümör promotörleri ve endotoksinler gibi bir çok etken tarafından indüklenir (Şekil 2 A). Hücre yaşamı, proliferasyon, anjiyogenez, inflamasyon ve metastaz olaylarında etkili olan genlerin ekspresyonunu düzenler (Şekil 2 B) (45).





**Şekil 2. A:** NFκB'yi aktive eden uyarılar (45).



**Şekil 2. B** NFκB ile düzenlenen olaylar (45).

NFκB aktivasyonu iki ucu keskin bir kılıçtır. Sağlıklı bir bağışıklık sistemi için gereklidir fakat, düzensiz bir NFκB aktivasyonu inflamasyon ve tümör gelişimine aracılık edebilir. Bu durum, özellikle proinflamatuvar bir hastalık olan kanser için dikkat çekicidir. Çoğu inflamatuvar etken, etkisini NFκB aktivasyonu aracılığı ile yapar (45). NFκB'nin artmış aktivasyonu, astım, inflamatuvar artrit, septik şok, akciğer fibrozisi, diyabet, kanser, AIDS, ateroskleroz ve felç gibi inflamasyon ile ilişkili çeşitli hastalıklar ve patolojik durumlarda saptanmıştır (42,50). NFκB'nin tamamen ve sürekli inaktivasyonu, apoptozis, immün hücrelerin uygunsuz gelişimi ve gecikmeli hücre büyümesine yol açmaktadır (50). Antiinflamatuvar ve antikanserojen ilaçların bazıları, NFκB aktivasyonunu inhibe etmektedirler (42,50).

NFκB faktörlerini kodlayan genlerin fazla ekspresyonu ve yeniden düzenlenmesi, insanlarda birçok hematopoetik ve solid tümörlerde bildirilmiştir. Kinazların sürekli aktivasyonu ya da inhibitör IκB alt birimlerinin mutasyon sonucu inaktif olmasının, sürekli bir NFκB aktivitesi oluşturduğu birçok insan kanser hücre tipinde gösterilmiştir (47).

### **NFκB Aktivasyon Yolu**

NFκB, uyarılara cevap oluşturan çeşitli reseptör sistemleri ile aktive edilir. İki farklı yol vardır. Bu yollar klasik (kanonikal) yol ve alternatif (nonkanonikal) yoldur (49,54). NFκB aktivasyonunun klasik ve alternatif her iki yolu, timik stromanın gerçekleştirdiği otoimmün reaksiyonların kontrolü ile ilgilidir (30).

Bu yollar birbirinden, IκB komplekslerinin uyarılara cevap olarak yıkımını kontrol eden, yapısında birden fazla protein içeren iki IκB kinase (IKK) ile ayırt edilir. Kanonikal ve nonkanonikal sinyal yolunun ikisi de immün sistemin fonksiyonlarında önemli rol oynamaktadır, ancak rolleri şaşırtıcı derecede farklı görünmektedir. Kanonikal yol dakikalar içinde hızla aktive olmaktadır. Nonkanonikal yolda ise uyarana cevap yavaştır ancak, NFκB aktivitesi çok daha uzun süre, saatler hatta günlerce devam etmektedir (54).

NFκB; inflamatuvar sitokinler, TNF-α ve IL-1, T hücre aktivasyon sinyalleri, büyüme faktörleri ve stres dahil, çeşitli uyarılar tarafından dakikalar içinde aktif hale getirilebilir. NFκB'nin aktivasyonu, IκB'in, IKK tarafından serin 32 ve 36 kalıntıları üzerinden fosforilasyonunu (42) takiben proteozomlar tarafından yıkımı ve NFκB'nin çekirdeğe taşınması ile gerçekleşir (46). IκBα'nın fosforilasyonu da aynı şekilde, N-terminal ucundaki iki spesifik serin bölgesi fosforile olur ve IκBα yıkılarak NFκB aktifleşir. Nükleer lokalizasyon sinyalleri gerçekleşir ve transkripsiyon başlar (50,55,56).

### **NFκB Sinyalinin Klasik Yolu**

En fazla işlev gören yoldur. Tümör nekroz faktör reseptörü (TNFR), Toll benzeri reseptör (TLR), interlökin-1 reseptörü (IL-1R), T hücre reseptörü (TCR) (49,

30) ve B hücre reseptörü (BCR) yollarının (30) stimülasyonu ile başlatılır (49). TNF $\alpha$ , IL-1, lipopolisakkaritler gibi çeşitli inflamatuvar uyarılara cevap olarak bu yol indüklenmektedir (46). Bu yolda, I $\kappa$ B dizileri tarafından düzenlenen genlerin güçlü transkripsiyonel aktivatörü, klasik NF $\kappa$ B olarak bilinen primer NF $\kappa$ B izoformu p50-RelA dimeri etkilidir (54).

Stimüle olmamış durumdaki hücrelerde, I $\kappa$ B proteinleri NF $\kappa$ B (p50-p65) aktivitesini inhibe eder ve sitoplazmada kalmasını sağlar (49,54). Stimülasyon sonrası I $\kappa$ B proteinleri I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$ , ve I $\kappa$ B $\epsilon$ 'un N-terminal bölgesinde bulunan (54) serin 32 ve serin 36 kalıntıları hızla fosforile olur ve daha sonra 26S proteozom ile ubiquitin bağımlı yıkım gerçekleşir (46,53). Serbest kalan NF $\kappa$ B dimeri DNA'ya bağlanır ve ilgili genleri aktive eder (54). I $\kappa$ B fosforilasyonu ise IKK kompleksinin aktivasyonu ile olur. IKK kompleksi, üç ana alt birimlerinden oluşur; IKK $\alpha$  (IKK1), IKK $\beta$  (IKK2) katalitik alt birimleri ve NF $\kappa$ B esansiyel modifier (NEMO, IKK $\gamma$ ) olarak adlandırılan düzenleyici alt birimin birkaç kopyası (46,57).

NF $\kappa$ B klasik yolunun başlangıç aktivasyonu tipik olarak hızlıdır, de novo protein sentezini gerektirmez. Hücre stimüle olduktan sonra on dakika içinde hücre çekirdeğinde NF $\kappa$ B aktivitesinin arttığı saptanabilir. Güçlü bir negatif geri bildirim mekanizmasına aracılık eden I $\kappa$ B $\alpha$ , erken cevabı başlatmaktadır (54).

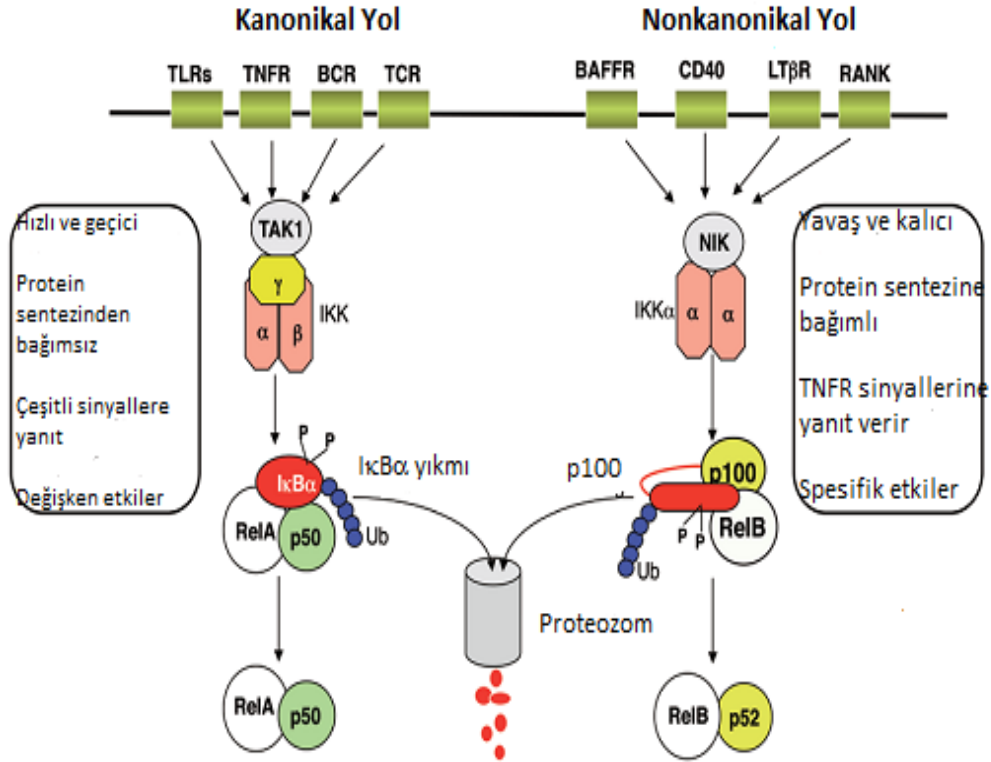
Klasik yol ile aktivasyon apoptozun inhibisyonunda ve aynı zamanda inflamatuvar cevapların başlatılmasında kritik rol oynar. Bunu da, proinflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin, lökosit adezyon moleküllerinin ve antiapoptoz genlerinin büyük çoğunluğunun ekspresyonunu düzenleyerek yapar. Bu yollardaki aracı proteinler farklı da olsa tüm yollar sonuçta IKK kompleksinin aktivasyonunda birleşir (49). Genetik çalışmalar, klasik yolda IKK $\beta$ 'nın baskın IKK olduğunu göstermiştir (46) (Şekil 4).

### **NF $\kappa$ B Sinyalinin Alternatif Yolu**

Birkaç non inflamatuvar uyarının çeşitli hücre tiplerinde nonkanonikal yolu ortaya çıkardığı gösterilmiştir (54). Asıl işlevi immün cevaba aracılık etmek, lenfoid organogenezi ve B hücre olgunlaşmasını düzenlemektir. Bu yol, TNF reseptör

ailesine ait olan, aralarında lenfotoksin beta reseptör (LT $\beta$ R), CD40, NF $\kappa$ B reseptör aktivatörü (RANK) ve B hücre aktive edici faktör reseptörünün (BAFFR) de bulunduğu bir grup reseptör tarafından başlatılır (46,49). Bu yolda IKK $\alpha$  dimerleri, NF $\kappa$ B indükleyici kinaz (NIK) tarafından indüklenir. IKK $\alpha$  dimerleri, p100 proteinlerini 26S proteozomlar aracılığı ile ubiquitinleyerek p52 oluşturur. Alternatif yolda aktive olan p52–RelB heterodimerleri, farklı  $\kappa$ B'lere yüksek afinite gösterir ve böylelikle farklı NF $\kappa$ B hedef genlerini düzenleyebilir (46).

