

**T.C.**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ELAZIĞ İLİ VE ÇEVRESİNDEKİ BEHÇET  
HASTALARINDA BTLA (CD272) GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman: Prof. Dr. N.Fulya İLHAN**

**Yasin ÇETİN**

**2014**

ONAY SAYFASI


Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Henden AKBULUT

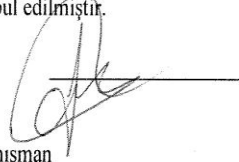
Anabilim Dalı Başkanı



Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. N.Fulya İLHAN

Danışman

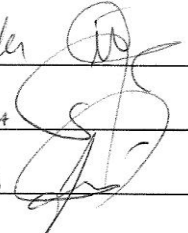


Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mehmet Özden

Doç. Dr. S. İ. Koca

Prof. Dr. Fulya İlhan



.....

.....

.....

.....

## TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde ve yürütülmesi aşamalarında her zaman destek sağlayan, deneyim ve bilgileri ile tez çalışmamı yönlendiren Danışmanım sayın Prof. Dr. N.Fulya İLHAN'a, tez çalışmam sırasında tecrübelerinden faydalandığım ve manevi desteğini her zaman hissettiğim Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Yrd.Doç. Dr. Deniz Erol'a, Yüksek Lisans Eğitimime katkı sağlayan sayın hocalarım Prof.Dr. Ahmet GÖDEKMERDAN ve Prof. Dr. Handan AKBULUT 'a, tez çalışması için gerekli hasta grubunun oluşturulmasında desteğini gördüğüm Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Öğretim Üyesi sayın Doç. Dr. Demet ÇİÇEK'e, çalışmam sırasında manevi desteklerini esirgemeyen Sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
TABLO LİSTESİ.....	VII
ŞEKİL LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
1.ÖZET.....	1
2.ABSTRACT.....	2
3.GİRİŞ	
3.1. Behçet Hastalığı .....	3
3.1.1. Tanımı .....	3
3.1.2. Epidemiyolojisi .....	4
3.1.3 Genetik Etkenler.....	4
3.1.4. İmmünolojisi .....	5
3.1.5. Klinik Bulguları .....	11
3.1.5.1. Oral ülserler .....	11
3.1.5.2. Genital ülserler .....	11
3.1.5.3. Deri bulguları .....	11
3.1.5.4. Paterji Testi .....	12
3.1.5.5. Göz bulguları .....	12
3.1.5.6. Vasküler tutulum.....	13

3.1.5.7. Nörolojik tutulu .....	13
3.1.5.8. Gastrointestinal sistem (GİS) tutulumu .....	14
3.1.5.9. Böbrek tutulumu .....	14
3.1.5.10.Epididimit.....	14
3.1.6. Çocukluk çağında Behçet Hastalığı .....	14
3.1.7.Gebelik ve Behçet Hastalığı.....	15
3.1.8.Laboratuvar Bulguları.....	15
3.1.9. Tanısı .....	15
3.1.10. Seyir ve prognoz.....	17
3.1.11. Tedavisi .....	17
3.2. BTLA (B ve T lymphocyte attenuator,CD272).....	19
3.2.1. BTLA'nın yapısı ve sunumu.....	19
3.2.2. BTLA ligandı ( HVEM ).....	20
3.2.3. BTLA'nın fonksiyonları.....	22
<b>4.GEREÇ VE YÖNTEM</b>	
4.1.Gereçler.....	24
4.1.1.Demirbaş Malzemeler.....	24
4.1.2.Sarf Malzemeler.....	25
4.2.Yöntemler	
4.2.1.Kan Örneklerinin Toplanması.....	26
4.2.2.Kandan DNA izolasyonu.....	26

4.2.3.Gen Polimorfizm Çalışmaları.....	28
4.2.3.1.BTLA rs1844089 CT Polimorfizmi.....	28
4.2.3.2. BTLA rs9288952 CT Polimorfizmi.....	30
4.3.İstatiksel Analizler.....	32
<b>5-BULGULAR.....</b>	<b>33</b>
5.1. rs1844089 CT Polimorfizmi.....	33
5.2. rs9288952 CT Polimorfizmi.....	36
<b>6.TARTIŞMA.....</b>	<b>40</b>
<b>7-KAYNAKLAR.....</b>	<b>43</b>
<b>8-EKLER.....</b>	<b>53</b>
<b>9-ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>58</b>

## TABLO LİSTESİ

**Tablo 1.** Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu'nun Tanımladığı Tanı Kriterleri

**Tablo 2.** Behçet Hastalığı'nda tedavinin ana hatları

**Tablo 3.** Kontrol ve Behçet Hasta Gruplarındaki Bireylerin Demografik Özelliklerin Karşılaştırması

**Tablo 4.** rs1844089 Gen Polimorfizmi Genotip ve Allel Frekansının Hasta ve Kontrol Grubunda Dağılımı

**Tablo 5.** rs9288952 Gen Polimorfizmi Genotip ve Allel Frekansının Hasta ve Kontrol Grubunda Dağılımı

**Tablo 6.** rs1844089/rs9288952 Gen Polimorfizmi Haplotip Frekansının Hasta ve Kontrol Grubunda Dağılımı

## ŞEKİL LİSTESİ

**Şekil-1.** BTLA-HVEM-LIGHT Reseptör etkileşimi

**Şekil 2.** rs1844089 polimorfizmi için RFLP sonuçlarının %2'lik agaroz jel görüntüsü.

**Şekil 3.** rs1844089 polimorfizmin hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı

**Şekil 4.** rs1844089 polimorfizmin hasta ve kontrol grubundaki allel dağılımı

**Şekil 5.** rs9288952 polimorfizmi için RFLP sonuçlarının %2'lik agaroz jel görüntüsü.

**Şekil 6.** rs9288952 polimorfizminde gruplar arasında genotip dağılımı

**Şekil 7.** rs9288952 polimorfizmin hasta ve kontrol grubundaki allel dağılımı



## KISALTMALAR

- ANA**:Anti Nükleer Antikor
- APC** : Antijen sunan hücreler
- BH** : Behçet hastalığı
- BTLA** : B ve T lymphocyte attenuator
- C9** : Kompleman 9
- CD** : Cluster of differantiation
- CD25** : İnterlökin-2 reseptör  $\alpha$ -zincirini
- CRDs** : Cysteine-rich domains calcineurin-dependent 1
- CRP** : C-reaktif protein
- CTLA-4** : T lymphocyte associated antigen-4
- DC** : Dendiritik hücre
- EDTA** : Etilen diamin tetra asetik asit
- ELİSA** : Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- HIV** : Human immune deficiency virus
- HLA** : Human leukocyte antigen
- HSV-1** : Herpes simplex virus type-1
- HVEM** : Herpes virus entry mediator
- IFN-  $\gamma$**  : Interferon gamma
- IgA** : İmmunoglobulin A
- IgG** : İmmunoglobulin G
- IgV** : Variable domeini
- IL** : İnterlökin
- IL -2R $\alpha$**  : İnterlökin- 2 reseptör alfa

**IL-  $\beta$**  : İnterlökin-beta

**IŞP** : Isı şoku proteinleri

**ITIM** : İmmunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif

**LFA** : Leukocyte function-associated antigen

**Lt $\alpha$**  : Lymphotoxin  $\alpha$

**MHCsmf-II** : Major Histocompatibility Complex

**MICA** : MHC class I chain-related molecule A

**mRNA** : Mesajcı ribonükleik asit

**NF $\kappa$ B** : Nuclear factor kappa B

**NK** : Natural killer cells

**NKT** : Natural killer T cells

**PCR**: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

**PD-1** : Programmed death-1

**PI 3K** : Phosphatidylinositol 3-kinase

**RA** : Romatoid artrit

**RFLP**: Restriksiyon- Kesim-Parçası Uzunluk Polimorfizmi

**sCTLA-4** : Soluble Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4

**SHP-2** : Shatterproof- 2

**sIL-2R** : Soluble IL-2 reseptör

**SLE** : Sistemik lupus eritamosis

**SSS** : Santral sinir sistemi

**STAT1/4** : Signal transducer and activator of transcription 1/4

**Tbet**:Th1'e özgün T-box transkripsiyon faktörü

**TCR** : T cell receptor

**TGF- $\beta$**  : Transforming growth factor- $\beta$

**Th1** : T helper 1

**Th2** : T helper 2

**Th3** : T helper 3

**TNF-  $\alpha$**  : Tumor necrosis factor-  $\alpha$

**TNFR** : Tümör nekroz faktörü reseptör

**TNFR-2** : Tumor necrosis factor receptor superfamily-2

**VCAM** : Vascular cell adhesion molecule

**$\gamma\delta$ + T Lenfosit** : Gamma-delta T lenfosit

## 1.ÖZET

Behçet hastalığı (BH) tekrarlayan oral ve genital ülserler, üveit ve deri lezyonları ile karakterize kronik inflamatuvar bir hastalıktır. BH'nın etyopatogenezi bilinmemektedir. BTLA son yıllarda tanımlanan Ig süper ailesi üyelerinden birisidir. BTLA, CD4+ lenfositlerin aktivasyonunu ve IL-2 üretimini baskılar. Özellikle inflamasyon bölgesinde, B7-1 ve B7-2 taşıyan aktive T hücrelerin olduğu bölgelerde CTLA-4 bağlantısı yoksa temel rol oynar. BH, kronik inflamatuvar bir hastalıktır ve T hücre uyarımı ile yakından ilgilidir.

