

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI
GASTROENTEROLOJİ
BİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Hüseyin Ahmet TEZEL

**ÜLSERATİF KOLİT VE CROHN HASTALIĞI'NDA
TİROZİN KİNAZ-2 GEN POLİMORFİZMİ**

(Yandal Uzmanlık Tezi)

Uzm. Dr. Güray CAN

EDİRNE-2013

TEŐEKKÖR

Uzmanlık eğitim dđnemim ve tez çalıőmam sırasında değerli fikirleriyle bana yol gđsteren, Prof. Dr. Hűseyin Ahmet TEZEL'e, bilgi, destek ve yardımlarını esirgemeyen Gastroenteroloji Bilim Dalı Baőkanı Prof. Dr. Gűlbin ÜNSAL'a, eğitimim süresince bilgi ve tecrűbeleriyle katkıda bulunan Prof. Dr. Ali Rıza SOYLU ve Doç. Dr. Hasan Celalettin ÜMİT'e, bununla birlikte İç Hastalıkları Anabilim Dalındaki görevli tüm hocalarıma, uzman ve asistan arkadaşlarıma, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Yard. Doç. Dr. Hakan GÜRKAN'a, ve Tıbbi Genetik Laboratuvarı çalıőanlarına, benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen eőim Hatice CAN'a teőekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARI EPİDEMİYOLOJİSİ	3
İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARININ ETİYOLOJİSİ	4
İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARI VE GENETİK	6
İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARINDA PATOGENEZDE ETKİLİ MEKANİZMALAR	7
İNTESTİNAL MİKROFLORA	7
İNTESTİNAL BARIYER SİSTEMİ	8
ANTİJEN TANIMLAMA	9
OTOFAJİ VE İNFLAMAZOM	11
ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİ	13
ANTİJEN SUNUMU VE KAZANILMIŞ İMMÜN YANIT	15
JANUS KİNAZ/SİNYAL DÖNÜŞTÜRÜCÜ VE TRANSKRİPSİYON AKTİVATÖRÜ VE İNTERLÖKİN-23 RESEPTÖR YOLAĞI	18
TİROZİN KİNAZ-2 YAPISI VE İŞLEVİ	20
TİROZİN KİNAZ-2 VE İNFLAMATUVAR HASTALIKLAR	21
GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
BULGULAR	28
TARTIŞMA	52

SONUÇLAR.....	58
ÖZET	62
SUMMARY	64
KAYNAKLAR	66
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

antiTNFα	: Anti Tumor Necrosis Factor- α
AS	: Ankilozan Spondilit
Atg	: Autophagy
ATG16L1	: Autophagy Related 16-Like-1
CARD	: Caspase Recruitment Domain
CD	: Cluster of Differentiation
CH	: Crohn Hastalığı
CI	: Confidence Interval
DC	: Dendritic Cell
DLG	: Disc Large Homolog
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilene Diamino Tetraenoic Acid
FERM	: Four-point-one, Ezrin, Radixin, Moesin
FOXP3	: Forkhead Box P3
GATA3	: GATA Binding Protein 3
grp78	: Glucose Related Protein-78
GWA	: Genom Wide Association
H	: Haplotype
HBD	: Human β -Defensin
HD	: Human Defensin
HLA	: Human Leukocyte Antigen
IRE1	: Inositol Requiring Protein-1

IRGM	: Immunity-Related GTPase Family M Protein
İBH	: İnflamatuvar Barsak Hastalıkları
IFN	: Interferon
IFNAR	: Interferon α/β Receptor
IL-23R	: Interleukin-23 Receptor
JAK	: Janus Kinase
JNK	: c-Jun N-Terminal Kinase
JH	: Janus Kinase Homology
LC3	: Light Chain-3
MHC	: Major Histocompatibility Complex
MNG	: Multinodüler Guatr
mTOR	: Mammalian Target of Rapamycin
NASH	: Non-alkolik Steatohepatit
NF-$\kappa\beta$: Nuklear Factor- $\kappa\beta$
NK	: Naturel Killer
NOD	: Nucleotide Binding Oligomerization Domain
OCTN	: Organic Cation Transporter
OP	: Osteoporoz
OR	: Odd Ratio
ORMDL3	: Orosomucoid 1 Like Gene 3
pANCA	: Perinuclear Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody
PERK	: Pancreatic Endoplasmic Reticulum Kinase
RORγt	: Retinoic Acid Related Orphan Nuclear Receptor- γ t
SH	: Src Homology
SOCS	: Suppressor of Cytokine Signalling
STAT	: Signal Transducer and Activator of Transcription
T-bet	: T-Box Transcription Factor
TGF	: Transforming Growth Factor
T_H	: Helper T Cell
TLR	: Toll Like Receptor
T_R1	: Regulatory type-1 T Cell
T_{Reg}	: Regulatory T Cell
Tyk2	: Tyrosine Kinase-2

UPR : Unfolded Protein Response

ÜK : Ülseratif Kolit

X² : Ki-kare

XBP1 : X-box Binding Protein-1

GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar barsak hastalıkları (İBH), gastrointestinal sisteme spesifik, remisyon ve alevlenmelerle giden, kronik inflamatuvar bir hastalık grubudur. Crohn Hastalığı (CH) ve ülseratif kolit (ÜK) olmak üzere farklı klinik prezentasyonlara sahip başlıca iki formu vardır. CH gastrointestinal sistemin herhangi bir yerini atlamalı tarzda tutabilen, transmural inflamasyon ile karakterize bir hastalık iken, ÜK sadece kolonu ve devamlı tarzda tutan, mukozaya sınırlı inflamasyona neden olmaktadır (1). İBH’da, etiolojinin ne olduğu, CH ile ÜK’de inflamasyonun neden kendini farklı şekilde gösterdiği henüz bilinmemesine rağmen, sigara, barsakta bulunan kommensal bakteriler ve gıda antijenleri gibi çevresel etmenlerle birlikte, barsaktaki immün yanıtı etkileyen çok sayıda genetik faktörün İBH’da hastalığın ortaya çıkmasında ve ilerlemesinde katkısının olabileceği düşünülmektedir (2). Hastalığa neden olan etken, bir şekilde intestinal bariyer sistemi aşarak intestinal immün sistemle karşılaşmakta ve kronik uyarı sonucu abartılı bir immün yanıtı neden olmaktadır. Bunun nedeni, genetik olarak yatkın bireylerde, immün sistemin devamlı sürette maruz kaldığı normal kommensal bakteriler veya gıda antijenleri olabileceği gibi barsak içerisindeki henüz bilmediğimiz yabancı bir antijene kronik maruziyet sonucu oluşmuş normal bir immün yanıt da olabilir. Birçok araştırmacı, İBH’nın tek bir etken sonucu değil de, birçok çevresel ve genetik etkenin kompleks etkileşimi sonucu ortaya çıktığı düşüncesinde hemfikirdir (2).

Yapılan aile çalışmalarında genetik altyapının %20’lere kadar etkili olduğu gösterilmesi ile birlikte, İBH ile ilgili genom çalışmaları “genome wide association” (GWA) hız kazanmıştır. İlk olarak “nucleotide binding oligomerization domain”/caspaserecruitment domain-15” (NOD2/CARD15) CH ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (3-5). Günümüzde ise İBH duyarlılık lokuslarında olduğu bilinen 100’e yakın gen bulunmaktadır. Bu genlerin çoğu

barsaktaki doğal ve kazanılmış immün sistemin bir parçasıdır (6). Lümendeki bakterilere karşı bir bariyer vazifesi gören mukozal yapının bütünlüğünü sağlayan mekanizmalardan, yabancı antijenleri algılayıp doğal immün yanıtın oluşmasını ve aynı zamanda kazanılmış immün sistemin uyarılmasını sağlayan mekanizmalara, arada bu iletişimi sağlayan sitokinlerin sentezi ve sinyal yollarına kadar birçok aşamada meydana gelebilecek değişiklikler İBH'nın ortaya çıkmasına neden olabilir.

Bahsedilen sinyal yollarından biri olan interlökin-23/interlökin-23 reseptörü (IL-23/IL-23R) yolağının birçok komponenti, GWA çalışmalarında CH ve ÜK için yatkınlık oluşturduğu gösterilmiştir. Örneğin, IL-23, IL-23R, IL-12B, IL-12R, Tirozin kinaz-2 (Tyk2), janus kinaz (JAK) ve sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü "Signal Transducer and Activator of Transcription" (STAT) ailesi IL-23/IL-23R yolağındaki gen ağına ait parçalardır ve intestinal mukozada çeşitli seviyelerde doğal ve kazanılmış inflamatuvar yanıtın oluşmasında merkezi bir rol oynamaktadırlar (7). Bu genlerde oluşabilecek değişiklikler İBH'nın oluşmasına neden olabilir. Yapılan polimorfizm çalışmalarında ve meta-analizlerde, IL-23, JAK2, STAT3 ve Tyk2'nin CH ve ÜK için aday yatkınlık geni olarak tespit edilmesine rağmen birebir ilişkisini gösteren çalışmalar az sayıda olup, birbirleriyle uyumsuz sonuçlar göstermektedir (7,8). Tyk2, STAT3 vasıtasıyla IL-23'den aldığı sinyal ile IL-17 sentezini sağlamaktadır. IL-17, "cluster of differentiation" (CD) 4⁺ T hücrelerinin, konakçı savunmasının ön sıralarında yer alan yardımcı T hücresi-17 (T_H17)'lere farklılaşmasında rol oynamaktadır (9). İmmün yanıtta önemli bir rol oynayan Tyk2'nin İBH ile birebir ilişkisini gösteren yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Biz çalışmamızda Tyk2 genindeki 4 farklı polimorfizmin Trakya popülasyonunda İBH ve subfenotipleri, ekstraintestinal tutulum, komplikasyonlar, cerrahi ve medikal tedavive demografik özelliklerle ilişkisini araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Crohn hastalığı ve ÜK gastrointestinal sistemi tutan, idiopatik, kronik ve rekürren inflamatuvar bir hastalık grubudur. CH ilk olarak 1623 yılında Alman cerrah, Wilhelm Fabry tarafından görülmesine rağmen, daha sonra Amerikalı araştırmacı Burril B. Crohn tanımlanım isimlendirilmiştir (10,11). ÜK ise 1859 yılında İngiliz araştırmacı Sir Samuel Wilks tanımlamıştır (12). Etiyolojileri net bir şekilde ortaya konulamamasına rağmen, hayvan çalışmalarından, genetik, moleküler ve klinik çalışmalardan elde edilen bilgiler ışığında, İBH'da görülen kronik, immün aracılıklı intestinal inflamasyonun patogeneğinde önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Bu çalışmalar, CH ve ÜK'nin barsaktaki kommensal bir bakteri grubuna karşı aşırı bir immün yanıtın olduğu, çeşitli genetik değişikliklerle karakterize heterojen bir hastalık grubu olduğunu göstermiştir. Hastalığın başlangıcı ve reaktivasyonu, mukozal bariyerde geçici bozulmaya neden olacak, immün cevabı uyuracak ve sonuç olarak intestinal mukozal dengeyi değiştirecek çevresel faktörler tarafından tetiklenmektedir. Buna rağmen, birçok nokta bilinmezliğini korumaya devam etmektedir.

İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARININ EPİDEMİYOLOJİSİ

İnflamatuvar barsak hastalığı sıklığı coğrafi bölgelere, etnik gruplara, yaşa ve gelişmişlik düzeyine göre farklı dağılımlar göstermektedir. Batı toplumlarında İBH daha sık gözlenmekle birlikte son dekatlarda doğu toplumlarında da insidans artış izlenmektedir. CH ve ÜK için en yüksek insidans ve prevalans oranları İngiltere, Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika'dan rapor edilmiştir. Yalnız, bu oranlar son dekatlarda plato yapmaya başlamışken, düşük insidansa sahip Güney Avrupa, Asya ve birçok gelişmekte olan ülkelerde yükselmeye devam etmektedir (13-16). Kuzey Amerika'da ÜK için insidans $2,2-14,3/10^5$, CH için $3,1-$

14,6/10⁵ arasında değişirken, prevalans oranları ÜK için 100.000'de 37-246, CH için 26-201'dir. Genel olarak insidans ve prevalans kuzeyden güneye, batıdan doğuya doğru gidildikçe azalmaktadır (17,18). Kuzey Amerika'da CH'nın prevalansı Hispanik'lerde (4,1/10⁵) ve Asyalı'larda (5,6/10⁵), beyazlardakinden (43,6/10⁵) ve Afrika kökenli Amerikalı'lardan (29,8/10⁵) çok daha düşüktür (19). Öte yandan, hastalığın tutulumunda ve ekstraintestinal komplikasyonlarda etnik farklılıkların gösterilmesi, etnik orijinin ve ırkın risk faktörü olarak önemini gözler önüne sermiştir (19). Ülkemizde ÜK ve CH insidansı sırayla 4,1 ve 2,6/10⁵, prevalansı ise 25,5 ve 7,7/10⁵ olarak tespit edilmiştir. Türk toplumu doğu ile batı toplumları arasında geçiş özelliği göstermektedir (20). CH ve ÜK, Askenazi yahudilerinde, diğer etnik gruplara göre yüksek oranda görülmektedir. İsrail'de ve Asya, Afrika kökenli yahudilerde bu insidans, Avrupa ve Amerika kökenli yahudilere kıyasla çok daha düşüktür (21). Sosyoekonomik koşulların iyi olduğu toplumlarda insidanda hafif bir artış olduğu göze çarpmaktadır. Özellikle kentsel alanlarda, kırsal alanlara göre insidanda belirgin artış görülmektedir. Bu fark, gelişmişlikle paralel olarak yaşam tarzının batılılaşması ve sanitasyon koşullarında düzelme ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. ÜK ve CH, pik insidansını 2. ve 3. dekatta yaparken, 5. ve 6. dekadlarda da ufak bir artış görülmektedir. Hastaların %15'i yetişkin yaşından önce tanı alır. İBH çoğunlukla genç popülasyonun hastalığıdır. Cinsiyetler arasında ise kaydedeğer bir farklılık bulunmamaktadır (22).

İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARININ ETİYOLOJİSİ

Çevresel Faktörler

Crohn hastalığı insidansında gün geçtikçe dünya çapında doğu-batı, kuzey-güney ve kent-kırsal şeklinde bir gradient oluşmaktadır. Genetikten ayrı olarak yaşam tarzı ile ilgili bazı alternatif açıklamalar getirilmektedir. Daha az etkilenen etnik gruplardan insidansın yüksek olduğu bölgelere göçenlerde insidansın artması, çevresel etkenlerin önemini arttırmaktadır (23). Bunda, batı stili yaşam tarzının etkili olduğu düşünülmektedir. Endüstrileşmeyle birlikte kariyer ve yüksek eğitime odaklanmış bir hayat tarzı ortaya çıkmaktadır. Bu da yanında daha fazla stres, bayanlarda daha az emzirme, kalabalık olmayan daha küçük aileler, daha iyi hijyen ve sanitasyon ortamı, sedanter yaşam, hava kirliliğine maruziyet, hazır gıda ve rafine şeker-doymamış yağ içeriği yüksek batı tarzı diyet ve sigara tüketimini getirmektedir (24-30). Söylenenlerin hepsi CH'da çalışılmış olmasına rağmen erken dönem sigaraya maruziyet kaydedeğer ölçüde risk oluşturmaktadır. Meta-analizlerde de

kontraseptif kullanımıyla bir bağ olduğu rapor edilmiştir (31). Kızamık, kabakulak, rubella ve “Bacillus Calmette-Guérin” ile ilişkisi saptanmamıştır. Appendektomi sonrası ise riskin arttığı gösterilmiştir (32).

Ülseratif kolitte de Crohn hastalığı gibi batılılaşma ile birlikte insidans oranları artmaktadır. Sanitasyon ve hijyen koşullarının iyi olması, küçük yaşta mikroorganizmalara maruz kalmayan konakçıda immün sistemin olgunlaşmasını engellemektedir (33). Daha ileriki dönemlerde etkenlerle karşılaştığında konakçı uygunsuz cevap vermektedir. Diğer yandan, sigara ve appendektomi CH için risk oluştururken, ÜK için koruyucudur (34,35). CH’da sigara nötrofillerin intestinal mukozaya yoğunlaşmasını arttırarak risk oluştururken, ÜK’de mukus salgısını arttırarak koruyucu rol oynamaktadır (36). *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* ile yakın zamanda geçirilmiş gastroenteritin ÜK gelişimi için risk oluşturduğu bildirilmektedir. Muhtemelen, genetik olarak duyarlı konakçıda hastalığı tetikleyen bir etken olarak rol oynamaktadır (37).

Epidemiyolojik çalışmalarda, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar ile hastalığın tetiklenmesi veya nüksü arasında zayıf da olsa bir ilişki olduğu rapor edilmiştir (38). Bazı retrospektif çalışmalarda ataklarda mevsimsel bir özelliğin olduğu bildirilmesine rağmen bu ilişki zayıftır (39). Psikolojik stresin hastalığın başlangıcında veya nüksünde tetikleyici bir rol oynadığına dair bir kanıt olmamasına rağmen, remisyondaki hastalığı alevlendirme riski yüksek görülmektedir (40). Oral kontraseptifler hastalık ile ilişkiliyken, 3 aydan fazla emzirmenin koruyucu olduğu rapor edilmiştir (31,41).

Kalıtısal Faktörler

İnflamatuvar barsak hastalıklarında ailesel agregasyon ilk olarak 1930’larda rapor edilmiştir (42). İkiz ve aile çalışmalarından gelen genetik epidemiyolojik veriler, bu hastalıkların çevresel faktörlerin yanında çok güçlü genetik komponentinin olduğunu desteklemektedir. Fakat, kalıtım mendel kurallarına göre gerçekleşmemektedir. Kuzey Avrupa’da ikizlerde yapılan geniş konkordans çalışmaları CH’da genetik geçişi gösteren en erken delillerdir (43). Daha sonra diğer ülkelerde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Alman çalışmasında, CH için monozigotik ikizlerde %35, dizigotik ikizlerde %3 konkordans bildirilmiştir (43). Hastalığa sahip bireylerin çocuklarında ise hastalık daha erken ortaya çıkmaktadır (44). ÜK’de bu oranlar daha düşük izlenmektedir. Konkordans oranı monozigotik ikizlerde %10 iken dizigotiklerde %3’dür (45).

Aile çalışmalarına bakıldığında, CH'lı hastanın birinci derece akrabasında CH riski %2,2-16,2 iken, İBH riski %5,2-22,5 arasındadır. Çocuklarında ise bu risk daha yüksektir. ÜK'li hastaların birinci derece akrabasında ÜK riski %5,7-15,5, İBH riski de %6,6-15,8'dir (42). Konkordans oranlarının ikizlerde dahi %100 olmaması, inkomplet penetransı ve güçlü çevresel etkiyi göstermektedir. Yine de pozitif aile hikayesi hala daha en büyük risk faktörüdür.

İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARI VE GENETİK

İnflamatuvar barsak hastalıkları etiolojisinde genetik faktörlerin etkili olduğu gösterildikten sonra, aile ve ikiz çalışmalarından elde edilen sonuçlar doğrultusunda, İBH için GWA çalışmaları ve genetik bağlantı analizleri yapılmaya başlanmıştır. Risk genlerini tanımlamaya yönelik ilk başarılı girişim, bir aile bazlı bağlantı analizi olmuştur. Bu bağlantı analizi sonucunda NOD2'un da içinde olduğu 6 lokus tanımlanmıştır (5,46,47). Sonrasında yürütülen GWA çalışmalarında, 12 kromozom üzerinde yakınlık lokusları tespit edilmiştir. İBH'nın genetik heterojenitesiyle uyumlu olarak bütün çalışmalarda birden çok lokus tanımlanmıştır. Kromozomlar üzerindeki bu alanlar rapor edilme zamanına göre inflamatuvar barsak hastalığı "Inflammatory Bowel Disease" (IBD)-1'den IBD-9'a doğru isimlendirildiler (48). İlk olarak kromozom 16 üzerindeki NOD2/CARD15 tanımlandı. Daha sonra "Disc Large Homolog" (DLG)-5, "Organic Cation Transporter" (OCTN)-1/2 ve diğer genler bunlara eklendi (48). Bağlantı analizlerinde, GWA çalışmalarında yakınlık oluşturan genlerin İBH'nın fenotip ve klinik seyriyle ilişkili oldukları izlendi. Bunlardan NOD2 hücre içi bakterilerin tanımlanmasına görev almaktadır. NOD2'deki mutasyonların fibrostenozan ileal CH ile ilişkili bulunmasından sonra İBH alanındaki araştırmalar doğal bağışıklık sistemi üzerine yoğunlaşmıştır (47). Devam eden dönemde tüm genom üzerinde binlerce tek nükleotid polimorfizmlerinin tarandığı GWA çalışmaları yapılmıştır. GWA çalışmalarının sonuçları doğrultusunda, intestinal bariyer sistemden, kazanılmış bağışıklık sistemine kadar immün sistemin her aşamasından 99 farklı yakınlık lokusunun tanımlanması, İBH'nın 100'den fazla genin sorumlu olduğu poligenik bir hastalık olduğu kanısını doğrulamaktadır (49,50). Son meta-analizlerle birlikte ilişkili lokus sayısı 163'a ulaşmaktadır. Bunlarda bir kısmı ÜK veya CH ile ilişkili iken, bir kısmı herikisine de yakınlık oluşturmaktadır (51). Fakat bu genetik lokusların çoğunun fonksiyonel rolü hala bilinmemektedir. Bundan sonraki çalışmalar yakınlık lokuslarında yeralan polimorfizmlerin fonksiyonel sonuçlarına yönelik olacaktır.

İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARININ PATOGENEZİNDE ETKİLİ MEKANİZMALAR

İnflamatuvar barsak hastalıkları, CH ve ÜK gibi birbirinden farklı klinik prezentasyona sahip iki hastalıktan oluşmaktadır. Her ne kadar örtüşen yakınlık lokusları olsa da, intestinal immün sistemin çeşitli aşamalarında, farklı genetik risk faktörlerine sahiptirler. Sonuç olarak herikisinde de farklı savunma hücrelerinin rol aldığı, birbirinden farklı immün yanıtlar ortaya çıkmaktadır. Tanımlanan 100'ün üzerinde yakınlık lokusu, hem ÜK, hem CH'da intestinal immün sistemin bütün seviyelerinde dengesiz immün yanıtı neden olabilir. Çoğunun fonksiyonel rolü hala bilinmemekle birlikte, günümüzde CH ve ÜK'deki abartılı immün yanıtı neden olabilecek bazı mekanizmalar öne sürülmektedir. Bunları, başlıca intestinal mikrobiyota, intestinal bariyer sistemi, endoplazmik retikulum stresi, otofaji, antijen tanımlama, antijen sunumu ve kazanılmış bağışıklık sistemi başlıkları altında toplayabiliriz.

İNTESTİNAL MİKROFLORA

Gastrointestinal sistem, devamlı olarak kompleks ve dinamik mikroorganizma popülasyonuna maruz kalmaktadır. Bu mikroplar konakçıyla simbiyotik bir ilişki kurarak, bazı fonksiyonların gerçekleşmesine yardımcı olmaktadır. İnsan barsağı yaklaşık 10-100 trilyon mikroorganizmayı barındırmaktadır. Bunların çoğunu bakteriler oluşturmaktadır. İntestinal bakteriyel çevre yaklaşık 500-1000 farklı türden oluşmaktadır (52). Bu organizmalar immün sistemden bir epitel tabakası kadar uzaklıkta olmalarına rağmen oluşturdukları ciddi antijenik çevreye karşı immün yanıt oluşmamaktadır. İBH'da henüz bilinmeyen bir mekanizmayla bu immüntolerans kaybolmaktadır. Bazı araştırmacılar tarafından, intestinal mikrobiyotaya karşı immün yanıtta artış olmasının, patogeneizde kilit rol oynadığı düşünülmektedir. İmmüntoleransın hangi organizma veya organizmalara karşı kaybolduğu net bir şekilde gösterilememiştir. Buna rağmen CH ile ilişkili olduğu düşünülen birçok organizma gösterilmiştir (53).

Son zamanlarda dikkatler patojen ajanlardan çok kommensal bakterilere doğru yoğunlaşmıştır. İBH'nın gelişmesinde normal enterik floranın kilit rol oynadığını gösteren birçok kanıt bulunmaktadır. Bakteriyel komponentlerin konakçı tarafından anormal olarak tanınmasından sorumlu genetik faktörlerin tanımlanmasıyla, bu kanıtlar daha da belirginleşmiştir (46). Normal insanlarda intestinal flora oldukça stabildir. Crohn hastalarında ise nisbeten dengesiz bir mikrobiyota olduğu rapor edilmiştir (54). ÜK ile ilgili bilgiler sınırlı

olmakla birlikte, ÜK hastalarında daha az bakteriyel çeşitliliğin olduğu yönünde bir eğilim vardır (55).

Sonuç olarak, disbiyozis dediğimiz normal enterik florada dengenin bozulmasıyla birlikte, kommensal veya patojen mikroorganizmalar, genetik olarak duyarlı kişilerde immün sistem tarafından anormal olarak algılanıyor olabilir. İBH'daki dengesiz immün yanıt ne kadar katkısının olduğu hala bilinmemektedir. Spesifik bir organizmaya odaklanmak yerine, normal kommensal mikrobiyotadaki bozulmuş dengenin nedenleri ve düzeltilmesi üzerine yoğunlaşılması İBH hakkında daha sağlıklı bilgiler edinilmesini sağlayabilir. Diğer yandan, intestinal mikrobiyota nakli yapılan İBH hastalarında nüks olmaksızın kliniğin gerilediği görülmüştür. Bunun yanında probiyotiklerin faydalı etkileri, disbiyozisin İBH'nın patogenezendeki rolünü kuvvetlendirmektedir.

İNTESTİNAL BARIYER SİSTEMİ

Barsak lümeni içinde bulunan büyük miktardaki bakteri kütlesi herhangi bir inflamatuvar yanıtı neden olmadan varlıklarını devam ettirebilmektedirler. Yalnız kanda çok düşük miktarda dahi olsa inflamatuvar yanıtı tetiklemektedirler. Barsaktaki bu homeostaz, salgılanan proteinler, mukus tabakası, epitelyal bariyer sistemi ve fizyolojik olarak bariyeri geçen kommensal bakterilere karşı gösterilen doğal immün yanıtın katkıda bulunduğu hücresel ve moleküler mekanizmalar sayesinde sağlanır.

İnflamatuvar barsak hastalığında çeşitli nedenlerle artmış epitelyal geçirgenliğin, muhtemel intestinal floradan köken almış antijenlerin mukozadan penetrasyonunu kolaylaştırdığı ve inflamatuvar yanıtı tetiklediği düşünülmektedir. CH'da kommensal bakterilere karşı immünglobulin-G üretiminde artış olması, mukozal bariyerin bütünlüğünün bozulduğunu veya normalde zararsız olan bakterilere karşı aşırı immün cevabın olduğunu gösterir (56).

Lüminal bakteriler ile konakçı arasındaki ilk temas, goblet hücreleri tarafından salgılanan intestinal mukus tabakasında olmaktadır. Mukus, içerdiği glukoproteinler vasıtasıyla viskozitesini arttırarak bakterilerin penetrasyonuna engel olur. İBH'da mukus tabakasının, sağlıklı insanlara göre kalınlığında azalma olduğu rapor edilmiştir. ÜK'de mukus salgılayan goblet hücrelerinde azalma olması bunu açıklayabilir. Aynı zamanda mukusun yapısında da kalitesini bozan değişiklikler bildirilmiştir (57-60).

İntestinal homeostazı sağlayan diğerk bir etken, Paneth hücreleri tarafından salgılanan antimikrobiyal peptitlerdir. Bu gruba ait defensinler ve katelisinlerin İBH ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır (61-64).

İntestinal epitelyal yapı, yukarıda bahsedilen mekanizmaları geçerek invaze olan bakterileri karşı hem mekanik bir bariyer vazifesi görmekte, hem de barındırdığı makrofajlar ve dentritik hücreler vasıtasıyla inflamatuvar yanıtın başlamasında merkezi bir rol üstlenmektedir. İBH'da epitelyal bariyerin devamlılığında önemli rolü olan sıkı bağlantı "tight-junction" ların yapısında bulunan proteinlerde de değişiklikler olmaktadır. *Occludin*, *claudin-3,4,5* ve *8*'de azalma gözlenirken, *claudin-2* ve *tricellulin*'de artma olmaktadır. Bunların klinik önemi henüz bilinmemektedir (65). Bunların yanında intestinal permeabilitede ve epitelyal yapının devamında görev alan birçok genin de İBH ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (66).

ANTİJEN TANIMLAMA

Crohn hastalığında ilk duyarlılık geni olarak NOD2'nin tanımlanmasıyla birlikte, İBH'nın patogenezinde doğal bağışıklık sisteminin rolü daha çok konuşulmaya başlanmıştır. Kommensal bakteriyel floranın konakçıyla etkili iletişimi için luminal mikroorganizmaların konakçı tarafından yeterli oranda tanınması gereklidir. Doğal bağışıklık sistemi, bazı spesifik reseptörler vasıtasıyla bu işlevi yerine getirmektedir (67). Bu reseptörlerden biri olan patern tanıyıcı reseptörler "Patern Recognizing Receptor", NOD benzeri reseptörler ve Toll benzeri reseptörler "Toll Like Receptor" (TLR) olmak üzere 2 reseptör ile bu fonksiyonlarını yerine getirmektedir. TLR'ler bakteri, fungus, virüs ve protozoa dahil birçok motifi tanıyabilme özelliğine sahipken, NOD benzeri reseptörler sadece bakteri yıkım ürünlerini tanıyabilmektedir. Bütün patern tanıyıcı reseptörler, patojen ilişkili moleküler patern "Pathogen Associated Molecular Patern" denilen mikrobiyal komponentleri tanımaktadırlar (68).

Toll Benzeri Reseptörler

Toll benzeri reseptörler ilk olarak 1985 yılında sirke sineğinde tanımlanmış, daha sonra memelilerde de olduğu anlaşılmış ve Toll benzeri reseptörler diye isimlendirilmiştir. Şimdiye kadar toplamda 13 üyesi tanımlanmıştır (69). Bu TLR'lerden birinin nükleer faktör- $\kappa\beta$ "Nuclear Factor- $\kappa\beta$ " (NF- $\kappa\beta$) yolağını aktive ettiğinin keşfedilmesi bu alanda dönüm noktası olmuştur (70). Bu da, TLR'nin doğal bağışıklık sistemi ile kazanılmış bağışıklık

sistemi arasında köprü vazifesi gördüğü fikrini desteklemektedir. İlk olarak bakteriyel lipopolisakkaritin TLR4'ün ligantı olduğu tanımlandı. Günümüzde ise 10 insan TLR'sinin ligantları tanımlanmış durumdadır (71). Bazı TLR'ler hücre içinde endosomlarda bulunup, genel olarak bakteriyel nükleik asitleri algılamakta, diğer TLR'ler hücre yüzeyinde bulunarak, hücre dışındaki motifleri tanımlamaktadırlar (68).

Spesifik ligantın TLR'lere bağlanmasıyla birlikte TLR'lerde dimerizasyon meydana gelir ve sinyal iletimi başlamış olur. Dimerizasyon sonrası oluşan konformasyonel değişiklik sonrasında adaptör molekül aktive olur. TLR reseptörlerinin seçiciliği ve meydana getirdiği fonksiyonların çeşitliliği, kullanılan hücre içi adaptör molekülleri tarafından belirlenir (72). Sinyal yolu, kinazların aktivasyonu ile devam eder, en son olarak NF- κ B'nin aktivasyonu ile tamamlanır.