NF $\kappa$ B'nin klasik yolu çeşitli infeksiyöz, otoimmün hastalıklar ve kanserle alternatif yola göre daha ilişkili bulunmuştur. (49) (Şekil 3).



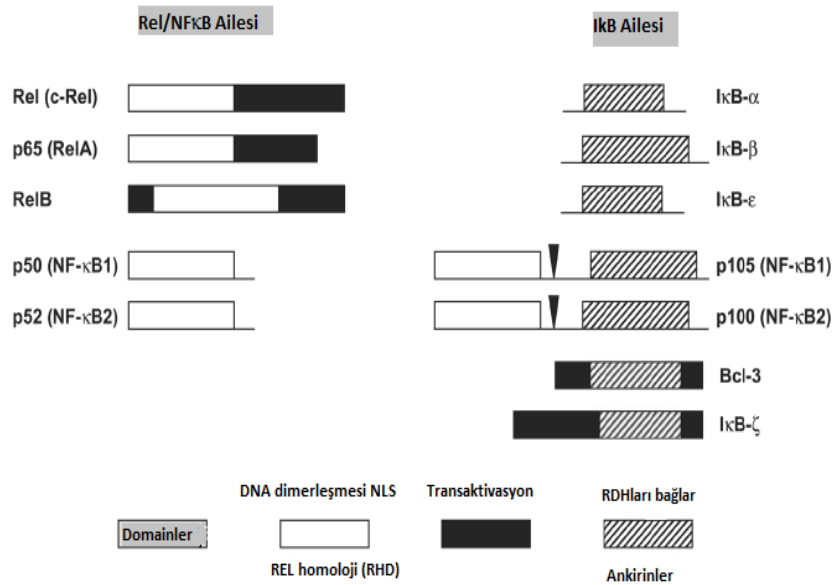
**Şekil 3. Kanonikal ve non-kanonikal NF $\kappa$ B sinyal yolu**

**Kanonikal yol;** immün sistem reseptörlerinin aracılık ettiği çeşitli sinyallerle tetiklenir. Tak (transforming growth factor activated kinase) 1 tarafından IKK kompleksinin aktivasyonunu içerir, IKK I $\kappa$ B $\alpha$ 'nın fosforilasyonuna ve yıkımına aracılık eder. NF $\kappa$ B proteinlerinin prototipi, heterodimer RelA-p50'nin hızlı ve geçici nükleer translokasyonu ile sonuçlanır.

**Non-kanonikal yol;** p100 fosforilasyon sürecini içeren bu yol TNFR ailesinin alt gruplarının sinyalleri ile tetiklenir. Bu yol NIK ve IKK $\alpha$  bağımlıdır ve RelB/p52 kompleksinin kalıcı aktivasyonuna aracılık eder (58).

## NFκB İnhibitörleri (IκB)

IκB ailesi, DNA'ya bağlanmayı inhibe etmekte ve NFκB komplekslerinin hücre çekirdeğine alımını engellemektedir. Bir istisna olarak, Bcl-3, çekirdekte transkripsiyonu aktive eder (41,59). IκB ailesi, IκBα, IκBβ, IκBγ, IκBδ, IκBε, IκBζ, Bcl-3 (B hücre CLL/lenfoma 3), p100 ve p105'i içerir (30,15). Memeli hücrelerinde temel olarak IκBα, IκBβ ve IκBε olmak üzere üç IκB bulunmaktadır (42,46). p105 proteinin C-terminal yarısı IκBγ, p100'ün C-terminal yarısı ise IκBδ'dir (59) (Şekil 4).



**Şekil 4.** Memeli NFκB ve IκB polipeptidleri ailesi. Saklı kalmış domainleri ve birincil işlevleri. Ankininler, ankinin tekrarları (Bağlanma fonksiyonları ve RHD inhibisyonu; Bcl-3 ve IκBζ dışındadır çünkü onlar NFκB aktivitesinin klasik inhibitörü olarak fonksiyon görmezler); NF-κB, nükleer faktör-κB; IκB, inhibitör NFκB; RHD, Rel homoloji domain; NLS, nükleer lokalizasyon dizisi; Transaktivasyon; transaktivasyon domain (30).

IκB ailesindeki tüm proteinler, protein-protein etkileşimleri için önemli olan ve ankinin tekrarı olarak bilinen, yapısal motifin birden fazla kopyasını içermektedirler (59). Bu ankinin tekrarları NFκB'nin RHD'sine bağlanmaktadır. NFκB'lerin RHD'sinde bulunan nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) maskeleyerek işlevlerini yaparlar (46). Farklı IκB molekülleri tercihen farklı NFκB proteinlerini inhibe etmektedir (10) ve farklı kinetikler ve sinyaller ile indüklenen proteozomal yıkıma uğrarlar (49).

## **IkBa (İnhibitör Kappa B Alfa)**

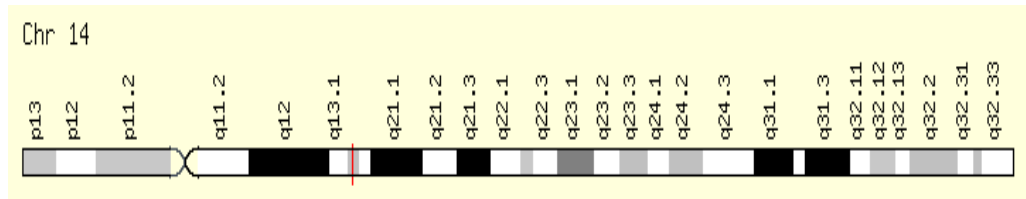
IkBa; Hem sitoplazma hem de çekirdekte bulunan, IkB ailesinin klasik üyesidir (59,15). NFκB'ye bağlanarak çekirdeğe taşınmasını ve DNA'ya bağlanmasını engeller (60). IkBa, NFκB'nin kontrolünde güçlü bir negatif "feedback" sağlamaktadır (49).

IkBa geninin düzenlenmesi de NFκB tarafından gerçekleştirilmektedir. IkBa'nın aktivasyonu, NFκB komplekslerinin aktivasyonu ile başlar. *IkBa* geninin promotorunda NFκB bağlanma bölgeleri bulunmaktadır (61). Bu bölgeye bağlanan NFκB kompleksleri tarafından IkBa geni indüklenmektedir. IkBa proteinlerinin yıkımı, NFκB'nin DNA'ya bağlanma aktivitesini başlatır. Yeni sentezlenen IkBa proteinleri ise NFκB aktivitesini inhibe eder (61).

IkBa çekirdekte eksprese edildiği zaman, DNA ile NFκB'nin etkileşimini inhibe eder ve hücre çekirdeğinden sitoplazmaya taşınmasını sağlar. IkBa'nın C-terminal domaini NFκB dimerleri ile bağlı DNA'yı ayırır (16).

Hücrel stimülasyon yokluğunda bile NFκB–IkBa kompleksleri çekirdeğe gidip gelmektedir. IkBa aynı zamanda bu komplekslerin sitoplazmaya hızla geri taşınmalarını sağlayan nükleer dışarı taşınma dizileri (nuclear export sequence, NES) içerir (46).

İnsan *IkBa* geni kromozom üzerinde 14q20 bölgesinde lokalize olmuştur. Altı ekzondan oluşur ve yaklaşık olarak 3,5 kb'lık bir bölgeyi işgal eder (62).



**Şekil 5.** Kromozom 14 üzerinde IkBa geninin gösterilmesi (63).

IkB $\alpha$  proteini üç kısımdan oluşmaktadır;

N terminal bölge: Bu bölgede, ubiquitin-proteozom yolu aracılı IkB $\alpha$  yıkımına bağlı sinyaller düzenlenmektedir.

Ankirin bölgesi: 30-33 aminoasitlik 6 kopyadan oluşan ankirin tekrarı içermektedir.

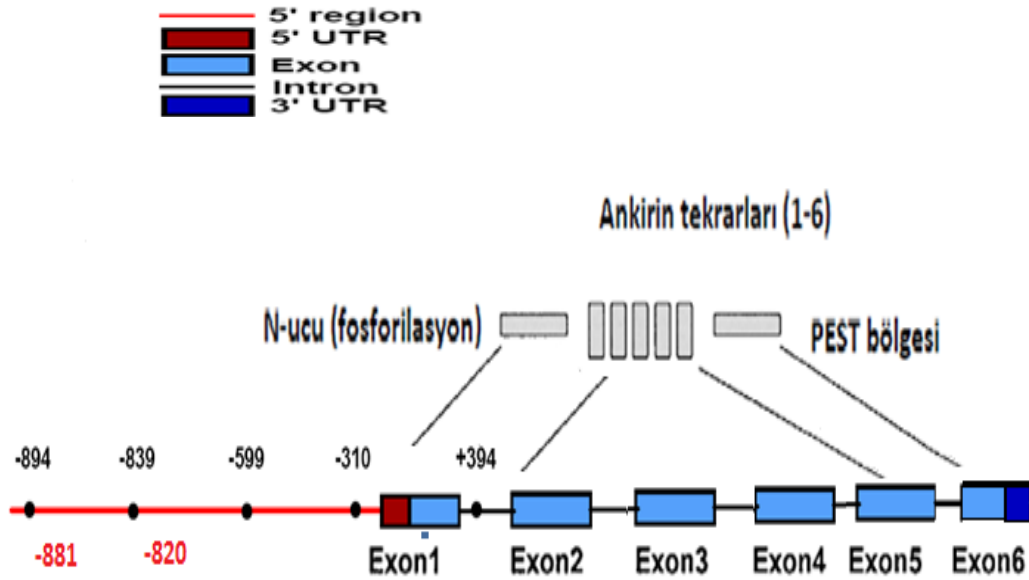
C- terminal PEST bölgesi: Prolin-glutamat-serin-treonin amino asitlerinden zengindir (46).

Ekzon 1; serin kalıntıları içeren N-terminal bölgeyi kodlar.

Ekzon 2-5; ankirin tekrarlarını kodlayan bölge,

Ekzon 6; C- terminal PEST bölgesini kodlar (64) (Şekil 6).

### IkB $\alpha$ Geni ve Proteini



Şekil 6. IkB $\alpha$  geni ve proteininin şematik gösterimi (49,64 nolu literatürlerden birleştirilmiştir).