BTLA yolağı Behçet gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda kritik rol alabilir. Bu çalışmada BH'de BTLA geni rs1844089 ve rs9288952 gen polimorfizmleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)-Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi kullanılarak 108 BH ve 108 sağlıklı bireyde, BTLA geni rs1844089 C>T ve rs9288952 C>T polimorfizmleri çalışılmıştır. rs1844089 genotip dağılımları hasta grubunda CC: %60,2, CT: %35,2, TT: %4,6, kontrol grubunda ise CC: %67,6, CT: %31,5, TT: %0,9 olarak bulunmuştur. rs9288952 polimorfizmi için genotip dağılımları hasta grubunda TT: %69,4, CT: %26,9, CC: %3,7, kontrol grubunda ise TT: %80,6, CT: %17,6, CC: %1,9 olarak bulunmuştur. Her iki genotip ve allel frekansları açısından hasta grubuyla kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır (P >0.05). Ancak bu iki polimorfizm için haplotip analizi yapıldığında gruplar arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur. Aynı anda rs1844089 polimorfizmi için T, rs9288952 polimorfizmi için C allelini taşımak hastalık riskini 4.6 kat arttırmaktadır (p=0.006).

**Anahtar Kelimeler:** Behçet Hastalığı, BTLA, Polimorfizm

## 2.ABSTRACT

### **The Study of BTLA (CD272) Gen Polymorphisms Among The Patients With Behcet Disease in and Elazığ Around**

Behcet's disease (BD ) recurrent oral and genital ulcers, uveitis, and skin lesions are characterized by a chronic inflammatory disease . The pathophysiology of BD is unknown. BTL defined in recent years is one of the members of the Ig superfamily . BTLA , activation of CD4 + lymphocytes and inhibits IL-2 production . In particular inflammation , B7 - 1 and B7 - 2 activated T cells bearing the CTLA-4 in the region of the connection or fundamental role. Behcet's disease is a chronic inflammatory disease and is closely related to T cell stimulation .

BTLA pathway critical role in chronic inflammatory disease such as Behcet's can take . In this study, rs1844089 and rs9288952 gene in patients with Behcet BTL relationship between gene polymorphisms were investigated. Polymerase Chain Reaction (PCR) - Restriction Fragment Length Polymorphism ( RFLP ) method using the 108 BD patients and 108 healthy subjects , BTL gene rs1844089 C> T and rs9288952 C> T polymorphisms were studied. rs1844089 CC genotype distribution in the patient group : 60.2 % , CT: 35.2 % , TT: 4.6% in the control group CC: 67.6 % , CT: 31.5 % , TT: 0.9 % respectively. rs9288952 polymorphism in patients with the TT genotype distributions : 69.4 % , CT: 26.9 % , CC: 3.7% in the control group TT: 80.6 % , CT: 17.6 % , CC: 1% 9 respectively. Both in terms of genotype and allele frequencies between patient and control groups was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). However, when these two polymorphism haplotype analysis for differences between groups were significant. At the same time polymorphism rs1844089 T, rs9288952 C allele polymorphism carry the risk of disease increases 4.6-fold ( $p = 0.006$ ).

**Keywords:** Behcet's Disease, BTLA, Polymorphism

## 3.GİRİŞ

### 3.1.Behçet Hastalığı

#### 3.1.1.Tanım

Behçet hastalığı, oral aftöz ülser, genital ülser, üveit ve deri lezyonları ile karakterize,her organ ve dokuyu etkileyebilen multisistemik inflamatuvar bir hastalık olarak 1937 yılında Prof. Dr. Hulusi Behçet tarafından tanımlanmıştır (1,2). Sonraki çalışmalarda hastalığın eklem, vasküler, intestinal, pulmoner ve nörolojik tutulumla birlikte sistemli bir yol izlediği ortaya konmuştur (3). BH'nın etyolojisi bilinmemektedir.Ancak kanıtlanmamakla birlikte kimyasal maddeler, çevresel etkenlerin ve toksinlerin rolü olduğu ileri sürülmüştür (4). Hulusi Behçet'in ilk hastası kronik tekrarlayan oral aft, bacaklarında ağrılı kırmızı nodüller ve göz lezyonları ile takip etmekteyken, 1930 yılında ikinci hastası tekrarlayan genital ülser, gözünde kanama ve oral aft şikayetleri ile bir kadın hasta olmuştur. 1936 yılında ki üçüncü hastası ise benzer bulgular yanında skrotumda ülser, gözlerde kanama, ve özellikle geceleri miyalji ve ateş şikayetleri olan bir erkek hasta olmuştur. Bu hastalarında görülen bulguların ortak bir hastalık nedeniyle oluşabileceği kanısına varan Hulusi Behçet bu düşüncesini İstanbul da 1936 yılında yapılan Dermatoloji ve Venereal Hastalıklar Birliğinin toplantısında ilk defa bildirmiş ve bu bilgiler Türk Dermatoloji ve Venereal Hastalıklar arşivinde yayınlanmıştır (1,5).

### **3.1.2.Epidemiyolojisi**

BH Uzak Doğu ülkeleri ,Doğu Akdeniz ülkeleri ve Japonya 'da sık görülmektedir. İtalya, Portekiz, Cezayir, Tunus ve Fas gibi güney Avrupa ve kuzey Afrika ülkelerinde ise BH daha az görülmektedir (6,7). BH 80-370/100.000 oranı ile Türkiye'de en yüksek prevalans göstermektedir (8). BH yapılan birçok çalışmada her iki cinsi eşit etkilediğine dair veriler olmasına karşın bazı çalışmalarda erkeklerde biraz daha sık görüldüğü ve genç erkeklerde daha ağır seyrettiği savunulmuştur (9,10,11). BH her yaşta görülebilmesine rağmen, hastalığın ortalama başlangıç yaşı 20-30 yaş grubunda yoğunlaşmıştır (6,12).

### **3.1.3.Genetik Etkenler**

Japonya'da yapılan çalışmalarda ailevi vakaların oranı %5 bulunmuş ve çalışmada aile bireylerinde hastalık bulgularının ortaya çıkması arasında büyük zaman farklarının bulunması, infeksiyöz bir ajanın aleyhine değerlendirilmiş ve genetik faktörlerin sorumlu olabileceği kanısına varılmıştır (13). Bu düşüncelerin artması nedeniyle BH genetiğiyle ilgili bir çok çalışma yapılmıştır.Üzerinde en çok durulan İnsan Lökosit Antijeni (Human Leukocyte Antigen, HLA)-B51 olmuş ve HLA-B51 in BH ile ilişkisi ilk defa 1982 yılında Ohno ve arkadaşları tarafından bulunmuştur (14).

HLA-B51 antijeninin BH'ye yakalanma riskini arttırdığı görülmüş ve bu geni taşımanın BH açısından relatif riskinin Japonya'da 6, Türkiye'de 13.3 ve İsrail'de ise 18.2 olduğu belirtilmiştir. Kuzey Amerika'da yapılan çalışmalarda ise HLA-

B51 ile ilişkili BH'ye rastlanmasına rağmen bu ilişkiye Ortadoğu ve Uzakdoğu ülkelerinde rastlanamamıştır (15).

HLA-B51 bir çok varyasyona sahiptir. HLA-B5101 ve HLA-B5108 en yaygın allelleridir. HLA-B51 pozitif BH olan bireylerde hastalığın daha ağır seyrettiği görülmüştür (16).

BH'da HLA-B51 pozitifliği toplumlar arasında değişkenlik göstermektedir. HLA-B51 Türk ve Japon BH'lerde çoğunlukla görülürken İngiliz hastalarda bu oran gerilemektedir. HLA-B ile BH arasındaki bağıntının gösterilmesine rağmen bu hastalığa olan genetik yatkınlıktaki rolünün %12-19 seviyesinde olması, HLA-B51'in tek başına patogenezi ortaya koyamayacağı, başka genlerin veya çevresel faktörlerin de rolü olabileceğini göstermektedir (17,18). BH çoğunlukla erkeklerde daha sık görülmesine rağmen, HLA B51'in cinsiyetler arası dağılımında herhangi bir fark bulunamamıştır (19).