Toll benzeri reseptörleri sürekli olarak uyarılması, proinflatuvar sitokinlerin kontrolsüz bir şekilde salgılanmasına ve ciddi sistemik hastalıklara sebebiyet verebilir. Bu dengeyi sağlayacak bazı kontrol mekanizmaları bulunmaktadır (72). Düzenlenmeden sorumlu proteinler sinyal iletiminin farklı basamaklarını inhibe ederek etki göstermektedirler. Barsakta bulunan kommensal bakterilerde olduğu gibi, lipopolisakkarite sürekli maruz kalındığında TLR4 ekspresyonunda azalma sonucu lipopolisakkarite karşı tolerans gelişmektedir (73). Aynı zamanda ortamdaki antiinflatuvar sitokinler nükleer seviyede TLR sentezini inhibe ederek regülasyona katkıda bulunmaktadır.

Son zamanlarda TLR4 ile İBH arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalarda artış mevcuttur (74). TLR'lerin varyantları ile ÜK veya CH'da tutulum yeri arasında ilişki bildirilmiştir (75-77). Bununla birlikte, yapılan GWA çalışmalarında, TLR yolunun regülasyonunda görev alan bazı proteinlerin de İBH ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (75).

Nükleotid Bağlayan Oligomerizasyon Domaini

Toll benzeri reseptörlerden sonra 2000'li yılların başlarında hücre içi patern tanıyıcı reseptörlerin yeni bir ailesi tanımlandı (78,79). Genelde bu ailenin üyeleri, amino-N terminal domaininde protein-protein etkileşimi gösteren kasetlerden oluşan CARD, ortasında NOD ve spesifik ligantın tanımlanmasında görev alan karboksi-C terminal domaininden oluşur. NOD kısmı kendiliğinden oligomerizasyon ve ATPaz aktivitesine sahiptir. Karboksi-C terminal kısmı da lösinden zengin tekrarlarından oluşur (80). Bunlardan biri olan NOD2, bakterilerin hücre duvarı komponenti olan peptidoglikanları tanıyarak aktive olmaktadır (81). NOD2 iki tane CARD içermektedir ve sitozolde bulunmaktadır (82). NOD2 temel olarak antijen sunan

hücrelerde ve epitel hücrelerinde eksprese olmaktadır (83). Bakteriyel peptidoglikanlar NOD2 için ligant olarak işlev görürler. NOD2 hem gram pozitif, hem gram negatif bakterilerin peptidoglikan yıkım ürünü olan muramil dipeptidi tanımlamaktadır (84). Bu peptidoglikanlar hücre içine fagositoz, aktif transport veya patojen kaynaklı mekanizmalar yoluyla girmektedir (80).

Peptidoglikan parçaları, NOD2'nin lösinden zengin tekrarların bulunduğu bölgesine doğrudan bağlanmasıyla NOD molekülünün oligomerizasyonu gerçekleşir. Sonrasında CARD-CARD etkileşimi meydana gelir. Aktif hale gelen CARD domaini bazı moleküllerle etkileşerek NF- κ B translokasyonunu gerçekleştirir (85). NOD2, NF- κ B üzerinden sitokin sentezini indükler (86). NOD2 sinyal yolunda da, sitokin sentezinin belli şartlar altında devam etmesi için kontrol mekanizması bulunmaktadır (87). Aynı zamanda NOD2 yolunun kronik olarak uyarılması, NOD ve TLR'nin devam eden uyarılara karşı yanıtını azaltmaktadır (88). Aynı tolerans etkisi TLR'nin kronik uyarılmasında da bulunmaktadır. TLR ve NOD2'de oluşan bir mutasyon, kommensal bakterilerin kronik uyarısına karşı tolerans etkisini ortadan kaldırarak, kronik inflamasyona sebep olabileceği düşünülmektedir (88).

İnflamatuvar barsak hastalığının etiopatogenezi ile ilgili en önemli gelişme, NOD2/CARD15'in CH için ilk duyarlılık geni olarak tespit edilmesi ile olmuştur (46). CH'na yatkınlığı sağlayan NOD2, 16. kromozomun perisentromerik bölgesine yerleşmiş olup IBD1 geni olarak isimlendirilmiştir (46). NOD2 üzerinde CH ile ilişkili 3 bağımsız mutasyon tanımlanmıştır. Bu 3 mutasyon da liganın bağlandığı lösinden zengin tekrarlara sahip kısmında değişikliğe neden olmaktadır. Bu şekilde bakteriyel ürünlerin algılanması bozulmakta ve hastalığın ortaya çıktığı düşünülmektedir (84,89). NOD2 polimorfizmi bulunanlarda ileal tutulumlu CH ve fibrostenozla bağlı komplikasyonlar daha sık izlenmektedir. NOD yolunun regülasyonunda görev alan bazı proteinlerin de İBH ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (75).

OTOFAJİ VE İNFLAMAZOM

Son zamanlarda, inflamatuvar barsak hastalığının patogenezinde, otofaji, endoplazmik retikulum stresi ve hücre içi bakteriyel antijen tanımlamadan oluşan 3 temel hücresel yolağın önemi ile ilgili yayınların sayısında artış vardır (90).

Genom çalışmalarında, "Autophagy related 16-like-1" (ATG16L1) (T300A) varyantı ile başlayıp, sonraki çalışmalarda "Immunity-related GTPase family M protein"(IRGM)'nin de ilişkisi gösterilmesiyle İBH'nın patogenezinde otofajinin yeri teyit edilmiş oldu (91,92).

Otofaji, hasarlanmış organellerin ve mikroorganizmaların kaldırılmasında fizyolojik bir cevap olarak ortaya çıkan korunmuş biyolojik bir işlemdir (93). Otofaji vücutta birçok fonksiyonda yer almakla birlikte, nörodejenerasyon, kanser, enfeksiyon ve inflamatuvar hastalıklar gibi birçok hastalıkta önemli rol oynamaktadır (94).

Otofaji işlemi, indüksiyon, kargo tanımlanması, vesikül oluşumu, otofagozom-vakuol füzyonu ve son olarak otofajik içeriğin yıkılması ve sitozole salınması aşamalarından oluşmaktadır (93). Bütün hücreler çeşitli koşullarda indüklenebilen düşük seviyeli bazal bir otofajiye sahiptir. İndüklenen otofaji çeşitli stres faktörlerine hücrenin adapte olabilmelerini sağlamaktadır. Bir serin/treonin protein kinaz inhibitörü olan rapamisin'in memelilerdeki hedef molekülü "mammalian target of rapamycin" (mTOR), otofajinin inhibitörü olarak merkezi bir rol oynamaktadır. Refrakter bir CH hastasında bir mTOR inhibitörü olan sirolimusun klinik olarak etkili olması bu yolağın insan İBH'sındaki önemini desteklemektedir (95). Çeşitli uyarılara bağlı olarak mTOR'un inhibitör etkisinin kalkmasıyla, organel veya organizmayı çevreleyen otofaji izolasyon membranının oluşmasıyla sonuçlanan kaskatta, fonksiyon görece otofaji "Autophagy" (Atg) proteinleri aktive olurlar (93). Üzerindeki mTOR'un engelleyici etkisinin kalkmasıyla Atg proteinleri endoplazmik retikulumdan izolasyon membranının nükleazyonunu sağlarlar. Sonrasında içinde Atg16L1'in de olduğu birçok Atg proteini izolasyon membranına tutunarak membranın uzamasını sağlarlar. En son izolasyon membranının kapanmasını sağlayarak otofagozomu oluştururlar. Otofagozom, lizozom ile birleşerek otofagolizozomu oluşturur. Lizozomun iç ortamı asitleştirmesi ile yıkım gerçekleşir(93).

Otofajinin, CH ile ilişkili olabilecek diğer bir mekanizması organizmanın inflamazomu kontrol yeteneğindeki azalmalardır. ATG16L1 eksik hematopoietik sistemde, doğal bağışıklık sistemi hücreleri TNFa ve TLR ile uyarılara kontrolsüz aşırı inflamazom yanıtı göstermektedirler (96). ATG16L1 polimorfizmi, aynı zamanda antibakteriyel peptit ve sitokinleri salgılayan Paneth hücreleri üzerinde de yapısal bozukluğa neden olmaktadır (97,98). Yalnız, bu Paneth hücre disfonksiyonunda tek başına intestinal inflamasyonunun olmaması çevresel ve başka genetik faktörlerin de eşlik etmesini gerekli kılıyor olabilir.

Otofajinin düzenlenmesinde, hücre içi bakteriyel motifleri tanımlama sisteminin de rolü bulunmaktadır (99). NOD2 kendi fonksiyon gördüğü yolaktan bağımsız olarak ATG16L1 ile doğrudan fiziksel temasta bulunarak otofagozomun oluşmasını indükler. NOD2 bakterinin hücreye giriş yerinde bulunur, bakteriyi tanımladıktan sonra ATG16L1'in izolasyon membranını oluşturması için uyarır, sonuç olarak bakteri fagozom içine alınır (100).

CH ilişkili NOD2 varyantlarında otofaji indüksiyonunun bozuk olduğu, ATG16L1'in bakteri giriş alanına toplanmasında sorun olduğu, CH ilişkili ATG16L1 varyantlarında ise muramil dipeptid uyarısıyla otofaji indüksiyonunun bozulduğu tespit edilmiştir (100,101). Otofajinin ve bakteriyel tanımlamanın düzgün işlemediği bir yerde antijenlerin hazırlanması ve kazanılmış bağışıklık sistemine sunulmasında da problemler ortaya çıkmaktadır. ATG16L1 varyantlarında muramil dipeptidin alınmasının ve NOD2'ye teslim edilmesinin etkilendiği, sonuç olarak NOD2 bağımlı NF- κ B'nin aktivasyonunun etkilendiği gösterilmiştir (102).

ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİ

Paneth hücrelerinin, İBH'da dengesiz immün cevabın temel tetikleyicisi olan kommensal mikrobiyotanın algılanması ve düzenlenmesinde önemli rollerinin olduğu düşünülürse, İBH'nın patogeneğinde etkili bir hücre tipi olduğu söylenebilir (103). Paneth hücrelerinin bu fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için önemli sekretuar fonksiyonlar gerçekleştirmesi gereklidir. Paneth hücrelerinin bu özelliği otofaji ile çok yakın ilişkisi olan diğer bir hücre yolağına dikkatleri çekmektedir. Bu yolağı, hem CH, hem de ÜK ile genetik olarak ilişkili olan, endoplazmik retikulum stresinin bir sonucu olan katlanmamış protein cevabı "Unfolded Protein Response" (UPR) oluşturmaktadır (104). Endoplazmik retikulum stresi, endoplazmik retikulum içindeki proteinlerin katlanma reaksiyonlarını etkileyen genetik veya çevresel faktörlerin etkisi sonucu, yanlış katlanmış proteinlerin birikmesi ile oluşur. Sonuç olarak, fonksiyonlarının çoğunu ister basal, ister indüklenmiş olsun sekretuar fonksiyonlar oluşturan hücrelerin normal fonksiyon görmesi normal UPR'ye bağlıdır. *Metazoa*'larda endoplazmik retikulum stresi sonucu oluşan UPR, 3 yolağı içermektedir. Herbirisi endoplazmik retikulum içindeki olayları algılayıp, hücrenin endoplazmik retikulum stresine adapte olmasını sağlayacak sitozolik transkripsiyon faktörlerinin üretilmesini uyarır. Bu adaptif cevap protein translasyonunu, lipid metabolizmasını düzenleyen endoplazmik retikulum membran sayısını, şaperonları düzenleyerek protein katlanma kabiliyetlerini ve endoplazmik retikulum ile ilişkili yıkım yollarını ve apoptozis ile ilişkili protein kalite kontrol mekanizmalarını etkileyen genel özellikleri içermektedir (105). UPR, endoplazmik retikulum ilişkili bir şaperon olan glukoz düzenleyici protein 78 "glucose-regulated protein 78" (grp78) tarafından düzenlenmektedir. Grp78 beraberindeki 3 membran proteinini [pankreatik endoplazmik retikulum kinaz "Pancreatic Endoplasmic Reticulum Kinase" (PERK), inositol gerektiren protein-1 "Inositol requiring protein-1" (IRE1) ve ATF6] inaktif durumda tutar. Katlanmamış proteinlerin grp78'e bağlanmasıyla bu proteinler serbest kalırlar.

PERK'in eIF2 α 'yı fosforilasyonu ile translasyonların sonlanması sağlanır. ATF6, golgiye göç ettikten sonra sitozolik kuyruğundan proteolitik kırılma geçirerek transkripsiyon için aktif hale gelir (105). Son olarak, IRE1, NF- κ B ve c-Jun N-terminal kinaz (JNK) yollarını ve bilinen tek substratı "X-box binding protein-1" (XBP1)'nin mesajcı ribonükleik asidi olan endoribonükleaz aktivitesini aktive eden kinaz olarak etki gösterir. XBP1 proteini, mesajcı ribonükleik asidi sadece endoribonükleaz ile işlem gördükten sonra sentezlenebilmektedir (105).

İnflamatuvar barsak hastalığı gelişimi için risk oluşturan bazı genetik faktörler UPR'yi etkilemektedir. İlki, IRE1'in kontrol ettiği XBP1'in, bazı GWA çalışmalarında CH ve ÜK için duyarlılık lokuslarında yer aldığı bildirildi (106). Xbp1'nin hipomorfik versiyonu, incebarsakta spontan inflamasyona, dekstran sodyum sulfat ile oluşturulmuş kolit için duyarlılığın artmasına neden olduğu tespit edilmiştir (104). Heterozigot Xbp1'lerde Paneth hücrelerinde antimikrobiyal fonksiyonlarında azalma gözlenirken, homozigot Xbp1 eksik olanlarda apoptozisten dolayı Paneth hücrelerinin neredeyse hiç olmadığı, goblet hücrelerinde ise azalma olduğu gözlenmektedir (104). XBP1 yokluğunda intestinal epitel, artmış IRE1 aktivitesiyle ilişkili olarak artmış JNK ve NF- κ B yanıtından dolayı inflamatuvar sitokinlere ve mikrobiyal faktörlere karşı aşırı hassastır. Sonuç olarak bozulmuş antimikrobiyal aktiviteyle birlikte mikrobiyal ve inflamatuvar ortama karşı aşırı artmış bir cevap ortaya çıkar, barsakta spontan inflamasyonla sonuçlanır (104).

Birçok sekonder faktör fonksiyonel proteinlerin düzgün katlanma ve sekresyonunu etkileyebilmektedir. Bu faktörler, endoplazmik retikulum içinde proteinlerin katlanmasını kolaylaştıran ortamı ve yanlış katlanmış proteinlerin düzgün bir şekilde algılanıp ortadan kaldırılmasını sağlayan kalite kontrol mekanizmasını etkilemektedir. Proteinlerin glikozilasyonunu (glukoz yokluğuna bağlı), proteinlerin katlanmasını (kalsiyum eksikliği, hipoksiye bağlı redoks dengesinin bozulması) ve proteinlerin yıkılmasını (proteozom fonksiyonunun azalması) etkileyen deneysel faktörler, yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine ve endoplazmik retikulum stresine sebep olmaktadır (107). Bahsedilen fonksiyonları etkileyen farklı genetik değişikliklerin de endoplazmik retikulum stresini arttırabileceğini düşünebiliriz. Sitozolden endoplazmik retikulum içine kalsiyum alımını düzenleyen "Orosomuroid 1 like gene-3" (ORMDL3), GWA çalışmalarında İBH için risk lokusunda olduğu tespit edilmiştir (108). Bu genin polimorfizminde, proteinlerin katlanmasında uygun ortamın oluşması için gerekli kalsiyum alınamadığı için endoplazmik

retikulum stresi artmaktadır (109). Yalnız, intestinal inflamasyonla bağlantısının hangi mekanizmayla olduğu tanımlanmış değildir.

Katlanmamış protein cevabının bazı mediatörleri otofajiyi uyarabilmektedir. Endoplazmik retikulum stresi altında IRE1, JNK sinyal yolağını aktive eder. JNK da hafif zincir “Light Chain” (LC)-3 (Atg8) vasıtasıyla otofagosom oluşumunu indükler (110). PERK yolağı üzerindeki eIF2 α ’nın da, otofaji indüksiyonunda rolü bulunmaktadır (111). Bu çalışmalarla, endoplazmik retikulum stresi ile otofaji arasında birbirlerinin fonksiyonlarını düzenleyen kontrol mekanizmalarının olduğu ortaya çıkmıştır. Diğer yandan, TLR4 ile UPR’nin IRE1 ve PERK yolakları arasında da bağlantı vardır (112). Düzgün bir doğal bağışıklık yanıtının oluşması için normal UPR’a ihtiyaç vardır.

ANTİJEN SUNUMU VE KAZANILMIŞ BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ

Doğal bağışıklık sistemi, lüminal bakterilere karşı ilk yanıtı oluşturduktan sonra patojene spesifik yanıtın oluşturulması için kazanılmış bağışıklık sistemini uyarır. Epitelyal bariyerin hemen altında bulunan dentritik hücreler (DC) lümene doğru uzattıkları kollarıyla lümendeki antijen yükünü TLR’ler vasıtasıyla örneklerler. Bu kommensal bakterilere karşı immün tolerans gelişimi, patojenlere karşı da immün yanıtın oluşturulmasında önemlidir. Diğer taraftan bariyer sistemini aşarak lamina propriyaya ulaşan bakteriler makrofajlar tarafından fagosite edilerek ortamdaki bakteriyel ürünler TLR’ler vasıtasıyla makrofaj ve DC’lerin uyarılmasını sağlayarak inflamatuvar yanıtı oluşturacak sitokinleri salgılatırlar. Diğer taraftan hücre içi bakteriyel ürünler inflamazom ve NOD2 tarafından tanımlanarak, diğer bir yolla inflamatuvar süreç uyarılır (antijen tanımlama kısmında ayrıntılı olarak bahsedildi).

İmmatür DC’lerin antijenleri örneklemesi ve makrofajların fagositozuyla alınan antijenler otofaji yoluyla hücre içi bazı hazırlık işlemlerinden geçirildikten sonra majör doku uyum kompleksi “Major Histocompatibility Complex” (MHC)-II vasıtasıyla kazanılmış bağışıklık sistemi hücreleri, B ve T hücrelerine sunulur. Antijen sunan hücrenin üzerindeki antijenle yüklü MHC-II molekülü, T hücre üzerindeki T hücre reseptörü ile birleşir. Bu sırada DC üzerindeki B7 (CD80 veya CD86), T hücre üzerindeki CD28 veya sitotoksik T lenfosit antijeni-4 “Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4” ile, DC üzerindeki CD40, T-hücre üzerindeki CD40 ligandı ile bağlanarak ko-stimülasyon oluşturur (113). Aynı zamanda DC salgıladığı sitokinlerle naif T-hücresinin hangi alt tipe farklılaşacağı belirlenir.

Dentritik hücreler tarafından salgılanan IL-12, IL-18 ve IL-27 ile CD4⁺ T_H1 hücrelerine, IL-10 ve interferon- α/β (IFN- α/β), epitelyal hücrelerden salgılanan dönüştürücü büyüme faktörü “Transforming Growth Factor” (TGF)- β ve CD103⁺ DC tarafından salgılanan retinoik asit ile regülatuvar T-hücresi (T_{Reg})’e, TGF- β ve retinoik asit yokluğunda IL-6 ile regülatuvar T-hücresi tip-1 (T_R1)’e, IL-6, TGF- β ve IL-23 ile T_H17 hücrelerine, IL-4 ile de T_H2’ye farklılaşması sağlanır. IL-6, çatal bağlantı kutusu-P3 “Forkhead Box-P3” (FOXP3)⁺ T_{Reg}’ı baskımlarken, sadece incebarsakta bulunan FOXP3⁻ T_R1’in farklılaşmasını indükler (114). Bununla beraber T-hücresi de DC’i uyarıcı sitokinler salgılar. T_H1, IFN- γ salgılayarak DC’in antijen sunumu ve IL-12 salgısını artırırken, T_{Reg} hücreler IL-10 ve TGF- β (T_R1 hücreleri IL-10, T_{Reg} hücreleri TGF- β) salgılayarak T_H17, T_H1, ve T_H2’in aktivitesini baskılar. T_H1 hücreleri IFN- γ ile, T_H2 hücreleri IL-5 ve IL-13 ile, T_R1 hücreleri ise IL-10 ile T_H17 aktivitesini inhibe ederken, T_H1 ile T_H2 salgıladıkları sitokinlerle birbirini baskımlarlar (114). Salgılanan bu sitokinler etkili olduğu hücre üzerindeki reseptörüne bağlanarak, hücre içindeki bazı transkripsiyon faktörlerini aktive eder. Sonuç olarak kendine has olan sitokinleri sentezlerler. Bu transkripsiyon faktörleri hücre tipine göre farklılık gösterir. T_H1 hücreleri T kutusu transkripsiyon faktörü “T-Box Transcription Factor” (T-bet), STAT1 ve STAT4’ü kullanırken, T_H2 hücreleri GATA’ya bağlanan protein-3 “GATA Binding Protein-3” (GATA3) ve STAT6’yı, T_H17 hücreleri STAT3 ve retinoik asit reseptör-bağımlı orphan nükleer reseptör gama-t “Retinoic-Acid Receptor-Related Orphan Receptor gamma-t” (ROR γ t)’yi, T_{Reg} hücreleri STAT5 ve FOXP3’ü, T_R1 hücreleri ise MAF’ı kullanmaktadır (114). T_{Reg} ile T_R1, regülatuvar hücreler olup salgıladıkları IL-10 ve TGF- β ile immün yanıtın regülasyonunu ve immün toleranstaki sınırı belirlerler. Lümendeki kommensal bakteriler karşı homeostazın devamında yardımcı olurlar. DC’in hangi hücre tipini uyaracağını, lümendeki mikrobiyota belirler. Kommensal veya patojen mikroorganizmanın antijenleri DC’deki uyarıların yönünü belirlemektedir. T_H1 hücreleri, salgıladıkları IFN- γ ile makrofajların etkinliğini daha da arttırmaktadır. Diğer yandan T_H17 hücreleri IL-22 ile lümene antimikrobiyal peptitlerin salgılanmasını artırırken, IL-17A-F nötrofil kemotaksisi ve aktivasyonunu sağlar. IL-21 de T_{Reg} hücreleri inhibe etmektedir. Heriki hücre de IL-6 ve TNF- α salgılayarak inflamasyonun sistemik etkilerinin oluşmasına katkıda bulunurlar. Sağlıklı insanlarda parazitlere maruziyet yoksa intestinal mukozada T_H2 pek bulunmaz. Bu T hücre alttipleri tam olarak farklılaşmış sayılmazlar, çeşitli uyarılarla T_H17 ile T_H1 hücreleri birbirine dönüşebilmektedirler (114).

İntestinal DC’ler retinoik asit vasıtasıyla B lenfositlerin plazma hücrelerine dönüşerek immünglobülin-A salgılamasını ve T ve B lenfositlerin kan dolaşımından inflamasyon alanına

toplanmasını sağlayan C-C motif kemokin reseptörü-9 “C-C Motif Chemokine Receptor-9” un lenfositler üzerinde programlanmasını sağlarlar (114). CD1d ile karakterize regülatuvar B hücreleri salgıladıkları IL-10 vasıtasıyla regülatuvar hücreleri organize etmekte ve inflamasyonu baskılayabilmektedir (115,116). Yalnız, CD1d intestinal epitelyal hücrelerde, makrofajlarda ve DC’de de eksprese olmaktadır. Antijen sunan hücrelerin üzerindeki CD1d tarafından sunulan lipitler ile doğal öldürücü “Natural Killer” (NK) hücreleri aktifleşip, doğal immün yanıtla benzer şekilde bol miktarda T_H1 , T_H2 ve T_H17 ’nin salgıladığı sitokinleri salgılar, bu hızlı yanıtla doğal ve kazanılmış immün sistemin birçok kolu aktifleştirilir. NK hücreleri indirekt olarak IL-12 ve IL-18 vasıtasıyla da aktive olabilmektedirler (115). ÜK’te lamina propriyada CD1d’ye cevap veren ve IL-13 salgılayan NK T hücrelerinde artış izlenmiştir (117). CD1d ve NK hücrelerinin ÜK oluşumundaki mekanizması henüz bilinmemekle birlikte, bazı olasılıklar ileri sürülmüştür. CD1d hem proinflamatuvar, hem regülatuvar hücrelerde eksprese olmaktadır (118,119). ÜK’te lamina propriyada regülatuvar hücrelerde CD1d ekspresyonu azalırken, proinflamatuvar hücrelerde artmaktadır. Bu etki IL-23 tarafından yönetiliyor olabilir.

Yakın zamana kadar, intestinal inflamasyonun T_H1 ile T_H2 arasındaki dengenin bozulmasıyla ortaya çıktığı kabul ediliyordu. CH’da IFN- γ ve IL-12 ile uyarılan T_H1 T-hücre aracılıklı immün yanıt, ÜK’de ise IL-4 ile uyarılan T_H2 aracılıklı immün yanıt olduğu düşünülüyordu. IFN- γ ’yı bloke eden antikorlar CH’da etkili olmazken, IL-12 ve IL-23’ü bloke eden IL-12p40 antikorları CH’da etkili olduğu görüldü. IL-17 üreten T_H17 hücrelerinin keşfinden sonra bu karışıklık çözülmüş oldu. CH’da lamina propriyada T_H1 ve T_H17 hücrelerinde artış olmaktadır. T_H17 aracılıklı IL-23/IL-17 aksı, T_H1 ’in yolağıyla birlikte CH’nın oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar (120). IL-23 reseptöründeki, IL-23R ve IL-12B polimorfizmleri hem ÜK, hem CH ile ilişkili bulunmuştur (92,121,122). IL-17 ekspresyonunun İBH’nın her iki alttipinde de arttığı izlenmiştir (123). Bazı hayvan modellerinde artmış T_H2 yanıtının ÜK’in patogeneze katkıda bulunduğu gösterilmiş olmasına rağmen, ÜK’de IL-4 üreten T hücrelerinin sayısında azalma gözlenmiştir (124). Yakın zamanda doğal lenfoid hücrelerin bir alttipi olarak tanımlanan doğal yardımcı T hücrelerinin, IL-13 ve IL-5 gibi T_H2 hücrelerinin salgıladığı sitokin profiline benzer sitokin salgısı yapması, ÜK’in T_H2 sitokin aracılıklı etiyolojisini destekleyebilir (125).

İntestinal inflamasyona neden olan patojenik efektör T-hücreleri (T_H17 ve T_H1), T_{Reg} hücreleri tarafından dengelenerek intestinal homeostazın devamlılığı sağlanmaktadır. T_{Reg} hücrelerin temel transkripsiyon faktörü FOXP3’te fonksiyon kaybına neden olan bir

mutasyon, içinde enteropatinin de olduğu IPEX sendromu'na (İmmün disregülasyon, Poliendokrinopati, Enteropati, X-geçişli) neden olmaktadır (126). Diğer yandan, FOXP3⁺ T_{Reg}'de sadece IL-10 delesyonu olduğunda spontan kolit gelişmiş, sistemik otoimmünite olmamıştır (127). CD4⁺CD45RB^{high} naif T hücreleri verilen immün yetmezlikli farelerde, IL-10^{-/-} T_{Reg} hücreleri kolit gelişimini önleyememektedir. Bu nedenle, T_{Reg} hücrelerin salgıladığı IL-10 intestinal homeostazda önemli olabilir (128). Yakın zamanda yapılan çalışmalar, IL-10'a bağlı olarak T_{Reg} hücrelerin inflamasyonu geriletebildiğini göstermiştir (129). IL-10 sinyal yolağı, İBH için genetik bir risk faktörü olan STAT3'ü de içine almaktadır. *stat3*^{-/-} makrofajlarda IL-10 indüksiyonuna bağlı sitokin sinyal baskılayıcı "Suppressor of Cytokine Signalling" (SOCS) ekspresyonu oluşmamakta ve mikrobiyal ürünlere maruziyette kontrolsüz IL-12/23p40 ekspresyonu ortaya çıkmaktadır (130). Bu durumda, IL-10'ün indüklediği STAT3 yolağı, T_H17 hücrelerini baskılayan doğal yardımcı T hücrelerindeki FOXP3'ü de uyaramamaktadır (131). Bu şekilde denge inflamasyon tarafına kayar. IL-10'daki bir polimorfizmin ÜK ile ilişkili olduğu, IL-10RA ve IL-10RB'daki bazı mutasyonların CH ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (132). Diğer yandan regülatuar hücreleri organize eden regülatuar B hücrelerindeki CD1d'de bir hasar olması durumunda kronik intestinal inflamasyon alevlenmeleri baskılanamamaktadır (115).

İntestinal DC'ler, T hücre cevabını düzenleyen bazı alttiplere ayrılırlar. Bunlar içinde CX₃CR1⁺CD11b⁺CD11c⁺ DC T_H17 hücrelerinin gelişmesini uyarırken, CD103⁺ DC'ler T_{Reg} hücrelerin farklılaşmasını uyarmaktadır (133,134). Diğer yandan E-cadherin⁺ DC'ler çok fazla miktarda TLR bulundurlar ve T_H17 yanıtını arttırarak, inflamasyonu şiddetlendiren IL-6 ve IL-23 gibi kolitogenik sitokinleri üretirler (135). DC alttipleri arasındaki dengenin bozulması durumunda intestinal inflamasyonun ortaya çıkması kaçınılmaz olmaktadır.

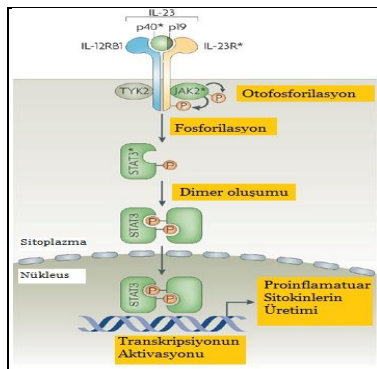
JANUS KİNAZ/SİNYAL DÖNÜŞTÜRÜCÜ VE TRANSKRİPSİYON AKTİVATÖRÜ VE İNTERLÖKİN-23 RESEPTÖR YOLAĞI

Bazı sitokinler ve büyüme faktörleri için JAK/STAT yolağı temel öneme sahiptir. Temel olarak 3 komponentten oluşmaktadır. Bunlar sırasıyla ekstraselüler peptitleri bağlayan transmembran reseptör kompleksi, reseptör zincirinin sitoplazmik kuyruğunda birleşik olan JAK proteinleri ve nükleusa giderek hedef gen ekspresyonunu sağlayan STAT proteinleridir. Ligant reseptöre bağlandığında reseptörün sitoplazmik tarafında komformasyonel değişiklik meydana gelir. Bu değişiklikten dolayı JAK proteinleri birbirine yaklaşır ve otofosforilasyon ile aktive olur. JAK proteinleri sonra reseptörün sitoplazmik kuyruğundaki

tirozinleri fosforile ederek STAT proteinleri için kenetlenme alanları oluşturur. Reseptöre bağlanan STAT proteinleri JAK tarafından fosforilasyona uğratarak, reseptörden ayrılmasını sağlayacak konformasyonel değişik oluşturur. Aktifleşmiş STAT homodimer veya heterodimer olarak hedef gendeki promotor alanına bağlanarak transkripsiyonu aktifleştirmek için nükleusa doğru ilerler (136,137).