### ***IκBα* Gen Bozuklukları**

Klement ve arkadaşları *IκBα*'nin sürekli eksikliğinde, anormal NFκB cevabını ve ciddi yaygın dermatit varlığını göstermişlerdir (65). *IκBα* "knockout" farelerin artmış TNFα ve mRNA düzeyleri ile birlikte 7-10 gün içinde öldüğü ve NFκB tepkisinin normal olarak sonlandırılması için *IκBα* nın mutlak bir gereklilik olduğu ileri sürülmüştür (65,17).

*IκBα* promotor bölgesinde allel farklılıkları görülebilmektedir. Promotor bölgede olan allel farklılıklarının *IκBα* ekspresyonunu böylece enfeksiyona ve doku hasarına karşı gelişen immün cevabın düzenlenmesini etkileyebileceği bildirilmektedir (7). *IκBα* promotor bölge -881G, -826T, -550A, -519C, -297C polimorfizmlerinin, kronik inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarla ilişkili olabileceği çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (7,10,15,16,17,18,66).



## GEREÇ VE YÖNTEM

### Çalışma Grupları

Pamukkale Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Romatoloji Kliniğine başvuran ve AECG kriterlerine göre primer Sjögren sendromu tanısı almış, 18-80 yaşları arasında 103 hasta çalışmamızın hasta grubunu oluşturmuştur. Bilinen kronik, metabolik, ve malign hastalığı olmayan sağlıklı olarak kabul edilen 19-71 yaşları arasında 99 birey kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm hastalar pSS tanısı almış olup sekonder Sjögren sendromu olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmanın yapılabilmesi için Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu onayı alınmıştır.

Bireylerden iki adet EDTA'lı tüpe 2'şer ml kan alındı. EDTA'lı tüpe alınan örneklerden biri yedek kan olarak 20 °C de saklandı, diğer tüp ise DNA izolasyonu yapılana kadar en fazla bir hafta süre 2-8 °C'de buzdolabında saklandı.

### Cihazlar

- Soğutmalı masa üstü santrifüj (Hettich, MİKRO 22 R, Almanya)
- Etüv (EN 500, Nüve, Türkiye)
- Vorteks/Spin santrifüj (FVL-2400N, Biosan, Letonya)
- Kuru ısıtıcı blok (TDB120, Biosan, Letonya)
- Yatay elektroforez seti (Model 75.1214, Model75.71,CLP, ABD)
- Elektroforez güç kaynağı (Pover station 300, Labnet, ABD)
- Thermal cycler (ATC 201, CLP, ABD)
- Spektrofotometre (U.V 1601, Shimadzu, Japonya)
- Mikrodalga fırın (Beko, Türkiye)
- -20°C derin dondurucu (Beko, Türkiye)
- Buzdolabı (Vestel, Türkiye)
- Hassas terazi (Sartorius, Almanya)
- Jel görüntüleme sistemi (Gel Logic 200, Kodak, ABD)
- Otomatik pipet seti (Discovery comfort, 1-10 µL, 10-100 µL, 100-1000 µL)

## **Sarf Malzemeler**

- 10 µL, 100 µL, 1000 µL Otomatik pipet ucu filtreli (Greiner bio-one, Almanya)
- 0.2 µL kapaklı tüp (Greiner bio-one, Almanya)
- 1.5 µL nükleaz içermeyen kapaklı mikrosantrifüj tüpü (Greiner bio-one, Almanya)
- EDTA'lı tüp (Greiner bio-one, Almanya)
- QIAamp DNA Mini kit (QIAGEN, Almanya)
- Etanol (Merck, Almanya)
- Primerler (Alpha DNA, Kanada)
- dNTP karışımı (Vivantis, Malezya)
- Tag polimeraz (Fermentas, Kanada)
- 10x tampon (Fermentas, Kanada)
- Magnezyum klorür (Fermentas, Kanada)
- Bfa I restriksiyon enzimi (Fermentas, Kanada)
- Tsp RI restriksiyon enzimi (Fermentas, Kanada)
- Gen50 DNA ladder (Hopegen, Tayvan)
- Agaroz Plus (Prona, İspanya)
- Borik asit (Scharlau, İspanya)
- EDTA (Applichem, Almanya)
- Etidyum bromür (Scharlau, İspanya)
- Jel yükleme boyası
- Sodyum hidroksit (J.T. Baker, Hollanda)
- TRIS (Base) ( Bio Basic, Kanada)
- Cam malzemeler

## **Kullanılan Çözeltiler**

TBE Tamponu: 27,5 gr borik asit ve 54 gr tris-baz tartıldı. Üzerine 20 mL 0,5 M (pH 8,0) EDTA eklendi. Son hacim sterilize edilmiş distile su ile 1000 mL'ye tamamlandı. Oda ısısında saklandı.

0,5 M EDTA (pH 8,0): Sodyum hidroksit ile pH 8'e ayarlandı, otoklavda sterilize edildi.

### **Agaroz Jel Hazırlanması:**

**%2 lik agaroz jel:** 0.8 g agaroz 40ml TBE ile çözüldü.

**%2.5 luk agaroz jel:** 1.25 g agaroz 50ml TBE ile çözüldü.

Karışımlar mikrodalga fırında ısıtılarak agarozun eriyerek çözünmesi sağlandı. Biraz soğuduktan sonra 2,5 µl EtBr eklendi ve elektroforez tankına döküldü ve 30 dk bekletildi.

### **DNA İzolasyonu**

DNA izolasyonu EDTA'lı tam kan örneklerinden QIAamp DNA Mini kit kullanılarak yapıldı.

### **DNA İzolasyon İşlemi**

- 1) 1.5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne 20 µL Proteinaz K konuldu.
- 2) EDTA'lı tüpe alınmış olan kan örneğinden 200 µL eklendi.
- 3) 200 µL AL (lisis tamponu) tampon eklendi. Etkin lisis için örnek ile tampon iyice karıştırıldı ve homojen olması sağlandı.
- 4) 15 sn vorteks yapıldı.
- 5) 56°C'de 10 dakika inkübe edildi.
- 6) Mikrosantrifüj tüpündeki damlacıkları aşağı indirmek için kısaca santrifüj edildi.
- 7) 200 µL etanol (%96-100) eklendi.
- 8) 15 sn vorteks yapıldı.
- 9) Mikrosantrifüj tüpündeki damlacıkları aşağı indirmek için kısaca santrifüj edildi.
- 10) Mikrosantrifüj tüpünün içeriği 2 ml toplama tüpünün üstüne yerleştirilmiş olan spin kolona uygulandı.
- 11) 6000 ×g (8000 rpm)'de 1 dk santrifüj edildi.
- 12) Spin kolon 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne aktarıldı. Filtrat içeren tüp atıldı.

- 13) 500 µL AW1 tamponu (yıkama solüsyonu 1) spin kolona eklendi.
- 14) 6000 ×g (8000 rpm)'de 1 dk santrifüj edildi.
- 15) Kolon 2 mL'lik yeni bir toplama tüpüne aktarıldı. Filtrat içeren tüp atıldı.
- 16) 500 µl AW2 tamponu (yıkama solüsyonu 2) spin kolona eklendi.
- 17) 20000 ×g (14000 rpm)'de 3 dakika santrifüj edildi.
- 18) Spin kolon 1.5 mL'lik steril mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Filtrat içeren tüp atıldı.
- 19) 200 µl AE (elüsyon tamponu) tamponu eklendi. DNA eldesini arttırmak için, AE tamponu konulmuş kolon, 5 dk oda ısısında inkübe edildi.
- 20) 6000 ×g'de 1 dk santrifüj edildi.
- 21) Saf DNA, mikrosantrifüj tüplerinin içindeki AE elüsyon tamponu içine süzüldü ve elde edilen elüat -20°C de PCR için kullanılmaya kadar saklandı.

### **DNA Saflığının Değerlendirmesi**

DNA örnekleri distile su ile 1/100 oranında seyreltildi. Spektrofotometrenin kör ayarı distile su ile yapıldıktan sonra nükleotidlerin heterosiklik halkalarının maksimum absorpsiyon verdikleri 260 nm'de DNA'nın ve 280 nm'de de RNA ile proteinlerin vermiş olduğu absorpsiyonlar ölçüldü.

260 nm'de okunan absorpsiyonun, 280 nm'de okunan absorpsiyona bölünmesi ile elde edilen orana bakılarak DNA izolasyonunun saflığı değerlendirildi. Saf bir DNA izolasyonu için bu oran 1,7-1,8 olmalıdır (67).

### **DNA Miktarının Hesaplanması**

DNA'nın 260 nm'de vermiş olduğu 1 birimlik absorpsiyon 50 µg/mL DNA'ya karşılık gelir. Buna göre elde edilmiş olan DNA'nın miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı (67).

DNA miktarı (µg/mL): Seyreltme katsayısı (100)xA<sub>260</sub>x50

## PCR Koşulları

Elde edilen DNA örneklerinden, hedef *IκBα* gen bölgesinin –826 ve –881 promotor bölgesini içeren 200 baz çiftlik (bp) bölgenin çoğaltılması için aşağıdaki baz dizisine sahip oligonükleotidler kullanıldı (10).

Primer sense: 5'-GGTCCTTAAGGTCCAATCG-3'

Primer antisense: 5'-GTTGTGGATACCTTGCACTA-3'

**Tablo 2.** PCR karışımı

PCR Karışımının içeriği	1 örnek için (μL)
10x PCR tamponu	5
dNTP karışım	1
MgCl <sub>2</sub>	5
Oligonükleotid F	2
Oligonükleotid R	2
Tag polimeraz	0,5
Distile su	31,5
Toplam hacim	47

PCR; polimeraz zincir reaksiyonu, dNTP; deoksitükleotid trifosfat

Örnek sayısına uygun olarak PCR karışımı hazırlandı. Kontrol PCR tüpüne negatif kontrol için 3 μL distile su ve örnek tüplerinin her birine 3μL DNA örneği konulduktan sonra üzerine PCR karışımı eklendi. Tüpler Thermal Cycler cihazına yerleştirildi (10).

İlk aşamada tüpler, 95°C'de 3 dk ısıtılarak çoğaltılacak olan DNA çift sarmalının birbirinden ayrılması sağlandı.

İkinci aşamada 5 döngü, 1 dk 95 °C'de çift zincirlerinin iyice ayrılması, 1 dk 56 °C'de primerlerin bağlanması ve 1 dk 72 °C'de uzaması sağlandı.