#### **3.1.4. İmmünolojisi**

BH tekrarlayan sistemik inflamatuvar bir hastalık olup dört temel semptomla karakterizedir. Bunlar; oral aft, genital ülser, oküler lezyonlar, deri lezyonlarıdır. Vasküler sistem, merkezi sinir sistemi, gastrointestinal sistem, akciğerler, böbrekler ve eklemlerdeki dokularda meydana gelen inflamasyonlardır. BH nedeni ve patogenezi henüz kesin olmamakla birlikte hastalığın ilk belirtilerini bazı genetik ve çevresel oluşumların zeminini oluşturdukları düşünülmektedir. Hastalığın ortalama görülme yaşı 30 olarak düşünülmektedir. Çocuklarda daha az görülmekte ama neonatal dönemde literatürde sayılı vaka bulunmaktadır. Bazı BH vakalarında mikroskobik bulgu



immün aracılı tıkaçıcı vaskülitler olduğu görülmüştür. Hücresele seviyede ise CD4+ T hücreleri perivasküler inflamasyon sızıntısından elde edilen doku sıvısında bulunmuştur ve Th1 hücrelerinin IL-2, IFN-gamma ve TNF beta gibi sitokinlerin üretimini stimüle ettiği rapor edilmiştir. Ayrıca nötrofil hiperaktivitesi sonucu; kemotaksin artması, aktif oksijenin fazlasıyla üretilmesi ve endotel sitotoksitesinin artırılması, BH'nın patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Son çalışmalarda özellikle  $\gamma\delta$  T hücrelerinin periferik kanda ve etkilenen dokularda daha fazla gözlenmesi BH'de rol oynayabildikleri düşüncesini ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca BH'de 60 kD'luk Isı Şok Protein (İŞP) peptidleri ile 65 kD'luk *Mycobacterium tuberculosis* İŞP peptidlerinin benzerliği  $\gamma\delta$  T hücre proliferasyonuna neden olmaktadır. T hücreleri gibi, NK (Natural Killer) hücrelerinin de BH'de rol oynadığı bilinmektedir. Son yıllarda özellikle moleküler biyolojideki gelişmeler sonucunda, immün sistem elemanlarının yapı ve görevleri hakkında elde edilen yeni bilgiler, immün sistemin hastalığın başlangıcında ve seyirinde önemli bir rol üstlendiğine işaret etmektedir. BH'de inflamasyonda önemli görevler üstlenen sitokinlerin düzeyi özellikle hastalığın aktif döneminde artmış olduğu yapılan çalışmalarla ispatlanmıştır. Önceki çalışmalar, değişik hücrelerden kaynaklanan IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TNFR75, IL-1, IL-2, sIL-2R, IL-6, IL-8, IL-12 ve IL-18 gibi sitokinler, sitokin reseptörleri ve kemokinlerin BH'lerin serum ve/veya plazmasında arttığını göstermiştir. Ayrıca BH'lerin serumlarının, periferik kan makrofajlarının proinflamatuvar aktivasyonuna neden olduğu da bildirilmiştir (19,20). BH inflamatuvar ataklarında immün sistemin çok sayıda elemanı görev almaktadır. BH'nin deri ve mukoza belirtileri başta olmak üzere tüm lezyonlarında erken dönemde artmış bir nötrofil infiltrasyonu

saptanır.Lökositlerde adezyon molekülleri olan L-Selectin, MAC-1 ve CD44'ün gösterimi artar; bu olay da hücrelerin kemotaksis ve adezyonunda rol oynar. Nötrofillerin yüzeylerinde endotel hücresine adezyonunda rol oynayan CD11a/CD18, endotel hücre yüzeyinde ise ICAM-1 artmış oranda ifade edilmektedir (21).

BH'lerin serumlarında miyeloperoksidaz ve superoksit gibi aktive nötrofillerden salınan faktörler ve TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-8 gibi çeşitli nötrofilleri uyaran sitokinlerin arttığı saptanmıştır (22).

Bazı yayınlar nötrofillerde artmış süperoksit üretiminin HLA-B51 varlığında ortaya çıktığına işaret etmektedir.BH'lerde aktif lenfositlerin, nötrofilleri daha güçlü bir şekilde uyardığı, nötrofil kemotaksisinin daha yoğun olduğu bir çalışmada bulunmuştur (21). Tüm bu bulgular BH'de nötrofillerin aktif olduğu ve bunun doku hasarına yol açtığı veya katkıda bulunduğu göstermektedir. Hastalığıdaki nötrofil aktivitesinin genetik etkilerden mi yoksa infeksiyöz ajanlarla sürekli aktivasyondan mı kaynaklandığı ise açık değildir. T lenfositlerince salgılanan sitokinlerin BH'nin gelişiminde ve hastalığın aktivasyonunda önemli olduğuna inanılır. Genelde yardımcı T hücresi tip 1 (Th1) tipindeki inflamasyona yol açan sitokinlerin aşırı ifadesinin genetik yatkınlıkla birlikte, artmış inflamatuvar reaksiyondan sorumlu olduğu bilinmektedir (23). Streptokokkal antijenler ve lipopolisakkaritle uyarılma sonucunda IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  başta olmak üzere özellikle inflamasyonun gelişiminde önemli olan sitokinler artmaktadır. *E. coli* kökenli antijenlerin de benzer bir yanıtı neden olduğu saptanmış ve T hücrelerinin çok sayıda bakteriyel antijene karşı artmış bir hipersensitivite gösterdiği düşünülmektedir. Isı Şok Proteini 60 kökenli peptid

336-351'e karşı, periferik kan mononükleer hücrelerinden Th1 sitokinlerinden olan IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ve IL-12 yapımında artış olduğu saptanmıştır (21). BH'lerin periferik kan mononükleer hücrelerinde saptanmış olan artmış Tbet (Th1'e özgün T-box transkripsiyon faktörü) gösterimi, BH'de Th1 hücrelerinin rolünü desteklemektedir. T hücreleri taşıdıkları reseptörlere göre  $\alpha$ - $\beta$  ve  $\gamma$ - $\delta$  olarak ayrılır. BH'lerde  $\gamma$  $\delta$  T hücrelerinin oranı tutulan dokularda artmaktadır.

Ayrıca bilinen Th1 ve Th2 hücrelerine ek olarak, çoğunlukla IL-17 üreten Th17 hücre alt grubu tanımlanmıştır. Proinflamatuvar bir sitokin olan IL-17, monositlerden, stromal, epitel ve endotel hücrelerinden TNF, IL-1, IL-6, IL-8 ve CXC ligand 1'in üretilmesini yönetir. Böylece üretilen bu proinflamatuvar sitokinler inflamasyonun olduğu alana nötrofillerin hızla gelmesini sağlar. Yakın tarihli bir çalışma Th17 hücrelerinin ve ürettikleri IL-17'nin BH'lerde ve özellikle de aktif üveitlilerde artmış inflamasyondan sorumlu olduğunu göstermektedir (24). BH'nin özelliklerinden olan artmış nötrofil aktivitesi ve etkilenen bölgelerde nötrofil birikimi, yüksek IL-17 yanıtıyla ilişkili olabilir. IL-17 düzeyi ve IL23-Th17 yolağını durdurma veya azaltmaya yönelik tedavilerin klinik etkisinin araştırılması biyolojik önemini açıklığa kavuşturabilir. Yapılan çalışmalar mikrobiyal Isı Şok Proteinlerinin T hücre proliferasyonunu  $\gamma$  $\delta$  reseptörleri üzerinden sağladığını göstermektedir (25). BH'lerde bu  $\gamma$  $\delta$  tipte reseptör taşıyan T hücrelerinin mitokondriyel insan IŞP'ye ait homolog peptidlere de reaksiyon verdiği gözlenmiştir. Ayrıca, bu durumun BH'ye spesifik olduğu da gösterilmiştir.  $\gamma$  $\delta$  T hücrelerinin sitokin üretimi dışında T hücrelerini kontrol etme, öldürücü hücre olarak görev alma ve epitel hücre çoğalmasını etkileme özellikleri taşıdığı düşünülmektedir. Isı Şok Proteinlerine karşı T hücre proliferasyon yanıtının BH

için tanısal bir test olarak kullanılabileceği ileri sürülmektedir (21). Hastalığın seyrinde inflamasyonda görev alan sitokinlerin salınımı ve inflamasyonun kronik seyri göz önüne alındığında monositlerin hastalıkta aktif bir görev üstlendiği düşünülebilir. Spontan olarak TNF- $\alpha$ , IL-6, ve IL-8'in hastaların monositleri tarafından aşırı üretilmesi hastalığın aktivitesi ile direkt olarak ilişkili gibi görünmektedir (21). Değişik in vitro çalışmalarda monositlerin hastalığın seyrinde aktif bir rol oynadığı , CD14 ekspresyonunun ve makrofaj genotiplemede kullanılan sitoplazmik bir proteini tanıyan monoklonal antijen olan 25F9 seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (26). Monositlerden TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-8 salınımının arttığı saptanmıştır. Makrofajların hastalıktaki rolü ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu konuda yapılan in vitro bir çalışma, hastalığın etyopatogenezinde makrofajların aktif olarak görev aldığına işaret etmektedir. BH'nda endotel hücre hasarının ve patolojik aktivasyonunun söz konusu olduğu gösterilmiştir. Hastalığın aktif dönemlerinde BH'lerin lenfositlerinin endotel hücre kültürleriyle etkileşim gösterdiği saptanmıştır. BH'nın diğer sistemik vaskülitlerden bir diğer önemli farkı da artmış bir tromboz eğilimi ile birliktelik göstermesidir. BH hayatı tehdit eden komplikasyonlara yol açabilen, yaygın, tıkaçıcı tipte bir vaskülitte kendini gösterebilir. Damarsal lezyonlardaki tıkaçıcı karakterin, hiperkoagülabilitate ve protrombotik durumun işareti olduğu söylenmektedir. Hastalığın seyrinde gözlenen immün kökenli inflamasyon sonucunda gelişen endotel hücre aktivasyonu ve/veya hasarı, tromboza olan eğilimden sorumlu tutulmaktadır. Doğuştan immün sistemin önemli yapı taşları olan ve doğal ve edinsel immün yanıtın arasındaki koordinasyonda görev alan "Toll like" reseptörler ve antimikrobiyal peptidler, serum mannoz bağlayan