Şimdiye kadar memelilerde dört tane JAK (JAK1, JAK2, JAK3 ve Tyk2), yedi tane de STAT (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b ve STAT6) molekülü tanımlanmıştır (138). Bu moleküller nörolojik gelişimden, eritropoezden, immün sistemin işleyişine kadar insan vücudunda hayati öneme sahip birçok fonksiyonun düzgün bir şekilde işlenmesinde önemli bir yere sahiptir (139-141). İBH ile ilişkili olduğu düşünülen birkaç JAK/STAT reseptör yolağı bulunmasına rağmen (IL-6, IL-10 ve IL-12 reseptör yolakları gibi) özellikle IL-23/JAK2/STAT3 yolağı İBH'nın patogeneğinde önemli bir role sahiptir. Bu yolak içerisinde IL-23'nin bağlandığı IL-23 reseptörü, IL-12R β 1 ve IL-23R olmak üzere iki komponentten oluşmaktadır. IL-23R'nin sitoplazmik kısmına JAK proteinlerinden JAK2 bağlanırken, IL-12R β 1'in sitoplazmik kısmına Tyk2 bağlanmaktadır. Bu yolaktaki STAT proteini STAT3'tür (Şekil-1) (142).

Yapılan GWA çalışmalarında bu yolaktaki IL-23R, JAK2, Tyk2 ve STAT3 İBH ilişkili duyarlılık lokuslarında yer almışlardır. Farklı populasyonlarda yapılan çalışmalarda bu moleküllerin CH ve ÜK için risk oluşturduğu gösterilmesine rağmen yeterli çalışma bulunmamakta, mevcut çalışmalar da birbiriyle çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur (49). IL-23R/STAT3 yolağı, IL-17, IL-21, IL-22, IL-6 ve TNF α gibi proinflamatuvar sitokinlerin sentezini sağlamaktadır.

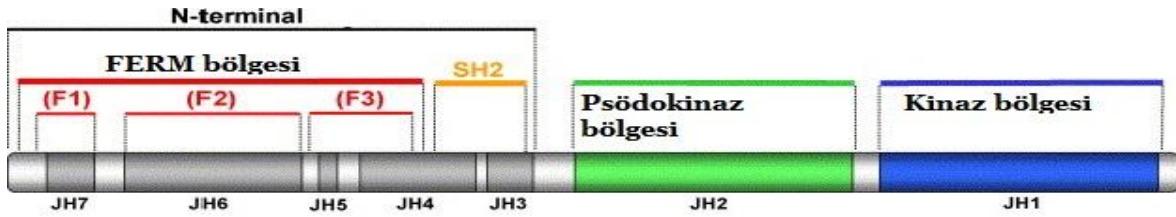


IL-23R: İnterlökin-23 reseptörü; **Tyk2:** Tirozin kinaz-2; **JAK2:** Janus kinaz-2; **STAT3:** Signal transducer and activator of transcription-3 (Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü-3).

Şekil 1. İnterlökin-23 reseptör/Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü-3 (136)

TİROZİN KİNAZ-2'NİN YAPISI VE FONKSİYONLARI

Tirozin kinaz-2 ilk olarak JAK ailesinden reseptörsüz tirozin kinazların bir üyesi olarak tanımlandı (143). İnsanlarda Tyk2 geni 19. kromozom üzerinde yer almaktadır. Tyk2 proteini, birden çok fonksiyonel alandan oluşan bir proteindir (Şekil-2). Molekül 1200 aminoasitten oluşmuş olup, diğer bütün JAK proteinleri ile yedi tane ortak homoloji alanı bulunmaktadır (142,144). C-terminal ucunda JAK homoloji “JAK Homology” (JH)-1 bölgesi, katalitik aktiviteye sahip aktif kinaz vazifesi görür. JH2 bölgesinin düzenleyici fonksiyonları vardır. N-terminal ucuna doğru, JH3-4 bölgesinde yer alan src-homoloji “Src Homology” (SH)-2'nin fonksiyonu şimdilik bilinmemektedir. En büyük alanı, JH4, JH5, JH6 ve JH7 bölgelerinde bulunan “four-point-one”, *ezrin*, *radixin*, *moesin* (FERM) homoloji bölgesi oluşturmaktadır. Bu bölge, JAK'ların uygun reseptörleri ile etkileşimini ve spesifitesini sağlamaktadır (145).

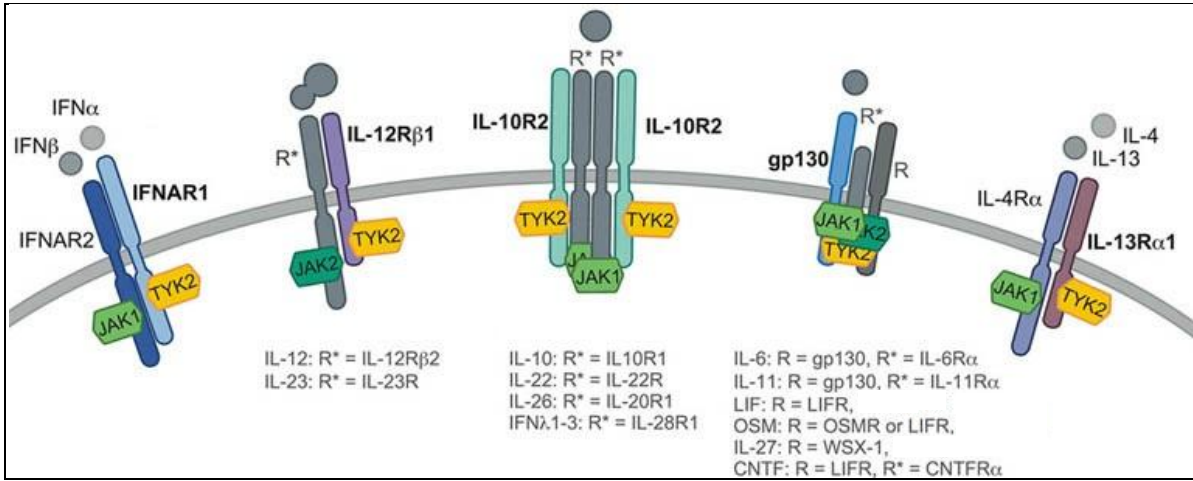


FERM: Four-point-one, ezrin, radixin, moesin; **F:** FERM bölgesi; **SH:** Src-homoloji; **JH:** Janus kinaz homoloji.

Şekil 2. Tirozin kinaz-2'nin yapısı (145)

Tirozin kinaz-2 farklı reseptör kompleksleri ile ilişkili olup, bulunduğu yere göre çok sayıda farklı sitokinle aktive olabilir (Şekil 3). Tip-1 IFN reseptör kompleksinde, IFN- α/β reseptör 1 (IFNAR1)'in sitoplazmik kısmında yer alır. Bu reseptör kompleksi, IFNAR1/Tyk2 ve IFNAR2/JAK1 komponentlerinden oluşur. Bu yolak STAT1 ve STAT2 aktivasyonunu sağlayarak, IFN- α/β 'nin fonksiyon görmesini sağlar. Deneysel çalışmalarda, Tyk2 eksik makrofajlarda tip-1 IFN sinyal yolağının fonksiyonları önemli ölçüde bozulmaktadır (146,147). IL-10 reseptör 2 (IL-10R2) ile birlikte olan Tyk2, IL-10, IL-22 ve IL-26 sinyal yolaklarında da rol oynamaktadır. Bu yolaklardaki Tyk2'nin fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda, Tyk2 eksik splenositlerde IL-10 cevabının değişmediği görülmüştür (148,149). Tyk2, glukoprotein-130 reseptör kompleksini kullanan IL-6, IL-11, IL-27, lösemi inhibitör faktör, onkostatin-M ve siliyer nörotropik faktör gibi sitokinler tarafından da aktive edilebilmektedir. Yalnız bu komplekslerde sinyal iletimi daha çok JAK1 bağımlıdır. Tyk2'nin çok bir rolü bulunmamaktadır (148). Tyk2, sitokin olarak IL-

4 ve IL-13'ü kullanan IL-13 reseptör kompleksinde (IL-13R α 1 ve IL-4R α 'dan oluşur) IL-13R α 1'e bağlı olarak bulunur ve bu sitokinlerin fonksiyon görmesinde gerekli olduğu gösterilmiştir (150). Son olarak, IL-12 ailesinin iki üyesi, IL-12 ve IL-23 reseptör komplekslerinde Tyk2, IL-12R β 1 ile bağlı olarak bulunur. IL-23 yolağında IL-23R'ne, IL-12 yolağında IL-12R β 2'ye ise JAK2 bağlı bulunmaktadır. Tyk2'nin eksikliğinde IL-12 ve IL-23 yolaklardaki sinyal iletimi kesintiye uğramaktadır (148).



IFN: İnterferon; **JAK:** Janus kinaz; **IFNAR:** İnterferon α/β reseptörü; **Tyk2:** Tirozin kinaz-2; **IL-23R:** İnterlökin-23 reseptörü; **R:** Reseptör; **gp130:** Glukoprotein-130; **LIF:** Leukemia inhibitor factor (Lösemi inhibitör faktör); **OSM:** Onkostatin-M; **CNTF:** Ciliary neurotropic factor (Siliyer nörotropik faktör).

Şekil 3. Tirozin kinaz-2'ye bağlı olarak işlev gören reseptör kompleksleri (142)

Antijenik uyarı sonrasında, antijen sunan hücrelerden IFN- α/β , IL-12, IL-18 ve IL-23 salınımı artar. IFN- α/β ve IL-12, NK hücrelerini, IL-18 ise T_H1 hücrelerini Tyk2 ve STAT4 bağımlı yolak vasıtasıyla IFN- γ salgılamak üzere uyarır. IFN- γ , NK ve sitotoksik T hücrelerinin sitotoksitesini uyarırken, T_H2 ve T_H17 farklılaşmasını inhibe eder. Öte yandan $\gamma\delta$ -T hücreleri ve Th17 hücreleri, antijen sunan hücreler tarafından salınan IL-23 ile uyarılarak Tyk2/JAK2/STAT3 vasıtasıyla IL-17 salınımını sağlar. IL-17, kemokin üretiminde ve nötrofil kemotaksisinde rol oynar. Tyk2 eksikliğinde, özellikle tip-1 IFN ve IL23 reseptör yolaklarının disfonksiyonuna bağlı olarak enfeksiyöz olaylara eğilim artmaktadır (142).

TİROZİN KİNAZ-2 VE İNFLAMATUVAR HASTALIKLAR

İnflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda, Tyk2 yokluğu hastalığın fenotipini hafiflettiği gösterildi. Tyk2 eksik farelerin yüksek doz lipopolisakkarit ile oluşturulmuş endotoksik şokta sağ kaldığı ve kollagen ile oluşturulmuş artrite dirençli olduğu görülmüştür

(151-153). Tyk2 deneysel otoimmün ensefalomyelit oluşmasında ve intestinal iskemik reperfüzyon hasarında katkısı bulunmaktadır (154,155). Farklı olarak, Tyk2 eksik farelerde kontakt hipersensitivite kliniği daha kötü seyretmektedir (156).

Diğer yandan, Tyk2 kanser oluşumu ve progresyonunda da rol almaktadır. Tyk2^{-/-} farelerde lenfoid tümörlere yatkınlık artmaktadır. NK ve T hücrelerinin tümör immün sürveyansının bozulması sonucu böyle bir sonuç ortaya çıkmaktadır (157). Tyk2^{-/-} farelerde, benzer şekilde meme kanserinin büyüme ve metastaz hızının arttığı izlenmiştir (158). Tyk2'nin insan meme kanser hücreleri serilerinde, prostat kanseri ve skuamöz serviks kanserinde aşırı derecede ekspresye olduğu rapor edilmiştir (158-160).

İnsan Tyk2 genindeki tek nükleotit polimorfizminin multiple skleroz, sistemik lupus eritematozis, psöriazis, tip-1 diabetes mellitus ve CH gibi bazı hastalıklarda artmış risk ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (161). Şimdiye kadar homozigot Tyk2 eksikliği bildirilen sadece tek bir vaka bulunmaktadır. Bu hastada klinik olarak şiddetli atopik dermatit, otozomal resesif hiperimmünglobülin-E sendromu ve tekrarlayan enfeksiyonlar rapor edilmiştir (161). Bütün bunlara rağmen Tyk2'nin spesifik inflamatuvar ve otoimmün hastalıklardaki kesin rolünün ne olduğu geniş ölçüde bilinmezliğini korumaktadır. Tyk2'nin IL-23R yolağındaki işlevleri ve bu yolağın CH ile ilişkisi düşünüldüğünde, Tyk2'nin İBH'nın patogenezinde etkili olabileceği akla gelmektedir. Tyk2, CH ve ÜK için duyarlılık lokuslarında yer almasına rağmen İBH ile ilişkisini gösteren çalışmalar yok denecek kadar azdır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

HASTA SEÇİMİ VE VERİLERİN TOPLANMASI

İnflamatuvar barsak hastalıklarında Tyk2 gen polimorfizmini araştırmak için planlanan çalışmamızın araştırma protokolü Trakya Üniversitesi Tıp Fakóltesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 16.01.2013 tarihli 02/02 kararıyla onaylandı (Protokol no: TÜTF-GOKAEK 2012/214) (Ek-1). Çalışma, finansal açıdan Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (TÜBAP) tarafından desteklendi (Proje no: TÜBAP-2013-18) (Ek-2). Çalışmaya, Trakya Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı polikliniğinde takip edilmekte olan, daha önceden endoskopik, radyolojik, histopatolojik ve klinik kriterlere göre CH veya K tanısı almış, 18 yaşından büyük toplam 211 hasta (60 CH, 151 K) dahil edildi (162). Hasta alımı, 15 şubat- 15 Mayıs 2013 tarihleri arasında yapıldı. İndetermine koliti olanlar ve çalışmaya katılmak istemeyenler çalışma dışında bırakıldı. Kontrol grubu olarak da 89 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Sağlıklı gönüllüler, İBH hastalığı ve bilinen herhangi bir kronik hastalığı olmayan sağlıklı kişilerden yaşa ve cinsiyete göre eşleştirilerek seçildi. Hastaların tıbbi kayıtlarından ve kendilerine yöneltilen anketten demografik ve hastalıkla ilgili bilgileri kaydedildi. K ve CH'nın sınıflandırılmasında Montreal sınıflaması kullanıldı (163). Bütün hastalardan alkol ve sigara kullanımı, İBH aile öyküsü, kortikosteroid, azatioprin ve biyolojik ajan kullanımı, kortikosteroid bağımlılığı ve direnci, İBH için operasyon gereksinimi ve diğer operasyonları, İBH ile ilişkili komplikasyonları, ve ekstraintestinal tutulum durumu ile ilgili verileri kaydedildi. Bütün hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden bilgilendirilmiş onam alındı (Ek-3 ve 4).

KANLARIN ALINMASI VE GENOMİK MATERYALİN HAZIRLANMASI

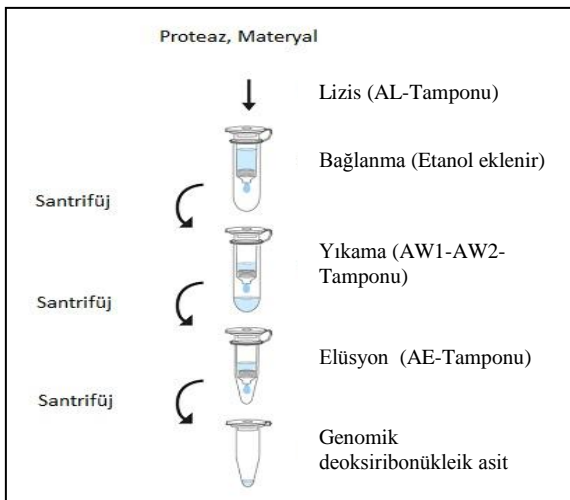
Çalışmaya dahil edilen bütün hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden etilen-diamino-tetraenoik asit “Etilene-Diamino-Tetraenoic Acid” (K_3EDTA) içeren tüpler içerisine 2 ml periferik venöz kan örneği alındı. DNA ekstraksiyonu yapılmaya kadar numuneler $-80^{\circ}C$ 'de muhafaza edildi. DNA ekstraksiyonu için silika teknolojisine göre çalışan QIAGEN® QIAamp DNA Mini Kit (cat.no:51304 ve 51306, Qiagen Straße 1, 40724 Hilden, Germany) ve QIAGEN otomatik DNA izolasyon robotu kullanıldı. İşlem üretici firmanın protokolüne göre, “spin column” metodu kullanılarak gerçekleştirildi.

İşlemden önce materyaller ve işlem için kullanılacak tamponlar oda sıcaklığına gelmesi için bekletildi. Kullanılacak tamponlardan, AL-Tamponu işlem öncesi iyice karıştırıldı, AW1 ve AW2-Tamponu %96'lık etanolle dilüe edildi. Herbir numuneye birer tane gelecek şekilde, 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerinin içine 20 µl QIAGEN proteazı konuldu. Daha sonra üzerine 200 µl kan örneği eklendi. Son olarak mikrosantrifüj tüpünün içine 200 µl AL-Tamponu (kaotropik tuzlar içeren lizis tamponu) eklenerek etkili bir şekilde lizisin olması için homojenize etmek üzere 15 saniye vortex'te karıştırıldı. $56^{\circ}C$ 'de 4 dakika inkübe edildi. Sonra solüsyona 200 µl %96'lık etanol eklenerek 15 saniye vortex'te karıştırıldı. Mikrosantrifüj içindeki karışım, 2 ml'lik toplama tüpünün içine yerleştirilmiş QIAamp Mini Kit “spin column” tüpleri içine aktarıldı. Kapağı kapatılarak 8000 rpm devirde 1 dakika santrifüj edildi. Bu şekilde lizis sonrası açığa çıkan DNA, ortamdaki kaotropik tuzların ve etanolün etkisiyle “spin column” tüpleri içinde bulunan silika membranına bağlanır, lizis sonucu oluşan yıkım ürünleri santrifüj sonucu toplama tüpünde birikir. Daha sonra “spin column” tüpleri yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirilerek, filtrat içeren toplama tüpü atıldı. Yıkım ürünlerinden arıtılması için bu defa içine 500 µl AW1-Tamponu (kaotropik tuz içeren yıkama tamponu) eklendi. 8000 rpm devirde 1 dakika santrifüj edildikten sonra altta filtrat içeren toplama tüpü atılarak yeni toplama tüpü konuldu. Sonra 500 µl AW2-Tamponu (sodyum azid içeren yıkama tamponu) eklenerek 14000 rpm devirde 3 dakika santrifüj edildi. İçindeki yıkım ürünlerinden tamamen arındırılmış “spin column” tüpleri yeni bir mikrosantrifüj tüpüne alınarak, alttaki filtrat içeren toplama tüpü atıldı. “Spin column” tüplerinin içine, silika'ya bağlı olan DNA'yı serbestleştirmek için 200 µl AE-Tamponu (elüsyon tamponu) eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildikten sonra 8000 rpm devirde 1 dakika santrifüj edildi. İşlem sonunda alttaki mikrosantrifüj tüpünün içinde yaklaşık 30 ng/µl'lik genomik DNA elde edilmiş oldu (Şekil 4). Örneklerin 260 nm'de

absorbansı ölçülerek elde edilen DNA'nın konsantrasyonu kontrol edildi (normal olarak 0,1-1,0 arasında olması beklenir).

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE GENOTİP TAYİNİ

Elde edilen genomik DNA ile Tyk2 genindeki rs280496 (g.1726282C>G), rs280519 (g.1735735A>G), rs2304256 (g.1738454C>A, [p.Val362Phe]) ve rs280523 (g.1740008G>A, [p.Thr172=]) polimorfizmleri çalışıldı (164). Genotip tayini için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu "Real-Time Polymerase Chain Reaction" yöntemi kullanıldı. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu işlemi için PimerDesign®SNPsig RT-PCR mutasyon tespit/allel ayırma kiti (PrimerDesign Ltd, The Mill Yard, Nursling Street, Rownhaws, Southampton, UK) kullanıldı. İşlem Corbett marka gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu cihazı ile üretici firmanın protokolüne göre gerçekleştirildi. İzole edilen genomik DNA'nın konsantrasyonları ölçüldü. 30-40 ng/μl arasında çıkanlardan, 2 μl DNA alınarak 18 μl su ile dilüe edildi. Sonuç olarak ortalama 5 ng/μl genomik DNA elde edildi. İşlemden önce kullanılacak olan PimerDesign®Genotyping Primer/probe Mix 55 μl'ye, PimerDesign®Wild-type/Mutant-type Positive Control Template herbiri 500 μl'ye dilüe edildi. Hazırlanan 20 μl PCR solüsyonu, herbir reaksiyon için 10 μl PimerDesign®2xPrecision MasterMix, 1 μl Primer/probe mix, 4 μl ribonükleaz ve deoksiribonükleaz içermeyen su ve 5 μl genomik DNA içermekteydi (Tablo 1). Herbir PCR döngüsünde, hastalardan alınan numunelerle birlikte, karşılaştırmak için birer adet vahşi-tip ve mutant-tip pozitif kontrol (herbiri 5 ng normal veya varyant tip kontrol DNA'sı içerir), bir adet de genomik DNA içermeyen negatif kontrol PCR solüsyonu hazırlandı.



Şekil 1. Genomik deoksiribonükleik asit elde edilme aşamaları

Hazırlanan solüsyonlar genotipler arası ayrışmanın optimum düzeyde olması için 2 aşamalı döngüye sokuldu. Cihazda pasif referans kısmı kapatıldı. Böylelikle florojenik veri ROX™ ve VIC™ boyaalarının kullanıldığı kanallardan alındı. Başlamadan önce PCR solüsyonu enzim aktivasyonu için 95°C’de 8 dakika tutuldu. Birinci aşamada, herbir döngüsü denatürasyon için 95°C’de 10 saniye, uzama için 60°C’de 60 saniyeden oluşan 10 döngü uygulandı. İkinci aşamada ise, herbir döngüsü denatürasyon için 95°C’de 10 saniye, uzama için 68°C’de 60 saniyeden oluşan 35 döngü uygulandı (Tablo 2). Genotiplere ait veriler ROX™ ve VIC™ kanallarından okundu. İşlemden önce vahşi-tip prob ROX™ kanalından, mutant-tip prob VIC™ kanalından okunması için etiketlendi.

Tablo 1. Polimeraz zincir reaksiyonu solüsyonunun içeriği

Genomik DNA veya Pozitif Kontrol	5 µl
2xPrecision MasterMix	10 µl
Genotyping Primer/probe Mix	1 µl
Ribonükleaz/deoksiribonükleaz içermeyen su	4 µl
Toplam hacim	20 µl

DNA: Deoksiribonükleik asit.

Tablo 2. Polimeraz zincir reaksiyonu aşamaları, süreleri ve sıcaklıkları

	Aşama	Süre (saniye)	Sıcaklık (°C)
	PCR enzim aktivasyonu	480	95
10 döngü	Denatürasyon	10	95
	Uzama	60	60
35 döngü	Denatürasyon	10	95
	Uzama	60	68

PCR: Polymerase chain reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu).

Vahşi-tip (normal tip)’te ROX™ kanalı kuvvetli amplifikasyon eğrisi verirken, VIC™ kanalı herhangi bir eğri oluşturmaz. Mutant-tip (varyant tip)’te ise eğri, ROX™’ta değil de VIC™ kanalında oluşur. Heterojizotta, ROX™ ve VIC™ kanallarının ortasında, orta derece bir sinyal oluşur. Elde edilen veriler, her 4 polimorfizm için ayrı ayrı normal tip, varyant tip ve heterozigot olarak herbir hasta ve sağlıklı gönüllü için not edildi. Herbir polimorfizmin

normal ve varyant suşları allelik ve genotipik olarak kaydedildi; rs280523 için normal allel: G, varyant allel: A, rs2304256 için normal allel: A, varyant allel: C, rs280519 için normal allel: A, varyant allel: G ve rs280496 için normal allel: C, varyant allel: G (164).

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Hastalara ait bilgilerin girişi ve istatistiksel analizi için SPSS 20.0 (SPSS inc, Chicago, CA, Lisans no:10240642) istatistik programı kullanıldı. Allel ve genotip frekanslarının hesaplanmasında Hardy-Weinberg eşitliği temel alındı. İBH için ilişkili risk faktörlerinin saptanmasında lojistik regresyon analizi yapıldı. Kontrol ve hasta grubuna ait allel ve genotip frekanslarının karşılaştırılmasında ki-kare (X^2) testi kullanıldı. Oranların arasındaki farkların hesaplanmasında uygunsa Fisher's Exact test tercih edildi. Ortalamaların karşılaştırılmasında Student-t test yapıldı. Anlamlı (p) değeri <0,05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

HASTALARIN DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Çalışmamıza, hasta grubu olarak 151 ÜK, 60 CH, kontrol grubu olarak da 89 sağlıklı gönüllü alındı. Hastaların ve sağlıklı gönüllülerin yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımı benzerdi. Alkol ve sigara kullanımı CH'da daha yüksek tespit edildi (Tablo 3). Hasta popülasyonumuzda, ÜK'de en sık ekstensif tip tutulumu (%45,7), CH'da ise en sık ileokolik tutulum (%61,7) görülmekteydi. CH'da inflamatuvar tip (%55) karşılaştığımız en sık davranış tipi idi. CH'da perianal tutulum hastaların sadece ¼'ünde bulunmaktaydı (Tablo 4). Tüm hastaların demografik özellikleri ve hastalık tutulum ve davranış paternleri (Tablo 3 ve 4)'de özetlenmiştir. Tüm olguların demografik ve çalışma verileri Ek 5'te verilmiştir.

Hastaların tanı yaşı ortalamaları benzerdi. Aile öyküsü ÜK'de daha fazla olmasına rağmen iki hastalık arasında anlamlı fark yoktu. İlaç kullanımı açısından, her iki hastalıkta da hastaların yaklaşık yarısında kortikosteroid kullanımı olduğu izlendi. Kortikosteroid kullanımı bağımlılığı ve direnci açısından ÜK ile CH arasında anlamlı fark izlenmezken, azathioprin ve anti-Tümör Nekroz Faktör- α (antiTNF α) kullanım oranı CH'da anlamlı derecede yüksekti. CH hastalarının yaklaşık yarısında İBH ilişkili operasyon hikayesi varken, ÜK'de bu oran çok düşüktü. CH'da appendektomi oranı anlamlı derecede yüksekti. Hastaların klinik özellikleri (Tablo 5)'de özetlenmiştir.

Tablo 3. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri

	Ülseratif Kolit	Crohn Hastalığı	Kontrol
Sayı (n)	151	60	89
Yaş (yıl) (ort±SS)(min-mak)*	44,56±12,7 (19-72)	41,83±13,8 (19-72)	44,80±12,8 (20-76)
Cinsiyet (K/E)**	61/90	30/30	41/48
Alkol kullanımı n(%)	24 (15,9)	14 (23,3)	-
Sigara kullanımı n(%)	22 (14,6)	16 (26,7)	-

*Student-t test, ülseratif kolit/kontrol için p=0,88; Crohn hastalığı/kontrol için p=0,182; Crohn hastalığı/ülseratif kolit için p=0,173; **X² testi, gruplararası p=0,40; SS: Standart sapma; K: Kadın; E: Erkek.

Tablo 4. Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı tutulum ve davranış paterni dağılımı

Hastalık	Alt tip	n(%)
Ülseratif Kolit	Ekstensif	69 (45,7)
	Sol	62 (41,1)
	Proktit	20 (13,2)
Crohn Hastalığı	İleal	17 (28,3)
	İleokolonik	37 (61,7)
	Kolonik	6 (10,0)
Crohn Hastalığı	Fistülizan	10 (16,7)
	Obstrüktif	17 (28,3)
	İnflamatuvar	33 (55,0)
	Perianal	16 (26,7)

Tablo 5. Ülseratif kolit ve Crohn hastalarının klinik özellikleri

	Ülseratif Kolit	Crohn Hastalığı	(p)
Tanı yaşı (Yıl, ort±SS)(min-mak)	37,60±12,12 (15-67)	36,20±14,15 (17-71)	0,473
İBH aile öyküsü n(%)	31 (20,5)	6 (10,0)	0,070
1° akraba	20 (13,2)	3 (5,0)	0,083
2° akraba	11 (7,3)	3 (5,0)	0,761
Kortikosteroid kullanımı n(%)	71 (47,0)	27 (45,0)	0,791
Azathioprin kullanımı n(%)	17 (11,3)	37 (61,7)	0,001
AntiTNFα kullanımı n(%)	9 (6,0)	12 (20,0)	0,002
Kortikosteroid bağımlılığı n(%)	14 (9,3)	9 (15,0)	0,171
Kortikosteroid direnci n(%)	14 (9,3)	9 (15,0)	0,228
İBH ilişkili operasyon n(%)	10 (6,6)	27 (45,0)	0,001
İBH dışı batın operasyonu n(%)	43 (28,5)	23 (38,3)	0,164
Appendektomi n(%)	4 (2,6)	15 (25,0)	0,001
pANCA pozitifliği n(%)	57 (57,0)	1 (3,6)	0,001

İBH: İnflamatuvar barsak hastalığı; antiTNFα: Anti tumor necrosis factor α (Anti tümör nekroz faktör α); pANCA: Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody (Perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikor); X² testi kullanılmıştır.

ALLEL FREKANSLARININ KARŞILAŞTIRMASI

Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığı ile İlişkisi

Tirozin kinaz-2 genine ait 4 farklı tek nükleotit polimorfizminin (rs280523, rs2304256, rs280519 ve rs280496) allel frekansları hesaplandı ve allel frekansları açısından ÜK ile CH grupları kontrol grubuyla ayrı ayrı karşılaştırıldı (Tablo 4). rs280523’de (G) alleli, rs2304256’da (A) alleli, rs280519’da (G) alleli ve rs280496’da ise (C) alleli majör allellerdi. Diğerleri minör allel idi. Lojistik regresyon analizinde polimorfizmlere ait hiçbir allelin ÜK ve CH ile doğrudan ilişkili olmadığı görüldü. Allel frekansları açısından ÜK ve CH grupları, kontrol grubuyla X^2 testi kullanılarak ayrı ayrı karşılaştırıldığında da herhangi bir anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 6).

Tablo 6. Tirozin kinaz-2 gen polimorfizmlerinin ülseratif kolit ve Crohn hastalığına göre allel frekansları dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

SNP	Allel	Kontrol n(%)	Ülseratif Kolit		Crohn Hastalığı	
			n(%)	(p)	n(%)	(p)
rs280523	G	165 (92,7)	278 (92,1)	0,798	113 (94,2)	0,619
	A	13 (7,3)	24 (7,9)		7 (5,8)	
rs2304256	A	129 (72,5)	208 (68,9)	0,405	83 (69,2)	0,537
	C	49 (27,5)	94 (31,1)		37 (30,8)	
rs280519	A	82 (46,1)	153 (50,7)	0,331	55 (45,8)	0,968
	G	96 (53,9)	149 (49,3)		65 (54,2)	
rs280496	C	136 (76,4)	224 (74,2)	0,585	92 (76,7)	0,958
	G	42 (23,6)	78 (25,8)		28 (23,3)	
Toplam (n)		178	302		120	

SNP: Single nucleotid polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi); X^2 testi kullanılmıştır.

Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığının Altıpleri ile İlişkisi

Ülseratif kolit tutulum yerine göre yapılan lojistik regresyon analizi ve X^2 testinde kontrol grubu, ÜK ayırımı için anlamlı ilişki saptanmaz iken, ÜK tutulum yerine göre gruplararası karşılaştırmada rs280496 (C) alleli ekstensif tip ÜK’de diğer alttıplere göre anlamlı derecede daha yüksek tespit edildi ($p=0,023$, OR: 1,855, CI: 1,0870- 3,1680). (G) alleli ise diğer alttıplere göre ekstensif tip ÜK’de anlamlı derecede daha düşük bulundu ($p=0,023$, OR: 0,539 (CI: 0,3160- 0,9200)). Diğer allel frekansları açısından ÜK alttıpleri ve kontrol grubu arasında anlamlı fark izlenmedi (Tablo 7).