Üçüncü aşamada 35 döngü, 1 dk 95 °C’de çift zincirlerinin ayrılması, 1 dk 54 °C’de primerlerin bağlanması ve 1 dk 72 °C’de uzaması sağlandı.

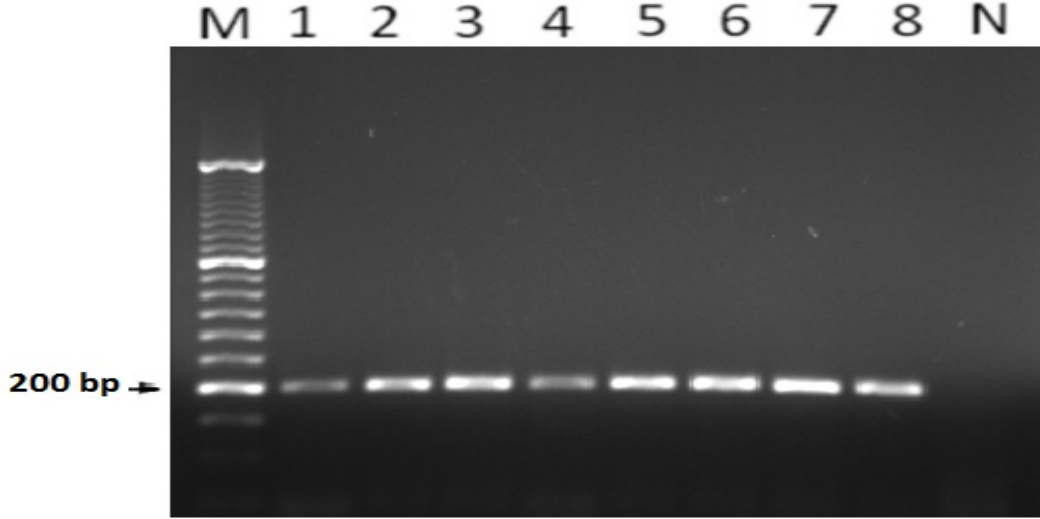
En son aşamada ise 72 °C’de 7 dk ek bir inkübasyon ile uzama sağlandı.

**Tablo 3.** PCR Protokolu

Aşama	Döngü	Kademe	Sıcaklık (°C)	Zaman (dk)
1	1	1	95	3
2	5	1	95	1
		2	56	1
		3	72	1
3	35	1	95	1
		2	54	1
		3	72	1
4	1	1	72	7

### **PCR ürünlerinin elektroforezi ve görüntülenmesi**

PCR ürünleri % 2’lik agaroz jel elektroforezi ile 140 Volt’ta 50 dk yürütüldü. Agaroz jelin ilk kuyucuğuna 50 bp’lik DNA marker, diğer kuyucuklara 2 µl Orange-G boyası ile karıştırılan 5 µl örnek yüklendi. Ürünler Kodak Gel Logic 200 UV görüntüleme cihazında görüntülendi (Şekil 7).



**Şekil 7.** PCR sonrası IκBα promotor –826 bölgeye ait elektroforez görüntüsü

M: Marker, N: Negatif kontrol

#### **IκBα Promotor Bölge –826 C/T ve –881A/G Polimorfizminin Gösterilmesi**

IκBα geninin –826 ve –881 promotor bölgesinin çoğaltılması ile elde edilmiş olan 200 bp’lik hedef DNA’nın incelenmesi için RFLP yöntemi kullanıldı. –881 promotor bölgesi için TspRI restriksiyon enzimi, –826 promotor bölgesi için BfaI restriksiyon enzimi ile kesim yapıldı (10).

Her bir enzim için kesim karışımı aşağıdaki şekilde hazırlandı:

**Tablo 4.** Restriksiyon protokolu

Kesim karışımının içeriği	1 örnek için miktar (µL)
10x Kesim tamponu	2
TspRI veya Bfa kesim enzimi (1 U/µL)	1
Distile su	17
PCR ürünü	10
Toplam hacim	20

–881 için 65°C’de 5 dk, –826 için 37°C’de 5 dk ısıtıcılı blok üzerinde inkübe edildi.

### **Kesim Ürünlerinin Elektroforezi ve Görüntülenmesi**

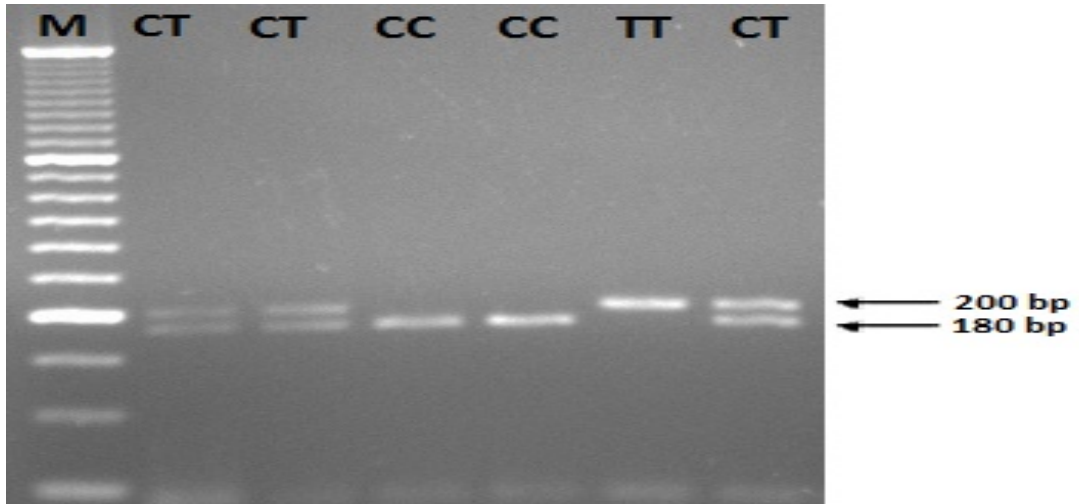
Kesim ürünleri PCR ürünleri % 2,5’luk agaroz jel elektroforezi ile 140 Volt’ta 50 dk yürütüldü. Agaroz jelin ilk kuyucuğuna 50 bp’lik DNA marker, diğer kuyucuklara 8 µl örnek yüklendi. Ürünler Kodak Gel Logic 200 UV görüntüleme cihazı ile görüntülendi.

#### ***IκBα* –826 C/T (rs2233406)**

–826 C/T polimorfizminin saptanması için kullanılan BfaI restriksiyon enziminin kesim bölgesi aşağıda gösterilmiştir.

[C↓TAG]

Sağlam gen bölgesi bir kesim bölgesine sahiptir. Kesim sonucunda 180 bp ve 20 bp’lik parçalar ortaya çıkmaktadır. Polimorfik gen bölgesi ise kesilmez. Heterozigot durumda 200, 180, 20 bp’lik ürünler ortaya çıkar (Şekil 8 ).



**Şekil 8.** *IκBα* promotor –826, RFLP sonrası elektroferez görüntüsü

M: Marker, CT: Heterozigot polimorfik, CC: Sağlam, TT: Homozigot polimorfik

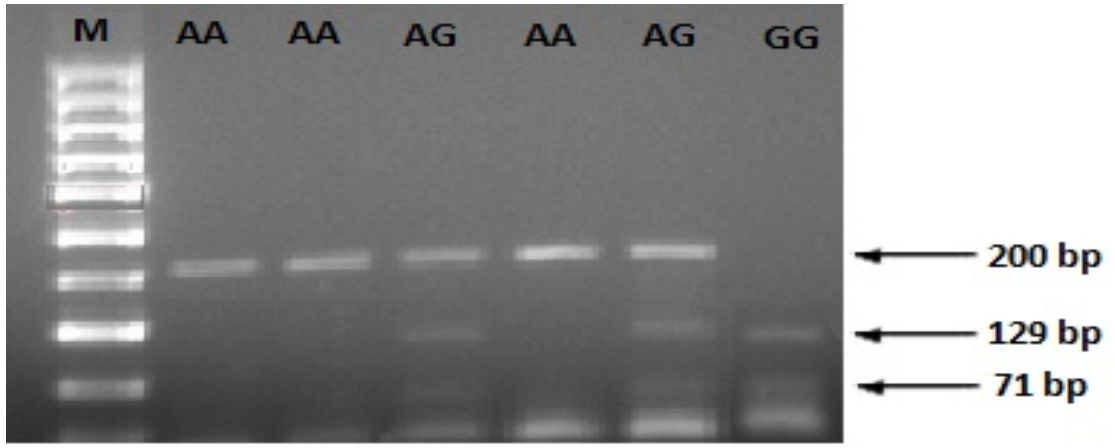


### ***IκBa* –881 A/G (rs3138053)**

–881 A/G polimorfizminin saptanması için kullanılan TspRI restriksiyon enziminin kesim bölgesi aşağıda gösterilmiştir.

[CASTG(2/-7)↓ (S= C veya G)]

Polimorfik allel bir TspRI kesim yerine sahiptir ve kesim sonucunda 129 bp ve 71 bp'lik parçalar ortaya çıkmaktadır. Heterozigot durumda 200, 129 ve 71 bp'lik ürünler oluşmaktadır (Şekil 9).



**Şekil 9.** *IκBa* promotor –881, RFLP sonrası elektroforez görüntüsü

M: Marker, AA: Sağlam, AG: Heterozigot polimorfik, GG: Homozigot polimorfik

### **İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analiz SPSS 11.0 (Chicago, ABD) versiyonu kullanılarak yapıldı. Çalışma grubu genotip ve polimorfizm dağılımı Ki-kare testi ile değerlendirildi. Gruplar arasında genotip dağılımının ve allel sıklığının anlamlı farklı olup olmadığının kontrolü için Ki-kare testi kullanıldı.

Tüm analizlerde  $P < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## TARTIŞMA

Primer Sjögren sendromu, T lenfosit ve B lenfosit hücrelerinin gözlendiği lenfositik infiltrasyon ile karakterizedir (68). Genetik bir yatkınlık varlığında hormonal, çevresel ve enfeksiyöz nedenler aracılığı ile hastalığın ortaya çıkışı tetiklenmektedir (37). Anormal B ve T hücre aktivasyonu pSS'li hastalarda sistemik ve lokal otoimmüniteyi uyarmakta (10) ve hedef organın invazyonu ve yıkımına neden olmaktadır (22).