lektinin de etyolojide sorumlu patojenlere karşı immün yanıtta rol oynadığı düşünülen moleküllerdir (27). Son yıllarda bu moleküllerin lezyonlu alandaki ekspresyonu, granülositlerin antijenik uyarım sonucu ekspresyonu ve bu moleküllerdeki genetik çeşitlilikle ilgili yeni araştırmalar devam etmektedir. BH bir çok yönü ile otoimmün bir hastalık olarak değerlendirilebilir. Hastaların bir bölümünde damar duvarında depolanan immün komplekslerin yanısıra dolaşan antikörlerin saptanması bu teorinin geliştirilmesinde önemli rol oynamıştır. IŞP, otoantijenler içerisinde belkide en önemlisi olup, yoğun olarak araştırılmıştır. BH'ında alfa tropomyozin, alfa-enolaz, kinektin, gibi çok sayıda otoantijene karşı gelişen antikor yanıtı saptanmıştır (28,29,30). Hastalığın otoimmün kökenli olduğuna ilişkin bir diğer önemli kanıt ise azatioprin ve siklosporin gibi immünsüpresif ilaçların bu hastalıkta başarı ile kullanılıyor olmasıdır. Diğer yandan diğer otoimmün hastalıklarla birliktelik göstermemesi, bu grup hastalıklarla birliktelik gösteren HLA haplotiplerinin (HLAA1,B8, DR3) sık rastlanmaması, kadın sıklığının olmaması ve ANA gibi sık görülen otoantikörlerin bulunmaması nedeniyle otoimmün bir hastalık olarak tanımlanamayacağı da ileri sürülmüştür. Son yıllarda hastalığın otoinflamatuvar hastalıklar grubunda yer alması gerektiği ileri sürülmüştür. Görünür bir neden olmadan özellikle doğal immünitinin (nötrofiller vb.) rol aldığı, tekrarlayan inflamasyon atakları ve belirgin bir otoimmün patolojinin yokluğu ile karakterize otoinflamatuvar hastalıklar grubunda çok sayıda hastalık bulunmaktadır. Bunlardan ülkemizde en iyi bilineni ise Ailevi Akdeniz Ateşidir. BH, hem otoimmün, hem de otoinflamatuvar hastalıklarla benzerlikler taşımaktadır (21).

### **3.1.5.Klinik Bulguları**

### **3.1.5.1.Oral mukoza ülserleri**

BH'nın tekrarlayan ve ağrı verici özellikteki oral ülserler (OÜ), hastalığın en önemli bulgusu olup hastalığın ilk belirtisidir.Uluslararası BH Çalışma Grubu'nun birçok ülkeden elde ettiği verilere göre hastaların %97-99'unda bulunmaktadır (31).

### **3.1.5.2.Genital ülserler**

BH'nın bir diğer önemli bulgularından olup genital ülserler (GÜ) olguların %57-93'ünde görülmektedir. Papül veya püstül olarak başlayıp hızla ülseratif görünümü alırlar. GÜ görünüm ve klinik olarak oral lezyonlara benzerler.Ancak OÜ göre daha büyüktür,dağınık kenarlı ve derindirler. OÜ göre tekrarı az olup skar doku bırakarak iyileşirler. En önemli belirtisi ağrı olmakla birlikte, bazen kadınlarda belirti göstermeyebilir.Vulva, vajina ve servikal alanda görülür. Ancak vajina lokalizasyonu nedeniyle kanlı cerahatli akıntı olmakla beraber derin vajinal ülserler üretra, mesane ve rektumu perfore ederek fistül olusturabilirler.Erkeklerde ise %90 oranında skrotumda görülmekteyken, penil lezyonlar daha azdır.Perianal bölge ve inguinal alandaki lezyonlar her iki cinste de görülebilir (32).

### **3.1.5.3.Deri Bulguları**

Cilt lezyonları akneiform lezyonlar, papüller, püstüller, vesiküller, psödofollikülit, eritema nodozum (EN) benzeri lezyonlar, pyoderma gangrenozum, superfisiyal tromboflebit ve eritema multiforme görülebilir.EN lezyonununun patolojik incelemesinde orta damar vaskülit ile birlikte septal

pannikülit izlenmektedir. Bu da BH'da izlenen EN benzeri lezyonlarının EN'dan ayrımında en önemli bulgudur (33).

#### **3.1.5.4.Paterji Testi**

İlk kez 1937'de Blobner tarafından minör bir travmayı takiben oluşan derinin hiperreaktivitesi olarak tanımlan Paterji Testi BH'nın tanı kriterleri arasında yer alır (34,5). Paterji testi steril koşullarda, hastanın ön kol derisinde damarsız bir alana, 20-gauge veya daha küçük iğne ile en az 2 ayrı noktaya pikür yapılarak uygulanır. Reaksiyon oluşabilmesi için iğnenin dermise kadar girecek şekilde ve 45 derecelik açı ile uygulanması gereklidir. Paterji testi pikür alanına serum fizyolojik veya otolog serum injekte edilerek de uygulanabilir. Doktor tarafından 24-48 saat sonra gözlenen 1-5 mm çapında, çevresinde eritemli bir halka ile çevrili papül veya steril püstül pozitif reaksiyon olarak kabul edilir.İndürasyonsuz eritem negatif sonuç olarak kabul edilir (32).

#### **3.1.5.5. Göz Bulguları**

BH'da göz tutulumu morbiditenin önemli nedeni olup hastaların %30-70'inde görülür. Göz tutulumu olanların %25'i tedaviye rağmen kör olurlar, ancak immünesüpresifler başta olmak üzere modern tedavi yaklaşımları ile prognoz daha iyiye gitmektedir. Göz tutulumu sıklıkla 2-4. dekadlar arasında yetişkinlerde görülmektedir.BH belirtileri başladıktan 2-3 yıl sonra ortaya çıkar ancak %10-20 hastada başlangıç bulgusudur. Türk ve Japon toplumunda daha sık görülür ve daha şiddetli seyredir (35,36). Tipik göz tutulumu kronik, tekrarlayan, bilateral granülamatöz olmayan üveittir ve ön segment, arka segment veya her ikisini de etkileyebilir (panüveit). Olguların %50 kadarı erkeklerde gözlenir. Kadınlarda ön

üveit, erkeklerde panüveit insidansı daha yüksektir. Hipopiyonlu ön üveit, inflamatuvar eksüdanın çemberde görünür hücre tabakasını oluşturması, hastaların 1/3'ünde görülür. Diğer bulgular iridosiklit, keratit, episklerit, sklerit, vitrit, vitröz hemoraji, retinal vaskülit, retinal ven oklüzyonu, retinal neovaskülarizasyon ve optik nörittir (34).

### **3.1.5.6.Vasküler tutulum**

BH'nda vasküler tutulum ilk kez 1946 yılında tarif edilmiştir. BH sistemik bir vaskülit olup tüm boyuttaki arterleri ve venleri etkileyebilir. (1). Vasküler tutulum oranı farklı literatürlerde hastaların %7-49'unda bildirilmiş olmasına rağmen bu oran ülkemizde %14.3 olarak bildirilmiştir (37,38). Vasküler tutulum hastalığın başlangıcından 3-16 sene sonra görülür. Genellikle genç erkeklerde sık görülür (37).

### **3.1.5.7.Nörolojik tutulum**

Nörolojik tutulum BH'de hastaların %10'undan daha azında gözlenir. Erkeklerde tutulum daha sık olup prognozu daha kötüdür (39). Vasküler trombozlar ve fokal parenkimal lezyonlar en sık rastlanan tutulumlardır. Nörobeyhçet en çok beyin sapını tutan parankimal hastalık şeklinde karşımıza çıkar. Arteriyel vaskülitler, aseptik menenjit, ensefalit diğer tutulum şekilleridir. Arterit; iskemik serebrovasküler olaylara, anevrizmal dilatasyonlara ve subaraknoid kanamalara neden olabilmektedir. Hastalığın tanısında semptomların yanında BOS incelemeleri ve magnetik rezonans görüntülemeleri faydalıdır (40).



### **3.1.5.8.Gastrointestinal sistem tutulumu**

İshal, karın ağrısı, kabızlık, karında şişkinlik, rektal kanama, bulantı ve kusma ana semptom olup ülkemizde gastrointestinal sistem tutulumu %1 civarındadır. Ateş, kilo kaybı, anemi bu belirtilere eşlik edebilir. BH'na bağlı ülserler en çok çekum, terminal ileum ve çıkan kolonda lokalizedir. Daha nadir olarak özafagusu, mideyi tutulabilir ve pilor stenozu, perforasyon, fistül, kanama gibi komplikasyonlarla hasta başvurabilir (41,42).