Crohn hastalığının tutulum yeri ve davranış paternine göre allel frekansları açısından kontrol grubuyla ve altgruplar arası karşılaştırmada anlamlı ilişki yoktu (Tablo 8 ve 9).

Tablo 7. Tirozin kinaz-2 gen polimorfizmlerinin ülseratif kolit tutulum yerine göre allel frekansları dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

SNP	Allel	Kontrol n(%)	Proktit		Sol tip		Ekstensif	
			n(%)	(p)*	n(%)	(p)*	n(%)	(p)*
rs280523	G	165 (92,7)	36 (90)	0,565	113 (91,1)	0,620	129 (93,5)	0,962
	A	13 (7,5)	4 (10)		11 (8,9)		9 (6,5)	
rs2304256	A	129 (72,5)	27 (67,5)	0,529	87 (70,2)	0,661	94 (68,1)	0,399
	C	49 (27,5)	13 (32,5)		37 (29,8)		44 (31,9)	
rs280519	A	82 (46,1)	22 (55)	0,308	64 (51,6)	0,343	67 (48,6)	0,661
	G	96 (53,9)	18 (45)		60 (48,4)		71 (51,4)	
rs280496	C	136 (76,4)	27 (67,5)	0,243	86 (69,4)	0,173	111 (80,4)	0,390
	G	42 (23,6)	13 (32,5)		38 (30,6)		27 (19,6)	
Toplam (n)		178	40		124		138	

SNP: Single nucleotid polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi); *Ülseratif kolit tutulum yeri ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; X² testi kullanılmıştır.

Perianal tutulumlu CH'da, rs2304256 (A) alleli, perianal tutulumu olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek saptandı (%84,4 ile %63,6, p=0,03, OR:3,086, CI:1,082-8,804). (C) alleli ise perianal tutulumu olan CH'da anlamlı derecede düşük bulundu (%15,6 ile %36,4, p=0,03, OR:0,324, CI:0,114-0,925). Diğer polimorfizmler ile perianal tutulum arasında ilişki saptanmadı.

Ekstraintestinal Tutulum ile İlişkisi

Ülseratif kolit ve CH'da allel frekansları ekstraintestinal tutulum açısından karşılaştırıldı. Genel olarak ekstraintestinal tutulum varlığı ile ilişki saptanmadı. Organ tutulumları açısından allel frekansları ayrı ayrı karşılaştırıldı.

Üveiti olan CH hastalarında, olmayanlara göre rs280523 (A) allelinin anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi (%33,4 ile %4,4, p=0,039, OR:10,900, CI:1,5987-

74,3168). (G) alleli ise üveiti olan CH hastalarında anlamlı derecede düşük bulundu (%66,7 ile %95,6, p=0,039, OR:0,0917, CI:0,0135-0,6255).

Tablo 8. Tirozin kinaz-2 gen polimorfizmlerinin Crohn hastalığı tutulum yerine göre allel frekansları dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

SNP	Al.	Kontrol n(%)	İleal		İleokolonik		Kolonik	
			n(%)	(p)*	n(%)	(p)*	n(%)	(p)*
rs280523	G	165 (92,7)	33 (97,1)	0,348	68 (91,9)	0,825	12 (100)	0,332
	A	13 (7,5)	1 (2,9)		6 (8,1)		0 (0)	
rs2304256	A	129 (72,5)	22 (64,7)	0,359	50 (67,6)	0,434	11 (91,7)	0,188
	C	49 (27,5)	12 (35,3)		24 (32,4)		1 (8,3)	
rs280519	A	82 (46,1)	17 (50)	0,673	35 (47,3)	0,858	3 (25)	0,231
	G	96 (53,9)	17 (50)		39 (52,7)		9 (75)	
rs280496	C	136 (76,4)	26 (76,5)	0,993	56 (75,7)	0,901	10 (83,3)	0,736
	G	42 (23,6)	8 (23,5)		18 (24,3)		2 (16,7)	
Toplam (n)		178	34		74		12	

SNP: Single nucleotid polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi); *Crohn hastalığı tutulum yeri ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; **Al:** Allel; X² testi kullanılmıştır.

Tablo 9. Tirozin kinaz-2 gen polimorfizmlerinin Crohn hastalığı davranış paternine göre allel frekansları dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

SNP	Allel	Kontrol n(%)	Fistülizan		Obstrüktif		İnflamatuvar	
			n(%)	(p)*	n(%)	(p)*	n(%)	(p)*
rs280523	G	165 (92,7)	17 (85)	1,000	33 (97,1)	0,060	63 (95,5)	0,538
	A	13 (7,5)	3 (15)		1 (2,9)		3 (4,5)	
rs2304256	A	129 (72,5)	15 (75)	0,809	27 (79,4)	0,400	41 (62,1)	0,118
	C	49 (27,5)	5 (25)		7 (20,6)		25 (37,9)	
rs280519	A	82 (46,1)	10 (50)	0,738	12 (35,3)	0,246	33 (50)	0,584
	G	96 (53,9)	10 (50)		22 (64,7)		33 (50)	
rs280496	C	136 (76,4)	14 (70)	0,526	26 (76,5)	0,993	52 (78,8)	0,694
	G	42 (23,6)	6 (30)		8 (23,5)		14 (21,2)	
Toplam (n)		178	20		34		66	

SNP: Single nucleotid polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi); *Crohn hastalığı davranış paterni ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; X² testi kullanılmıştır.

Hepatobiliyer tutulum açısından ÜK ile sadece rs2304256 polimorfizmi ilişkili bulundu. (C) alleli ÜK'de hepatobiliyer tutulumu olanlarda anlamlı derecede daha yüksek iken (%42,1 ile %28,1, p=0,031, OR:1,8624, CI:1,0523-3,2962), (A) alleli hepatobiliyer tutulumu olan ÜK'lilerde daha düşüktü (%57,8 ile %71,8, p=0,031, OR:0,5369, CI:0,3034-0,9503). Hepatobiliyer tutulum ayrı ayrı değerlendirildiğinde, sadece non-alkolik steatohepatit

(NASH) ile kolelitiazis anlamlı derecede ilişkiliydi. rs2304256 (C) alleli hem CH'da hem ÜK'de NASH'i olanlarda, olmayanlara göre daha yüksek oranda bulundu (CH için %50 ile %27, p=0,042, OR:2,7037, CI:1,0133-7,2143; ÜK için %45 ile %29, p=0,042, OR:2,0024, CI:1,0168- 3,9433). (A) alleli ise heriki hastalık için NASH'i olanlarda daha düşüktü (CH için %50 ile %73, p=0,042, OR:0,3699, CI:0,1388-0,9869; ÜK için %55 ile %71, p=0,042, OR:0,4994, CI:0,2536-0,9835).

Kolelitiazisi olan CH hastalarında, rs2304256 (C) alleli ile rs280519 (A) alleli, kolelitiazisi olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek saptandı (rs2304256 (C) alleli için %71,4 ile %39,6, p=0,032, OR:3,5402, CI:1,1306- 11,0851; rs280519 (A) alleli için %85,7 ile %40,5, p=0,003, OR:8,791, CI:1,873- 41,266). rs2304256 (A) alleli ile rs280519 (G) alleli kolelitiazisi olan CH'da, olmayanlara göre anlamlı derecede düşük bulundu (sırasıyla OR:0,2825, OR:0,1138). ÜK ve CH'da primer sklerozan kolanjit ile ilişki bulunmadı.

Ülseratif kolit ve CH'da periferik eklem tutulumu, ankilozan spondilit (AS), sakroileit, osteoporoz (OP), Hashimoto tiroiditi, multinodüler guatr (MNG), pyoderma gangrenosum, eritema nodosum (EN), aftöz stomatit, nefrolitiazis, renal amiloidoz ve venöz tromboemboli gibi ekstraintestinal tutulumlarla allel açısından polimorfizmlerle arasında ilişki saptanmadı.

Komplikasyonlar ile İlişkisi

Crohn hastalığında rs280519 polimorfizmi perforasyon ile ilişkili bulundu. (A) alleli perforasyon geçiren CH'da, geçirmeyenlere göre anlamlı derecede yüksek iken, (G) alleli perforasyon geçiren CH hastalarında daha düşüktü (A alleli için %100 ile %43, p=0,008, OR:17,2020; G alleli için %0 ile %57, p=0,008, OR:0,058). Diğer polimorfizmlerle perforasyon, obstrüksiyon, toksik megakolon, fistül ve intraabdominal abse gibi komplikasyonlar arasında ilişki saptanmadı.

Operasyonlar ile İlişkisi

Tanı öncesi appendektomi geçiren ÜK hastalarında, rs2304256 (C) alleli, geçirmeyenlere göre daha yüksek oranda bulundu (%75 ile %29,9, p=0,013, OR:7,0227, CI:1,3902- 35,4752). (A) alleli ise apendektomi geçirenlerde daha düşük orandaydı (%25 ile %70,1, p=0,013, OR:0,142, CI:0,028-0,719). ÜK ve CH'da, İBH ile ilişkili operasyon, tanı öncesi geçirilmiş batın operasyonu, hemoroidektomi ve tonsillektomi ile polimorfizmin allel frekansları arasında ilişki bulunmadı.

İlaç Kullanımı ile İlişkisi

Ülseratif kolitte rs280519 (A) alleli kortikosteroid ihtiyacı ile ilişkili bulundu. Kortikosteroid ihtiyacı olan ÜK hastalarında, kullanmayanlara göre (A) alleli daha yüksekti (%56,9 ile %44,9, $p=0,037$, OR:1,6206, CI:1,0281-2,5545). (G) alleli de kortikosteroid ihtiyacı olan ÜK hastalarında, kullanmayanlara göre anlamlı derecede düşük bulundu (%43 ile %55,1, $p=0,037$, OR:0,6170, CI:0,3915-0,9726). Diğer yandan, rs2304256 (C) alleli ÜK’de kortikosteroid direnci ve azathioprin kullanımı olanlarda, olmayanlara göre daha yüksek saptandı (kortikosteroid direnci için %50 ile %29,3, $p=0,03$, OR:2,4074, CI:1,0696-5,4185; azathioprin ihtiyacı için %47 ile %29,1, $p=0,033$, OR:2,1652, CI:1,0506-4,4625). (A) alleli ise kortikosteroid direnci ve azathioprin gereksinimi olan ÜK hastalarında anlamlı derecede düşük tespit edildi (kortikosteroid direnci için %50 ile %70,7, $p=0,03$, OR:0,4154, CI:0,1846-0,9349; azathioprin kullanımı için %53 ile %70,9, $p=0,033$, OR:0,4618, CI:0,2241-0,9518). ÜK ve CH’da kortikosteroid bağımlılığı, antiTNF α kullanımı, tanı yaşı ve perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikör “Perinuclear Antineutrophil Cytoplasmic Antibody” (pANCA) ile allel frekansları arasında ilişki bulunmadı.

Demografik Özelliklerle İlişkisi

Ülseratif kolit ve CH’da cinsiyet, alkol ve sigara kullanımı ve aile öyküsü ile allel açısından polimorfizmler ile arasında ilişki bulunmadı.

GENOTİP FREKANSLARININ KARŞILAŞTIRMASI

Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığı ile İlişkisi

Tirozin kinaz-2 genine ait 4 farklı tek nükleotit polimorfizminin (rs280523, rs2304256, rs280519 ve rs280496) genotip frekansları hesaplandı ve ÜK ile CH grupları kontrol grubuyla ayrı ayrı karşılaştırıldı (Tablo 8). Populasyonumuzun kontrol grubunda ve CH’da, rs280523’ün (AA) genotipi olmadığı için istatistiksel analiz yapılamadı. ÜK’de de sadece bir hastada (AA) genotipi vardı. Lojistik regresyon analizinde rs2304256’nın (CC) ve (AC) genotipleri ile rs280519’un (AA) ve (AG) genotipleri ÜK ile, rs280519’un (AG) genotipi de CH ile ilişkili olduğu tespit edildi (sırasıyla $p=0,028$, $p=0,022$, $p=0,027$, $p=0,013$, $p=0,046$). Diğer iki polimorfizm ile ilişki bulunmadı. Genotip frekansları açısından ÜK ve CH grupları, kontrol grubuyla X^2 testi kullanılarak ayrı ayrı karşılaştırıldığında yukarıda bahsedilen ilişkiler teyit edildi (Tablo 10).

Ülseratif kolit grubuyla, kontrol grubu genotip frekansları açısından X^2 testi kullanılarak karşılaştırıldığında rs2304256'nın (CC) genotipi kontrol grubuna göre ÜK'de anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p=0,024$), (AC) genotipi daha düşük idi ($p=0,021$). rs280519'un (AA) genotipi de kontrol grubuna göre ÜK'de anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,025$), (AG) genotipi ise daha düşük izlendi ($p=0,012$). Diğer polimorfizmlerin genotip frekansları ile ÜK arasında ilişki yoktu. Kontrol grubuyla CH karşılaştırıldığında, sadece rs280519'un (AG) genotipi ile ilişki saptandı. rs280519'un (AG) genotipi CH'da anlamlı derecede daha düşüktü ($p=0,045$) (Tablo 10).

Tablo 10. Tirozin kinaz-2 gen polimorfizmlerinin ülseratif kolit ve Crohn hastalığına göre genotip frekansları dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

SNP	Genotip	Kontrol n(%)	Ülseratif Kolit		Crohn Hastalığı	
			n(%)	(p)	n(%)	(p)
rs280523	GG	76 (85,4)	128 (84,8)	0,896	53 (88,3)	0,605
	AA	0 (0)	1 (7,0)	0,629	0 (0)	-
	AG	13 (14,6)	22 (14,6)	0,994	7 (11,7)	0,605
rs2304256	AA	47 (52,8)	85 (56,3)	0,600	34 (56,7)	0,643
	CC	7 (7,9)	28 (18,5)	0,024*	11 (18,3)	0,054
	AC	35 (39,3)	38 (25,2)	0,021**	15 (25,0)	0,060
rs280519	AA	15 (16,9)	45 (29,8)	0,025***	15 (25,0)	0,224
	GG	22 (24,7)	43 (28,5)	0,527	20 (33,5)	0,251
	AG	52 (58,4)	63 (41,7)	0,012****	25 (41,7)	0,045*****
rs280496	CC	51 (57,3)	82 (54,3)	0,652	34 (56,7)	0,939
	GG	4 (4,5)	9 (6,0)	0,434	2 (3,3)	0,539
	GC	34 (38,2)	60 (39,7)	0,814	24 (40,0)	0,825
Toplam (n)		89	151		60	

SNP: Single nucleotid polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi); *OR:2,666 (CI:1,112-6,391); **OR:0,640 (CI:0,439-0,933); ***OR:1,768 (CI:1,049-2,981); ****OR:0,714 (CI:0,552-0,924); *****OR:0,5082 (CI:0,261-0,987); OR: Odd ratio (Odd oranı); CI: Confidence interval (Güvenirlilik aralığı); X^2 testi kullanılmıştır.

Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığının Altıpleri ile İlişkisi

Proktit ve sol tip ÜK ile kontrol grubunda rs280523 (AA) genotipine sahip olgu olmadığı için istatistiksel analiz yapılamadı. ÜK tutulum yerine göre yapılan lojistik regresyon analizinde rs280519 (AG) genotipi ekstensif tip ÜK ile, rs2304256 (CC) ve (AG) genotipleri ve rs280519 (AA) ve (AG) genotipleri sol tip ÜK ile ilişkili olduğu tespit edildi (sırasıyla $p=0,042, p=0,042, p=0,019, p=0,049, p=0,047$). Genotip frekansları, ÜK tutulum yerlerine göre kontrol grubuyla X^2 testi kullanılarak karşılaştırıldığında, proktit ile anlamlı bir ilişki saptanmadı. rs2304256'nın (CC) genotipi ile rs280519'un (AA) genotipi sol tip ÜK'de kontrol grubuna göre daha yüksek orandayken (sırasıyla $p=0,036, p=0,046$), rs2304256'nın

(AC) genotipi ile rs280519'un (AG) genotipi daha düşük oranda bulundu (sırasıyla p=0,017, p=0,046). rs280519'un (AG) genotipi ekstensif tip ÜK'de de kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük tespit edildi (p=0,041). Genotip frekansları, ÜK tutulum yerine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında sadece rs280496'nın (CC) genotipi ilişkili bulundu. (CC) genotipi diğer ÜK alttiplerine göre ekstensif ÜK'de daha yüksek oranda saptandı (p=0,032, OR: 2,038, CI: 1,058- 3,924). ÜK tutulum yerine göre başka anlamlı ilişki yoktu (Tablo 11).

Tablo 11. Tirozin kinaz-2 gen polimorfizmlerinin ülseratif kolit tutulum yerine göre genotip frekansları dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

SNP	Gn	Kontrol n(%)	Proktit		Sol tip		Ekstensif	
			n(%)	(p)*	n(%)	(p)*	n(%)	(p)*
rs280523	GG	76 (85,4)	16 (80)	0,511	51 (82,3)	0,604	61 (88,4)	0,580
	AA	0 (0)	0 (0)	-	0 (0)	-	1 (1,4)	0,437
	AG	13 (14,6)	4 (20)	0,511	11 (17,7)	0,604	7 (10,1)	0,403
rs2304256	AA	47 (52,8)	11 (55)	0,859	37 (59,7)	0,403	37 (53,6)	0,919
	CC	7 (7,9)	4 (20)	0,115	12 (19,4)	0,036 **	12 (17,4)	0,068
	AC	35 (39,3)	5 (25)	0,229	13 (21,0)	0,017 ***	20 (29,0)	0,176
rs280519	AA	15 (16,9)	7 (35)	0,067	19 (30,6)	0,046 ****	19 (27,5)	0,105
	GG	22 (24,7)	5 (25)	0,979	17 (27,4)	0,709	21 (30,4)	0,423
	AG	52 (58,4)	8 (40)	0,134	26 (41,9)	0,046 **** *	29 (42,0)	0,041 * *****
rs280496	CC	51 (57,3)	9 (45)	0,317	29 (46,8)	0,202	44 (63,8)	0,410
	GG	4 (4,5)	2 (10)	0,303	5 (8,1)	0,488	2 (2,9)	0,697
	GC	34 (38,2)	9 (45)	0,574	28 (45,2)	0,392	23 (33,3)	0,527
Toplam (n)		89	20		62		69	

SNP: Single nucleotid polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi); *Ülseratif kolit tutulum yerleri ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; **OR:2,8114 (CI:1,0381-7,614); ***OR:0,4093 (CI:0,1944-0,8621); ****OR:2,1798 (CI:1,005-4,7283); *****OR:0,5139 (CI:0,2663-0,9917); *****OR:0,5159 (CI:0,2727-0,9757); OR: Odd ratio (Odd oranı); CI: Confidence interval (Güvenirlilik aralığı); Gn: Genotip; X² testi kullanılmıştır.

Crohn hastalığının bütün alttiplerinde ve kontrol grubunda rs280523 (AA) genotipi olmadığı için bu genotipe ait istatistiksel analiz yapılamadı. CH tutulum yerine göre yapılan lojistik regresyon analizinde sadece rs280519 (AG) genotipi ileokolonik tip CH ile ilişkili olduğu tespit edildi (p=0,019). Genotip frekansları, CH tutulum yerine göre kontrol grubuyla X² testi kullanılarak karşılaştırıldığında sadece rs280519'un (AG) genotipiyle ileokolonik tutulum arasında ilişki saptandı. (AG) genotipi kontrol grubuna göre ileokolonik CH'da anlamlı derecede düşük bulundu (p=0,017). CH tutulum yerine göre alttipler kendi arasında genotip frekansları açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark izlenmedi (Tablo 12).

Crohn hastalığının davranış paternine göre yapılan lojistik regresyon analizinde rs2304256 (CC) genotipi ile rs280519 (AG) genotipi inflamatuvar tip CH ile ilişkili olduğu saptandı (sırasıyla p=0,02, p=0,016). Genotip frekansları, CH davranış paternine göre kontrol grubuyla X² testi kullanılarak karşılaştırıldığında inflamatuvar tip CH’da rs2304256 (CC) genotipi anlamlı derecede yüksek bulunurken, rs280519 (AG) genotipi düşük oranda saptandı (sırasıyla p=0,014, p=0,014). Davranış paterni açısından CH alttipleri kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı ilişki bulunmadı (Tablo 13). CH’da perianal tutulum, perianal fistül, stenoz ve abse ile de genotip frekansları açısından anlamlı ilişki yoktu.

Tablo 12. Tirozin kinaz-2 gen polimorfizmlerinin Crohn hastalığı tutulum yerine göre genotip frekansları dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

SNP	Gn	Kontrol n(%)	İleal		İleokolonik		Kolonik	
			n(%)	(p)*	n(%)	(p)*	n(%)	(p)*
rs280523	GG	76 (85,4)	16 (94,1)	0,460	31 (83,8)	0,818	6 (100)	0,592
	AA	0 (0)	0 (0)	-	0 (0)	-	0 (0)	-
	AG	13 (14,6)	1 (5,9)	0,460	6 (16,2)	0,818	0 (0)	0,592
rs2304256	AA	47 (52,8)	9 (52,9)	0,992	20 (54,1)	0,898	5 (83,3)	0,217
	CC	7 (7,9)	4 (23,5)	0,074	7 (18,9)	0,072	0 (0)	1,000
	AC	35 (39,3)	4 (23,5)	0,278	10 (27,0)	0,189	1 (16,7)	0,403
rs280519	AA	15 (16,9)	4 (23,5)	0,501	11 (29,7)	0,104	0 (0)	0,585
	GG	22 (24,7)	4 (23,5)	1,000	13 (35,1)	0,234	3 (50)	0,184
	AG	52 (58,4)	9 (52,9)	0,675	13 (35,1)	0,017**	3 (50)	0,694
rs280496	CC	51 (57,3)	9 (52,9)	0,739	21 (56,8)	0,955	4 (66,7)	1,000
	GG	4 (4,5)	0 (0)	1,000	2 (5,4)	1,000	0 (0)	1,000
	GC	34 (38,2)	8 (47,1)	0,494	14 (37,8)	0,969	2 (33,3)	1,000
Toplam (n)		89	17		37		6	

SNP: Single nucleotid polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi); * Crohn hastalığı tutulum yerleri ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; ** OR:0,3854 (CI:0,1739-0,8542); **OR:** Odd ratio (Odd oranı); **CI:** Confidence interval (Güvenirlik aralığı); **Gn:** Genotip; X² testi kullanılmıştır.

Ekstraintestinal Tutulum ile İlişkisi

Ülseratif kolit ve CH’da genel olarak ekstraintestinal tutulum varlığı ile genotip açısından polimorfizmin ilişkisi yoktu. Ekstraintestinal bulgular organ tutulumu açısından ayrı ayrı değerlendirildi.

Crohn hastalığında rs280523 (GG) ve (AG) genotipleri üveit ile ilişkili bulundu. (GG) genotipi üveiti olan CH’da daha düşük oranda izlenirken (%33,3 ile %91,2, p=0,034, OR:0,048, CI:0,004-0,628), (AG) genotipi üveiti olan CH’da daha yüksek oranda tespit edildi (%66,7 ile %8,8, p=0,034, OR:20,800, CI:1,592-271,74). ÜK’te üveit ile anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Tablo 13. Tirozin kinaz-2 gen polimorfizmlerinin Crohn hastalığı davranış paternine göre genotip frekansları dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

SNP	Gn	Kontrol n(%)	Fistülizan		Obstrüktif		İnflamatuvar	
			n(%)	(p)*	n(%)	(p)*	n(%)	(p)*
rs280523	GG	76 (85,4)	7 (70)	0,202	16 (94,1)	0,460	30 (90,9)	0,554
	AA	0 (0)	0 (0)	-	0 (0)	-	0 (0)	-
	AG	13 (14,6)	3 (30)	0,202	1 (5,9)	0,460	3 (9,1)	0,554
rs2304256	AA	47 (52,8)	6 (60)	0,748	12 (70,6)	0,176	16 (48,5)	0,671
	CC	7 (7,9)	1 (10)	0,587	2 (11,8)	0,634	8 (24,2)	0,014**
	AC	35 (39,3)	3 (30)	0,737	3 (17,6)	0,104	9 (27,3)	0,218
rs280519	AA	15 (16,9)	2 (20)	0,680	2 (11,8)	1,000	11 (33,3)	0,084
	GG	22 (24,7)	2 (20)	1,000	7 (41,2)	0,163	11 (33,3)	0,341
	AG	52 (58,4)	6 (60)	1,000	8 (47,1)	0,386	11 (33,3)	0,014***
rs280496	CC	51 (57,3)	5 (50)	0,659	9 (52,9)	0,739	20 (60,6)	0,743
	GG	4 (4,5)	1 (10)	0,420	0 (0)	1,000	1 (3,0)	1,000
	GC	34 (38,2)	4 (40)	1,000	8 (47,1)	0,494	12 (36,4)	0,852
Toplam (n)		89	10		17		33	

SNP: Single nucleotid polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi); * Crohn hastalığı davranış paterni ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; **OR:3,7486 (CI:1,2368-11,3613); ***OR:0,3558 (CI:0,154-0,8221); **OR:** Odd ratio (Odd oranı); **CI:** Confidence interval (Güvenirlilik aralığı); **Gn:** Genotip; X² testi kullanılmıştır.

Hem CH'da hem ÜK'de primer sklerozan kolanjit ve NASH ile anlamlı ilişki yoktu.

Crohn hastalığında rs280519 (AA) ve (GG) genotipleri kolelitiazis ile anlamlı derecede ilişkili bulundu. rs280519 (AA) genotipi kolelitiazisi olan CH'da daha yüksek oranda tespit edildi (rs280519 (AA) için %71,4 ile %18,9, p=0,008, OR:10,750, CI:1,816-63,640). rs280519 (GG) genotipi ise kolelitiazisi olan CH'da anlamlı derecede daha düşük oranda bulundu (%0 ile %37,7, p=0,048, OR:0,623, CI:0,505- 0,768). ÜK'de kolelitiazis ile anlamlı ilişki bulunmadı.

Aksiyal tutulumu olan ÜK hastalarında rs280519 (AG) genotipi, olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek bulundu (%65 ile %38,1, p=0,028, OR:3,0086, CI:1,1245-8,0496). (AG) genotipi aynı zamanda AS olan ÜK'de daha yüksek oranda tespit edildi (%90 ile %38,3, p=0,0123, OR:14,500, CI:1,7868-117,6704). ÜK'de periferik artropati ile ilişki yoktu. CH'da ister periferik, ister aksiyal tutulum olsun eklem tutulumu ile anlamlı ilişki bulunmadı.

Crohn hastalığında rs280519 (AA) genotipi OP ile ilişkiliydi. (AA) genotipi OP olan CH'da olmayanlara göre anlamlı derecede daha düşük oranda tespit edildi (%13,3 ile %36,7, p=0,037, OR:0,266, CI:0,073-0,964). ÜK'te OP ile ilişki bulunmadı.

Multinodüler guatrı olan ÜK hastalarında rs2304256 (AC) genotipi, olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek tespit edildi ($p=0,015$). CH'da MNG ile ilişki bulunmadı. Heriki hastalıktada genotipik açıdan Hashimoto tiroiditi ile ilişki saptanmadı.

Crohn hastalığında ve ÜK'de eritema nodosum, pyoderma gangrenosum, aftöz stomatit, nefrolitiazis, renal amiloidoz ve venöz tromboemboli ile polimorfizm arasında genotipik açıdan anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Komplikasyonlar ile İlişkisi

Crohn hastalığında rs280519 (AA) genotipi perforasyon olanlarda olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek bulundu (rs280519 (AA) için %100 ile %21,1, $p=0,013$, OR:25,48, CI:1,2328-526,6399). CH'da obstrüksiyon, fistül, toksik megakolon, intraabdominal abse gibi diğer komplikasyonlar ile ilişki saptanmadı. ÜK'de ise herhangi bir komplikasyon ile ilişki bulunmadı.

Operasyonlar ile İlişkisi

Ülseratif kolitte tanı öncesi apendektomi operasyonu ile rs2304256 (CC) genotipi arasında ilişki bulundu. (CC) genotipi, appendektomi olan ÜK hastalarında olmayanlara göre daha yüksek orandaydı (%75 ile %17, $p=0,020$, OR:14,640, CI:1,462-146,560). ÜK'de İBH ilişkili operasyon, tanı öncesi batın operasyonu, hemoroidektomi ve tonsillektomi ile genotip açısından polimorfizmlerle ilişki yoktu. CH'da da herhangi bir operasyon ile ilişki bulunmadı.

İlaç Kullanımı ile İlişkisi

Ülseratif kolitte rs280519 (AA) genotipi, kortikosteroid ihtiyacı olanlarda, olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek tespit edildi (%38 ile %22,5, $p=0,037$, OR:2,1136, CI:1,0385-4,3018). rs280519 (GG) ile (AG) genotipleri ÜK'de antiTNF α kullanımıyla ilişkili bulundu. (GG) genotipi antiTNF α kullananlarda anlamlı derecede daha düşük izlenirken (%0 ile %30,3, $p=0,044$, OR:0,697, CI:0,629-0,777), (AG) genotipi daha yüksek bulundu (%88,9 ile %38,7, $p=0,004$, OR:12,655, CI:1,540-103,971). ÜK'de azathioprin kullanımı, kortikosteroid bağımlılığı ve direnci ile anlamlı ilişki yoktu. CH'da da azathioprin, kortikosteroid ve antiTNF kullanımı, kortikosteroid bağımlılığı ve direnci ile ilişki saptanmadı.

Ülseratif kolitte tanı yaşı ile rs280496 (CC) ve (GC) genotipleri ilişkili bulundu. (CC) genotipini taşıyanların tanı yaşı ortalaması, taşımayanlara göre anlamlı derecede daha büyük

iken (39,59 ile 35,23, $p=0,027$), (GC) genotipini taşıyanların tanı yaşı ortalaması daha küçüktü (34,93 ile 39,35, $p=0,028$). Aynı zamanda 40 yaş altı ÜK tanısı alanlara göre, 40 yaş üstü tanı alan ÜK'de rs280496 (CC) genotipi anlamlı derecede daha yüksek tespit edilirken (%65,5 ile %47,3, $p=0,029$, OR:2,116, CI:1,075-4,166), (GC) genotipi daha düşük bulundu (%27,6 ile %47,3, $p=0,025$, OR:0,424, CI:0,210-0,859). CH'da 40 yaş altı ile 40 yaş üstü tanı alanlar genotipik açıdan karşılaştırıldığında anlamlı ilişki izlenmedi.

Ülseratif kolitte pANCA pozitifliği ile rs2304256 (AA) ve (AC) genotipleri ilişkili bulundu. pANCA (+) olan ÜK'de (AA) genotipi anlamlı derece daha düşük oranda izlenirken (%42,1 ile %65,1, $p=0,023$, OR:0,3896, CI:0,1719-0,8832). (AC) genotipi pANCA pozitif olanlarda daha yüksekti (%40,3 ile %18,6, $p=0,020$, OR:2,9596, CI:1,1645-7,5215). CH'da ise pANCA ile genotip açısından polimorfizmler ile arasında ilişki yoktu.

Demografik Özellikler ile İlişkisi

Ülseratif kolitte sigara kullanımı ile rs2304256 (CC) genotipi ilişkili bulundu. Sigara kullanan ÜK hastalarında (CC) genotipi anlamlı derecede düşük tespit edildi (%31,8 ile %67,7, $p=0,021$, OR:0,2222, CI:0,0689-0,7169). CH'da ise rs280519 (GG) genotipi sigara kullanan CH hastalarında daha düşük oranda saptandı (%12,5 ile %40,9, $p=0,039$, OR:0,206, CI:0,042-0,921). Crohn hastalığı ve ÜK'de cinsiyet, alkol kullanımı ve İBH aile öyküsü ile anlamlı bir ilişki bulunmadı.