Transkripsiyon faktörü NFκB inflamatuvar ve diğer hücrel yanıtı düzenler (7). Normal lenfosit ve dendritik hücrelerin yaşaması, aktivasyonları ve gelişimleri ve lenfoid organ morfogenezi için gereklidir. NFκB fonksiyonu ya da kontrolünde bir bozukluk olduğu zaman, timustan otoreaktif T hücreleri periferik salınır ve antijenik uyarılar otoimmün hastalığı tetikleyebilir. Otoimmün hastalıklarla ilgili çok sayıdaki araştırma, NFκB'nin inflamatuvar sitokinlerin indüksiyonu ve inflamasyonun diğer mediyatörleri ile ilişkili olduğunu kanıtlamıştır. Otoimmün hastalıklarda, patojenik süreci başlatabilen T hücrelerinin timusta gerçekleşen seleksiyonunda ve otoreaktif B hücrelerine karşı seleksiyonda bozukluk vardır (26).

Sjögren sendromu genetik temelde, birden fazla disfonksiyonel genin çeşitli hastalık tabloları oluşturacak şekilde veya hastalığın gelişimini indükleyecek şekilde birbirleri ile etkileşmesi ile oluşan karmaşık bir bozukluktur (5). Bazı HLA ve HLA olmayan, genlerin ve sitokinlerin pSS'in patogenezi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Diğer immünite ile ilgili genlerin de bu bozukluk ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (10).

IκB, NFκB'nin transkripsiyon işlevini engeller (10). Uyarılarla karşılaşmamış (7) yani istirahat halindeki hücrelerde, NFκB aktivitesinin kontrolünde esas rol oynayan çeşitli IκB proteinlerine bağlı bulunmaktadır. Bu proteinler NFκB'nin nükleer lokalizasyonunu maskeler, sitoplazmada kalmasını sağlayarak, DNA'ya bağlanmasını önler. Fosforilasyon sonucunda IκB molekülleri yıkılır, NLS gerçekleşir ve transkripsiyon başlar (17).

*IκBα* promotor bölgesinde, *IκBα* ekspresyonuna etki eden allel farklılıklarının (7) kronik inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (15). *IκBα* geninde promotor bölge –881 ve –826 polimorfizm prevalansını gösteren ilk çalışma Mozzato–Chamay ve arkadaşlarının trahom ve slikozisli hastalarda yaptıkları çalışmadır (17).

Mozzato–Chamay ve arkadaşları (7) trahomlu hastalarda –881 G ve –826 T allel sıklığının kontrol grubu ve slikozisli hasta grubundan daha düşük olduğunu göstermiştir. Yazarlar hasta grubunda *IκBα* –881G –826T haplotip sıklığının düşük olmasının, skatrizan trahom gelişimine karşı koruyucu bir rolü olabileceğini öne sürmüştür. Fakat haplotip sıklığı silikozis riskinin azalması ile ilişkili bulunmamış ve TNFα fazla üretimini de içeren NFκB aracılı inflamatuvar cevaplar da dahil olmak üzere her iki hastalıkta, aynı NFκB ile ilişkili mekanizmanın etkili olmayabileceği belirtilmiştir.

*IκBα* promotor bölge –881 ve –826 pozisyonları ile ilgili sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Bazı hastalıklar ile ilişkili bulunmuştur. Primer SS'li hastalarda *IκBα* promotor bölge polimorfizminin incelendiği tek çalışma, Ou ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadır (10). Bu çalışmada –881 AA ve GG genotip sıklığı, hasta grubunda (sırası ile % 86.7 ve % 0) kontrol grubundan (sırası ile % 75.5 ve %1.8) anlamlı olarak farklı saptanmamış iken, AG genotip sıklığı hasta grubunda (% 13.3) kontrol grubundan (% 22.2) anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Biz ise çalışmamızda, AA, GG ve AG genotiplerini, hasta grubunda, kontrol grubundan farklı bulmadık.

Ou ve arkadaşlarının (10) çalışmasında –826 CC ve TT genotip sıklığı hasta grubunda (sırası ile % 4.1 ve %65.3) kontrol grubundan (sırası ile % 64.5 ve %5.5) anlamlı olarak farklı iken, CT genotip sıklığı hasta grubunda (% 30.6) kontrol grubundan (% 30) anlamlı olarak farklı bulunmamıştır. Biz ise çalışmamızda, CC ve CT genotiplerini, hasta grubunda kontrol grubundan farklı bulmadık. Çalışmamızda –826 TT genotip sıklığı hasta grubunda (%9.7) kontrol grubundan (%5.1) yüksek bulunmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Ou ve arkadaşlarının (10) çalışmasında –881 G alleli taşıyıcılığı hastalarda (%13.3) kontrol grubundan (%22.9) anlamlı olarak düşük saptanmış iken, bizim çalışmamızda G alleli taşıyıcılığı hasta grubunda kontrol grubundan farklı saptanmamıştır. Ou ve arkadaşlarının çalışmasında, –826 T allel taşıyıcılığı hasta grubunda (%95.9) kontrol grubundan (%35.5) anlamlı olarak yüksek bulunmasına karşın bizim çalışmamızda fark gözlenmemiştir.

Ou ve arkadaşlarının çalışmasında (10) –881 G allel sıklığı hastalarda (%6.6) kontrol grubundan (%13.2) anlamlı olarak düşük saptanırken, biz çalışmamızda –881 G allel sıklığını hasta grubunda kontrol grubundan farklı bulmadık. –826 T allel sıklığı Ou ve arkadaşlarının (10) çalışmasında hastalarda (%80.6) kontrol grubundan (%20.5) anlamlı olarak yüksek saptanırken biz çalışmamızda böyle bir farklılık saptamadık.

**Tablo 8.** Bizim çalışmamız ile Ou ve arkadaşlarının (10) çalışmasının karşılaştırması.

		Ou ve ark.(10) *		Çalışmamız**	
		pSS (%)	Kontrol (%)	pSS (%)	Kontrol (%)
–881 A/G	AA	85 (86.7)	83 (75.5)	58 (56.3)	51 (51.5)
	AG	13 (13.3)	25 (22.7)	43 (41.7)	47 (47.5)
	GG	0 (0)	2 (1.8)	2 (1.9)	1 (1)
	A Allel	183 (93.4)	191 (86.8)	159 (77.2)	149 (75.3)
	G Allel	13 (6.6)	29 (13.2)	47 (22.8)	49 (24.7)
–826 C/T	CC	4 (4.1)	71 (64.5)	53 (51.5)	50 (50.5)
	CT	30 (30.6)	33 (30)	40 (38.8)	44 (44.4)
	TT	64 (65.3)	6 (5.5)	10 (9.7)	5 (5.1)
	C Allel	38 (19.4)	175 (79.5)	146 (70.9)	144 (72.7)
	T allel	158 (80.6)	45(20.5)	60 (29.1)	54 (27.3)

\* pSS n=98; Kontrol n=110 \*\* pSS n= 103; Kontrol n=99

Ou ve arkadaşlarının çalışmasında (10), *IκBα* –826 T pSS'ye yatkınlık ile ilişkili, *IκBα* –881G ise pSS'nin gelişmesinde koruyucu bir faktör olabilir sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada *IκBα* 881A–826T–550A–519C–297C haplotiplerinin de pSS'ye yatkınlık ile ilgili olduğu belirtilmektedir. Bu haplotiplerin pSS'de anlamlı bir rol oynayabileceği, bununla birlikte bu haplotipler ile olan ilişkinin pSS'ye spesifik olmayabileceğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, –826 C/T polimorfizminin *IκBα* promotor bölge fonksiyonu üzerine olan etkisini incelemek üzere bir çalışma yürüttüklerini de belirtmişlerdir.

*IκBα* –826 T alleli ile RA, SLE ve daha çok erkeklerde görülen otoimmün bir bozukluk olan AS'li hastalarda benzer ilişki bulunduğu ve bu ilişkinin cinsiyete bağımlı olmadığı belirtilmektedir (10). Biz çalışma gruplarımızı oluşturan bireylerin çoğunluğu kadınlardan oluştuğu için, cinsiyetler arası genotip ve allel dağılım farklılıkları konusunda bir veriye sahip değiliz.

Lin ve arkadaşları (15, 16), *IκBα* promotor bölge –826 C/T ve –881A/G ile ilgili iki çalışma yapmışlardır. Bu çalışmalardan ilki RA'li hasta grubunda (16) ikincisi ise SLE'li hasta grubunda (15) yapılmıştır. Lin ve arkadaşlarının RA'lı hastalarda yaptıkları çalışmada, –826 CT genotip sıklığı hasta grubunda (%45) kontrol grubundan (%29.6) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. TT genotip sıklığı ise hasta ve kontrol grupları arasında farklı saptanmamıştır. –826 T allel sıklığı da hasta grubunda (%27.5) kontrol grubundan (%19.1) anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve –826 T allelinin RA oluşumu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, –881 A/G genotip sıklığı hasta ve kontrol grubunda farklı değildir.

Lin ve arkadaşlarının (15), SLE'li hastalarda yaptıkları çalışmada ise, –826 CC genotip sıklığı hasta grubunda (%47.3) kontrol grubundan (%64.2) anlamlı olarak düşük, –826 CT genotip sıklığı ise hasta grubunda (%50.9), kontrol grubundan (%30.8) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. TT genotip sıklığı hasta grubunda %1.8 kontrol grubunda %5 olarak bulunmuştur. –826 T taşıyıcı oranı hasta grubunda (%52.7) kontrol grubundan (%35.8) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. –826 T alleli SLE'ye yatkınlık ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada –881 A/G genotip sıklıklarında hasta ve kontrol grubunda farklılık saptanmamıştır. Fakat, –881 G allelinin varlığının, SLE'de vaskülit oluşumu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. SLE

hastalarında T hücrelerinde, p65–RelA ekspresyonunda azalma, c–Rel ekspresyonunda artma ile olan anormal NFκB aktivitesinin başka bir çalışmada gösterildiği, c–Rel’in sitozolik retansiyonundaki artışın IκBα ve IκBβ düzeylerindeki artış nedeni ile olduğu, IκB’nin sitoplazmada NFκB’ye bağlanarak transkripsiyonel aktivitesine etki ettiği ve böylece IκB’nin SLE de önemli bir rol oynayabileceği bildirilmektedir.