### **3.1.5.9.Böbrek Tutulumu:**

BH'nda böbrek tutulumu çeşitli serilerde %0 ile %55 arasında değişmektedir. BH'nda böbrek tutulumu; glomerülonefrit, amiloidoz, böbrek damar tutulumu, interstisyel nefrit, ilaç tedavisinin komplikasyonları seklindedir. Böbrek tutulumunun en sık görülen şekli, klinik önem taşımayan asemptomatik hematüri ve proteinüri olabilir. Ayrıca semptomatik amiloidozda görülebilir. İnterstisyel nefrit ve böbrek damar tutulumu ise daha seyrek görülür ve genellikle hafif seyreder (43).

### **3.1.5.10. Epididimit**

BH'nda epididimit, %5-10 vakada görülür ve kendini sınırlar. Klinikte, 1-2 hafta süren akut ağrı vardır ve tekrarlayıcı özellik gösterir (44).

### **3.1.6.Çocukluk Çağında Behçet Hastalığı**

BH'nın çocuklukta (<16 yaş) görülme oranı farklı araştırmalarda %5.4-7.6 arasında değişen oranlarda bildirilmiş, ülkemizde yapılan çalışmada BH

kriterlerini tamamlama yaşı kızlarda  $12.8 \pm 3.0$ , erkeklerde  $13.1 \pm 2.1$  bulunmuştur. Jüvenil başlangıçlı BH'de aile öyküsünün daha sık olduğu gözlemlenmiştir (45).

### **3.1.7. Gebelik ve Behçet Hastalığı**

Gebelik BH'nı her hastada farklı etkilediği gibi aynı hastanın farklı gebeliklerinde de relapslar, semptomların kötüleşmesi veya remisyonlar görülebilir. Alevlenme ilk trimesterde daha sık görülür. Progesteron hormonunun BH'nın gebelikteki seyrinde olumlu yönde etki ettiği düşünülmektedir (46,47).

### **3.1.8. Laboratuvar Bulguları**

BH için spesifik laboratuvar bulgusu yoktur. İnflamasyon belirteçlerinde artma olabilir; C-reaktif protein, eritrosit sedimentasyon hızı, periferik lökosit sayısı, trombosit sayısı hastalığın aktif dönemlerinde artabilir. Birçok sitokinin serum düzeyleri; TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8 de artabilir. Kronik hastalıklarda orta derece anemi görülebilir. Otoantikorlar, antinükleer antikorlar ve romatoid faktör genellikle negatiftir (48). Aktif orogenital, göz ve SSS tutulumuna rağmen normal olabilir. Serum immünglobulinlerinde ve C9'da daha belirgin olmak üzere serum kompleman düzeylerinde artış gözlemlenebilir (48).

### **3.1.9. Tanı**

BH'na ait patognomonik klinik veya laboratuvar bulgusu olmadığından tanı klinik bulgulara dayanılarak konulur. BH'nın tanısında klinik belirtilerin gösterilmesi için ayrıntılı bir anamnez ve fizik muayene önemlidir. Günümüzde,

1990 yılında BH için Uluslararası Çalışma Grubu (ISG)'nun tanımladığı kriterler kullanılmaktadır. Uluslararası Çalışma Grubu'na göre BH tanısı koymak için tekrarlayıcı OÜ'lerin yanında kriterlerden en az ikisinin bulunması gerekmektedir (49).

**Tablo 1.** Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu'nun Tanımladığı Tanı Kriterleri (49)

	1 yıl içerisinde en az 3 kez tekrarlayan,hastanın
<b>Tekrarlayan Oral mukoza ülserleri</b>	yada doktorun tanımladığı, minör veya herpetiform ülserler
<b>Ek olarak aşağıdakilerden herhangi 2 tanesinin lması</b>	
<b>Tekrarlayan genital ülserler</b>	Hastanın veya doktorun tanımladığı GÜ.
<b>Göz lezyonları</b>	Ön veya arka üveit,retinal vaskülit
<b>Deri Lezyonları</b>	Hastanın tanımladığı veya doktorun saptadığı Eritema Nodosum,papülopüstüler lezyonlar.
<b>Paterji testinin pozitifliği</b>	24-48 saat sonra doktor tarafından yorumlanan testin pozitif olması.

### 3.1.10.Seyir ve Prognoz:

BH klinik seyri ve prognozu çok değişken olmasıyla birlikte genelde genital ülser, oral aft, ya da göz tutulumu ilk ortaya çıkan bulgulardır. Vasküler ve SSS tutulumu geç dönemlerde gelişir. İlk 5-7 yıl ataklar sıktır, sonrasında ataklar arası uzar. Göz semptomları geç dönemde kronikleşir, uzun dönemde körlükle sonlanabilir. Ön üveitin daha baskın seyrettiği olgularda prognoz daha iyidir. Olguların %74'ünde 6-10 yıl içinde körlük geliştiği yapılan bir çalışmada saptanmıştır (50).

Nörolojik tutulum fonksiyon kaybı ve mortaliteye neden olmaktadır. Damar tutulumu hastalığın en önemli mortalite nedenleri arasındadır . Erişkin hastalardaki ölüm oranları; Erkeklerdeki ölüm hızı, 10 yılda %9, 20 yılda %14 seviyelerindedir. BH'nda en yüksek mortalite oranı Türkiye'den (%9.8) olarak bildirilmiştir. Ani ölüme yol açan anevrizma rüptürü veya trombozla giden büyük damar vaskülitisi ile bağdaştırılmıştır. Yaş ilerledikçe hastalık seyri daha iyiye gider; remisyonlar uzar, nüksün şiddeti ve mortalite hızı azalır. BH'nın prognozu modern immünesüpresif tedavilerin kullanımı ile son yüzyılda düzelmiştir(51,52).

### **3.1.11. Tedavisi**

BH'nın tedavisinde öncelikle semptomları kontrol etmek, inflamasyonu baskılamak ve organ hasarını önlemek amaçlanmalıdır. Tedavi, klinik ve tutulan organlara ve tutulum şiddetine göre saptanmalıdır. Genelde kompleks tedavi tercih edilmelidir. Yaşamı tehdit edici SSS ve büyük damar tutulumu olan hastalarda konvansiyonel tedaviler ile her zaman olumlu sonuçlar alınmamaktadır (53,54).

**Tablo 2.** Behçet Hastalığı'nda tedavinin ana hatları (55)

Belirtiler	Hafif Olgular	Ağır Olgular
Oral ülserler	Gargara Lokal steroid Sükralfat	Talidomid Azatiopürin İnflksimab Etanersept
Genital ülserler	Lokal steroid	Talidomid Azatiopürin İnflksimab Kolşisin (kadın hastalarda) Kolşisin
Eritema nodozum		Depo steroid Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar
Papülopüstüler belirtiler	Patlar Lokal steroidli merhemler	Antibiyotikler
Artrit/Artralji	Non-steroidal antiinflamatuvar ve analjezikler	Kolşisin Kortikosteroid Azatiopürin İnterferon- $\alpha$
Ön üveit	Lokal steroidler	Azatiopürin, Oral siklosporin A Kortikosteroid İnterferon- $\alpha$ İnflksimab
Panüveit, posterior üveit		Azatiopürin Siklosporine Oral steroid veya Pulse steroid İnterferon- $\alpha$ İnflksimab
Retinal vaskülit		Pulse steroid ve sistemik steroid Pulse iv/oral siklofosfamid Azatiopürin
Tromboflebit	Semptomatik tedavi	Azatiopürin Düşük doz aspirin
Arter tutulumu		Pulse steroid ve sistemik steroid Pulse iv/oral siklofosfamid Azatiopürin
Nörolojik tutulum Dural sinus trombozu Parankimal hastalık		Kortikosteroidler Pulse steroid ve/veya oral steroide ek olarak pulse iv siklofosfamid veya Azatiopürin İnflksimab
Gastrointestinal lezyonlar		Sulfasalazin Azatiopürin İnflksimab

### 3.2.BTLA ( B ve T lymphocyte attenuator,CD272)

BTLA, CTLA-4 ve PD-1 (programmed death-1) ile yapısal ve işlevsel benzerlikler gösteren yeni keşfedilmiş bir inhibitör reseptördür (56).

BTLA, T ve B hücrelerinde farklı görevleri olduğu saptanmakla birlikte immün cevaplarda negatif düzenlemeye aracılık eder. Son yıllarda inhibitör reseptörler, aktivasyon sinyallerini sınırlama ve bitirme yeteneklerinden dolayı dikkatleri üzerlerine çekmiştir (57).

### **3.2.1.BTLA'nın yapısı ve sunumu**

B7 ailesinin yeni bir reseptörü olan BTLA Tip I transmembran glikoprotein ve kristal yapı gösterir. Glikoprotein yapısını, sitoplazmik bölge, transmembran bölge, bir sinyal zinciri ve extrasellüler immünglobülin variable domeini (IgV) oluşturur. BTLA'nın sitoplazmik bölgesi iki tane ITIM (İmmunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) içerir. Bu ITIM'lar SHP-1 ve SHP-2 fosfataz enzimleriyle ilişkilidir (58).