HAPLOTİP FREKANSLARININ KARŞILAŞTIRMASI (rs280519- rs2304256)

Sato ve ark. (164)'lerinin yapmış olduğu çalışmada, rs280519 ile rs2304256 polimorfizmlerinin aynı genetik bağlantı bloğunda yer aldığı tespit etmişlerdir. Bu iki polimorfizm birlikte kalıtılma ihtimalleri yüksektir. Bu nedenle allelik ilişkinin gücünü arttırmak için rs280519 ile rs2304256 polimorfizmlerinden 4 haplotip kombinasyonu oluşturuldu (Tablo 14).

Crohn Hastalığı ve Ülseratif Kolit ile İlişkisi

Lojistik regresyon analizinde Haplotip3 "Haplotype3" (H3) ve H1 ÜK ile, H1 ise CH ile ilişkili olduğu saptandı (sırasıyla $p=0,029$, $p=0,004$, $p=0,021$). Haplotipler X^2 testi ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında H3 haplotipi kontrol grubuna göre ÜK'de daha düşük oranda izlenirken (0,027), H1 haplotipi daha yüksek orandaydı ($p=0,003$). CH ile kontrol grubu,

haplotip açısından karşılaştırıldığında ise H1 haplotipinin CH'da kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p=0,039$) (Tablo 14).

Crohn Hastalığı ve Ülseratif Kolit Alt tipleri ile ilişkisi

Ülseratif kolit tutulum yerine göre yapılan lojistik regresyon analizinde H1 haplotipi ekstensif tip, sol tip ve proktit ile, H3 haplotipi ise sol tip ÜK ile ilişki olduğu tespit edildi (sırasıyla $p=0,015$, $p=0,014$, $p=0,048$, $p=0,046$). Haplotip frekansları ÜK tutulum yerine göre kontrol grubuyla X^2 testi kullanılarak karşılaştırıldığında, H1 haplotipi ÜK'in tüm tutulum tiplerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. H3 haplotipi ise sol tip ÜK'te kontrol grubuna göre daha düşük oranda izlendi (Tablo 15). ÜK tutulum yerine göre alt tipler arasında haplotip frekansı açısından anlamlı fark yoktu.

Tablo 14. Haplotip frekanslarının ülseratif kolit ve Crohn hastalığındaki dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

Haplotip	rs280 519 allel	rs230 4256 allel	Kontrol n(%)	Crohn Hastalığı		Ülseratif Kolit	
				n(%)	(p)	n(%)	(p)
Haplotip 1 (H1)	A	C	19 (10,6)	23 (19,1)	0,039*	64 (21,2)	0,003**
Haplotip 2 (H2)	G	A	66 (37,0)	51 (42,5)	0,347	119 (39,4)	0,613
Haplotip 3 (H3)	G	C	30 (16,8)	14 (11,7)	0,216	30 (9,9)	0,027***
Haplotip 4 (H4)	A	A	63 (35,4)	32 (26,7)	0,113	89 (29,5)	0,178
Toplam (n)			178	120		302	

*OR:1,9843 (CI:1,0276-3,8315); **OR:2,2503 (CI:1,2983-3,9005); ***OR:0,5441 (CI:0,3157-0,9377);
OR: Odd ratio (Odd oranı); CI: Confidence interval (Güvenirlilik aralığı); X^2 testi kullanılmıştır.

Tablo 15. Haplotip frekanslarının ülseratif kolit tutulum yerine göre dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

Haplotip	Kontrol n(%)	Proktit		Sol tip		Ekstensif	
		n(%)	(p)*	n(%)	(p)*	n(%)	(p)*
Haplotip 1	19 (10,6)	9 (22,5)	0,043**	26 (21,0)	0,013***	29 (21,0)	0,011****
Haplotip 2	66 (37,0)	14 (35,0)	0,805	49 (39,5)	0,668	56 (40,6)	0,526
Haplotip 3	30 (16,8)	4 (10,0)	0,343	11 (8,9)	0,046***	15 (10,9)	0,131
Haplotip 4	63 (35,4)	13 (32,5)	0,729	38 (30,6)	0,390	38 (27,5)	0,137
Toplam(n)	178	40		124		138	

*Ülseratif kolit tutulum yerleri ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; **OR:2,4295 (CI:1,0062-5,8664); ***OR:2,2202 (CI:1,1673-4,2227); ****OR:2,2265 (CI:1,1885-4,171); *****OR:0,4802 (CI:0,2307-0,9995); OR: Odd ratio (Odd oranı); CI: Confidence interval (Güvenirlilik aralığı); X^2 testi kullanılmıştır.

Crohn hastalığı tutulum tipine göre yapılan lojistik regresyon analizinde H1 haplotipi ileal ve ileokolonik tip CH ile ilişkili olduğu saptandı (sırasıyla p=0,041, p=0,046). CH tutulum yerine göre kontrol grubu ile X² testi kullanılarak karşılaştırıldığında, H1 haplotipi hem ileal, hem ileokolonik tutulumda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla p=0,039, p=0,042). Kontrol grubuyla kolonik tutulum ve grupların kendi arasındaki karşılaştırmasında anlamlı ilişki bulunmadı (Tablo 16).

Crohn hastalığı davranış paternine göre yapılan lojistik regresyon analizinde H2 haplotipi obstrüktif tip ile, H2 haplotipi inflamatuvar tip CH ile ilişkili olduğu saptandı (sırasıyla p=0,044, p=0,004). CH davranış paternine göre kontrol grubuyla X² testi kullanılarak karşılaştırıldığında, H2 haplotipi obstrüktif tip CH'da kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanırken, H1 haplotipi inflamatuvar tip CH'da daha yüksek bulundu (sırasıyla p=0,04, p=0,003). CH davranış paternine göre kendi arasında karşılaştırıldığında anlamlı ilişki izlenmedi (Tablo 17).

Crohn hastalığında genel olarak perianal tutulum, perianal abse, fistül ve stenoz ile haplotip arasında ilişki saptanmadı.

Tablo 16. Haplotip frekanslarının Crohn hastalığı tutulum yerine göre dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

Haplotip	Kontrol n(%)	İleal		İleokolonik		Kolonik	
		n(%)	(p) [*]	n(%)	(p) [*]	n(%)	(p) [*]
Haplotip 1	19 (10,6)	8 (23,5)	0,039^{**}	15 (20,3)	0,042^{***}	0 (0)	0,613
Haplotip 2	66 (37,0)	13 (38,2)	0,898	30 (40,5)	0,606	8 (66,7)	0,064
Haplotip 3	30 (16,8)	4 (11,8)	0,612	9 (12,2)	0,348	1 (8,3)	0,694
Haplotip 4	63 (35,4)	9 (26,5)	0,314	20 (27,0)	0,198	3 (25,0)	0,548
Toplam (n)	178	34		74		12	

*Crohn hastalığı tutulum yerleriyle kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; **OR:2,5749 (CI:1,0218-6,4889); ***OR:2,1276 (CI:1,0151-4,4591); **OR**: Odd ratio (Odd oranı); **CI**: Confidence interval (Güvenirlilik aralığı); X² testi kullanılmıştır.

Ekstraintestinal Tutulum ile İlişkisi

Ekstraintestinal tutulumu olan CH'da, hiçbir barsak dışı tutulumu olmayanlara göre H1 haplotipi anlamlı derecede düşük izlendi (%15,1 ile %50, p=0,006, OR:0,1778, CI: 0,0549-0,5756). ÜK'de ise böyle bir ilişki bulunmadı.

Crohn hastalığı ve ÜK'de üveit ile anlamlı bir ilişki yoktu.

Crohn hastalığı ve ÜK'de genel olarak hepatobiliyer tutulum ile haplotip arasında ilişki saptanmadı. NASH'i olan CH'da H1 genotipi, olmayanlara göre daha yüksek saptandı

(%40 ile %15, $p=0,023$, OR:3,7778, CI:1,3225-10,7911). ÜK'de ise NASH'i olanlarda olmayanlara göre H2 haplotipi daha düşük oranda bulundu (%22,5 ile %42, $p=0,030$, OR:0,401, CI:0,184-0,877). ÜK ve CH'da primer sklerozan kolajit ile anlamlı ilişki saptanmadı.

Kolelitiazisi olan CH hastalarında olmayanlara göre H1 genotipi daha yüksek oranda izlenirken (%42,9 ile %16, $p=0,027$, OR:3,9265, CI:1,208-12,7631), H2 haplotipi daha düşük oranda tespit edildi (%0 ile %48,1, $p=0,000$, OR:0,0372, CI:0,0022-0,6390). ÜK'de ise kolelitiazis ile anlamlı bir ilişki yoktu.

Crohn hastalığı ve ÜK'de periferik artropati, sakroileit ve AS ile haplotip arasında herhangi bir ilişki yoktu. OP olan CH'da olmayanlara göre H1 haplotipi anlamlı derecede düşük bulundu (%11,7 ile %26,7, $p=0,037$, OR:0,363, CI: 0,137-0,962). ÜK'de haplotip ile OP arasında ilişki bulunmadı.

Tablo 17. Haplotip frekanslarının Crohn hastalığı davranış paternine göre dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

Haplotip	Kontrol n(%)	Fistülizan		Obstrüktif		İnflamatuvar	
		n(%)	(p)*	n(%)	(p)*	n(%)	(p)*
Haplotip 1	19 (10,6)	2 (10,0)	1,000	4 (11,8)	0,770	17 (25,8)	0,003**
Haplotip 2	66 (37,0)	7 (35,0)	0,855	19 (55,9)	0,040***	25 (37,9)	0,909
Haplotip 3	30 (16,8)	3 (15,0)	0,833	3 (8,8)	0,308	8 (12,1)	0,365
Haplotip 4	63 (35,4)	8 (40,0)	0,684	8 (23,5)	0,179	16 (24,2)	0,098
Toplam (n)	178	20		34		66	

*Crohn hastalığı davranış paterniyle kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; **OR:2,9033 (CI:1,4012-6,0157); ***OR: 2,1495 (CI:1,0233-4,5149); OR: Odd ratio (Odd oranı); CI: Confidence interval (Güven aralığı); X² testi kullanılmıştır.

Ülseratif kolitte H3 haplotipi MNG olanlarda anlamlı derecede yüksekti (%50 ile %9,1, $p=0,014$, OR:9,963, CI:1,916-51,799). CH ve ÜK'de tiroid tutulumu ile başka anlamlı bir ilişki yoktu.

Crohn hastalığı ve ÜK'de cilt tutulumu, aftöz stomatit, eritema nodosum ve pyoderma gangrenosum, nefrolitiazis, amiloidoz ve venöz tromboemboli ile haplotip arasında anlamlı bir ilişki izlenmedi.

Komplikasyonlar ile İlişkisi

Perforasyon hikayesi olan CH hastalarında, perforasyonu olmayanlara göre H1 haplotipi anlamlı derecede yüksek bulunurken (%66,7 ile %16,7, $p=0,012$, OR:10,000,

CI:1,708-58,556), H2 haplotipi ise daha düşük oranda izlendi (%0 ile %44,7, p=0,038). ÜK'de ise perforasyon ile haplotip arasında ilişki saptanmadı. CH ve ÜK'de obstrüksiyon, toksik megakolon, fistül ve abse ile haplotip arasında ilişki yoktu.

Operasyonlarla İlişkisi

Ülseratif kolitte appendektomi olanlarda, olmayanlara göre H1 haplotipi anlamlı derecede yüksekti (%75 ile %19,7, p=0,001, OR:12,207, CI:2,402-62,046). CH'da appendektomi ile haplotip arasında ilişki yoktu. Hem ÜK, hem CH'da İBH ilişkili operasyon, tanı öncesi batin operasyonu, hemoroidektomi ve tonsillektomi ile anlamlı ilişki bulunmadı.

İlaç Kullanımı ile İlişkisi

Crohn hastalığında kortikosteroid, azathioprin ve antiTNF kullanımı, kortikosteroid bağımlılığı ve direnci ile haplotip arasında ilişki saptanmadı. ÜK'de ise kortikosteroid ve azathioprin ihtiyacı olanlarda, H1 haplotipi olmayanlara göre anlamlı derece yüksekti (kortikosteroid kullanımı için %28,2 ile %15, p=0,008, OR:2,222, CI:1,260-3,919; azathioprin kullanımı için %35,3 ile %19,4, p=0,033, OR:2,266, CI:1,054-4,873). AntiTNF α kullanan ÜK hastalarında H2 haplotipi anlamlı derecede daha düşük orandayken (%16,7 ile %40,8, p=0,042, OR:0,290, CI: 0,082-1,023), H3 haplotipi daha yüksek orandaydı (%27,8 ile %8,8, p=0,023, OR:3,985, CI:1,313-12,092). H2 haplotipi aynı zamanda kortikosteroid direnci olan ÜK hastalarında da anlamlı derecede daha düşüktü (%19,2 ile %41,3, p=0,046, OR:0,338, CI:0,124-0,924). ÜK'de kortikosteroid bağımlılığı ile haplotip arasında ilişki bulunmadı. CH ve ÜK'nin herikisinde de pANCA, tanı yaşı ile haplotip arasında ilişki yoktu.

Demografik Özellikler ile İlişkisi

Sigara kullanan CH hastalarında, H2 haplotipi kullanmayanlara göre anlamlı derecede düşük izlendi (%25 ile %48,9, p=0,033, OR:0,3488, CI:0,1414-0,8604). ÜK'de ise sigara kullanımı ile anlamlı bir ilişki yoktu.

Crohn hastalığı ve ÜK'de alkol kullanımı, cinsiyet ve İBH aile öyküsü ile haplotip arasında ilişki saptanmadı.

DİPLOTİP FREKANSLARININ KARŞILAŞTIRMASI (rs280519- rs2304256)

Tirozin kinaz-2 genine ait rs280519 ve rs2304256 polimorfizmlerinden elde edilen haplotiplerin kombinasyonu ile 10 farklı diplotip elde edildi. Bu diplotiplerin frekansları

hesaplandı. Haplotip3/Haplotip4 (H3/H4) diplotipine sahip hasta ve sağlıklı gönüllü olmadığı için bu diplotip ile ilgili istatistiksel analiz yapılamadı.

Crohn Hastalığı ve Ülseratif Kolit ile İlişkisi

Lojistik regresyon analizinde hem ÜK, hem CH ile sadece H1/H2 diplotipi ilişkili bulundu (sırasıyla $p=0,004$, $p=0,043$). H3/H4 ile birlikte, karşılaştırılacak gözlem olmadığı için ÜK’de H3/H3, CH’da H2/H3’ün istatistiksel analizi yapılamadı. Diplotip frekansları CH ve ÜK’de kontrol grubuyla X^2 testi kullanılarak ayrı ayrı karşılaştırıldı. H1/H2 diplotipi, kontrol grubuna göre hem CH’da, hem ÜK’de anlamlı derecede düşük oranda saptandı (sırasıyla $p=0,039$, $p=0,004$). Diğer diplotipler açısından hasta ile kontrol grubu arasında anlamlı fark izlenmedi (Tablo 18).

Crohn Hastalığı ve Ülseratif Kolit Altıpteri ile İlişkisi

Proktit ve sol tip ÜK’de ve kontrol grubunda H1/H3 diplotipine sahip olgu olmadığı için istatistiksel analiz yapılamadı. Proktit ve ekstensif tip ÜK’te ve kontrol grubunda H2/H3 diplotipine sahip olgu olmadığı için istatistiksel analiz yapılamadı.

Tablo 18. Diplotip frekanslarının ülseratif kolit ve Crohn hastalığındaki dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

Diplotip	Kontrol n(%)	Crohn Hastalığı		Ülseratif Kolit	
		n(%)	(p)	n(%)	(p)
Haplotip1/Haplotip1 (H1/H1)	7 (7,9)	9 (15,0)	0,168	25 (16,5)	0,056
Haplotip1/Haplotip2 (H1/H2)	30 (33,7)	11 (18,3)	0,039*	26 (17,2)	0,004**
Haplotip1/Haplotip3 (H1/H3)	0 (0)	1 (1,7)	0,403	3 (2,0)	0,297
Haplotip1/Haplotip4 (H1/H4)	5 (5,6)	4 (6,7)	1,000	11 (7,3)	0,618
Haplotip2/Haplotip2 (H2/H2)	22 (24,7)	19 (31,7)	0,352	42 (27,8)	0,600
Haplotip2/Haplotip3 (H2/H3)	0 (0)	0 (0)	-	1 (0,7)	1,000
Haplotip2/Haplotip4 (H2/H4)	22 (24,7)	13 (21,7)	0,666	34 (22,5)	0,696
Haplotip3/Haplotip3 (H3/H3)	0 (0)	1 (1,7)	0,403	0 (0)	-
Haplotip3/Haplotip4 (H3/H4)	0 (0)	0 (0)	-	0 (0)	-
Haplotip4/Haplotip4 (H4/H4)	3 (3,4)	2 (3,3)	1,000	9(5,9)	0,543
Toplam (n)	89	60		151	

*OR:0,4415 (CI:0,2008-0,9708); **OR:0,4091 (CI:0,2223-0,7526); **OR**: Odd ratio (Odd oranı); **CI**: Confidence interval (Güvenirlilik aralığı); X^2 testi kullanılmıştır.

Ülseratif kolit tutulum tipine göre yapılan lojistik regresyon analizinde H1/H2 diplotipi sol tip ve ekstensif tip ÜK ile ilişkili bulundu (sırasıyla $p=0,016$, $p=0,027$) ÜK tutulum yerlerine göre diplotip frekansları kontrol grubuyla X^2 testi kullanılarak ayrı ayrı

karşılaştırıldı. H1/H2 diplotipi kontrol grubuna göre sol tip ve ekstensif tip ÜK’de anlamlı derecede düşük orandaydı (sırasıyla p=0,026, p=0,034). Diplotip frekansları ÜK tutulum yerine göre kontrol grubuyla ve alttiplerin kendi aralarındaki karşılaştırmasında başka anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 19).

İleal ve kolonik CH’da kontrol grubuyla birlikte H3/H3 diplotipi olmadığı için istatistiksel analiz yapılamadı. Aynı şekilde ileokolonik ve kolonik CH’da kontrol grubuyla birlikte H1/H3 diplotipi olmadığı için istatistiksel analiz yapılamadı. Lojistik regresyon analizi ve X² testi sonucunda CH tutulum yerine göre alttiplerin kontrol grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırmasında anlamlı ilişki bulunmadı (Tablo 20).

Tablo 19. Diplotip frekanslarının ülseratif kolit tutulum yerine göre dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

Diplotip	Kontrol n(%)	Proktit		Sol tip		Ekstensif	
		n(%)	(p)*	n(%)	(p)*	n(%)	(p)*
H1/H1	7 (7,9)	4 (20,0)	0,115	12 (19,4)	0,065	9 (13,0)	0,421
H1/H2	30 (33,7)	4 (20,0)	0,353	10 (16,1)	0,026**	12 (17,4)	0,034***
H1/H3	0 (0)	0 (0)	-	0 (0)	-	3 (4,3)	0,081
H1/H4	5 (5,6)	1 (5,0)	1,000	2 (3,2)	0,701	8 (11,6)	0,287
H2/H2	22 (24,7)	5 (25,0)	1,000	16 (25,8)	0,880	21 (30,4)	0,423
H2/H3	0 (0)	0 (0)	-	1 (1,6)	0,411	0 (0)	-
H2/H4	22 (24,7)	4 (20,0)	0,777	16 (25,8)	0,880	14 (20,3)	0,510
H4/H4	3 (3,4)	2 (10,0)	0,277	5 (8,1)	0,274	2 (2,9)	1,000
Toplam (n)	89	20		62		69	

*Ülseratif kolit tutulum yerleri ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; **OR:0,3782 (CI:0,1688-0,8476); ***OR:0,414 (CI:0,1932-0,8871); **H1/H1**: Haplotip1/Haplotip1; **OR**: Odd ratio (Odd oranı); **CI**: Confidence interval (Güven aralığı); X² testi kullanılmıştır.

Fistülizan tip ile obstrüktif tip CH’da kontrol grubuyla birlikte H3/H3 diplotipi olmadığı için istatistiksel analiz yapılamadı. Aynı şekilde fistülizan ve inflamatuvar CH’da kontrol grubuyla birlikte H1/H3 diplotipi olmadığı için istatistiksel analiz yapılamadı. Lojistik regresyon analizi ve X² testi sonucunda CH davranış tipine göre alttiplerin kontrol grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırmasında anlamlı ilişki bulunmadı (Tablo 21). H2/H4 diplotipi perianal fistülü olan CH’da, fistülü olmayanlara göre daha yüksek oranda saptandı (5 hasta %45,5 ile 8 hasta %16,3, p=0,049, OR: 4,271 (CI: 1,045-17,458)). Diğer diplotipler ile CH’da perianal tutulum ile ilişki yoktu.

Ekstraintestinal Tutulum ile İlişkisi

Ülseratif kolit ve CH'da ekstraintestinal tutulum varlığı ile diplotip arasında ilişki izlenmedi. CH ve ÜK'de göz tutulumu ile ilişki saptanmadı.

Non alkolik steatohepatiti olan ülseratif kolit hastalarında, olmayanlara göre H1/H3 diplotipi daha yüksek oranda saptandı (p=0,046, OR:14,444, CI:1,246-167,478). Kolelitiazisi olanlarda H4/H4 diplotipi daha yüksek oranda saptandı (p=0,012). ÜK ve CH'da hepatobiliyer tutulum ile ilgili başka ilişki izlenmedi.

Ankilozan spondilit'i olan ÜK'de H2/H4 diplotipi eklem tutulumu olmayanlara göre anlamlı derecede yüksekti (p=0,046, OR: 3,862, CI: 1,047-14,244).CH'da diplotip açısından eklem tutulumu ile ilişki yoktu. Heriki hastalıkta da OP ile ilişki bulunmadı.

Tablo 20. Diplotip frekanslarının Crohn hastalığı tutulum yerine göre dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

Diplotip	Kontrol n(%)	İleal		İleokolonik		Kolonik	
		n(%)	(p)*	n(%)	(p)*	n(%)	(p)*
H1/H1	7 (7,9)	3 (17,6)	0,200	6 (16,2)	0,200	0 (0)	1,000
H1/H2	30 (33,7)	3 (17,6)	0,306	7 (18,9)	0,148	1 (16,7)	0,660
H1/H3	0 (0)	1 (5,9)	0,160	0 (0)	-	0 (0)	-
H1/H4	5 (5,6)	1 (5,9)	1,000	3 (8,1)	0,692	0 (0)	1,000
H2/H2	22 (24,7)	4 (23,5)	1,000	12 (32,4)	0,504	3 (50,0)	0,184
H2/H4	22 (24,7)	5 (29,4)	0,763	6 (16,2)	0,418	2 (33,3)	0,640
H3/H3	0 (0)	0 (0)	-	1 (2,7)	0,294	0 (0)	-
H4/H4	3 (3,4)	0 (0)	1,000	2 (5,4)	0,630	0 (0)	1,000
Toplam (n)	89	17		37		6	

*Crohn hastalığı tutulum yerleri ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; **H1/H1**: Haplotip1/Haplotip1; **OR**: Odd ratio (Odd oranı); **CI**: Confidence interval (Güvenirlilik aralığı); X² testi kullanılmıştır.

Multinodüler guatrı olan ÜK hastalarında H1/H2 diplotipi anlamlı derecede daha düşük izlendi (p=0,005). CH ve ÜK'de tiroid tutulumu ile başka anlamlı ilişki saptanmadı. Crohn hastalığı ve ÜK'de cilt, renal tutulum ve venöz tromboemboli ile ilişki bulunmadı.

Tablo 21. Diplotip frekanslarının Crohn hastalığı davranış paternine göre dağılımı ve kontrol grubuyla karşılaştırması

Diplotip	Kontrol n(%)	Fistülizan		Obstrüktif		İnflamatuvar	
		n(%)	(p)*	n(%)	(p)*	n(%)	(p)*
H1/H1	7 (7,9)	1 (10,0)	0,587	1 (5,9)	1,000	7 (21,2)	0,055
H1/H2	30 (33,7)	3 (30,0)	1,000	2 (11,8)	0,129	6 (18,2)	0,148
H1/H3	0 (0)	0 (0)	-	1 (5,9)	0,160	0 (0)	-
H1/H4	5 (5,6)	0 (0)	1,000	1 (5,9)	1,000	3 (9,1)	0,445
H2/H2	22 (24,7)	2 (20,0)	1,000	7 (41,2)	0,233	10 (30,3)	0,696
H2/H4	22 (24,7)	3 (30,0)	0,710	5 (29,4)	0,763	5 (15,2)	0,376
H3/H3	0 (0)	0 (0)	-	0 (0)	-	1 (3,0)	0,270
H4/H4	3 (3,4)	1 (10,0)	0,351	0 (0)	1,000	1 (3,0)	1,000
Toplam (n)	89	10		17		33	

*Crohn hastalığı davranış paternine göre alttipleri ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmaya ait (p) değeri; **H1/H1**: Haplotip1/Haplotip1; **OR**: Odd ratio (Odd oranı); **CI**: Confidence interval (Güvenirlilik aralığı); X^2 testi kullanılmıştır.

Komplikasyonlar ile İlişkisi

Crohn hastalığında H2/H4 diplotipi enterokutan fistül ile ilişkili bulundu. Fistülü olan CH'da H2/H4 diplotipi anlamlı derecede daha yüksekti (8 hasta %40 ile 5 hasta %12,5, $p=0,022$, OR: 4,667, CI: 1,278-17,047). Perforasyon, toksik megakolon ve intraabdominal abse ile anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Operasyonlar ile İlişkisi

Appendektomi hikayesi olan ÜK hastalarında, olmayanlara göre H1/H1 diplotipi daha yüksek tespit edildi ($p=0,015$, OR: 17,045, CI: 1,695-171,396). CH'da appendektomi ile ilişki yoktu. Hem CH'da hem ÜK'de tanı öncesi batın operasyonu, hemoroidektomi ve tonsillektomi ile anlamlı ilişki bulunmadı.

İlaç Kullanımı ile İlişkisi

Ülseratif kolitte H1/H2 diplotipi antiTNF α kullanımı olanlarda kullanmayanlara göre anlamlı derecede yüksek oranda saptandı (antiTNF α için $p=0,048$, OR: 4,364, CI: 1,086-17,539). CH ve ÜK'de pANCA pozitifliği, kortikosteroid ve azathioprin kullanımı, kortikosteroid bağımlılığı ve direnci ile ilişki bulunmadı.

Ülseratif kolitte H2/H4 diplotipini taşıyanların yaş ortalaması, taşımayanlara göre anlamlı derecede düşüktü (31,6 ile 39,3, $p=0,001$). Aynı zamanda H2/H4 diplotipi 40 yaş

üstünde tanı konulanlarda, 40 yaş altında tanı alanlara göre anlamlı derecede düşük oranda izlendi ($p=0,005$, OR: 0,268, CI: 0,103-0,695). CH'da tanı yaşı ile ilişki bulunmadı.

Demografik Özellikler ile İlişkisi

Ülseratif kolit ve CH'da cinsiyet, alkol, sigara ve İBH aile öyküsü ile ilişki bulunmadı.

TYK2 GEN POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ GEN ETKİLEŞİMLERİ

Tirozin kinaz-2'ye ait 4 farklı gen polimorfizminin kendi aralarındaki farklı kombinasyonların ÜK ve CH ile ilişkisi incelendi. Dört genin 3 genotipi ile oluşturulan 2'li, 3'lü ve 4'lü kombinasyonlarının ÜK veya CH ile kontrol grubu arasındaki ilişkisi lojistik regresyon analizi ve X^2 testi ile incelendi.

Tek başına rs280519 (AA) genotipi, ÜK'de kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek iken, rs280523 (GG)- rs280519 (AA) kombinasyonu kontrol ile ÜK gruplarında benzer oranda bulundu ($p=0,069$).

Tek başlarına rs2304256 (CC) ile rs280519 (AA) kontrol grubuna göre ÜK'de anlamlı derecede yüksek iken, rs2304256 (CC)- rs280519 (AA) kombinasyonu hem kontrol, hem ÜK'de benzer orandaydı ($p=0,061$).

Kontrol grubuna göre ÜK'de, rs2304256 (CC) ve rs280519 (AA) genotipleri tek başlarına anlamlı derecede daha yüksek, rs280519 (AG) ve rs2304256 (AC) genotipleri daha düşük iken, rs2304256 (CC)- rs280519 (AG) ile rs2304256 (AC)- rs280519 (AA) kombinasyonları kontrol ve ÜK gruplarında benzer oranda tespit edildiler (sırasıyla $p=0,342$, $p=0,618$).

Kontrol ve ÜK grupları, rs2304256 (CC)- rs280519 (AA) kombinasyonu açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmazken, rs280496 (CC)'nin eklendiği rs2304256 (CC)- rs280519 (AA)- rs280496 (CC) 3'lü kombinasyonu, ÜK'de kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,04$).

Kontrol grubu ile ÜK arasında rs280523 (GG)- rs280519 (AA) kombinasyonu açısından anlamlı bir fark yokken, rs280496 (CC)'nin eklendiği rs280523 (GG)- rs280519 (AA)- rs280496 (CC) kombinasyonu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ÜK'de anlamlı derecede yüksek oranda bulundu ($p=0,031$).

Diğer ÜK ile ilişkili bulunan kombinasyonlar, tek başına ÜK ile ilişkili olan genotiplerin birbirleriyle veya ilişkisiz bulunan genotiplerle olan kombinasyonlarıdır (Tablo 22). Diğer kombinasyonlar ile ÜK arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Tablo 22. Ülseratif kolitte Tirozin kinaz-2 polimorfizmleri arasındaki gen etkileşimi

Pm (1)	Pm (2)	Pm (3)	Pm (4)	(p) (OR,CI)*
rs2304256 (CC)				(p=0,024) (OR:2,666, CI:1,112-6,391)
rs2304256 (AC)				(p=0,021) (OR:0,640, CI:0,439-0,933)
rs280519 (AA)				(p=0,025) (OR:1,768, CI:1,049-2,981)
rs280519 (AG)				(p=0,012) (OR:0,714, CI:0,552-0,924)
rs280496 (CC)				(p=0,652)
rs280523 (GG)	rs2304256 (CC)			(p=0,036) (OR:2,55, CI:1,061-6,130)
rs280523 (GG)	rs2304256 (AC)			(p=0,008) (OR:0,45, CI:0,255-0,815)
rs280523 (GG)	rs280519 (AG)			(p=0,022) (OR:0,53, CI:0,314-0,916)
rs2304256 (AC)	rs280519 (AG)			(p=0,015) (OR:0,47, CI:0,262-0,873)
rs2304256 (CC)	rs280496 (CC)			(p=0,012) (OR:5,51, CI:1,244-24,482)
rs2304256 (AC)	rs280496 (CC)			(p=0,005) (OR:0,41, CI:0,220-0,769)
rs280519 (AA)	rs280496 (CC)			(p=0,031) (OR:5,15, CI:1,155-22,978)
rs280519 (AG)	rs280496 (CC)			(p=0,004) (OR:0,41, CI:0,222-0,752)
rs280523 (GG)	rs2304256 (AC)	rs280519 (AG)		(p=0,011) (OR:0,45, CI:0,248-0,837)
rs280523 (GG)	rs2304256 (CC)	rs280496 (CC)		(p=0,012) (OR:5,51, CI:1,244-24,482)
rs280523 (GG)	rs2304256 (AC)	rs280496 (CC)		(p=0,005) (OR:0,41, CI:0,220-0,769)
rs280523 (GG)	rs280519 (AG)	rs280496 (CC)		(p=0,006) (OR:0,43, CI:0,233-0,793)
rs280523 (GG)	rs280519 (AA)	rs280496 (CC)		(p=0,031) (OR:5,15, CI:1,155-22,978)
rs2304256 (CC)	rs280519 (AA)	rs280496 (CC)		(p=0,040) (OR:4,79, CI:1,070-21,497)
rs2304256 (AC)	rs280519 (AG)	rs280496 (CC)		(p=0,002) (OR:0,37, CI:0,196-0,701)
rs280523 (GG)	rs2304256 (CC)	rs280519 (AA)	rs280496 (CC)	(p=0,040) (OR:4,79, CI:1,070-21,497)
rs280523 (GG)	rs2304256 (AC)	rs280519 (AG)	rs280496 (CC)	(p=0,002) (OR:0,37, CI:0,196-0,701)

OR: Odd ratio (Odd oranı); **CI:** Confidence interval (Güvenirlilik aralığı); **Pm;** polimorfizm; *X² testi.