Hung ve arkadaşlarının (18), AS’lilerde yaptıkları çalışmada, *IκBα* –826 CT ve TT genotip sıklıkları hasta grubunda (sırası ile %57.1 ve %22.7) kontrol grubundan (sırası ile %30.4 ve %5.3) anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. *IκBα* –826 T allel sıklığı, AS’lilerde (%51.5) kontrol grubundan (%20.5) yüksek bulunmuş ve *IκBα* –826 T allelinin AS gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Tayvan’da yapılan bu dört çalışmada da (10,15,16,18) kontrol grubu genotip sıklıklarının benzerlik gösterdiği görülmektedir. Bu çalışmaların kontrol grubu sonuçları ile bizim sonuçlarımıza bakıldığında bizim genotip sıklığımızın farklı olduğu görülmektedir. Bu farklılık etnik veya diğer bazı faktörlere bağlı olabilir. Bu çalışmaların hepsi değişik hasta gruplarında olmalarına rağmen otoimmün hastalıklarda yapılmış çalışmalardır ve bu çalışmaların ortak verisi –826 T allelinin pSS ve diğer bazı otoimmün hastalıklar ile ilişkili olabileceğidir (10,15,16,18). Fakat biz çalışmamızda böyle bir sonuç elde etmedik. Genotip değerlendirilmesi yapıldığında –826 CT genotipi RA, SLE ve AS ile ilişkili bulunurken, –826 TT genotipi pSS ve AS de ilişkili bulunmuştur. Bizim çalışmamızda her iki bölge için de kontrol ve hasta genotip sıklıkları arasında anlamlı fark bulunmadı. Ancak bizim kontrol grubumuzun –826 CT ve –881 AG genotip sıklığının bu dört çalışmadan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalardan Ou ve arkadaşlarının çalışması dışında *IκBα* promotor bölge –881 A/G genotip ve allel sıklıklarına ilişkin hasta ve kontrol grubunda farklılık saptanmamıştır.

Abdallah ve arkadaşları sarkoidoz hastalarında yapılan bir çalışmada; –826 T allelinin varlığının sarkoidoz hastalarında kontrollerden daha fazla olduğunu göstermiştir. Ayrıca, Abdallah –826 T’yi daha önce Mozzatto–Chamay’ın yaptığı

çalışma ile karşılaştırmış ve polimorfizm sıklığının Kafkas kontrollerde, Afrikalı kontrollerden fazla olduğunu bildirmiştir (17).

Farklı toplumlarda ve farklı hastalıklarda yapılan çalışmaların kontrol grubu ile bizim kontrol grubumuzu karşılaştırdık (Tablo 9). Görüldüğü gibi sağlıklı bireylerden (kontrol grubu) oluşan farklı etnik gruplar arasındaki genotip sıklıklarında farklılık vardır.

**Tablo 9.** Kontrol gruplarındaki genotip dağılımlarının karşılaştırılması

	Birey sayısı	-881 A/G			-826 C/T		
		AA	AG	GG	CC	CT	TT
Bizim çalışmamız	n=99	51(51,5)	47(47,4)	1(1)	50(51,5)	44(38,8)	5(5,1)
Ou ve ark. 2008 (10) Tayvan	n=110	83 (75.5)	25 (22.7)	2 (1.8)	71 (64.5)	33 (30.0)	6 (5.5)
Lin ve ark. 2008 (15)Tayvan	n=120	91 (75.8)	27 (22.5)	2 (1.7)	77 (64.2)	37 (30.8)	6 (5.0)
Lin ve ark.2007 (16)Tayvan	n=115	88 (76.5)	25 (21.7)	2 (1.8)	76 (66.1)	34 (29.6)	5 (4.3)
Hung ve ark.2009 (18)Tayvan	n=112	85 (75.9)	25 (22.3)	2 (1.8)	72 (64.3)	34 (30.4)	6 (5.3)
Abdallah ve ark. (17)2003 UK	n=99	52(%53)	42 (%42)	5 (%5)	52 (%53)	42 (%42)	5 (%5)
Abdallah ve ark. (17) 2003 Hollandalı	n=102	55 (%54)	42 (%41)	5 (%5)	59 (%58)	38 (%37)	5 (%5)
Spink ve ark. 2007 UK(69)	n=196	94 (48)	91 (46)	11 (6)	—————	—————	—————
Mozzato–Chamay ve ark,2003(7) Gambialılar	n=75	%90.7	%6.7	%.6	%90.7	%6.7	%2.6
Mozzato–Chamay ve ark. 2003 Afrikalılar(7)	n=194	%94.7	%5.3	%0.0	%94.7	%5.3	%0.0
Chapman ve ark. 2007 UK(70)	n=766, 762 n=357, 370	374 (48.8) 169 (47.3)	322 (42.0) 159( 44.5)	70 (9.1) 29 (8.1)	375 (49.2) 173( 46.8)	315 (41.3) 164 (44.3)	72 (9.4) 33 (8.9)

*IκBα* –881 G alleli taşıyıcılığı en az Afrikalı'larda (%5.3) (7) saptanmıştır ve bunu Tayvan toplumu (10,15,16,18) (%25) izlemektedir. Bizim toplumumuzdaki G alleli taşıyıcılığı (%48) İngiliz (17,69,70) (%48, %53) ve Hollandalı (17) (%47) toplumla benzerlik göstermektedir. –826 T alleli taşıyıcılığı da yine Afrikalı'larda (7) (%5.3) en düşük gözükmektedir. Bizim toplumumuzdaki T allel taşıyıcılığı (%48,5) ise İngiliz (17,70) (%47, %47.2) ve Hollandalı (17) (%43) toplum ile benzerlik göstermektedir

Zhang ve arkadaşları (66) yaptıkları metaanalizde, –826 CC genotip taşıyıcılığı ile –826 CT genotipi taşıyıcılığını karşılaştırmışlar ve –826CT genotipi taşıyıcılığında anlamlı bir risk artışı olduğu ve –826T allelinin otoimmün ve inflamatuvar hastalıklar ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. *IκBα* promotor bölge –881 ve -279 pozisyonlarındaki polimorfizmle ile otoimmün ve inflamatuvar hastalıklar arasında ilişki saptanmamıştır. Ayrıca çalışma sonuçlarının çelişkili olmasının, örneklem büyüklüğünün az olması, etnik köken, düzeltilmemiş çoklu hipotez testleri ve yayın önyargısından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Tuncay ve arkadaşları (71) tarafından, ülkemizde *IκBα* lokusunda 3'UTR A/G polimorfizmini araştıran bir çalışma yapılmıştır. Türk toplumundaki polimorfik allel sıklığının (%59,6) İsveç toplumu (%57,9) sonuçlarıyla benzerlik gösterdiği ve Avustralya Yahudi'lerindeki polimorfik allel sıklığının ise %71 olduğu bildirilmiştir. Tuncay ve arkadaşlarının Ege bölgesinde yaptıkları bu çalışmada vurgulamış oldukları etnik farklılık yorumu bizim çalışmamızdaki *IκBα* –881 A/G ve –826 C/T araştırmasında bulduğumuz sonuçlara ait yorumumuzu desteklemektedir.

*IκBα* ve *IKKγ* gibi düzenleyici proteinleri kodlayan genlerde otozomal dominant mutasyon olan hastalarda NFκB sinyal kaybı görülür. Otoimmün durumlar hem genetik yatkınlık hem de çevresel faktörlerce tetiklenebilen kompleks sendromlardır. Bazı otoimmün durumlarda NFκB sinyalinde bir artış veya azalış gözlenmiştir. Romatoid artritli hastalarda TNFα, IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler yüksek düzeyde bulunur. NFκB'nin p50 ve p65 alt birimlerinin aktive formları RA hastalarının sinoviyal duvar hücrelerinin çekirdeklerinde de



görülmüştür. Multipl skleroz (MS) hastalarının aktif lezyonlarındaki makrofaj ve oligodendrositlerde p65 alt birim düzeyleri artmıştır (49).

I $\kappa$ B $\alpha$ 'nin promotor bölgesine 8–bp eklenmesi, bireyleri primer progressif MS gelişimine karşı korumaktadır (72). Spink ve arkadaşları (69), –881 promotor bölge polimorfizmini MS'li hastalarda çalışmışlar, hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bildirilmemiştir.

Lazarus ve arkadaşlarının (73) yaptığı çalışmada, 112 pSS'li hastada kanser insidansı araştırılmıştır. pSS'de lenfoma insidansı artmış olarak saptanırken diğer kanserlerde artış gözlenmemiştir. I $\kappa$ B $\alpha$ 'daki mutasyonlar diğer bazı inflamatuvar ve malign hastalıklarda da yüksek bulunmuştur. I $\kappa$ B $\alpha$  geninin kodlayıcı bölgesindeki mutasyonlar I $\kappa$ B $\alpha$ 'nın fazla eksprese edilmesi ile sonuçlanabilir ve bu da lenfoma oluşumuna neden olabilir. Hatalı I $\kappa$ B $\alpha$ 'nın varlığı NF $\kappa$ B aktivasyonunu başlatan muhtemel nedeni açıklayabilir. I $\kappa$ B $\alpha$ , Hodgkin hastalığında NF $\kappa$ B'nin onkojenik aktivitesinin kontrolünde tümör süpresörü gibi hareket etmektedir (74).

Genin promotor bölgesinde transkripsiyon faktörlerinin bağlanması için uygun motifler vardır. Ayrıca mRNA'nın transkripsiyonu için gereken RNA polimeraz enzimi de promotor bölgeye bağlanır. Bu bölgede meydana gelen polimorfizmler transkripsiyon faktörlerinin bağlanmalarını veya bağlanma etkinliklerini değiştirebilir. Böylece genin transkripsiyon aktivitesi artabilir veya azalabilir (75). I $\kappa$ B $\alpha$  genindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) herhangi birisi ya da kombinasyonu proteinin ekspresyonuna ve fonksiyonuna etki edebilir. Özellikle I $\kappa$ B $\alpha$  promotor bölgesi ve 3'UTR bölgesindeki allelik farklar, I $\kappa$ B $\alpha$  ekspresyonuna, NF $\kappa$ B'ye bağlanmasına ve bu şekilde de hücre büyümesi ve apoptoziye etki edebilir.