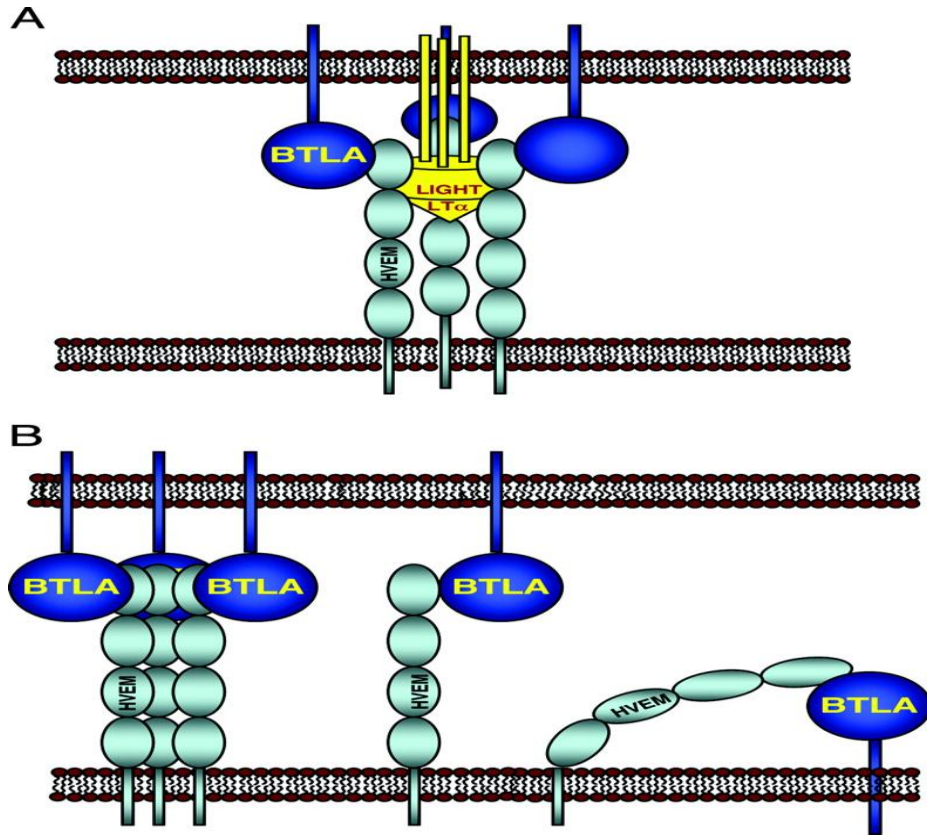
CTLA-4 ve PD-1'den farklı olarak BTLA, TNFR ailesi üyesi olan HVEM'e (Herpes Virus Entry Mediator) bağlanır (59). DH (Dentritik Hücre) , B ve T lenfositlerince birçok varyasyon ve programlarla sunumu gerçekleştirilen BTLA makrofaj ve NK ilede sunumu yapılır .T hücrelerinin farklılaşması ve aktivasyonu süresince BTLA'nın sunumu değişir (60,61). T hücreleri hem Th1 hem de Th2 polarize edecek durumlarda kültüre edildiklerinde, BTLA mRNA'sı, STAT1 (signal transducer and activator of transcription 1) ve STAT4 (signal transducer and activator of transcription 4) aktivatör sinyallerinden bağımsız olarak Th1 hücrelerinde daha yüksek bulunmuştur . BTLA proteini gösterimi hem Th1 hem de Th2'yi indükleyen durumlarda, primer T hücre aktivasyonu ve sekonder

reaksiyondan sonraki 2 gün içerisinde pik yapar, 4.günde azalır ve 7.günde sonlanır. Üçüncü aktivasyondan sonra, BTLA seçici olarak Th1 hücrelerinde ekprese edilirken Th2 hücrelerinde ekprese edilmez (56).

### **3.2.2.BTLA ligandı ( HVEM )**

Lenfosit aktivasyonu iki işaret gerektirir. Biri,majör doku uyuşması kompleksinde sınırlı olan THR tanıma ve ikincisi ise antijen-sunan hücrelerdeki (ASH) T hücreleri ve ligandlarda bulunan eş reseptörlerin karşılıklı etkileşimi ile verilen sinyallerdir (62). Sinyal moleküller, yapılarına göre, immunoglobulin (Ig) süper ailesi ve (TNF)/TNF reseptör (TNFR) süper aileye bağlı olarak iki süper aileden oluşur.Ig süper ailesi, homolojilerine göreB7/CD28 ve CD2 alt ailelerini içerir. Sinyal molekülleri, doğal bağışıklık tepkileri üzerindeki fonksiyonel etkilerine bağlı olarak yardımcı-uyaran veya kısıtlayıcı moleküller olarak da sınıflandırılabilirler. THR'nin çapraz bağlaması ve toplanması ve MHC/peptit ile gelen reseptörlerin eş sinyali ve bunun eş sinyal ligandları T hücrelerinin tam aktivasyonuna yol açar. Buna karşılık, uyaran olmaksızın THR T-hücre aktivasyonu yapar ve anerji gelişir. Sinyal moleküller, T hücre çoğalmasını, sitokin üretimini, sitotoksiteyi, T hücre apoptozisi ve T hücrenin yaşam sinyali almasının kontrol ederler (63,64). Etkileşimin genel kuralı, IgR ile Ig ligandı ve TNFR ile TNF ligandının etkileşmesidir. HVEM, bir TNFR ailesi üyesidir. BTLA reseptörü olarak görev yapar.CD160 yeni tanımlanmış, BTLA gibi bir HVEM ligantıdır.Daha önce tanımlanmış HVEM ligandları BTLA, LIGHT, Lenfotoksin-a,Herpes Simplex Virüs Glikoprotein-D dir.LIGHT ve LTa( Lenfotoksin-a)'nın HVEM'e bağlanması eş uyarı sinyali oluştururken, BTLA veya CD160'a

bağlanması eş inhibisyon sinyali ortaya çıkarır.Yani HVEM, T hücre aktivasyonunu iki yönlü düzenleyebilen, eş uyarı veya inhibasyon oluşturabilen liganda bağlanabilir (59,65,66). İlginç bir şekilde, T hücreleri üzerindeki BTLA ve CD160'ın HVEM'e bağlanması, T hücre aktivasyonunu kısıtlayıcı bir sinyal gönderir. Buna karşılık HVEM'in LTa ve LIGHT'a bağlanması ise doğal bağışıklık tepkilerini uyarır . Dolayısıyla, HVEM hangi ligandın içinde olduğuna bağlı olarak doğal bağışıklık tepkilerini düzenlemek için bimoleküler bir anahtar olarak iş görür (67).



**Şekil-1** BTLA-HVEM-LIGHT Reseptör etkileşimi (A) BTLA, HVEM, ve LIGHT/LT $\alpha$  için düşünülen kompleksi modeli. (B) BTLA ve monomerik intercellular ve intracellular BTLA/HVEM kompleksleri ile etkileşen pretrimerize HVEM modeli.



BTLA ve CD160' ın Ig süper ailesi üyesi olarak TNFR süper ailesi üyesi HVEM etkileşimi, iki diğer süper ailesi etkileşiminin nadir örneklerindedir (56,59,65). HVEM ligandlarının göze çarpan fonksiyonları aynı zamanda HVEM üzerindeki bağlayıcı bölgeler ile de ilişkilidir. HVEM üç tam sisteinden zengin bölgeye (CRD= cysteine-rich domain) sahip ve dördüncü CRD bölgesi, sadece 2/3 disülfid bağı ile daha az CRD karakteristiğine sahiptir (68,69). HVM'in CRD-I bölgesi, kısıtlayıcı CD160 ve BTLA 'ya bağlanması gereklidir fakat LIGHT'a bağlanmasında bir rolü yoktur (59,65). Yapılan son çalışmalar, CRD-I'nin silinmesi ile HVEM fonksiyonunun dominant bir kısıtlayıcı reseptörden sadece baskılayıcı reseptöre çevrilebileceğini göstermektedir (65). HVEM etkileşiminin çoklu ligandlarla olan karmaşıklığından dolayı, hem HVEM ligandları hemde farklı fonksiyonları ifadenmesi CD160-HVEM üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır.