Tek başlarına rs2304256 (AC) ve rs280496 (CC), CH ile ilişkili değilken, rs2304256 (AC)-rs280496 (CC) kombinasyonu kontrol grubuna göre CH'da anlamlı derecede düşük bulundu (p=0,042).

Tek başlarına rs2304256 (CC) ve rs280496 (CC), CH ile ilişkili değilken, rs2304256 (CC) ve rs280496 (CC) kombinasyonu kontrol grubuna göre CH'da anlamlı derecede daha yüksek bulundu (p=0,018).

Kontrol grubuna göre rs280519 (AG) genotipi CH'da anlamlı derecede düşük izlenirken, CH ile ilişkili olmayan rs2304256 (CC) ile birlikte bulunduğu kombinasyon, kontrol grubu ile CH'da benzer oranda tespit edildi (p=0,403). Diğer CH ile ilişkili bulunan kombinasyonlar, tek başına CH ile ilişkili bulunan genotiplerin kombinasyonlarıdır (Tablo 23). Diğer kombinasyonlar ile ilişki saptanmadı.

Tablo 23. Crohn hastalığında Tirozin kinaz-2 polimorfizmleri arasındaki gen etkileşimi

Pm (1)	Pm (2)	Pm (3)	Pm (4)	(p) (OR, CI)*
rs2304256 (CC)				(p=0,054)
rs2304256 (AC)				(p=0,060)
rs280519 (AG)				(p=0,045) (OR:0,50, CI:0,261-0,987)
rs280496 (CC)				(p=0,939)
rs2304256 (AC)	rs280519 (AG)			(p=0,039) (OR:0,44, CI:0,200-0,970)
rs2304256 (CC)	rs280496 (CC)			(p=0,018) (OR:5,74, CI:1,150-28,69)
rs2304256 (AC)	rs280496 (CC)			(p=0,042) (OR:0,43, CI:0,193-0,982)
rs280519 (AG)	rs280496 (CC)			(p=0,039) (OR:0,44, CI:0,200-0,970)
rs280523 (GG)	rs2304256 (AC)	rs280519 (AG)		(p=0,039) (OR:0,44, CI:0,200-0,970)
rs280523 (GG)	rs2304256 (CC)	rs280496 (CC)		(p=0,018) (OR:5,74, CI:1,150-28,69)
rs280523 (GG)	rs2304256 (AC)	rs280496 (CC)		(p=0,042) (OR:0,43, CI:0,193-0,982)
rs2304256 (AC)	rs280519 (AG)	rs280496 (CC)		(p=0,042) (OR:0,43, CI:0,193-0,982)
rs280523 (GG)	rs2304256 (AC)	rs280519 (AG)	rs280496 (CC)	(p=0,042) (OR:0,43, CI:0,193-0,982)

OR: Odd ratio (Odd oranı); **CI:** Confidence interval (Güvenirlik aralığı); **Pm:** Polimorfizm; * X² testi.

TARTIŞMA

Çalışmamızla birlikte ilk defa Tyk2 gen polimorfizmi CH ile birlikte ÜK ile de ilişkili olduğu gösterilmiş oldu. Aynı zamanda Tyk2 polimorfizmlerinin, İBH'da tutulum ve davranış paterni, ekstraintestinal tutulum, perianal tutulum, immünsüpressif tedavi gereksinimi, hastalık ile ilişkili bazı risk faktörleri ve tanı yaşı ile ilişkili olduğu da bulundu.

Çeşitli çalışmalarda ve en son Tao ve ark. (165)'nin yapmış olduğu meta-analizde Tyk2, çeşitli inflamatuvar hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (166-168). Birçok inflamatuvar hastalığın patogenezinde merkezi rol oynayan IL-23R yolağının bir parçası olarak Tyk2 inflamatuvar hastalıkların etiolojisinde ortak bir mekanizmayı temsil ediyor olabilir. IL23R yolağının İBH'nın, özellikle CH'nin patogenezinde önemli bir yeri olması nedeniyle Tyk2'nin İBH'daki rolü ile ilgili araştırmalar yürütülmüştür. Yapılan batı kaynaklı GWA çalışmalarında Tyk2 geni hem ÜK, hem CH için duyarlılık lokuslarında yer alması, araştırmacıları Tyk2 ile ilgili polimorfizm çalışmalarına yönlendirmiştir (169). Bilgimiz dahilinde şimdiye kadar Tyk2 gen polimorfizmlerinin İBH ile ilişkisini araştıran 2 çalışma bulunmaktadır. Sato ve ark. (164)'nin 2009 yılında Japon popülasyonunda yapmış oldukları çalışmada ÜK ile anlamlı bir ilişki gösterilemez iken, CH ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Tutulum ve davranış paterni ile ekstraintestinal tutulum açısından polimorfizmin ilişkisi tetkik edilmemiştir. Yapılan diğer çalışma Lian ve ark (170)'na aittir. Bu çalışma Malay popülasyonunda yürütülmüş ve 2013 yılında rapor edilmiştir. Çalışmada, Tyk2 gen polimorfizmlerinden sadece Japon çalışmasında anlamlı bulunan rs2304256 ile rs280519 çalışılmış, bunlar da hem ÜK, hem CH ile ilişkili bulunmamıştır (170). Mevcut veriler ışığında, Tyk2 ile ilgili sonuçlar birbiriyle uyumlu gözükmemektedir. Bunun nedeni etnik farklılık olabilir. Biz de çalışmamızda genetik altyapısı Malay ve Japon popülasyonuna göre

tamamen farklı olan Trakya popülasyonunda Tyk2 polimorfizmini inceledik. Çalışmamızda, Japon çalışmasında tetkik edilen polimorfizmler aynı metodolojik yöntemler kullanılarak incelendi.

Çalışmamızda Tyk2 gen polimorfizmleri hem ÜK, hem CH ile ilişkili bulundu. Japon çalışmasında, rs280519 (A) ve (AA) ile rs2304256 (C) ve (CC) allel ve genotiplerinin CH riskini arttırdığı, rs2304256 (AC) genotipinin de CH için koruyucu olduğu rapor edilmiş, ÜK ile anlamlı ilişki bulunmamıştır (164). Bizim çalışmamızda, allelik açıdan anlamlı ilişki bulunmazken, genotipik açıdan sadece rs280519 (AG) genotipinin CH için koruyucu olduğu görüldü. Japon popülasyonunda CH ile ilişkili bulunan diğer allel ve genotipler çalışmamızda doğrudan ilişkili bulunmadı. Fakat, rs280496 (CC)/rs2304256 (CC) diplotipi CH riskini artırırken, rs280496 (CC)/rs2304256 (AC) diplotipi ile rs280519 (AG)/rs2304256 (AC) diplotipi CH için koruyucudur. Tek başına ilişkili değil iken, kombinasyon içinde rs2304256 (CC) ve rs2304256 (AC)'nin CH ile ilişkisi ortaya çıkmış oldu. Diğer yandan allelik açıdan tek başlarına ilişkili değil iken, rs2304256 (C)/rs280519 (A) haplotipi CH riskini arttırdığı tespit edildi. CH için çalışma sonuçlarını değerlendirecek olursak, haplotip ve diplotiplerle anlamlılığı ortaya çıkan allel ve genotiplerle birlikte, Sato ve ark. (164)'nin CH için bildirdikleri risk profiline benzer sonuçları elde etmiş olduk. Ek olarak, rs280519 (AG) genotipinin de CH için koruyucu olduğu bulundu. Ortaya çıkan ilişkinin doğrudan değil de başka allel ve genotipler ile birlikteliğinde ortaya çıkması, hasta sayısının yetersiz olması ile bağlantılı olabileceği gibi, polimorfizmin gerekli penetrasyonu gösterebilmesi için başka polimorfizmlere ihtiyaç duyması ile de ilişkili olabilir.

Diğer çalışmalardan farklı olarak Tyk2 polimorfizmlerinin CH tutulum ve davranış paternine göre ilişkisi de incelendi. Allelik açıdan sadece rs2304256 (A)'nın CH'da perianal tutulum riskini arttırdığı tespit edildi. Genotipik açıdan rs2304256 (AA) genotipi perianal tutulum ile doğrudan ilişkili bulunmazken, rs280519 (AG)/rs2304256 (AA) diplotipi ile birlikte perianal tutulum riskini arttırmaktadır. rs2304256 (A) ve (AA)'nın Trakya popülasyonunda perianal tutulum için risk faktörü olduğu söylenebilir.

İnflamatuvar tip CH için rs2304256 (CC) genotipi risk oluştururken, rs280519 (AG) genotipi koruyucudur. Allelik açıdan rs2304256 (C) tek başına ilişkili değil iken, rs280519 (A)/rs2304256 (C) haplotipi inflamatuvar tip CH riskini arttırmaktadır. Popülasyonumuz için rs2304256 (C) ve (CC)'nin inflamatuvar tip CH için risk faktörü, rs280519 (AG)'nin ise koruyucu olduğunu söyleyebiliriz.

Tutulum yerine göre değerlendirildiğinde, ileal ve ileokolonik tutulum ile rs2304256 (C) tek başına ilişkili değilken, inflamatuvar tip CH ile benzer olarak rs280519 (A)/rs2304256 (C) haplotipi ileal ve ileokolonik tutulum için ayrı ayrı risk oluşturmaktadır. Aynı şekilde rs280519 (AG) ileokolonik CH riskini azaltmaktadır. İleokolonik ve ileal tutulum risk profili inflamatuvar tip CH'dakine benzer olmakla birlikte anlamlılık düzeyine ulaşmayan allel ve genotipler vardır. CH alttipleri arasındaki hasta sayısı dağılımı ve bazı gruplarda sayının az olması bu ilişkinin gün yüzüne çıkmasına engel olmuş olabilir.

Allelik açıdan tek başlarına ilişkili değil iken, rs280519 (G)/rs2304256 (A) haplotipi obstrüktif tip CH riskini arttırmaktadır.

Ülseratif kolit ile Tyk2 polimorfizmleri arasında ilişki, ÜK için duyarlılık lokuslarında yer almasına rağmen polimorfizm düzeyinde bildirilmemiştir (164,169,170). Çalışmamızda, genotipik olarak rs2304256 (CC) ve rs280519 (AA)'nın ÜK riskini arttırdığı, rs2304256 (AC) ile rs280519 (AG)'nin koruyucu olduğu bulundu. Allelik açıdan doğrudan anlamlı bir ilişki bulunmazken, rs280519 (A)/rs2304256 (C) haplotipi ÜK riskini arttırdığı, rs280519 (G)/rs2304256 (C) haplotipinin ise ÜK için koruyucu olduğu saptanmıştır. Haplotip içinde anlamlılık düzeyine ulaşan allellerle birlikte Trakya populasyonunda rs280519 (A) ve (AA) ile rs2304256 (C) ve (CC)'nin ÜK için risk faktörü olduğu, rs280519 (G) ve (AG) ile rs2304256 (AC)'nin koruyucu olduğu görülmektedir.

Ülseratif kolit tutulum yeri açısından incelendiğinde, sol tip tutulum, genel olarak ÜK ile aynı risk profiline sahip olduğu görülmektedir. rs280519 (A)/rs2304256 (C) haplotipi ekstensif tip ve proktit için risk oluştururken, rs280519 (AG) sadece ekstensif tip için koruyucudur. Bazı allel ve genotipler anlamlılık düzeyine ulaşmasa da tutulum alttiplerinde riskli ve koruyucu allel/genotip durumu, genel olarak ÜK ile uyumludur. Ek olarak rs280496 (C) ve (CC), ÜK tanısı almış hastalarda diğer alttiplerine göre ekstensif tip riskini arttırmaktadır. Yukarıdaki polimorfizmlere ilaveten rs280496'nin ÜK'de ekstensif tutulum ile ilişkili olduğunu söyleyebiliriz.

Ülseratif kolit ve CH'nin, Tyk2 gen polimorfizmleri açısından Trakya populasyonunda benzer risk profiline sahip olduğu izlenmektedir. IL23R yolağının bir üyesi olarak Tyk2'nin heriki hastalıkla da ilişkili olması, IL23R yolağının heriki hastalığın etiolojisinde de etkili ortak bir mekanizmayı temsil ettiğini düşünebiliriz. Fakat, bunun moleküler düzeyde teyit edilmesine ihtiyaç vardır. Diğer yandan Japon ve Malay populasyonunda bizim populasyonumuzdan farklı olarak, bahsedilen mekanizmanın ya hiç etkili olmadığını, ya da sadece CH için geçerli olduğunu görmekteyiz (164,170). Sonuçta ÜK ve CH, birçok genin

iştirak ettiği multifaktöryel bir hastalık grubudur. Klinik olarak ortaya birbirine benzer sonuçlar çıksa da, altta yatan etiyolojik mekanizmalar genetik altyapısına bağlı olarak toplumdan topluma farklılık gösterebilmektedir. Bu noktada farklı etnik kökene sahip toplumlarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır. İleride tedavi modeliteleri tamamen hedefe yönelik olacaktır. Altta yatan etiyolojik mekanizmaların bilinmesi ve tedavinin ona göre düzenlenmesi daha doyurucu yanıtlar elde etmek için gerekli olduğu düşünülürse, hastalara verilecek doğru tedavi toplumdan topluma farklılık gösterecektir. Bu da diğer toplumlarda yapılacak genetik ve moleküler çalışmaların gerekliliğini gözler önüne sermektedir.

Çalışmamızda, Tyk2 polimorfizminin ekstraintestinal tutulum, medikal ve cerrahi tedavi, komplikasyonlar, tanı yaşı ve risk faktörleri ile ilişkisi de incelendi. rs280523 (G) ve (GG)'nin CH'da üveit için koruyucu, (AG) genotipinin de risk oluşturduğu görüldü. Diğer yandan rs280519 (AG) ÜK'de AS riskini arttırmaktadır. rs280519 (AA) genotipi ile rs280519 (A)/rs2304256 (C) haplotipi CH'da OP riskini azaltmaktadır. rs280519 (A) ve (AA) CH'da OP için koruyucu olduğu düşünülebilir. rs2304256 (AC) ve rs280519 (A)/rs2304256 (C) haplotipi ÜK'de MNG riskini arttırmaktadır. Hem ÜK, hem CH'da rs2304256 (C) NASH için risk oluştururken, rs2304256 (CC) tek başına NASH ile ilişkili değildi. rs280519 (AG)/rs2304256 (CC) diplotipi ile rs2304256 (CC) sadece ÜK'de NASH riskini arttırdığı görüldü. CH'da ilişki genotipe yansımamakla birlikte, genel olarak rs2304256 (C) ve (CC)'nin NASH için risk oluşturduğunu söyleyebiliriz. rs280519 (A) ve (AA) ile rs2304256 (C) CH'da kolelitiazis riskini artırırken, rs280519 (G) ve (GG) ile rs2304256 (A) kolelitiazis için koruyucudur. Yukarıda bahsedildiği gibi genel olarak rs280519 AS, OP ve kolelitiazis ile, rs2304256 ise MNG, NASH ve kolelitiazis ile ilişkili olduğu görülmektedir. Tyk2'nin farklı otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarla da ilişkili olduğu düşünülürse, ekstraintestinal tutulumların etiyopatogenezinde etkili bir unsur olduğunu söyleyebiliriz (165). Diğer yandan Tyk2 polimorfizmleri, ekstraintestinal tutulum için prognostik bir belirteç olarak kullanılabilir.

Tirozin kinaz-2'nin tedavilere olan cevap ile ilişkisine bakıldığında, rs280519 (A) ve (AA) ÜK'de kortikosteroid ihtiyacı için risk oluştururken, sadece allelik olarak rs2304256 (C) kortikosteroid direnci ve azathioprin ihtiyacı için risk oluşturmaktadır. rs2304256 (A) ise kortikosteroid direnci ve azathioprin gerekliliği riskini azaltmaktadır. rs280519 (AG) ÜK'de antiTNF kullanımı için risk faktörü, (GG) ise koruyucudur. rs280519 (G)/rs2304256 (C) haplotipinde de rs2304256 (C) allelik olarak antiTNF kullanım riskini arttırmaktadır. rs280519 (G)/rs2304256 (A) ise koruyucudur. Genel olarak değerlendirildiğinde ÜK'de

rs280519 (A) ve (AA) steroid gerektiren agresif seyirli hastalık için risk faktörüken, rs280519 (AG) ile rs2304256 (C) steroid direnci olup, immünsüpressif veya biyolojik tedavi gerektiren çok daha kötü seyirli hastalık ile ilişkilidir. Diğer yandan rs280519 (GG) ile rs2304256 (A) daha hafif seyirli hastalık ile ilişkilidir.

Ülseratif kolitte agresif seyirli hastalık ile ilişkili olan rs280519 (A) ve (AA), CH'da da perforasyon riskini arttırarak, daha komplike hastalık ile ilişkili olduğu görülmektedir. rs2304519 (AG)/rs2304256 (AC) diplotipi ÜK'de biyolojik tedavi gereksinimini arttırırken, CH'da da enterokutan fistül riskini arttırmaktadır. rs280519 ve rs2304256 polimorfizmleri ÜK ve CH'da klinik seyir ile ilişkili olduğu görülmektedir. Tyk2 polimorfizmleri, heriki hastalıkta da tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesinde bize yol gösterici olabilir.

Sigara kullanan ÜK hastalarında rs2304256 (CC), hastalık riskini azaltırken, appendektomi geçirmiş ÜK hastalarında rs2304256 (C) alleli ile birlikte hastalık riskini arttırmaktadır. CH'da ise rs280519 (GG) genotipi ile rs280519 (G)/rs2304256 (A) haplotipi içinde rs280519 (G) alleli sigara kullananlarda hastalık için koruyucudur. İBH için etiyolojik risk faktörü olduğunu bildiğimiz durumlar için ilk defa bir genetik açıklama getirilmiş oldu.

Hastalığın erken yaşta (40 yaş altı) ortaya çıkması için rs280496 (CC) koruyucu iken, (GG) risk faktörü olarak saptandı. rs280519 (AG)/rs2304256 (AC) diplotipi de erken yaş tanı için risk faktörüdür. rs280496 polimorfizmi İBH için birebir risk faktörü olmasa bile, ortaya çıkacak hastalığın daha erken yaşlarda kendini göstermesinde etkili bir faktör olabilir.

Özet olarak, Tyk2 gen polimorfizmi ilk defa ÜK ile ilişkili olduğu gösterildi. Aynı zamanda ÜK ve CH'nın fenotipik alt grupları ile de ilişkili olduğu görüldü. Tyk2 gen polimorfizmleri, Trakya popülasyonunda ÜK ve CH'nın etiyolojisinde etkili major etkenlerden biri olabilir. Yapılan diğer çalışmalara göre farklı sonuçların ortaya çıkması etnik farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. Tyk2'nin İBH etiyolojisindeki rolü için farklı etnik gruplarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Bazı allel ve genotiplerin sadece haplotip veya diplotip içindeyken anlamlılık düzeyine çıkması, çalışmaya alınan hasta sayısının azlığı ile ilişkili olabileceği gibi polimorfizmin gerekli penetransı gösterebilmesi için başka polimorfizmlere ihtiyaç duyması ile ilişkili olabilir. Daha fazla hastanın alındığı çalışmalar ile bu ilişki daha net bir şekilde ortaya konabilir. Tyk2, heriki hastalıkta da ekstraintestinal tutulum ve hastalığın ortaya çıkma yaşı ile ilişkili olduğu gösterildi. Tyk2 prognostik bir belirteç olarak kullanılıp, ekstraintestinal tutulum öncesinde alınacak gerekli önlemler için yol gösterici olabilir. Tyk2 immünsüpressif ve biyolojik tedavi gereksinimi olan agresif seyirli hastalık ile de ilişkilidir. Tyk2 tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesinde yol gösterici

olabileceği gibi, İBH için yüksek riskli insanların tanımlanmasında yeni DNA bazlı-tanısal biyolojik gösterge olarak da kullanışlı olabilir.

SONUÇLAR

Kesitsel ve kontrollü olarak gerçekleştirilen bu çalışmaya, ÜK'li hasta grubuna 151 (61 kadın, 90 erkek), CH'lı hasta grubuna 60 (30 kadın, 30 erkek) olmak üzere toplam 211 hasta ve sağlıklı kontrol grubuna 89 (41 kadın, 48 erkek) birey alındı. ÜK'li ve CH'lı olguların yaş ortalamaları sırasıyla 44,5 ile 41,8 yıl, sağlıklı kontrollerin ise 44,8 yıl idi.

Sağlıklı kontrol ve İBH grubunda 4 farklı Tyk2 gen polimorfizmine (rs280523, rs2304256, rs280519 ve rs280496) bakarak, CH veya ÜK gelişmesinde yatkınlığa neden olabilecek veya gelişmesini engelleyici role sahip olabilecek Tyk2 gen polimorfizmlerini saptayabilmek için bu çalışma yapıldı. Çalışmamızın sonucunda;

1. Ülseratif kolit hastaları, kontrol grubuyla Tyk2 gen polimorfizmlerine ait allel frekansları açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark izlenmedi. rs2304256 (CC) ve rs280519 (AA) genotipleri ile H1 haplotipi kontrol grubuna göre ÜK'de anlamlı derecede yüksek, rs2304256 (AC) ve rs280519 (AG) genotipleri ile H3 haplotipi anlamlı derecede düşüktü. Diplotipik açıdan sadece H1/H2 diplotipi ÜK'de anlamlı derecede düşük izlendi.

2. Crohn hastaları, kontrol grubuyla Tyk2 gen polimorfizmlerine ait allel frekansları açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark izlenmedi. Genotipik açıdan karşılaştırıldığında, rs280519'un (AG) genotipi kontrol grubuna göre CH'da anlamlı derecede daha düşük, H1 haplotipi ise yüksek bulundu. Diplotipik açıdan sadece H1/H2 diplotipi ÜK'de anlamlı derecede düşük izlendi.

3. Ülseratif kolit tutulum yerine göre kontrol grubuyla allel frekansları açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark izlenmezken, rs2304256 (CC) ile rs280519 (AA) genotipleri kontrol grubuna göre sol tip ÜK'de anlamlı derecede yüksek, rs2304256 (AC) ile rs280519 (AG) genotipleri anlamlı derecede daha düşüktü. Ektensif tip ÜK'de ise rs280519 (AG)

genotipi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü. Proktit için genotipik açıdan fark izlenmedi.

4. Ülseratif kolitin bütün tutulum alttiplerinde H1 haplotipi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Sadece H3 haplotipi sol tip ÜK'te kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşüktü. Diplotipik açıdan, H1/H2 sol tip ve ekstensif tip ÜK'de kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu.

5. Ülseratif kolit tutulum yerine göre alttipleri kendi aralarında karşılaştırıldığında, rs280496 (C) alleli ve (CC) genotipi ekstensif tip ÜK'de diğer alttiplere göre anlamlı derecede daha yüksek saptandı.

6. Crohn hastalığının tutulum yeri ve davranış paternine göre allel frekansları açısından kontrol grubuyla ve altgruplar arası karşılaştırmada anlamlı fark izlenmezken, genotipik açıdan karşılaştırıldığında, rs280519 (AG) genotipi kontrol grubuna göre CH'nin ileokolonik tutulumunda ve inflamatuvar tipinde anlamlı derecede düşük bulundu. rs2304256 (CC) genotipi ise kontrol grubuna göre inflamatuvar tip CH'da anlamlı derecede yüksekti.

7. Crohn hastalığının ileal ve ileokolonik tutulumunda ve inflamatuvar tipinde kontrol grubuna göre H1 haplotipi anlamlı derecede yüksek bulundu. Obstrüktif tip CH'da ise kontrol grubuna göre H2 haplotipi anlamlı derecede yüksekti. Diplotipik açıdan CH alttipleri için anlamlı fark izlenmedi.

8. Perianal tutulumlu CH'da rs2304256(A) alleli, perianal tutulumu olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek, (C) alleli ise düşük saptandı. Genotipik açıdan fark yoktu.

9. Crohn hastalığında perianal tutulum haplotipik açıdan karşılaştırıldığında anlamlı fark izlenmezken, H2/H4 diplotipi perianal fistülü olan CH'da, fistülü olmayanlara göre daha yüksek oranda saptandı.

10. Ekstraintestinal tutulumu olan CH'da, hiçbir ekstraintestinal tutulumu olmayanlara göre H1 haplotipi anlamlı derecede düşük izlendi.

11. Üveiti olan CH hastalarında, olmayanlara göre rs280523 (A) alleli ve (AG) genotipi anlamlı derecede yüksek, (G) alleli ve (GG) genotipi düşük tespit edildi.

12. Hem CH'da hem ÜK'de rs2304256 (C) alleli, NASH'i olanlarda, olmayanlara göre daha yüksek, (A) alleli ise daha düşük saptandı. H1 haplotipi NASH'i olan CH'da, olmayanlara göre yüksek, H2 haplotipi de NASH'i olan ÜK'de, olmayanlara göre düşük bulundu. Diplotipik olarak da H1/H3 diplotipi NASH'i olan ÜK'de daha yüksek saptandı.

13. Kolelitiazisi olan CH hastalarında, rs2304256 (C) ve rs280519 (A) allelleri, rs280519 (AA) genotipi ve H1 haplotipi kolelitiazisi olmayanlara göre anlamlı derecede

yüksek izlenirken, rs2304256 (A) ve rs280519 (G) allelleri, rs280519 (GG) genotipi ve H2 haplotipi düşük bulundu. Kolelitiazisi olan CH'da, olmayanlara göre H4/H4 diplotipi daha yüksek oranda saptandı.

14. Ankilozan spondiliti olan ÜK'de rs280519 (AG) genotipi ile H2/H4 diplotipi olmayanlara göre daha yüksek oranda tespit edildi.

15. Osteoporozu olan CH'da rs280519 (AA) genotipi ile H1 haplotipi, olmayanlara göre daha düşük saptandı.

16. Multinodüler guatrı olan ÜK'de rs2304256 (AC) genotipi ile H3 haplotipi, olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek, H1/H2 diplotipi ise düşük tespit edildi.

17. Perforasyon geçiren CH'da rs280519 (A) alleli ve (AA) genotipi ile H1 haplotipi, geçirmeyenlere göre anlamlı derecede yüksek, rs280519 (G) alleli ile H2 haplotipi düşük saptandı.

18. Enterokutan fistülü olan CH'da, olmayanlara göre H2/H4 diplotipi anlamlı derecede daha yüksekti.

19. Tanı öncesi appendektomi geçiren ÜK hastalarında, rs2304256 (C) alleli ve (CC) genotipi, H1 haplotipi ve H1/H1 diplotipi, geçirmeyenlere göre daha yüksek, rs2304256 (A) alleli ise daha düşük bulundu.

20. Kortikosteroid ihtiyacı olan ÜK hastalarında, rs280519 (A) alleli ve (AA) genotipi ile H1 haplotipi kortikosteroid ihtiyacı olmayanlara göre daha yüksek, (G) alleli ise daha düşük saptandı.

21. Ülseratif kolitte azathioprin ihtiyacı olanlarda, olmayanlara göre rs2304256 (C) alleli ile H1 haplotipi anlamlı derece yüksek, (A) alleli ise daha düşük bulundu.

22. Kortikosteroid direnci olan ÜK'de rs2304256 (C) alleli, olmayanlara göre daha yüksek, rs2304256 (A) alleli ile H2 haplotipi ise daha düşük bulundu.

23. Biyolojik ajan ihtiyacı olan ÜK'de, rs280519 (AG) genotipi, H3 haplotipi ve H1/H2 diplotipi biyolojik ajan ihtiyacı olmayanlara göre daha yüksek, rs280519 (GG) genotipi ile H2 haplotipi daha düşük saptandı.

24. Ülseratif kolitte rs280496 (CC) genotipini taşıyan hastaların yaş ortalamaları, taşımayanlara göre anlamlı derecede yüksekti. rs280496 (CC) genotipi 40 yaş üstü tanı alan ÜK hastalarında, 40 yaş altı tanı alanlara göre anlamlı derecede daha yüksekti.

25. Ülseratif kolitte rs280496 (GC) genotipini veya H2/H4 diplotipini taşıyan hastaların yaş ortalamaları, taşımayanlara göre anlamlı derecede düşüktü. rs280496 (GC)

genotipi ve H2/H4 diplotipi 40 yaş üstü tanı alan ÜK hastalarında, 40 yaş altı tanı alanlara göre anlamlı derecede düşük saptandı.

26. Sigara kullanan ÜK hastalarında, rs2304256 (CC) genotipi kullanmayanlarda göre anlamlı derecede düşük tespit edildi. rs280519 (GG) genotipi ile H2 haplotipi ise sigara kullanan CH hastalarında kullanmayanlara göre daha düşük bulundu.

27. Ülseratif kolit hastalarında rs2304256 (AA) genotipi, pANCA pozitif olanlarda, negatif olanlara göre anlamlı derece daha düşük, (AC) genotipi ise daha yüksek saptandı.

28. Kontrol grubuyla ÜK arasında, rs280523 (GG)- rs280519 (AA) kombinasyonu açısından anlamlı bir fark bulunmadı. rs280519 (AA) ile ÜK arasındaki ilişki kayboldu.

29. Kontrol grubuyla ÜK arasında, rs2304256 (CC)- rs280519 (AA) kombinasyonu açısından anlamlı fark yoktu. Heriki genotip de ÜK ile ilişkiliyken, kombinasyon içinde anlamlı ilişki ortadan kalktı. Fakat, rs280496 (CC)'nin eklendiği rs2304256 (CC)- rs280519 (AA)- rs280496 (CC) 3'lü kombinasyonu, ÜK'de kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

30. Kontrol grubuyla ÜK arasında, rs2304256 (CC)- rs280519 (AG) ile rs2304256(AC)- rs280519(AA) kombinasyonları açısından anlamlı fark bulunmadı. Tek başlarına ÜK ile ilişkiliyken, kombinasyon içinde anlamlı olan ilişki kayboldu.

31. Kontrol grubuna göre, rs2304256 (AC)-rs280496 (CC) kombinasyonu CH'da anlamlı derecede düşük bulundu. Heriki genotip de tek başına CH ile ilişkili değilken, birliktelikleri CH ile ilişkili bulundu.

32. Kontrol grubuna göre, rs2304256 (CC) ve rs280496 (CC) kombinasyonu CH'da anlamlı derecede daha yüksek bulundu. Heriki genotip de tek başına CH ile ilişkili değilken, birliktelikleri CH ile ilişkili bulundu.

33. Kontrol grubuyla CH arasında, rs280519 (AG)- rs2304256 (CC) kombinasyonu açısından anlamlı fark yoktu. rs280519 (AG)'nin CH ile olan anlamlı ilişkisi kombinasyon içine girince ortadan kalktı.