I $\kappa$ B $\alpha$  geninin promotor bölgesinde 3 tane NF $\kappa$ B bağlanma motifi vardır ( $\kappa$ B1,  $\kappa$ B2,  $\kappa$ B3) (17, 18, 69). ROR (retinoid acid related orphan receptor)  $\alpha$  1 ve ROR $\alpha$  2 transkripsiyon faktörü için varsayılan bağlayıcı bölge I $\kappa$ B $\alpha$  –881 pozisyonundadır (10). ROR'lar gen transkripsiyonunda hem aktivatör hem represör fonksiyon görür. ROR $\alpha$  koaktivatörlerle kompleks yaptığında belirli promotorlara spesiflik gösterir.

ROR $\alpha$  timopoez ve lenfosit gelişiminde etkilidir. ROR $\alpha$ 'nın NF $\kappa$ B sinyal yolunda negatif düzenleyici olan I $\kappa$ B $\alpha$ 'nın ekspresyonunu pozitif olarak düzenlediği bildirilmiştir. Buna göre ROR $\alpha$ 'nın inflamasyonda negatif düzenleyici olarak işlev göreceği sonucuna varılabilir denilmektedir (76). ROR $\alpha$ , lenfosit gelişimi, immün cevap, ateroskleroz, kas farklılaşması, kemik metabolizması, nöronal hücre gelişimi gibi olayları indirekt olarak birçok yönüyle regüle etmektedir (77). Son çalışmalarda ROR'ların osteoporoz, çeşitli otoimmün hastalıklar, astım, kanser, diyabet ve obezite ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (78). Bu nedenle, *I $\kappa$ B $\alpha$*  promotor bölgesinin polimorfizmleri transkripsiyon faktörlerinin bağlanması ve daha sonra I $\kappa$ B $\alpha$  ekspresyonunu etkileyebilir (10). -826 ve -881 bölge polimorfizmleri genin transkripsiyonunu etkileyebileceği fakat işlevini ve NF $\kappa$ B aracılı inflamatuvar cevap ile ilişkisini, ayrıca bu polimorfizmin mRNA ve *I $\kappa$ B $\alpha$*  gen ekspresyonu ile ilişkisini açıklayabilecek çalışmaların gerekli olduğu bildirilmektedir (66).

İnflamatuvar cevap, proinflamatuvar sitokinlerin, inflamatuvar süreci artıran kemokinlerin artması ve periferde monositlerin toplanmasıyla karakterizedir (66). Birçok inflamatuvar sitokin pSS'unun oluşumuna katılmaktadır (10). Sitokin gen ekspresyonu çeşitli mekanizmalar aracılığıyla düzenlenir (17). NF $\kappa$ B, antiapoptotik genler, proinflamatuvar sitokinler ve immün cevabın transkripsiyonu ile ilişkilidir (15). Bu nedenle, NF $\kappa$ B, inflamatuvar bozukluklar ve otoimmüitenin gelişiminde önemlidir (10, 15).

İnflamatuvar bir çevre, lokal immün tolerans üzerine negatif bir etki gösterebilir. Organizma kendi yapılarını apoptozis sırasında yanlışlıkla immün sisteme sunabilir. SS ile ilişkili bulunan oto antijenlerin (Ro52, Ro60, La48) apoptozis sırasında hücre yüzeyinde açığa çıkan nükleer proteinler olduğu belirlenmiştir (31). Birçok çalışma, pSS'lu hastalarda tükürük bezindeki apoptotik hücrelerin artışı ve tükürük bezi içine infiltre olan MNL hücrelerinde apoptotik yıkıma direnci göstermiştir. NF $\kappa$ B'nin anti-apoptojenik etkisi iyi bilinmektedir. Bu etki, NF $\kappa$ B tarafından indüklenen TNF reseptör ilişkili faktörler (TRAFs), X'e bağlı apoptozis inhibitörü protein (XIAP), apoptozis inhibitörü protein (IAP) ve Bcl-xL'lerin dahil olduğu anti apoptojenik moleküllerin ekspresyonu ile olur. I $\kappa$ B $\alpha$ 'nın,

NFκB'yi sitoplazmada bağlaması ve transkripsiyonel aktivitesini etkilemesi nedeni ile kronik inflamatuvar otoimmün hastalıklardaki rolü önemlidir (10).

Sonuç olarak; pSS'li hastalarda *IκBα* promotor bölge -881 A/G ve -826 C/T polimorfizm sıklığının incelemesinde kendi grubumuzda yaptığımız değerlendirmeler hastalık ile bu bölgelerdeki polimorfizm sıklığı arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir. Diğer çalışmalarla karşılaştırdığımızda elde ettiğimiz bu sonuçlar, toplumlar arası farklılıkların ve diğer faktörlerin etkili olabileceğini göstermektedir. Bu bölgelerdeki allel farklılıklarının, *IκBα* fonksiyonuna etkisi kesin olarak bilinmemektedir. Bu nedenle hem pSS, hem de diğer otoimmün hastalıklarda bu pozisyonlardaki allel farklılıklarının etkin olup olmadığının saptanabilmesi için farklı toplumlarda moleküler ve kinetik çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı görüşündeyiz.

## SONUÇLAR

1. *IκBα* promotor bölgesinde –826 C/ T polimorfizmi araştırmasında, pSS grubu ve sağlıklı grup arasında anlamlı fark bulunmadı. pSS grubunda %51.5 CC genotipi, %48.5 polimorfik T allelini taşıyıcılığı, kontrol grubunda %50.5’inde CC genotipi, %49.5 polimorfik T allelini taşıyıcılığı bulundu. Ancak homozigot polimorfik genotip hastalarda (%9.7) kontrollerden (%5.1) daha yüksek bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (  $p>0.05$ ).
2. *IκBα* promotor bölgesinde –881 A/G polimorfizm araştırmasında pSS ve kontroller arasında İstatistiksel fark bulunmadı. Hastalarda %56.3 AA genotipi, %43.7 polimorfik G alleli taşıyıcılığına, kontrollerde %51.5 AA genotipi, % 48.5 polimorfik G alleli taşıyıcılığına rastlandı. G allelinin taşıyıcılığı kontrol grubunda fazla olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).
3. Allel sıklıklarını incelediğimizde hem –826 C/T polimorfizmi için bakılan C ve T allelleri arasında hem de –881 A/G polimorfizmi için bakılan A ve G allelleri arasında hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmadı.

## KAYNAKLAR

1. Thanou-Stavraki A, James JA. Primary Sjögren's Syndrome: Current and Prospective Therapies. *Semin Arthritis Rheum* 2008; 37: 273-292.
2. García-Carrasco M, Fuentes-Alexandro S, Escárcega R.O, Salgado G, Riebeling C, Cervera R. Pathophysiology of Sjögren's Syndrome. *Archives of Medical Research* 2006; 37: 921-932.
3. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P. Emerging biological therapies in primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology* 2007; 46: 1389–1396.
4. Dawson LJ, Fox PC, Smith PM. Sjögren's syndrome the non-apoptotic model of glandular hypofunction. *Rheumatology* 2006; 45: 792-798.
5. Emamian ES. Gene Expression Profiling in Peripheral blood of Sjögren's Syndrome Patients. Minnesota: University of Minnesota; 2010.
6. Wang Y. Studies on the mechanism of pathogenesis in Sjögren's syndrome (SS) (Doktora tezi). Kansas: University of Missouri; 2007.
7. Mozzato-Chamay N, Corbett EL, Bailey RL, Mabey DCW, Raynes J, Conway DJ. Polymorphisms in the  $\kappa\text{B-}\alpha$  promoter region and risk of diseases involving inflammation and fibrosis. *Genes and Immunity* 2001; 2: 153-155.
8. Curran JE, Weinstein SR, Griffiths LR. Polymorphic variants of *NFKBI* and its inhibitory protein *NFKBIA*, and their involvement in sporadic breast cancer. *Cancer Letters* 2002; 188: 103-107.
9. Sun X-F, Zhang H. *NFKB* and *NFKBI* polymorphisms in relation to susceptibility of tumour and other diseases. *Histol Histopathol* 2007; 22: 1387-1398.

10. Ou TT, Lin CH, Lin YC, Li RN, Tsai WC, Liu HW and Yen JH. *IκBα* Promoter Polymorphisms in Patients with Primary Sjögren's Syndrome. *J Clin Immunol* 2008; 28: 440-444.
11. Klein W, Tromm A, Folwaczny C, Hagedorn M, Duerig N, Eppelen JT. A polymorphism of the *NFKB1A* gene is associated with Crohn's disease patients lacking a predisposing allele of the *CARD15* gene. *Dis Int J Colorectal Dis* 2004; 9: 153-156.
12. Caffery Barbara Elaine. Sjogren's Syndrome: A Clinical and Biochemical Analysis (Doktora tezi). Canada: University of Waterloo; 2009.
13. Kaya E. Romatoid artrit, ankilozan spondilit ve Sjögren sendromlu hastalarda temporomandibular eklemin klinik ve radyolojik olarak incelenmesi (Doktora tezi). Ankara: Gazi Üniversitesi; 2009.
14. Kabasakal Y, Kitapcioglu G, Turk T, Öder G, Durusoy R, N. Mete. The prevalence of Sjögren's syndrome in adult women. *Scand J Rheumatol* 2006; 35: 379-383.
15. Lin C-H, Wang SC, Ou T-T, Li RN, Tsai W-C, Liu H-W, Yen J-H. *IκBα* Promoter Polymorphisms in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J Clin Immunol* 2008; 28: 207-213.
16. Lin C-H, Ou T-T, Wu C-C, Tsai W-C, Liu H-W, Yen J-H. *IκBα* promoter polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *International Journal of Immunogenetics* 2007; 34: 51-54.
17. Abdallah A, Sato H, Grutters JC, Veeraraghavan S, Lympny PA, Ruven HJT et al. Inhibitor kappa B-alpha (*IκB-α*) promoter polymorphisms in UK and Dutch sarcoidosis. *Genes and Immunity* 2003; 4: 450-454.