### **3.2.3.BTLA'nın fonksiyonları**

Baskılayıcı reseptörlerden gelen negatif sinyallerde ortaya çıkacak bir hata, otoreaktif lenfosit aktivasyon eşiğini azaltabilir ve dolayısıyla bu durum otoimmün hastalık gelişimine yol açabilir. Bu düşünce, CTLA-4 and PD-1 eksikliği yaşayan genetiği değiştirilmiş farelerdeki otoimmün fenotip ya da lenfosit hiper aktivitesiyle de kanıtlanmıştır (70,71). İnsanlarda, CTLA-4 ve PD-1'in otoimmün hastalıkların düzenlenmesinde, tek nükleotit polimorfizm(SNPs) vaka-kontrol çalışmaları ile önemli oldukları gösterilmiştir. CTLA-4 değil de PD-1 deki SNP'lerin Sistemik Lupus Erythematosus'a (SLE) ve Romatoid Arthritis'e (RA) duyarlılığı arttırdığı gösterilmiştir (72,73,74). Farklı bir çalışmada

anti-BTLA antikoru kullanan analizler, BTLA'nın sadece CD4+ T hücreleri ve B hücreleri ile değil aynı zamanda farklı seviyelerde CD8+ T hücreleri, NKT hücreleri, NK hücreleri, makrofajlar, ve DH dahil çok geniş çaplı hemotopoetik hücrelerle de ifade edildiğini ortaya koyulmuştur (56,75). BTLA hücre dışında Ig alanı, bir transmembran bölge ve bir iç hücre bölgesi barındırmaktadır. Hücre içinde iki immunreseptör tirozin tabanlı kısıtlayıcı motif vardır ve bunların ikisi de SHP-1 ve SHP-2 ile ilişki içindedir (56,58). BTLA için ligand, T hücreleri, makrofajlar ve DH'ler dahil hemotopietik hücrelerde genişçe ifade edilen TNF reseptör aile üyesi herpesvirüs giriş mediatörüdür (HVEM) (68,76). BTLA'nın bağlanması, tirozin fosforlaşmasını ve SHP-1/SHP-2 ilişkisini engeller ve sonrasında IL-2 üretimini ve T hücrelerinin çoğalmasını azaltır (56,58). Bu bulgular, BTLA'nın HVEM ile etkileşiminin kısıtlayıcı bir reseptör olarak işlev gördüğünü ve HVEM-BTLA etkileşiminin otoimmünitenin engellenmesinde bir rol oynayabileceğini öne sürmektedir.

Yapılan bir çalışmada BTLA geni yoksun (BTLA<sup>-/-</sup>) farelerin, deneysel otoimmün hastalıklardan ensefalomyelite ile yüksek bir hassasiyet gösterdiklerini, spesifik bağışıklık tepkilerinin arttığı gösterilmiştir (56). Farklı bir çalışmada yaşlı BTLA geni yoksun (BTLA<sup>-/-</sup>) farelerin, istemsiz bir şekilde birçok organda lenfosit göçleri ile otoimmün tepkilerle hepatit benzeri hastalıklar geliştirdiklerini de ortaya koymuştur (77). Ek olarak farklı bir çalışmada BTLA'nın Tayvan nüfusundaki RA hassaslığı ile ilişkili olduğu yakın zamanda gösterildi (78). Ancak, insanlarda otoimmün hastalıkların patojenitesindeki HVEM-BTLA yolunun rolü hala büyük oranda bilinmemektedir.

#### **4. GEREÇ VE YÖNTEM**

## **4.1. GEREÇLER**

### **4.1.1. Demirbaş Malzemeler**

- Mikrosantrifüj (Ole Dich Instrumentmakers APS)
- Thermocycler (Eppendorf Mastercycler gradient)
- Elektroforez (Consort)
- UV transilliminatör (Vilber Lourmat)
- Hassas terazi (Shimadzu Corporation Libror)
- Vorteks (Labinco L46)
- Otomatik Mikropipetler (Eppendorf Gilson)
- pH metre (Hanna Instruments)
- Spektrofotometre (LKB Biochrom Ultraspec Plus 4054)
- Su banyosu (Kötterman labortechnic)
- Mikrodalga fırın (Arçelik)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Derin Dondurucu (-20°C) (Arçelik)

### **4.1.2. Sarf Malzemeler**

- Borik asit (Merck)
- EDTA (Sigma)
- Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (Merck)
- Amonyum Asetat (Sigma)
- Tris HCL (Sigma)
- Hidroklorik Asit (Merck)
- Etanol (Merck)
- Etidium Bromide (Sigma)
- Bromofenol Mavisı (Sigma)
  
- Kandan DNA izolasyon kiti (Promega)
  
- 10xPCR Tamponu (İntron)
  
- dNTP (Vivantis)
  
- MgCl (İntron)
  
- Taq DNA Polimeaz (İntron)
  
- PstI Restriksiyon Enzimi (Bioron)
  
- Sau96I Restriksiyon Enzimi (Fermentas)
  
- Primer çiftleri (Metabion)
  
- Agaroz (Sigma)
  
- 100bp'lik Boyut Markırı (BioBasic)
  
- 6X Yükleme Tamponu

## **4.2. Yöntemler**

#### **4.2.1. Kan Örneklerinin Toplanması**

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulunca onaylanan çalışmada, Dermatoloji Anabilim Dalı'na başvuran BH'lerden Hasta Onam formları imzalatılarak kan örnekleri toplandı. Kontrol grubu ise, organik ve kronik hastalığı olmayan, yaş dağılımı hastaların yaş dağılımına uygun sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Kanlar EDTA'lı tüplere 2 cc olarak alındı. Kan alınma işlemleri bittikten sonra DNA izolasyonu yapılmaya kadar ortalama olarak 1 hafta -20 C°'de bekletildi.

#### **4.2.2. Kandan DNA izolasyonu**

DNA saflaştırılması Promega firmasından alınan ticari "Wizard Genomic DNA Purification Kit"i ile gerçekleştirildi (Kat. No.: A1125, Madison, WI, USA). İzolasyon aşamaları aşağıda sıralandığı gibidir:

- 1.5 ml lik tüplere 900 µL "cell lysis" (hücre parçalama) solüsyonu konuldu.
- 300 µL kan alt-üst edilerek hücre parçalama solüsyonunun üzerine ilave edildi, 5-6 defa alt-üst edildi, 10 dak. oda ısısında bekletildi.
- 15.000 x g de 20 saniye oda ısısında santrifüjlendi.
- Alttaki beyaz kısma zarar vermeden süpernatant atıldı. Altteki hücrelerin üzerinde yaklaşık olarak 10-20 µL sıvı bırakıldı.
- 300 µL hücre parçalama solüsyonundan alınarak, vortekslenmiş hücre çöküntüsünün üzerine eklendi ve 5-6 kez alt-üst edildi. 2-4. basamaklar tekrar edildi.

- Beyaz hücreler vortekslenerek iyice karışması sağlandı.
- Vortekslenmiş hücrelerin üzerine 350 µL “Nuclei lysis” (çekirdek parçalama) solüsyonu eklendi. Pipetaj yapıldı ve solüsyon viskoz bir yapı kazandı.
- Nükleer lizatın üzerine 120 µL “protein precipitation” (protein çöktürme) solüsyonu eklendi. 10-20 saniye vortekslenerek protein kümelerinin oluşması sağlandı.
- Oda sıcaklığında 15.000 x g’de 3 dakika santifüjlendi. Eppendorf tüpün dibinde koyu kahverengi bir protein çöküntüsü görüldü.
- Süpernatant 300 µL izopropanol içeren 1.5 ml’lik santifüj tüpüne transfer edildi.
- Beyaz iplik görünümündeki DNA ortaya çıkıncaya kadar sürekli alt-üst edilerek karıştırıldı.
- 1 dakika oda sıcaklığında 15.000 x g’de santrifüjlendi.
- Süpernatant dökülerek dipte kalan DNA’nın üzerine 300 µL oda sıcaklığındaki %70’lik etanol eklendi. Alt-üst yapılarak DNA pelleti yıkandı. Santrifüjleme işlemi tekrarlandı.
- Etanol aspire edildi. Tüpler ağızları alta gelecek şekilde temiz kurutma kağıdının üzerine yerleştirildi. 5-10 dakika normal havada kurumaya bırakıldı.
- 100 µL DNA rehidratasyon solüsyonu eklendi. DNA’yı rehidre etmek için 65°C’de 1 saat inkübe edildi.
- DNA 0.5 mL’lik eppendorf tüplere aktarılarak 2-8°C’de saklandı.

Bu işlemler bittikten sonra eppendorf tüplerde bulunan DNA'nın tahmini miktarını hesaplamak için şu işlem gerçekleştirildi: UV/visible spektrometre 260 ve 280nm'de çift dalga boyu aralığında okuma yapacak şekilde ayarlandı. DNA örneğinden 4 µL alınarak mikro küvette bulunan 746 µL saf suyun üzerine konuldu ve alt-üst yapıldı. Okuma gerçekleştirildi. Daha sonra  $ng/\mu l \text{ DNA} = A_{260} \times \text{dilasyon faktörü} \times 50$  formülünden hareketle örneklerdeki DNA'nın yaklaşık miktarı hesaplandı.

### **4.2.3. Gen Polimorfizm Çalışmaları**

#### **4.2.3.1. BTLA rs1844089 CT Polimorfizmi**

rs1844089 CT Polimorfizmi için uygun primerler kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirildi.

Forward (İleri) primer: 5'-CATAGGCATCGCATCAATAG-3'

Revers (Geri) primer: 5'-TCCCAATGAAGCAAGTATAGA-3'

#### **PCR içeriği:**

10X PCR Buffer 5µl

MgCl (25mM) 3µl

dNTP (2.5mM) 2µl

PrimerR (20pm) 1µl

PrimerF (20pm) 1µl

DNA 5µl

Taq DNA Polimeraz 0,2µl

Toplam hacim 30 µl'ye distile su ile tamamlandı.