ÖZET

İnflamatuvar barsak hastalıkları, gastrointestinal sistemi tutan kronik inflamatuvar bir hastalık grubudur. İnflamatuvar barsak hastalıklarının etiyojisi hala aydınlatılmamışken, çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimiyle, lüminal içeriğe karşı aşırı immün yanıtın oluştuğu düşünülmektedir. Bu reaksiyon, genetik olarak yatkın olanlarda lüminal antijenlere karşı immün-toleransın kaybolmasıyla meydana geliyor olabilir. Günümüzde, inflamatuvar barsak hastalıklarına yatkınlık oluşturan birçok gen tanımlanmıştır. İnflamatuvar barsak hastalıklarında kilit rol oynayan yardımcı T hücreleri-17'nin farklılaşmasını uyaran interlökin-23 reseptör yolağındaki birçok molekül hastalık için yatkınlık lokuslarında yer almaktadır. Bunlardan biri olan Tirozin kinaz-2 geninin fonksiyonel sonuçlarını etkileyecek bir polimorfizm, barsakta abartılı immün yanıt oluşturabilir. Çalışmamızın amacı, Tirozin kinaz-2 polimorfizmlerinin Trakya bölgesindeki ülseratif kolit ve Crohn hastalığıyla ilişkisinin araştırılmasıdır.

Çalışmaya toplam 211 inflamatuvar barsak hastası (151'i ülseratif kolit, 60'ı Crohn hastalığı) ve 89 sağlıklı gönüllü alındı. Kontrol grubuyla Crohn hastalığı ve ülseratif kolit grupları Tirozin kinaz-2 polimorfizmleri açısından karşılaştırıldı. Ülseratif kolit ve Crohn hastalığında allel frekansları açısından anlamlı fark saptanmadı. Genotip frekansları açısından, her iki hasta grubunda rs280523 ve rs280496 ile anlamlı ilişki saptanmadı. Sol tip ülseratif kolit için rs2304256 (CC) ve rs280519 (AA) risk oluştururken, rs2304256 (AC) ve rs280519 (AG) koruyucuydu. İleokolonik ve inflamatuvar tip Crohn hastalığı için rs280519 (AG) koruyucuyken, rs2304256 (CC) inflamatuvar tip için risk oluşturmaktaydı. rs2304256 (A) perianal tutulumlu Crohn hastalığı için risk faktörüydü. rs280519 ile rs2304256, ülseratif kolit

ve Crohn hastalığının herikisinde ekstraintestinal tutulum ile ilişkiliyken, kortikosteroid ve immünsüpresif ihtiyacı ile sadece ülseratif kolit ilişkiydi.

Çalışmamız, Tirozin kinaz-2 polimorfizmleriyle ülseratif kolit ve Crohn hastalığının ilişkisini gösteren ilk çalışmadır. Populasyonumuzda Tirozin kinaz-2 polimorfizmi inflamatuvar barsak hastalığının etiyolojisinde etkili olabilir. Çalışmamızdaki farklı sonuçlar, etnik farklılıkla ilişkili olabilir.

Anahtar Kelimeler: Ülseratif kolit, Crohn hastalığı, Tyk2 geni, Polimorfizm

TYROSINE KINASE-2 GENE POLYMORPHISMS IN PATIENTS WITH ULCERATIVE COLITIS AND CROHN'S DISEASE

SUMMARY

Inflammatory bowel disease is a group of chronic inflammatory conditions that affect gastrointestinal tract. While the etiology of inflammatory bowel disease could not still exactly be enlightened, It is thought that exaggerated immune response against the luminal antigens results from the complex interaction between environmental and genetic factors. This reaction may be derived from the disappearance of immune-tolerance against the luminal antigens in genetically susceptible patients. Nowadays, lots of genes were identified that result in susceptibility to inflammatory bowel disease. Interleukin-23 receptor pathway induces the differentiation of naive T lymphocyte to T helper-17 cell that has a major role in inflammatory bowel disease. The many proteins in that pathway take part in susceptibility locuses in genom wide association studies. Any polymorphism leading to functional modifications in Tyrosine kinase-2, one of proteins in interleukin-23 receptor pathway, may precipitate excessive immune response in the intestinal mucosa. The aim of our study is to investigate the involvement of Tyrosine kinase-2 gene polymorphisms in the patients with ulcerative colitis and Crohn's disease in Trakya region.

A totally 211 inflammatory bowel disease (151 ulcerative colitis, 60 Crohn's disease) patients and 89 control cases recruited the study. Crohn's disease and ulcerative colitis were compared to control group in terms of Tyrosine kinase-2 gene polymorphisms. Any significant association could not be found between inflammatory bowel disease and control groups' allele

frequencies. When genotype frequencies of ulcerative colitis and Crohn's disease were compared to control, significant associations were not determined in terms of rs280523 and rs280496. The presence of the genotype (CC) in rs2304256 and (AA) in rs280519 showed susceptibility to left involvement of ulcerative colitis, on the other hand, genotype (AC) in rs2304256 and (AG) in rs280519 provided protection against ulcerative colitis. In Crohn's disease, rs280519 (AG) was protective for ileocolonic and inflammatory type, rs2304256 (CC) increased the susceptibility to inflammatory type. The presence of the allele rs2304256 (A) increased the susceptibility to perianal involvement in Crohn's disease. Both rs280519 and rs2304256 polymorphisms were found associated with extraintestinal involvement in ulcerative colitis and Crohn's disease, and requirement of corticosteroid and immunosuppressive therapy in only ulcerative colitis.

Our study is the first demonstration of the single marker association of Tyrosine kinase-2 polymorphisms with ulcerative colitis and Crohn's disease. Tyrosine kinase-2 polymorphisms may be effective in etiology of inflammatory bowel disease in our population. Disparity in our study may be related to ethnic differences.

Key Words:Ulcerative colitis, Crohn's disease, Tyk2 gene, Polymorphism

KAYNAKLAR

1. Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterol* 1998;115(1):182-205.
2. Lakatos PL, Fischer S, Lakatos L, Gal I, Papp J. Current concept on the pathogenesis of inflammatory bowel disease-crosstalk between genetic and microbial factors: pathogenic bacteria and altered bacterial sensing or changes in mucosal integrity take "toll" ?. *World J Gastroenterol* 2006;12(12):1829-41.
3. Halme L, Paavola-Sakki P, Turunen U, Lappalainen M, Farkkila M, Kontula K. Family and twin studies in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2006;12(23):3668-72.
4. The Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007;447(7145):661–78.
5. Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugerie L, et al. Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 1996;379(6568):821-3.
6. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011;474(7351):307-17.
7. Wang K, Zhang H, Kugathasan S, Annese V, Bradfield JP, Russell RK, et al. Diverse genome-wide association studies associate the IL12/IL23 pathway with Crohn disease. *Am J Hum Genet* 2009;84(3):399–405.
8. Hirano A, Yamazaki K, Umeno J, Ashikawa K, Aoki M, Matsumoto T, et al. Association study of 71 European Crohn's disease susceptibility loci in a Japanese population. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19(3):526-33.
9. Kikly K, Liu L, Na S, Sedgwick JD. The IL-23/Th17 axis: therapeutic targets for autoimmune inflammation. *Curr Opin Immunol* 2006;18(6):670–5.

10. Editorial: Wilhelm Fabry (1560–1624): the other fabricius. *JAMA* 1964;190:933.
11. Crohn B, Ginzburg L, Oppenheimer GD. Landmark article Oct 15, 1932: regional ileitis: a pathological and clinical entity, by Burril B Crohn, Leon Ginzburg, and Gordon D Oppenheimer. *JAMA* 1984;251(1):73–9.
12. Wilks S. Morbid appearances in the intestine of Miss Bankes. *London Medical Times & Gazette* 1859;2:264.
13. Loftus CG, Loftus EV Jr, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Tremaine WJ, Melton LJ 3rd, et al. Update on the incidence and prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Olmsted County, Minnesota, 1940–2000. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13(3):254–61.
14. Munkholm P, Langholz E, Nielsen OH, Kreiner S, Binder V. Incidence and prevalence of Crohn's disease in the county of Copenhagen, 1962–87: a sixfold increase in incidence. *Scand J Gastroenterol* 1992;27(7):609–14.
15. Blanchard JF, Bernstein CN, Wajda A, Rawsthorne P. Small-area variations and sociodemographic correlates for the incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Am J Epidemiol* 2001;154(4):328–35.
16. Lapidus A. Crohn's disease in Stockholm County during 1990–2001: an epidemiological update. *World J Gastroenterol* 2006;12(1):75–81.
17. Loftus EV Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterol* 2004;126(6):1504–17.
18. Kappelman MD, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, Ollendorf D, Bousvaros A, Grand RJ, et al. The prevalence and geographic distribution of Crohn's disease and ulcerative colitis in US. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5(12):1424–9.
19. Nguyen GC, Torres EA, Regueiro M, Bromfield G, Bitton A, Stempak J, et al. Inflammatory bowel disease characteristics among African Americans, Hispanics, and non-Hispanic Whites: characterization of a large North American cohort. *Am J Gastroenterol* 2006;101(5):1012–23.
20. Tozun N, Atug O, Imeryuz N, Hamzaoglu HO, Tiftikci A, Parlak E, et al. Clinical characteristics of inflammatory bowel disease in Turkey: a multicenter epidemiologic survey. *J Clin Gastroenterol* 2009;43(1):51–7.
21. Odes HS, Fraser D, Krawiec J. Incidence of idiopathic ulcerative colitis in Jewish population subgroups in the Beer Sheva region of Israel. *Am J Gastroenterol* 1987;82(9):854–8.
22. Rogers BH, Clark LM, Kirsner JB. The epidemiologic and demographic characteristics of inflammatory bowel disease: an analysis of a computerized file of 1400 patients. *J Chronic Dis* 1971;24(12):743–73.
23. Joossens M, Simoens M, Vermeire S, Bossuyt X, Geboes K, Rutgeerts P. Contribution of genetic and environmental factors in the pathogenesis of Crohn's disease in a large family with multiple cases. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13(5):580–4.

24. Lerebours E, Gower-Rousseau C, Merle V, Brazier F, Debeugny S, Marti R, et al. Stressful life events as a risk factor for inflammatory bowel disease onset: A population-based case-control study. *Am J Gastroenterol* 2007;102(1):122–31.
25. Barclay AR, Russell RK, Wilson ML, Gilmour WH, Satsangi J, Wilson DC. Systematic review: the role of breastfeeding in the development of pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr* 2009;155(3):421–6.
26. Gent AE, Hellier MD, Grace RH, Swarbrick ET, Coggon D. Inflammatory bowel disease and domestic hygiene in infancy. *Lancet* 1994;343(8900):766–7.
27. Aamodt G, Bukholm G, Jahnsen J, Moum B, Vatn MH, and the IBSEN Study Group. The association between water supply and inflammatory bowel disease based on a 1990–1993 cohort study in southeastern Norway. *Am J Epidemiol* 2008;168(9):1065–72.
28. Bernstein CN, Kraut A, Blanchard JF, Rawsthorne P, Yu N, Walld R. The relationship between inflammatory bowel disease and socioeconomic variables. *Am J Gastroenterol* 2001;96(7):2117–25.
29. Kaplan GG, Hubbard J, Korzenik J, Sands BE, Panaccione R, Ghosh S, et al. The inflammatory bowel diseases and ambient air pollution: a novel association. *Am J Gastroenterol* 2010;105(11):2412–9.
30. Hou JK, Abraham B, El-Serag H. Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Am J Gastroenterol* 2011;106(4):563–73.
31. Cornish JA, Tan E, Simillis C, Clark SK, Teare J, Tekkis PP. The risk of oral contraceptives in the etiology of inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2008;103(9):2394–400.
32. Kaplan GG, Jackson T, Sands BE, Frisch M, Andersson RE, Korzenik J. The risk of developing Crohn’s disease after an appendectomy: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2008;103(11):2925–31.
33. Lopez-Serrano P, Perez-Calle JL, Perez-Fernandez MT, Fernandez-Font JM, Boixeda de Miguel D, Fernandez-Rodriguez CM. Environmental risk factors in inflammatory bowel diseases. Investigating the hygiene hypothesis: a Spanish case-control study. *Scand J Gastroenterol* 2010;45(12):1464–71.
34. Mahid SS, Minor KS, Soto RE, Hornung CA, Galandiuk S. Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 2006;81(11):1462–71.
35. Andersson RE, Olaison G, Tysk C, Ekblom A. Appendectomy and protection against ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2001;344(11):808–14.
36. Jess T, Gamborg M, Munkholm P, Sorensen TI. Overall and cause-specific mortality in ulcerative colitis: meta-analysis of population-based inception cohort studies. *Am J Gastroenterol* 2007;102(3):609–17.

37. Garcia Rodriguez LA, Ruigomez A, Panes J. Acute gastroenteritis is followed by an increased risk of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol* 2006;130(6):1588–94.
38. Takeuchi K, Smale S, Premchand P, Maiden L, Sherwood R, Thjodleifsson B, et al. Prevalence and mechanism of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced clinical relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4(2):196–202.
39. Tysk C, Jarnerot G. Seasonal variation in exacerbations of ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 1993;28(1):95–6.
40. Vidal A, Gómez-Gil E, Sans M, Portella MJ, Salamero M, Piqué JM, et al. Life events and inflammatory bowel disease relapse: a prospective study of patients enrolled in remission. *Am J Gastroenterol* 2006;101(4):775–81.
41. Klement E, Cohen RV, Boxman J, Joseph A, Reif S. Breastfeeding and risk of inflammatory bowel disease: a systematic review with meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2004;80(5):1342–52.
42. Satsangi J, Grootsholten C, Holt H, Jewel DP. Clinical patterns of familial inflammatory bowel disease. *Gut* 1996;38(5):738-41.
43. Spehlmann ME, Begun AZ, Burghardt J, Lepage P, Raedler A, Schreiber S. Epidemiology of inflammatory bowel disease in a German twin cohort: results of a nationwide study. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14(7):968–76.
44. Bengtson MB, Solberg C, Aamodt G, Jahnsen J, Moum B, Sauar J, et al. Clustering in time of familial IBD separates ulcerative colitis from Crohn’s disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15(12):1867–74.
45. Orholm M, Binder V, Sorensen TI, Rasmussen LP, Kyvik KO. Concordance of inflammatory bowel disease among Danish twins: results of a nationwide study. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:1075-81.
46. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn’s disease. *Nature* 2001;411(6837):599-603.
47. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn’s disease. *Nature* 2001;411(6837):603-6.
48. Hampe J, Schreiber S, Shaw SH, Lau KF, Bridger S, Macpherson AJ, et al. A genom wide analysis provides evidence for novel linkages in inflammatory bowel disease in a large European cohort. *Am J Hum Genet* 1999;64(3):808-16.
49. Franke A, McGovern DP, Barrett JC, Wang K, Radford-Smith GL, Ahmad T, et al. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet* 2010;42(12):1118-25.

50. Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D'Amato M, Taylor KD, et al. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet* 2011;43(3):246-52.
51. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature* 2012;491(7422):119-24.
52. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005;308(5728):1635–8.
53. Burnham WR, Lennard-Jones JE, Stanford JL, Bird RG. Mycobacteria as a possible cause of inflammatory bowel disease. *Lancet* 1978;2(8092 Pt 1):693-6.
54. Seksik P, Rigottier-Gois L, Gramet G, Sutren M, Pochart P, Marteau P, et al. Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Gut* 2003;52(2):237–42.
55. Sokol H, Lepage P, Seksik P, Dor'e J, Marteau P. Temperature gradient gel electrophoresis of fecal 16S rRNA reveals active *Escherichia coli* in the microbiota of patients with ulcerative colitis. *J Clin Microbiol* 2006;44(9):3172–7.
56. Macpherson A, Khoo UY, Forgacs I, Philpott-Howard J, Bjarnason I. Mucosal antibodies in inflammatory bowel disease are directed against intestinal bacteria. *Gut* 1996;38(3):365-75.
57. Rhodes JM. Mucins and inflammatory bowel disease. *QJM* 1997;90(2):79-82.
58. Podolsky DK, Isselbacher KJ. Composition of human colonic mucin: selective alteration in inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 1983;72(1):142–53.
59. Pullan RD, Thomas GA, Rhodes M, Newcombe RG, Williams GT, Allen A, et al. Thickness of adherent mucus gel on colonic mucosa in humans and its relevance to colitis. *Gut* 1994;35(3):353–9.
60. Fyderek K, Strus M, Kowalska-Duplaga K, Gosiewski T, Wedrychowicz A, Jedynek-Wasowicz U, et al. Mucosal bacterial microflora and mucus layer thickness in adolescents with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2009;15(42):5287–94.
61. Wehkamp J, Schmid M, Stange EF. Defensins and other antimicrobial peptides in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2007;23(4):370-8.
62. Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, Nuding S, Weichenthal M, Petras RE, et al. Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(50):18129-34.
63. Fellermann K, Stange DE, Schaeffeler E, Schmalzl H, Wehkamp J, Bevins CL, et al. A chromosome 8 gene-cluster polymorphism with low human beta-defensin 2 gene copy number predisposes to Crohn disease of the colon. *Am J Hum Genet* 2006;79(3):439-48.

64. Schauber J, Rieger D, Weiler F. Heterogeneous expression of human cathelicidin hCAP18/LL-37 in inflammatory bowel diseases. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006;18(6):615.
65. Edelblum KL, Turner JR. The Tight Junction in Inflammatory Disease: Communication Breakdown. *Curr Opin Pharmacol* 2009;9(6):715–20.
66. Vermeire S. DLG5 and OCTN. *Inflamm Bowel Dis* 2004;10(6):888-90.
67. Van Limbergen J, Russell RK, Nimmo ER, Ho GT, Arnott ID, Wilson DC, et al. Genetics of the innate immune response in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13(3):338-55.
68. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006;124(4):783-801.
69. Anderson KV, Bokla L, Nusslein-Volhard C. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: the induction of polarity by the Toll gene product. *Cell* 1985;42(3):791-8.
70. Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, Du X, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science* 1998;282(5396):2085-8.
71. Mitchell JA, Fitzgerald KA, Coyle A, Silverman N, Cartwright N. TOLLing away in Brazil. *Nat Immunol* 2006;7(7):675-9.
72. Liew FY, Xu D, Brint EK, O'Neill LA. Negative regulation of toll-like receptor-mediated immune responses. *Nat Rev Immunol* 2005;5(6):446-58.
73. Nomura F, Akashi S, Sakao Y, Sato S, Kawai T, Matsumoto M, et al. Cutting edge: endotoxin tolerance in mouse peritoneal macrophages correlates with down-regulation of surface toll-like receptor 4 expression. *J Immunol* 2000;164(7):3476-9.
74. Oostenbrug LE, Drenth JP, de Jong DJ, Nolte IM, Oosterom E, van Dullemen HM, et al. Association between Toll-like receptor 4 and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005;11(6):567-75.
75. van Heel DA, Fisher SA, Kirby A, Daly MJ, Rioux JD, Lewis CM. Inflammatory bowel disease susceptibility loci defined by genome scan meta-analysis of 1952 affected relative pairs. *Hum Mol Genet* 2004;13(7):763-70.
76. Pierik M, Joossens S, Van Steen K, Van Schuerbeek N, Vlietinck R, Rutgeerts P, et al. Toll-like receptor-1, -2, and -6 polymorphisms influence disease extension in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2006;12(1):1-8.
77. Torok HP, Glas J, Tonenchi L, Bruennler G, Folwaczny M, Folwaczny C. Crohn's disease is associated with a toll-like receptor-9 polymorphism. *Gastroenterol* 2004;127(1):365-6.
78. Harton JA, Ting JP. Class II transactivator: mastering the art of major histocompatibility complex expression. *Mol Cell Biol* 2000;20(17):6185-94.

79. Inohara N, Nunez G. The NOD: a signaling module that regulates apoptosis and host defense against pathogens. *Oncogene* 2001;20(44):6473-81.
80. Strober W, Murray PJ, Kitani A, Watanabe T. Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2. *Nat Rev Immunol* 2006;6(1):9-20.
81. Ting JP, Kastner DL, Hoffman HM. CATERPILLERS, pyrin and hereditary immunological disorders. *Nat Rev Immunol* 2006;6(3):183-95.
82. Inohara N, Nunez G. NODs: intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis. *Nat Rev Immunol* 2003;3(5):371-82.
83. Lala S, Ogura Y, Osborne C, Hor SY, Bromfield A, Davies S, et al. Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. *Gastroenterol* 2003;125(1):47-57.
84. Girardin SE, Boneca IG, Viala J, Chamaillard M, Labigne A, Thomas G, et al. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J Biol Chem* 2003;278(11):8869-72.
85. Inohara N, Chamaillard M, McDonald C, Nunez G. NOD-LRR proteins: role in host-microbial interactions and inflammatory disease. *Annu Rev Biochem* 2005;74:355-83.
86. Chamaillard M, Hashimoto M, Horie Y, Masumoto J, Qiu S, Saab L, et al. An essential role for NOD1 in host recognition of bacterial peptidoglycan containing diaminopimelic acid. *Nat Immunol* 2003;4(7):702-7.
87. Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol* 2005;17(1):1-14.
88. Hedl M, Li J, Cho JH, Abraham C. Chronic stimulation of Nod2 mediates tolerance to bacterial products, *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(49):19440-5.
89. Cho JH, Weaver CT. The genetics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol* 2007;133(4):1327-39.
90. Kaser A, Blumberg RS. Autophagy, microbial sensing, endoplasmic reticulum stress, and epithelial function in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol* 2011;140(6):1738-47.
91. Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, Till A, Teuber M, Huse K, et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet* 2007;39(2):207-11.
92. Parkes M, Barrett JC, Prescott NJ, Tremelling M, Anderson CA, Fisher SA, et al. Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nat Genet* 2007;39(7):830-2.
93. He C, Klionsky DJ. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet* 2009;43:67-93.
94. Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* 2008;132(1):27-42.

95. Massey DC, Bredin F, Parkes M. Use of sirolimus (rapamycin) to treat refractory Crohn's disease. *Gut* 2008;57(9):1294-6.
96. Saitoh T, Fujita N, Jang MH, Uematsu S, Yang BG, Satoh T, et al. Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1beta production. *Nature* 2008;456(7219):264-8.
97. Sato T, van Es JH, Snippert HJ, Stange DE, Vries RG, van den Born M, et al. Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts. *Nature* 2011;469(7330):415-8.
98. Cadwell K, Liu JY, Brown SL, Miyoshi H, Loh J, Lennerz JK, et al. A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16l1 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature* 2008;456(7219):259-63.
99. Kanneganti TD, Lamkanfi M, Nunez G. Intracellular NOD-like receptors in host defense and disease. *Immunity* 2007;27(4):549-59.
100. Travassos LH, Carneiro LA, Ramjeet M, Hussey S, Kim YG, Magalhães JG, et al. Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nat Immunol* 2010;11(1):55-62.
101. Cooney R, Baker J, Brain O, Danis B, Pichulik T, Allan P, et al. NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nat Med* 2010;16(1):90-7.
102. Homer CR, Richmond AL, Rebert NA, Achkar JP, McDonald C. ATG16L1 and NOD2 interact in an autophagy-dependent antibacterial pathway implicated in Crohn's disease pathogenesis. *Gastroenterol* 2010;139(5):1630-41.
103. Vaishnava S, Behrendt CL, Ismail AS, Eckmann L, Hooper LV. Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host-microbial interface. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(52):20858-63.
104. Kaser A, Lee AH, Franke A, Glickman JN, Zeissig S, Tilg H, et al. XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. *Cell* 2008;134(5):743-56.
105. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8(7):519-29.
106. Vermeire S, Rutgeerts P, Van Steen K, Joossens S, Claessens G, Pierik M, et al. Genome wide scan in a Flemish inflammatory bowel disease population: support for the IBD4 locus, population heterogeneity, and epistasis. *Gut* 2004;53(7):980-6.
107. Kaser A, Blumberg RS. Endoplasmic reticulum stress and intestinal inflammation. *Mucosal Immunol* 2010;3(1):11-6.
108. Barrett JC, Hansoul S, Nicolae DL, Cho JH, Duerr RH, Rioux JD, et al. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat Genet* 2008;40(8):955-62.

109. Hjelmqvist L, Tuson M, Marfany G, Herrero E, Balcells S, González-Duarte R. ORMDL proteins are a conserved new family of endoplasmic reticulum membrane proteins. *Genome Biol* 2002;3(6):1-16.
110. Richardson CE, Kooistra T, Kim DH. An essential role for XBP-1 in host protection against immune activation in *C. elegans*. *Nature* 2010;463(7284):1092–5.
111. Cadwell K, Patel KK, Maloney NS, Liu TC, Ng AC, Storer CE, et al. Virus-plus-susceptibility gene interaction determines Crohn’s disease gene *Atg16L1* phenotypes in intestine. *Cell* 2010;141(7):1135–45.
112. Martinon F, Chen X, Lee AH, Glimcher LH. TLR activation of the transcription factor XBP1 regulates innate immune responses in macrophages. *Nat Immunol* 2010;11(5):411–8.
113. Sartor RB. Mechanism of disease: pathogenesis of Crohn’s disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Prac Gastroenterol Hepatol* 2006;3(7):390-407.
114. Hooper LV, Macpherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol* 2010;10(3):159-69.
115. Kayama H, Takeda K. Regulation of intestinal homeostasis by innate and adaptive immunity. *Int Immunol* 2012;24(11):673-80.
116. Tupin E, Kinjo Y, Kronenberg M. The unique role of natural killer T cells in the response to microorganisms. *Nat Rev Microbiol* 2007;5(6):405–17.
117. Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, Leon F, Yoshida M, Fichtner-Feigl S, et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2004;113(10):1490–7.
118. Perera L, Shao L, Patel A, Evans K, Meresse B, Blumberg R, et al. Expression of nonclassical class I molecules by intestinal epithelial cells. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13(3):298–307.
119. Page MJ, Poritz LS, Tilberg AF, Zhang WJ, Chorney MJ, Koltun WA. Cd1d-restricted cellular lysis by peripheral blood lymphocytes: relevance to the inflammatory bowel diseases. *J Surg Res* 2000;92(2):214–21.
120. Maloy KJ, Kullberg MC. IL-23 and Th17 cytokines in intestinal homeostasis. *Mucosal Immunol* 2008;1(5):339-49.
121. Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, et al. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006;314(5804):1461–3.
122. Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Hedderich J, May S, Lu T, et al. Replication of signals from recent studies of Crohn’s disease identifies previously unknown disease loci for ulcerative colitis. *Nat Genet* 2008;40(6):713–5.
123. Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, et al. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003;52(1):65–70.

124. Niessner M, Volk BA. Altered Th1/Th2 cytokine profiles in the intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel disease as assessed by quantitative reversed transcribed polymerase chain reaction (RT-PCR). *Clin Exp Immunol* 1995;101(3):428-35.
125. Moro K, Yamada T, Tanabe M, Takeuchi T, Ikawa T, Kawamoto H, et al. Innate production of T(H)2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit(+) Sca-1(+) lymphoid cells. *Nature* 2010;463(7280):540-4.
126. Sakaguchi S. The origin of FOXP3-expressing CD4+ regulatory T cells: thymus or periphery. *J Clin Invest* 2003;112(9):1310-2.
127. Rubtsov YP, Rasmussen JP, Chi EY, Fontenot J, Castelli L, Ye X, et al. Regulatory T cell-derived interleukin-10 limits inflammation at environmental interfaces. *Immunity* 2008;28(4):546-58.
128. Asseman C, Mauze S, Leach MW, Coffman RL, Powrie F. An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J Exp Med* 1999;190(7):995-1004.
129. Maynard CL, Weaver CT. Intestinal effector T cells in health and disease. *Immunity* 2009;31(3):389-400.
130. Kobayashi M, Kweon MN, Kuwata H, Schreiber RD, Kiyono H, Takeda K, et al. Toll-like receptor-dependent production of IL-12p40 causes chronic enterocolitis in myeloid cell-specific Stat3-deficient mice. *J Clin Invest* 2003;111(9):1297-308.
131. Chaudhry A, Rudra D, Treuting P, Samstein RM, Liang Y, Kas A, et al. CD4+ regulatory T cells control Th17 responses in a Stat3-dependent manner. *Science* 2009;326(5955):986-91.
132. Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Sventoraityte J, Nikolaus S, Mayr G, et al. Sequence variants in IL10, ARPC2 and multiple other loci contribute to ulcerative colitis susceptibility. *Nat Genet* 2008;40(11):1319-23.
133. Coombes JL, Powrie F. Dendritic cells in intestinal immune regulation. *Nat Rev Immunol* 2008;8(6):435-46.
134. Johansson-Lindbom B, Svensson M, Pabst O, Palmqvist C, Marquez G, Förster R, et al. Functional specialization of gut CD103+ dendritic cells in the regulation of tissue-selective T cell homing. *J Exp Med* 2005;202(8):1063-73.
135. Kinnebrew MA, Buffie CG, Diehl GE, Zenewicz LA, Leiner I, Hohl TM, et al. Interleukin 23 production by intestinal CD103(+)CD11b(+) dendritic cells in response to bacterial flagellin enhances mucosal innate immune defense. *Immunity* 2012;36(2):276-87.
136. Kisseleva T, Bhattacharya S, Braunstein J, Schindler CW. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene* 2002;285(1-2):1-24.
137. Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994;264(5164):1415-21.

138. O'Shea JJ, Gadina M, Schreiber RD. Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/Stat pathway. *Cell* 2002;109(1):121-31.
139. Rodig SJ, Meraz MA, White JM, Lampe PA, Riley JK, Arthur CD, et al. Disruption of the Jak1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the Jaks in cytokine-induced biologic responses. *Cell* 1998;93(3):373-83.
140. Neubauer H, Cumano A, Muller M, Wu H, Huffstadt U, Pfeffer K. Jak2 deficiency defines an essential developmental checkpoint in definitive hematopoiesis. *Cell* 1998;93(3):397-409.
141. Levy DE, Darnell JE Jr. Stats: transcriptional control and biological impact. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3(9):651-62.
142. Strobl B, Stoiber D, Sexl V, Mueller M. Tyrosine kinase 2 (TYK2) in cytokine signalling and host immunity. *Front Biosci* 2011;17:3214-32.
143. Firmbach-Kraft I, Byers M, Shows T, Dalla-Favera R, Krolewski JJ. Tyk2, prototype of a novel class of non-receptor tyrosine kinase genes. *Oncogene* 1990;5(9):1329-36.
144. Krolewski JJ, Lee R, Eddy R, Shows TB, Dalla-Favera R. Identification and chromosomal mapping of new human tyrosine kinase genes. *Oncogene* 1990;5(3):277-82.
145. Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ. Janus kinases in immune cell signaling. *Immunol Rev* 2009;228(1):273-87.
146. van Boxel-Dezaire AH, Rani MR, Stark GR. Complex modulation of cell type-specific signaling in response to type I interferons. *Immunity* 2006;25(3):361-72.
147. Ragimbeau J, Dondi E, Alcover A, Eid P, Uze G, Pellegrini S. The tyrosine kinase Tyk2 controls IFNAR1 cell surface expression. *EMBO J* 2003;22(3):537-47.
148. Karaghiosoff M, Neubauer H, Lassnig C, Kovarik P, Schindler H, Pircher H, et al. Partial impairment of cytokine responses in Tyk2-deficient mice. *Immunity* 2000;13(4):549-60.
149. Shimoda K, Kato K, Aoki K, Matsuda T, Miyamoto A, Shibamori M, et al. Tyk2 plays a restricted role in IFN alpha signaling, although it is required for IL-12-mediated T cell function. *Immunity* 2000;13(4):561-71.
150. Roy B, Cathcart MK. Induction of 15-lipoxygenase expression by IL-13 requires tyrosine phosphorylation of Jak2 and Tyk2 in human monocytes. *J Biol Chem* 1998;273(48):32023-9.
151. Ortmann R, Smeltz R, Yap G, Sher A, Shevach EM. A heritable defect in IL-12 signaling in B10.Q/J mice. I. In vitro analysis. *J Immunol* 2001;166(9):5712-9.
152. Karaghiosoff M, Steinborn R, Kovarik P, Kriegshauser G, Baccarini M, Donabauer B, et al. Central role for type I interferons and Tyk2 in lipopolysaccharide-induced endotoxin shock. *Nat Immunol* 2003;4(5):471-7.
153. Kamezaki K, Shimoda K, Numata A, Matsuda T, Nakayama K, Harada M. The role of Tyk2, Stat1 and Stat4 in LPS-induced endotoxin signals. *Int Immunol* 2004;16(8):1173-9.