18. Hung Y-H H, Ou T-T, Lin C-H, Li R-N, Lin Y-C, Tsa W-C et al. *IκBα* promoter polymorphisms in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2009; 30: 93-97.
19. Delaleu N, Jonsson R, Koller MM. Sjögren's syndrome. *Eur J Oral Sci* 2005; 113: 101–113.
20. Tzioufas AG, Voulgarelis M. Update on Sjögren's syndrome autoimmune epithelitis: from classification to increased neoplasias. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 2007; 21: 989–1010.
21. Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Lama N, Bonacci E, Bobbio-Pallavicini F, Montecucco C, Caporali R. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in primary Sjögren syndrome may be associated with non-erosive synovitis. *Arthritis Research & Therapy* 2008; 10: 1-6.
22. Kassin SS, Moutsopoulos HM. Clinical Manifestations and Early Diagnosis of Sjögren Syndrome. *Arch Intern Med*. 2004;164:1275-1284.
23. Fox Robert I . Sjögren's syndrome (Seminar). *Lancet* 2005; 366: 321–31.
24. Harris ED. Kelley Romatoloji. Arasıl T, Çev. Ed, 7. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi; 2006.
25. Cansu DÜ, Korkmaz C. Sjögren Sendromu. *Osmangazi Tıp Dergisi* 2007;29: 39-51.
26. Deren Ö, Kutlay Ş. Sjögren Sendromu. *Romatizma* 2003;18: 49-63.
27. Bayetto K, Logan RM. Sjögren's syndrome: a review of aetiology, pathogenesis, diagnosis and management. *Australian Dental Journal* 2010; 55: 39-47.

28. Abbas KA, Lichtman AH, Pillai. Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010
29. Anaya JM, Delgado-Vega AM, Castiblanco J. Genetic basis of Sjögren's syndrome. How strong is the evidence? Clinical Developmental Immunology 2006; 13: 209-222.
30. Brown KD, Claudio E, Siebenlist U. The roles of the classical and alternative nuclear factor- $\kappa$ B pathways: potential implications for autoimmunity and rheumatoid arthritis. Arthritis Research & Therapy 2008; 10: 212.
31. Ramos-Casals M, Font J. Primary Sjögren's syndrome: current and emergent. Rheumatology 2005; 44: 1354–1367.
32. Şahin G. Sjögren Sendromu'nun Nasal Floraya Etkisi (Uzmanlık tezi). Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2010.
33. Büyüköztürk K, Atamer T. İç Hastalıkları. İstanbul: Nobel Kitabevi; 2007.
34. Hayashi Y, Arakaki R, Ishimaru N. Apoptosis and estrogen deficiency in primary Sjögren syndrome. Current Opinion in Rheumatology 2004;16: 522–526.
35. Fauchais AL, Martel C, Gondran G, Lambert M, Launay D, Jauberteau MO, Hachulla E et al. Immunological profile in primary Sjögren syndrome Clinical significance, prognosis and long-term evolution to other auto-immune disease. Autoimmunity Reviews 2010; 9: 595–599.



36. Chiorini JA, Cihakova D, Ouellette C.E, Caturegli P. Sjögren syndrome: Advances in the pathogenesis from animal models. *Journal of Autoimmunity* 2009; 33: 190–196.
37. Hansen A, Lipsky PE, Dörner T. New concepts in the pathogenesis of Sjögren syndrome: many questions, fewer answers. *Current Opinion in Rheumatology* 2003; 15: 563–570.
38. Wan-Fai Ng, Simon JB. Primary Sjögren's syndrome: too dry and too tired. *Rheumatology* 2010; 49: 844–853.
39. Süslü H. Otoimmün Hastalıklarda Tükürük Bezi Fonksiyonlarının Sintigrafik Olarak Değerlendirilmesi (Uzmanlık tezi). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2007.
40. Meijer JM, Pijpe J, Bootsma H, Vissink A, Kallenberg CGM. The Future of Biologic Agents in the Treatment of Sjögren's Syndrome. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2007; 32: 292–297.
41. Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF-kappa B in the immune system. 1994; 12: 141-79.
42. Baldwin AS. The transcription factor NF-κB and human disease. *The Journal of Clinical Investigation* 2001; 107: 3-6.
43. Ahn KS, Aggarwal BB. Transcription Factor NF-κB. A Sensor for Smoke and Stress Signals. *New York Academy of Sciences* 2005;1056:218-233.
44. Sen R, Baltimore D. Inducibility of κ immunoglobulin enhancer-binding protein NF-κB by a posttranslational mechanism. *Cell* 1986; 47: 921-928.

45. Aggarwal B.B. Nuclear factor  $\kappa$ B: The enemy within. *Cancer Cell* 2004; 6: 203-208.
46. Perkins ND. Integrating cell-signalling pathways with NF- $\kappa$ B and IKK function. *Molecular Cell Biology* 2007; 8: 49-61.
47. Rayet B, Géralinas C. Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. *Oncogene* 1999; 18: 6938- 6947.
48. László CF, Wu S. Old target new approach: An alternate NF- $\kappa$ B activation pathway via translation inhibition. *Mol Cell Biochem* 2009; 328: 9-16.
49. Salman Ali. Functional characterization of human variants of *NFKB1A*: a key regulator of immune responsiveness implicated in susceptibility to infectious and inflammatory disease. The University of British Columbia; 2010.
50. Chen F, Castranova V, Shi X, Demers LM. New Insights into the Role of Nuclear Factor- $\kappa$ B, a Ubiquitous Transcription Factor in the Initiation of Diseases. *Clinical Chemistry* 1999; 45: 7–17.
51. Tong X, Yin L, Washington R, Rosenberg DW, Giardina C. The p50-p50 NF- $\kappa$ B complex as a stimulus-specific repressor of gene activation. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2004; 265: 171–183.
52. Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF $\kappa$ B. *Genes Dev.* 2004; 18:2195-2224.
53. Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF- $\kappa$ B transcription factors. *Oncogene* 1999; 18: 6853-6866.

54. Hoffmann A, Baltimore D. Circuitry of nuclear factor  $\kappa$ B signaling. *Immunological Reviews* 2006; 210: 171–186.
55. Jacobs MD, Harrison SC. Structure of an I $\kappa$ B $\alpha$ /NF- $\kappa$ B Complex *Cell* 1998; 95: 749–758.
56. Malek S, Huxford T, Ghosh G. I $\kappa$ B $\alpha$  functions through direct contacts with the nuclear localization signals and the DNA binding sequences of NF- $\kappa$ B. *The journal of biological chemistry* 1998; 273: 25427-25435.
57. Maeda S, Omata M. Inflammation and cancer: Role of nuclearfactor-kappaB activation. *Cancer Sci* 2008; 99: 836–842.
58. Sun SC. Non-canonical NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Cell Research* 2011; 21:71-85.
59. Whiteside ST, Israel A. I $\kappa$ B proteins: structure, function and regulation. *Cancer Biology* 1997; 8: 75–82.
60. Ito CY, Adey N, Bautch VL, Baldwin AS. Structure and evolution of the human I $\kappa$ B $\alpha$  gene. *Genomics* 1995; 29: 490-495
61. Chiao PJ, Miyamoto S, Verma IM. Autoregulation of I $\kappa$ B $\alpha$  activity. *Biochemistry* 1994; 91: 28-32.
62. Park SM, Chang HS, Rhim T, Park SW, Jang AS, Park JS at al. Association of I $\kappa$ B $\alpha$  gene polymorphisms with the development of asthma. *Human Immunology* 2010; 71: 1147-1153.
63. The Weizmann Institute of Science. The GeneCards Human Gene Database. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=NFKB1A>. Erişim Tarihi: 24.08.2011.

64. Parker KM, Ma MH, Manyak S, Altamirano CV, Tang YM, Frantzen M et al. Identification of polymorphisms of the *IκBα* gene associated with an increased risk of multiple myeloma. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 2002; 137: 43-48.
65. Klement JF, Rice NR, Car BD, Abbondanzo SJ, Powers GD, Bhatt H, Chen CH et al. *IκBα* Deficiency Results in a Sustained NF-κB Response and Severe Widespread Dermatitis in Mice. *Molecular and cellular biology*, 1996;16: 2341–2349.
66. Zhang GL, Zou YF, Feng XL, Shi HJ, Du XF, Shao MH, Gu Y, Zhou Q. Association of the NFKBIA gene polymorphisms with susceptibility to autoimmune and inflammatory diseases: a meta-analysis. *Inflamm. Res* 2011; 60: 11–18.
67. Sambrook J, Russel D. *Molecüler Cloning: A Laboratory Manual*. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Pres, 2001.
68. Joseph A, Brasington R, Kahl L, Ranganathan P, Cheng TB, and Atkinson J. Immunologic rheumatic disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125: 205-215.
69. Spink CF, Gray LC, Davies FE, Morgan GJ, Bidwell JL. Haplotypic structure across the *IκBα* gene (NFKBIA) and association with multiple myeloma. *Cancer Letters* 2007; 246: 92-99.
70. Chapman SJ, Khor CC, Vannberg FO, Frodsham A, Walley A, Maskell NA at al. *IκB* genetic polymorphisms and invasive pneumococcal disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2007; 176: 181-187.

71. Tuncay SS, Okyay P, Bardakci F. Identification of NF- $\kappa$ B1 and NF- $\kappa$ BIA polymorphisms using PCR-RFLP assay in a Turkish population. *Biochem Genet* 2010; 48: 104–112.
72. Mitterski B, Bohringer S, Klein W, Sindern E, Haupts M, Schimrigk S, et al. Inhibitors in the NF $\kappa$ B cascade comprise prime candidate genes predisposing to multiple sclerosis, especially in selected combinations. *Genes Immun* 2002; 3: 211–9.
73. Lazarus MN, Robinson D, Mak V, Møller H and Isenberg DA. Incidence of cancer in a cohort of patients with primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology* 2006; 45: 1012–1015.
74. Cabannes E, Khan G, Aillet F, Jarrett RF, Hay Ronald T. Mutations in the I $\kappa$ B $\alpha$  gene in Hodgkin's disease suggest a tumour suppressor role for I $\kappa$ B $\alpha$ . *Oncogene* 1999; 18: 3063 - 3070
75. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Biyokimyanın Temel İlkeleri*. Kılıç N, Çev. Ed, 3. Baskıdan çeviri, Ankara: Palme Yayıncılık; 2005
76. Jetten MA. Retinoid-related orphan receptors (RORs): critical roles in development, immunity, circadian rhythm, and cellular metabolism. *NRS* 2009; 7: 1-32
77. Jianguang D, Huang C, Zhou B and Ziegler SF. Isoform-specific inhibition of ROR $\alpha$ -mediated transcriptional activation by human FOXP3. *Immunol* 2008; 180: 4785-4792.
78. Solt LA, Griffin PR, and Burris TP. Ligand regulation of retinoic acid receptor-related orphan receptors: implications for development of novel therapeutics. *Current Opinion in Lipidology* 2010; 21:204–211.