154. Oyamada A, Ikebe H, Itsumi M, Saiwai H, Okada S, Shimoda K, et al. Tyrosine kinase 2 plays critical roles in the pathogenic CD4 T cell responses for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2009;183(11):7539-46.
155. Costantino G, Egerbacher M, Kolbe T, Karaghiosoff M, Strobl B, Vogl C, et al. Tyk2 and signal transducer and activator of transcription 1 contribute to intestinal I/R injury. *Shock* 2008;29(2):238-44.
156. Hosogi M, Tonogaito H, Aioi A, Hamada K, Shimoda K, Muromoto R, et al. Hapten-induced contact hypersensitivity is enhanced in Tyk2-deficient mice. *J Dermatol Sci* 2004;36(1):51-6.
157. Stoiber D, Kovacic B, Schuster C, Schellack C, Karaghiosoff M, Kreibich R, et al. TYK2 is a key regulator of the surveillance of B lymphoid tumors. *J Clin Invest* 2004;114(11):1650-8.
158. Zhang Q, Sturgill JL, Kmiecik M, Szczepanek K, Derecka M, Koebel C, et al. The role of tyk2 in regulation of breast cancer growth. *J Interferon Cytokine Res* 2011;31(9):671-7.
159. Zhu X, Lv J, Yu L, Zhu X, Wu J, Zou S, et al. Proteomic identification of differentially-expressed proteins in squamous cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2009;112(1):248-56.
160. Ide H, Nakagawa T, Terado Y, Kamiyama Y, Muto S, Horie S. Tyk2 expression and its signaling enhances the invasiveness of prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;369(2):292-6.
161. Minegishi Y, Saito M, Morio T, Watanabe K, Agematsu K, Tsuchiya S, et al. Human tyrosine kinase 2 deficiency reveals its requisite roles in multiple cytokine signals involved in innate and acquired immunity. *Immunity* 2006;25(5):745-55.
162. Lennard-Jones JE. Classification of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1989;170:2–6; discussion 16-9.
163. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol* 2005;19(Suppl A):5–36.
164. Sato K, Shiota M, Fukuda S, Iwamoto E, Machida H, Inamine T, et al. Strong evidence of a combination polymorphism of the tyrosine kinase 2 gene and the signal transducer and activator of transcription 3 gene as a DNA-based biomarker for susceptibility to Crohn's disease in the Japanese population. *J Clin Immunol* 2009;29(6):815-25.
165. Tao JH, Zou YF, Feng XL, Li J, Wang F, Pan FM, et al. Meta-analysis of TYK2 gene polymorphisms association with susceptibility to autoimmune and inflammatory diseases. *Mol Biol Rep* 2011;38(7):4663-72.
166. Cunninghame Graham DS, Akil M, Vyse TJ. Association of polymorphisms across the tyrosine kinase gene, TYK2 in UK SLE families. *Rheumatology (Oxford)* 2007;46(6):927-30.

167. Mero IL, Lorentzen AR, Ban M, Smestad C, Celius EG, Aarseth JH, et al. A rare variant of the TYK2 gene is confirmed to be associated with multiple sclerosis. *Eur J Hum Genet* 2010;18(4):502-4.
168. Cortes A, Hadler J, Pointon JP, Robinson PC, Karaderi T, Leo P, et al. Identification of multiple risk variants for ankylosing spondylitis through high-density genotyping of immune-related loci. *Nat Genet* 2013;45(7):730-8.
169. Lees CW, Barrett JC, Parkes M, Satsangi J. New IBD genetics: common pathways with other diseases. *Gut* 2011;60(12):1739-53.
170. Lian LH, Lau TP, Lee VL, Lee WS, Hilmi I, Goh KL, et al. Lack of association between TYK2 and STAT3 genes and Crohn's disease in the Malaysian population. *Genet Mol Res* 2013;12(1):167-74.

EKLER

Ek 1

T.C. TRAKYAÜNİVERSİTESİ
T.C. TRAKYAÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-GOKAEK 2012/214	
	PROTOKOL ADI	IL23 Yolağında Tirozin (Tyk-2) Gen Polimorfizmlerinin İnflamatuvar Barsak Hastalığı ile İlişkisi**	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVAN / ADI	Prof. Dr. Ahmet TEZEL	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:02/ 02	Tarih:16.01.2013	
	Üniversitemiz Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ahmet TEZEL'in sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Uzm. Dr. Güray CAN'ın tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-GOKAEK Yönergesi		

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Üfret VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Başkan Yardımcısı	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ Üye	Tıbbi Farmakoloji.	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyostatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hasan ÜMIT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Selma Arzu VARDAR Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Sedat ÜSTÜNDAĞ Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Burcu TOKUÇ Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Koray ELTER Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Cengiz TUĞLU Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Recep YAĞIZ Üye	Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları	T.Ü.T.F. K.B.B. Hast. A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Berkan DEMİRAL Üye		T.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Recep YAĞIZ
Dekan a.
Dekan Yardımcısı

Ek 3

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

(HASTA GRUBU İÇİN)

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Girişimsel olmayan klinik araştırmalar Etik Kurulu'nun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamamız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün. Açık olmayan bir bölüm varsa ya da daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyuyorsanız ya da araştırmaya katılmaya gönüllü oluktan sonra soracağınız sorular varsa 0506 581 89 44 numaralı cep telefonundan Uzm. Dr. Güray Can'a başvurabilirsiniz.

1. Araştırmayla ilgili bilgiler:

a. Araştırmanın bilimsel adı: IL-23 yolağındaki Tirozin kinaz-2 (Tyk2) gen polimorfizmlerinin İnflamatuvar Barsak Hastalığı ile ilişkisi

b. Araştırmanın anlaşılabilir basit adı: İltihabi barsak hastalıkları ile bu hastalık ile ilişkili olabilecek genetik değişiklikler arasındaki ilişki

c. Sorumlu araştırmacının adı ve görev yeri: Prof. Dr. Ahmet Tezel, Gastroenteroloji Bilim Dalı

d. Araştırmanın içeriği: Rutin poliklinik takipleri sırasında sizlerden ve kontrol grubundan alınmış olan kanlardan genetik tahlil yapılacaktır. Sizlerden ve size ait poliklinik dosyalarınızdan araştırma için gerekli olabilecek kişisel ve tıbbi özgeçmişiniz ile ilgili bilgiler temin edilecektir.

e. Araştırmanın amacı: İltihabi barsak hastalığı (İBH) olanlarda bu hastalık için risk oluşturabilecek bazı genetik değişikliklerle hastalığın ilişkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

f. Araştırmanın niteliği: Genetik çalışma (sizlerden alınan kanlardan çalışılacaktır)

g. Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi: 01 Şubat – 01 Ağustos 2013

h. Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı: 300 kişi (211 hasta, 89 kontrol)

i. Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni: 18 yaş üstünde olup, iltihabi barsak hastalığı tanısı almış olmanız nedeniyle sizi hasta grubuna dahil etmekteyiz. Kontrol grubuna ise gastroenteroloji polikliniğine gelmiş, İBH hastalığı ve devamlı takip gerektirecek başka bir hastalığı olmayan hastalar dahil edilecektir.

j. Araştırmada uygulanacak yöntemler: Sizlerden alınan kanlardan çeşitli laboratuvar yöntemleriyle genetik tayin yapılacaktır.

- 1. Uygulama sırasında karşılaşabileceğiniz riskler ve rahatsızlıklar:** Rutin poliklinik takipleri sırasında sizlerden alınmış olan kanlardan çalışılacağı için sizin açınızdan herhangi bir risk bulunmamaktadır.
- 2. Gönüllü için araştırmadan beklenen yarar:** İBH'da hastalığın oluşumuyla ilgili bir çok mekanizma öne sürülmesine rağmen hastalığın nedeni hala daha aydınlatılabilmış değildir. Yapılacak alışma ile hastalığın nasıl ortaya çıktığı, sebepleri ile ilgili bazı noktalar gün yüzüne çıkarılmış olacaktır. Çalışmamızdaki genetik değişiklikler, İBH için risk faktörlerini taşıyan kişilerde yeni, genetik bazlı, tanısal bir tetkik olarak kullanılabilir. Aynı zamanda gelecekte yeni ilaçların geliştirilmesinde faydalı olabilir. Bu açıdan bilime evrensel bir katkıda bulunmuş olacaksınız.
- 3. Araştırmaya seçenek olan diğer girişimler:** Yok
- 4. Zararların tazmini ve araştırma konusundaki diğer soruların cevaplandırılması:**
 - a. Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile bir hasta olarak haklarınız konusunda bilgi almak için bağlantı kuracağınız kişinin adı-soyadı, ünvanı, görev yeri ve telefon numarası. (Uzm. Dr. Güray Can, Trakya Üniv. Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, 0506 581 89 44).
- 5. Araştırma giderleri ve bütçesi:** Araştırmanın masrafları tamamen Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (TÜBAP) tarafından karşılanacaktır.
- 6. Gönüllülük, çalışmayı reddetme ve çalışmadan çekilme hakkı, çalışmadan ıkarılma:** Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılmaktasınız ve araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahipsiniz. Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğiniz anda bu çalışmadan çekilebilirsiniz. Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı, çalışma programının gereklerini yerine getirmede ihmaliniz olması halinde, onayınızı almadan çalışma kapsamından çıkarabilir.
- 7. Kimlik bilgilerinin ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak?** alışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğiniz kesin olarak gizli tutulacaktır.
- 8. Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Eğer isterseniz araştırma sonunda sizlere bilgi verilecektir. Araştırma sonunda bu gen hastalıklarla ilişkili olduğu saptanırsa ve siz riskli grupta olursanız, sizlere genetik danışmanlık verilecektir.

GÖNÜLLÜNÜN ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Gönüllü Bilgilendirme Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

Gönüllünün; (El yazısı ile)

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....
.....

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....
.....

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

İmzası:

Tarih:

Ek 4

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

(KONTROL GRUBU İÇİN)

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Girişimsel olmayan klinik araştırmalar Etik Kurulu'nun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün. Açık olmayan bir bölüm varsa ya da daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyuyorsanız ya da araştırmaya katılmaya gönüllü oluktan sonra soracağınız sorular varsa 0506 581 89 44 numaralı cep telefonundan Uzm. Dr. Güray Can'a başvurabilirsiniz.

1. Araştırmayla ilgili bilgiler:

a. Araştırmanın bilimsel adı: IL-23 yolağındaki Tirozin kinaz-2 (Tyk2) gen polimorfizmlerinin İnflamatuvar Barsak Hastalığı ile ilişkisi

b. Araştırmanın anlaşılabilir basit adı: İltihabi barsak hastalıkları ile bu hastalıkla ilişkili olabilecek genetikdeğişiklikler arasındaki ilişki

c. Sorumlu araştırmacının adı ve görev yeri: Prof. Dr. Ahmet Tezel, Gastroenteroloji Bilim Dalı.

d. Araştırmanın içeriği: Rutin poliklinik takipleri sırasında sizlerden ve hasta grubundan alınmış olan kanlardan genetik tahlil yapılacaktır. Sizlerden ve size ait poliklinik dosyalarınızdan araştırma için gerekli olabilecek kişisel ve tıbbi özgeçmişiniz ile ilgili bilgiler temin edilecektir.

e. Araştırmanın amacı: İltihabi barsak hastalığı (İBH) olanlarda bu hastalık için risk oluşturabilecek bazı genetik değişikliklerle hastalığın ilişkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

f. Araştırmanın niteliği: Genetik çalışma (sizlerden alınan kanlardan çalışılacaktır)

g. Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi: 01 Şubat– 01 Ağustos 2013

h. Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı: 300 kişi (211 hasta, 89 kontrol)

i. Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni: 18 yaş üstünde olup, iltihabi barsak hastalığı ve devamlı takip gerektirecek herhangi bir hastalığınız olmaması

nedeniyle sizi kontrol grubuna dahil etmekteyiz. Siz tetkik edilen hastalık açısından sağlıklı olmanız nedeniyle seçildiniz. Hasta grubuna ise gastroenteroloji polikliniğine gelen, İBH hastalığı tanısı almış, 18 yaşından büyük hastalar dahil edilecektir.

j. Araştırmada uygulanacak yöntemler: Sizlerden alınan kanlardan çeşitli laboratuvar yöntemleriyle genetik tayin yapılacaktır.

- 2. Uygulama sırasında karşılaşılabileceğiniz riskler ve rahatsızlıklar:** Rutin poliklinik takipleri sırasında sizlerden alınmış olan kanlardan çalışılacağı için sizin açınızdan herhangi bir risk bulunmamaktadır.
- 3. Gönüllü için araştırmadan beklenen yarar:** İBH’da hastalığın oluşumuyla ilgili bir çok mekanizma öne sürülmesine rağmen hastalığın nedeni hala daha aydınlatılabilmemiş değildir. Yapılacak çalışma ile hastalığın nasıl ortaya çıktığı, sebepleri ile ilgili bazı noktalar gün yüzüne çıkarılmış olacaktır. Çalışmamızdaki genetik değişiklikler, İBH için risk faktörlerini taşıyan kişilerde yeni, genetik bazlı, tanısal bir tetkik olarak kullanılabilir. Aynı zamanda gelecekte yeni ilaçların geliştirilmesinde faydalı olabilir. Bu açıdan bilime evrensel bir katkıda bulunmuş olacaksınız.
- 4. Araştırmaya seçenek olan diğer girişimler:** Yok
- 5. Zararların tazmini ve araştırma konusundaki diğer soruların cevaplandırılması:**

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile katılımcı olarak haklarınız konusunda bilgi almak için bağlantı kuracağınız kişinin adı-soyadı, ünvanı, görev yeri ve telefon numarası. (Uzm. Dr. Güray Can, Trakya Üniv. Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, 0506 581 89 44).
- 6. Araştırma giderleri ve bütçesi:** Araştırmanın masrafları tamamen Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (TÜBAP) tarafından karşılanacaktır.
- 7. Gönüllülük, çalışmayı reddetme ve çalışmadan çekilme hakkı, çalışmadan çıkarılma:** Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılmaktasınız ve araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahipsiniz. Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğiniz anda bu çalışmadan çekilebilirsiniz. Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı, çalışma programının gereklerini yerine getirmede ihmaliniz olması halinde, onayınızı almadan çalışma kapsamından çıkarabilir.
- 8. Kimlik bilgilerinin ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak?**

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğiniz kesin olarak gizli tutulacaktır.
- 9. Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Eğer isterseniz araştırma sonunda sizlere bilgi verilecektir. Araştırma sonunda bu gen hastalıkla ilişkili olduğu saptanırsa ve siz riskli grupta olursanız, sizlere genetik danışmanlık verilecektir.

GÖNÜLLÜNÜN ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağılı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediyimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Gönüllü Bilgilendirme Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

Gönüllünün; (El yazısı ile)

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....
.....

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....
.....

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

İmzası:

Tarih:

Ek 5

Sıra	Protokol	Cinsiyet	Yaş	Grup	rs280 523	rs2304 256	rs280 519	rs280 496
1	306637	Erkek	49.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
2	199946	Erkek	55.0	ÜK	AG	AA	AA	GG
3	89138	Erkek	51.0	CH	GG	AA	GG	CC
4	361863	Erkek	47.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
5	524744	Erkek	51.0	CH	GG	CC	AA	GC
6	400399	Erkek	25.0	CH	AG	AA	AG	GC
7	89279	Erkek	48.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
8	174164	Erkek	31.0	CH	GG	AC	AA	GC
9	335763	Erkek	32.0	CH	GG	AA	GG	CC
10	509204	Erkek	60.0	ÜK	GG	AC	AA	GC
11	26968	Erkek	67.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
12	120924	Erkek	62.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
13	489164	Erkek	42.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
14	21440	Erkek	57.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
15	511867	Erkek	25.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
16	391967	Erkek	50.0	CH	GG	AA	AG	GC
17	516978	Erkek	57.0	CH	GG	AC	AA	GC
18	151282	Kadın	56.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
19	529562	Kadın	38.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
20	354460	Erkek	28.0	ÜK	AG	AC	AA	GC
21	514174	Kadın	51.0	CH	GG	CC	AA	GC
22	155757	Kadın	34.0	ÜK	AG	AA	AG	GC
23	164139	Kadın	36.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
24	98307	Kadın	62.0	CH	GG	AA	AG	GC
25	194478	Erkek	49.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
26	130570	Kadın	52.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
27	497514	Kadın	20.0	CH	GG	CC	AA	CC
28	43632	Erkek	60.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
29	420953	Kadın	67.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
30	499599	Erkek	54.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
31	27078	Kadın	31.0	CH	GG	AA	AG	GC
32	255930	Kadın	51.0	CH	GG	AA	GG	CC
33	459503	Erkek	26.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
34	402515	Erkek	37.0	ÜK	GG	AC	AA	GC
35	502330	Erkek	36.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
36	549768	Erkek	26.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
37	302154	Erkek	25.0	CH	GG	AC	AG	CC
38	414526	Erkek	49.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
39	2778	Kadın	32.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
40	545228	Erkek	43.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
41	367411	Erkek	27.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
42	299620	Kadın	27.0	CH	GG	AA	GG	GC
43	431932	Kadın	24.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
44	418153	Kadın	38.0	CH	GG	AA	GG	CC
45	45337	Erkek	41.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
46	489742	Erkek	36.0	ÜK	AG	AC	AA	GC
47	464146	Kadın	24.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
48	313347	Kadın	65.0	CH	GG	AA	GG	GC
49	121597	Kadın	49.0	ÜK	GG	CC	AA	GC
50	383683	Kadın	47.0	CH	GG	CC	AG	CC
51	538972	Erkek	41.0	ÜK	AG	AC	AA	GC
52	408867	Erkek	34.0	CH	GG	AA	GG	CC
53	410725	Erkek	38.0	ÜK	AG	AA	AG	GC
54	236318	Erkek	50.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
55	154262	Erkek	29.0	CH	GG	AA	GG	CC
56	224613	Erkek	28.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
57	400116	Erkek	39.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
58	13666	Erkek	42.0	CH	AG	AA	AG	GC
59	131812	Erkek	31.0	ÜK	GG	AA	AG	CC

Sıra	Protokol	Cinsiyet	Yaş	Grup	rs280 523	rs2304 256	rs280 519	rs280 496
60	150052	Kadın	28.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
61	537771	Kadın	46.0	ÜK	GG	CC	AA	GC
62	512043	Kadın	34.0	CH	GG	AC	AG	CC
63	2993	Erkek	55.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
64	59738	Kadın	63.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
65	356471	Erkek	64.0	ÜK	GG	AC	AA	GC
66	401490	Erkek	29.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
67	29847	Kadın	48.0	ÜK	GG	CC	AA	GC
68	382232	Kadın	65.0	ÜK	GG	CC	AA	GC
69	316395	Kadın	59.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
70	250195	Kadın	65.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
71	318324	Kadın	57.0	CH	GG	AC	AG	CC
72	311049	Erkek	59.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
73	159029	Erkek	58.0	ÜK	GG	AC	AA	CC
74	511298	Kadın	25.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
75	483639	Kadın	42.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
76	415455	Kadın	40.0	CH	GG	AC	AG	GC
77	478750	Kadın	40.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
78	319904	Kadın	36.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
79	552697	Erkek	33.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
80	244434	Kadın	49.0	CH	GG	AC	AG	CC
81	402348	Erkek	41.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
82	559229	Kadın	27.0	CH	AG	AA	AG	GC
83	455167	Erkek	32.0	CH	GG	AA	GG	CC
84	413151	Kadın	33.0	ÜK	GG	CC	AA	GC
85	461051	Kadın	47.0	ÜK	GG	AA	AA	GG
86	142865	Kadın	53.0	CH	GG	AA	GG	CC
87	96933	Kadın	50.0	CH	GG	AC	AG	CC
88	483917	Kadın	44.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
89	306923	Erkek	71.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
90	14016	Erkek	64.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
91	211880	Erkek	48.0	CH	GG	AC	AA	GC
92	149320	Erkek	50.0	ÜK	AG	AA	AA	GG
93	349040	Erkek	59.0	ÜK	AG	AC	AA	GC
94	214962	Erkek	72.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
95	558319	Erkek	38.0	ÜK	AG	AA	AG	GC
96	496616	Kadın	27.0	CH	GG	AA	GG	CC
97	101021	Erkek	58.0	ÜK	AG	AA	AA	GG
98	313526	Kadın	48.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
99	492558	Kadın	25.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
100	399721	Kadın	72.0	CH	GG	CC	AA	CC
101	193610	Kadın	66.0	ÜK	AG	AA	AG	GC
102	8043	Kadın	45.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
103	548311	Erkek	58.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
104	485029	Erkek	50.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
105	538945	Kadın	53.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
106	150878	Erkek	48.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
107	514430	Erkek	39.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
108	489798	Kadın	25.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
109	135821	Erkek	36.0	CH	GG	AA	GG	CC
110	506965	Kadın	39.0	CH	GG	AA	GG	CC
111	45432	Erkek	62.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
112	458358	Kadın	50.0	ÜK	GG	AC	GG	CC
113	137753	Kadın	29.0	ÜK	AG	AA	AG	GC
114	46306	Erkek	66.0	CH	AG	AA	AA	GG
115	181389	Erkek	49.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
116	555827	Erkek	55.0	ÜK	AG	AA	AG	GC
117	291751	Erkek	22.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
118	290035	Kadın	34.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
119	378099	Kadın	30.0	CH	GG	AA	AG	GC

Sıra	Protokol	Cinsiyet	Yaş	Grup	rs280 523	rs2304 256	rs280 519	rs280 496
120	21478	Erkek	42.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
121	100349	Kadın	44.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
122	539858	Erkek	27.0	CH	GG	AC	AG	CC
123	401944	Kadın	33.0	ÜK	GG	CC	AA	GC
124	333686	Erkek	44.0	ÜK	GG	AA	GG	GC
125	281118	Kadın	40.0	ÜK	GG	AA	AA	GG
126	529329	Erkek	32.0	ÜK	GG	CC	AA	GC
127	128380	Erkek	40.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
128	401094	Erkek	54.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
129	330859	Erkek	33.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
130	483227	Erkek	58.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
131	540324	Erkek	56.0	ÜK	GG	AA	AA	GG
132	306145	Kadın	30.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
133	464845	Erkek	42.0	ÜK	GG	AA	GG	GC
134	517344	Kadın	57.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
135	318192	Erkek	58.0	CH	GG	AA	GG	CC
136	454287	Erkek	23.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
137	535565	Erkek	60.0	ÜK	GG	CC	AG	CC
138	397358	Erkek	39.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
139	486788	Erkek	41.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
140	289741	Erkek	28.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
141	459121	Erkek	59.0	CH	GG	AC	AG	CC
142	420781	Erkek	48.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
143	323522	Kadın	42.0	ÜK	GG	AA	GG	GC
144	526512	Kadın	48.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
145	484307	Kadın	39.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
146	59435	Erkek	69.0	ÜK	GG	CC	AA	GC
147	268921	Erkek	43.0	ÜK	GG	AC	AG	GC
148	61024	Kadın	52.0	CH	GG	AC	AG	CC
149	384238	Erkek	65.0	CH	GG	CC	AA	CC
150	426895	Kadın	42.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
151	435115	Kadın	31.0	ÜK	GG	AC	AG	GC
152	485831	Kadın	40.0	CH	GG	CC	AA	CC
153	536707	Kadın	52.0	ÜK	AA	AA	AA	GG
154	104285	Kadın	70.0	CH	GG	AA	GG	CC
155	538175	Kadın	35.0	ÜK	AG	AC	AA	GC
156	468255	Kadın	38.0	ÜK	AG	CC	AA	GC
157	473181	Kadın	63.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
158	466083	Kadın	60.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
159	167185	Kadın	42.0	CH	GG	AA	AG	GC
160	503953	Kadın	49.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
161	388815	Kadın	62.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
162	22486	Erkek	67.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
163	229369	Erkek	38.0	CH	GG	CC	AA	GC
164	510644	Erkek	22.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
165	316035	Erkek	33.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
166	440649	Erkek	25.0	CH	GG	AA	AG	GC
167	461974	Erkek	55.0	ÜK	AG	AA	AA	GG
168	481741	Erkek	38.0	CH	GG	AA	GG	CC
169	74473	Erkek	49.0	ÜK	GG	AC	AA	GC
170	65533	Erkek	30.0	CH	GG	AA	AG	GC
171	65065	Kadın	29.0	ÜK	AG	AA	AG	GC
172	414527	Erkek	19.0	CH	GG	AC	AG	CC
173	371812	Kadın	19.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
174	79310	Erkek	45.0	ÜK	AG	AA	AG	GC
175	8473	Erkek	48.0	ÜK	GG	AC	AA	GC
176	562790	Kadın	33.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
177	56239	Erkek	64.0	ÜK	GG	AC	AG	GC
178	385929	Kadın	44.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
179	517392	Erkek	36.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
180	264460	Erkek	66.0	ÜK	GG	AA	GG	CC

Sıra	Protokol	Cinsiyet	Yaş	Grup	rs280 523	rs2304 256	rs280 519	rs280 496
181	438851	Kadın	25.0	CH	GG	CC	GG	CC
182	539120	Kadın	21.0	ÜK	AG	AA	AA	GG
183	299501	Erkek	46.0	ÜK	GG	AA	AG	CC
184	94179	Kadın	38.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
185	286428	Kadın	36.0	CH	GG	AA	GG	CC
186	144749	Kadın	39.0	CH	AG	AA	AG	GC
187	403837	Kadın	35.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
188	524116	Erkek	58.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
189	291939	Kadın	44.0	ÜK	GG	CC	AA	CC
190	144219	Erkek	38.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
191	313591	Erkek	41.0	ÜK	GG	CC	AG	GC
192	492992	Erkek	37.0	ÜK	AG	AA	AG	GC
193	452362	Erkek	51.0	CH	AG	AA	AA	GG
194	219532	Kadın	72.0	CH	GG	AA	AG	GC
195	527615	Kadın	50.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
196	204927	Kadın	34.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
197	438248	Kadın	55.0	ÜK	GG	CC	AG	CC
198	494131	Erkek	41.0	CH	GG	AC	AG	CC
199	119531	Erkek	37.0	CH	GG	CC	AA	CC
200	426291	Erkek	39.0	ÜK	GG	CC	AA	GC
201	119966	Erkek	39.0	CH	GG	AA	GG	CC
202	457	Erkek	40.0	ÜK	AG	AC	AG	GC
203	414283	Erkek	30.0	ÜK	GG	AA	AG	GC
204	298703	Kadın	25.0	CH	GG	AA	AG	GC
205	485189	Erkek	31.0	ÜK	AG	AA	AG	GC
206	334108	Erkek	44.0	ÜK	GG	AA	GG	CC
207	405101	Erkek	43.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
208	506886	Erkek	37.0	CH	GG	CC	AA	GC
209	420795	Erkek	29.0	CH	GG	AA	GG	CC
210	165002	Kadın	37.0	CH	AG	AC	AA	GC
211	107560	Erkek	64.0	ÜK	GG	AC	AG	CC
212		Erkek	38.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
213		Erkek	55.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
214		Erkek	20.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
215		Erkek	59.0	Kontrol	GG	AA	AG	CC
216		Erkek	48.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
217		Erkek	57.0	Kontrol	GG	AC	AA	GC
218		Kadın	58.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
219		Kadın	55.0	Kontrol	GG	AC	AG	GC
220		Kadın	28.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
221		Erkek	51.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
222		Erkek	66.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
223		Erkek	58.0	Kontrol	AG	AA	AG	GC
224		Erkek	48.0	Kontrol	GG	AC	AG	GC
225		Erkek	59.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
226		Kadın	55.0	Kontrol	AG	AA	AG	GC
227		Erkek	62.0	Kontrol	AG	AA	AG	GC
228		Erkek	41.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
229		Erkek	22.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
230		Kadın	25.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
231		Kadın	44.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
232		Erkek	54.0	Kontrol	GG	AC	AA	GC
233		Kadın	51.0	Kontrol	GG	AA	GG	GC
234		Kadın	48.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
235		Kadın	39.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
236		Kadın	50.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
237		Erkek	36.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
238		Erkek	48.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
239		Kadın	44.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
240		Erkek	73.0	Kontrol	AG	AA	GG	CC
241		Kadın	32.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC

Sıra	Protokol	Cinsiyet	Yaş	Grup	rs280 523	rs2304 256	rs280 519	rs280 496
242		Kadın	48.0	Kontrol	GG	AA	GG	GC
243		Kadın	57.0	Kontrol	AG	AA	AA	GG
244		Kadın	26.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
245		Kadın	20.0	Kontrol	GG	CC	AA	GC
246		Kadın	39.0	Kontrol	GG	AA	AA	GG
247		Kadın	52.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
248		Kadın	36.0	Kontrol	GG	CC	AA	GC
249		Erkek	38.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
250		Erkek	31.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
251		Kadın	21.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
252		Erkek	55.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
253		Erkek	48.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
254		Kadın	26.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
255		Erkek	42.0	Kontrol	GG	CC	AA	GC
256		Erkek	47.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
257		Kadın	45.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
258		Kadın	45.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
259		Kadın	52.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
260		Erkek	43.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
261		Erkek	56.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
262		Kadın	31.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
263		Kadın	25.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
264		Kadın	25.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
265		Erkek	46.0	Kontrol	GG	AC	AA	GC
266		Erkek	51.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
267		Kadın	34.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
268		Kadın	55.0	Kontrol	GG	CC	AA	GC
269		Kadın	27.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
270		Erkek	76.0	Kontrol	AG	AA	AG	GC
271		Erkek	21.0	Kontrol	AG	AC	AA	GC
272		Kadın	21.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
273		Erkek	52.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
274		Kadın	53.0	Kontrol	AG	AA	AG	GC
275		Kadın	32.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
276		Erkek	54.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
277		Kadın	41.0	Kontrol	GG	CC	AA	CC
278		Erkek	51.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
279		Kadın	40.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
280		Erkek	36.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
281		Erkek	39.0	Kontrol	GG	AA	AG	GG
282		Erkek	49.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
283		Kadın	30.0	Kontrol	GG	AA	GG	CC
284		Erkek	29.0	Kontrol	AG	AA	AG	GC
285		Kadın	35.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
286		Erkek	49.0	Kontrol	GG	CC	AA	GC
287		Erkek	61.0	Kontrol	AG	AC	AA	GC
288		Kadın	56.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
289		Kadın	33.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
290		Kadın	52.0	Kontrol	AG	AA	AA	GG
291		Erkek	44.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
292		Erkek	39.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
293		Erkek	56.0	Kontrol	GG	CC	AA	CC
294		Erkek	48.0	Kontrol	GG	AC	AG	CC
295		Erkek	62.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
296		Kadın	57.0	Kontrol	AG	AA	AG	GC
297		Erkek	50.0	Kontrol	GG	AA	GG	GC
298		Erkek	63.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
299		Erkek	55.0	Kontrol	GG	AA	AG	GC
300		Erkek	58.0	Kontrol	AG	AA	AG	CC