#### **PCR Programı:**

95°C 5dk. Denatürasyon periyodu

94°C 30sn

57°C 30sn }40 siklus

72°C 30sn

72°C 7dk. Ekstensiyon

PCR işlemi gerçekleştirildikten sonra %2'lik agaroz jelde PCR ürünleri koşturuldu. 302 bç ürün elde edildi. Elde edilen ürünler daha sonra PstI restriksiyon enzimi ile kesildi.

#### **PstI Restriksiyon Enzim Muamelesi:**



10X Reaksiyon Buffer 2 µl

PCR Örneği 10 µl

Enzim (PstI RE) 1 µl

Toplam hacim 25 µl'ye distile su ile tamamlandıktan sonra 37°C'de 1 gece inkübe edildi. Enzimle kesilmiş PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek hastaların ve kontrollerin polimorfizm sonuçları elde edildi.

Yabanıl tip (CC) 191 ve 111 bp fragmentlerini gösterir. Homozigot mutantlar (TT) 302 bp'de tek bant gösterir. Heterozigotlar (CT) 302, 191 ve 111 bp fragmentlerini gösterir.

#### **4.2.3.2. BTLA rs9288952 CT Polimorfizmi**

Rs9288952 CT polimorfizmi için uygun primerler kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirildi.

Forward (İleri) primer: F:5'-AGAAGCAAGCACCAGGCAAAA-3'

Revers (Geri) primer: R:5'-GACCCAAGCACTAACATGAACA-3'

#### **PCR içeriği:**

10X PCR Buffer 5µl

MgCl (25mM) 3µl

dNTP (2.5mM) 2µl

PrimerR (20pm) 1µl

PrimerF (20pm) 1µl

DNA 5µl

Taq DNA Polimeraz 0,2µl

Toplam hacim 30 µl'ye distile su ile tamamlandı.

### **PCR Programı:**

95°C 5dk. Denatürasyon periyodu

94°C 30sn

56°C 30sn }36 siklus

72°C 30sn

72°C 7dk. Ekstensiyon

PCR işlemi gerçekleştirildikten sonra %2'lik agaroz jelde PCR ürünleri koşturuldu. 269+114 bp ürün elde edildi. Elde edilen ürünler daha sonra Sau96I restriksiyon enzimi ile kesildi.

### **Sau96I Restriksiyon Enzim Muamelesi:**

10X Reaksiyon Buffer 2.5µl

BSA	0.3 µl
PCR Örneği	15 µl
Enzim (Sau96I RE)	1 µl

Toplam hacim 25 µl'ye distile su ile tamamlandıktan sonra 37°C'de 1 gece inkübe edildi. Enzimle kesilmiş PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde koşturularak hastaların ve kontrollerin polimorfizm sonuçları elde edildi.

Yabani tip (CC) 173, 114 ve 96 bç fragmentlerini gösterir. Homozigot mutantlar (TT) 269 bant ve 114 bç fragmentlerini gösterir. Heterozigotlar (CT) 269, 173, 114, 96 bç fragmentleri gösterir.

#### **4.3. İstatistiksel analizler**

Genetik dağılımın Hardy-Weinberg dengesine uyumu  $X^2$  goodness-of-fit testi ile analiz edildi. Hastalar ve kontroller arasındaki genotipik dağılımların farklılıkları Ki-kare veya Fisher's exact test ile değerlendirildi. Kontrol ve hastalar arasındaki allelik dağılım farklılıkları Fisher's exact test ile değerlendirildi. P değerinin <0.05 olması istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Bütün istatistiksel testler "SPSS® for Windows computing program, Version 11.0" ile gerçekleştirildi.

## 5.BULGULAR

Tez çalışma gruplarını oluşturan BH grubu ve sağlıklı kontrol grubuna ait demografik bilgiler karşılaştırmalı olarak **Tablo 3.** de verilmiştir.

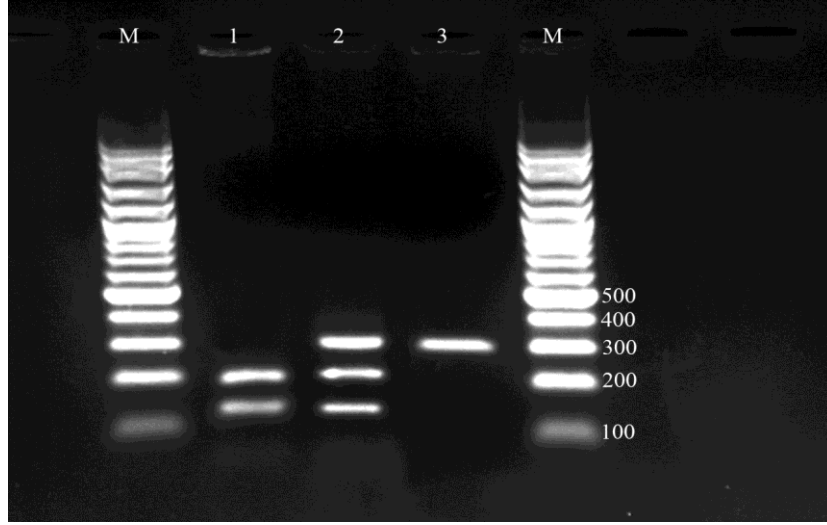
**Tablo 3.** Kontrol ve Behçet Hasta Gruplarındaki Bireylerin Demografik Özelliklerin Karşılaştırması

Demografik Özellikler	KONTROL (n:108)	BH (n:108)	P
Cinsiyet (Kadın/ Erkek)	64 (%59,3)/44 (%40,7)	53 (%49,1)/55 (%50,9)	1,0
Yaş (Yıl)	36,667±13,866	36,879±11,285	0,467

Çalışmamıza, 108 BH ve 108 sağlıklı kişinin periferal kandan izole edilen DNA örnekleri kontrol amaçlı olarak alınmıştır. DNA'sı elde edilen hasta ve kontrol grupları PCR'da amplifiye edildikten sonra ürünler %2'lik agaroz jelde koşturularak değerlendirildi.

### 5.1. rs1844089 CT Polimorfizmi

PCR ile amplifiye edilen gen ürünleri PstI restriksiyon enzimi ile muamele edildi. rs1844089 CT polimorfizmi için %2'lik agaroz jelde koşturularak yabancı tip (CC), heterozigot (CT) ve homozigot (TT) olguları tespit edildi.



**Şekil 2.** rs1844089 polimorfizmi için RFLP sonuçlarının %2'lik agaroz jel görüntüsü.(M: 100 bç'lik DNA marker. 1: CC, 2: CT, 3: TT genotipi )

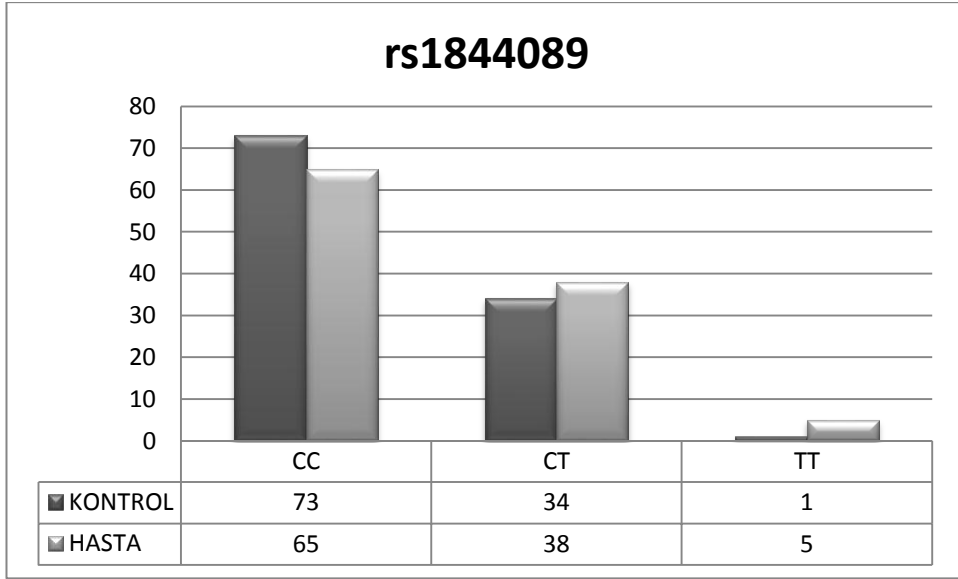
rs1844089 gen polimorfizmine ait genotip frekansı BH grubunda; CC % 60,2 , CT % 35,2 , TT % 4,62 iken, kontrol grubunda CC % 67,6 , CT % 31,5, TT % 0,9 olarak bulunmuştur (Tablo.4). rs1844089 polimorfizmi için C allel frekansı hasta grubunda %77,8 olup kontrol grubunda %83,33 olarak hesaplandı. T allel frekansı ise hasta grubunda %22,2 kontrol grubunda ise %16,66 olarak bulundu.

rs1844089 gen polimorfizmi genotip frekansı yönünden değerlendirildiğinde; kontrol grubunda 73 bireyin CC, 34 bireyin CT, 1 bireyinde TT genotiplerine sahip olduğu BH ise 65 bireyin CC, 38 bireyin CT, 5 bireyinde TT genotipine sahip olduğu bulunmuştur (Tablo.4 ).

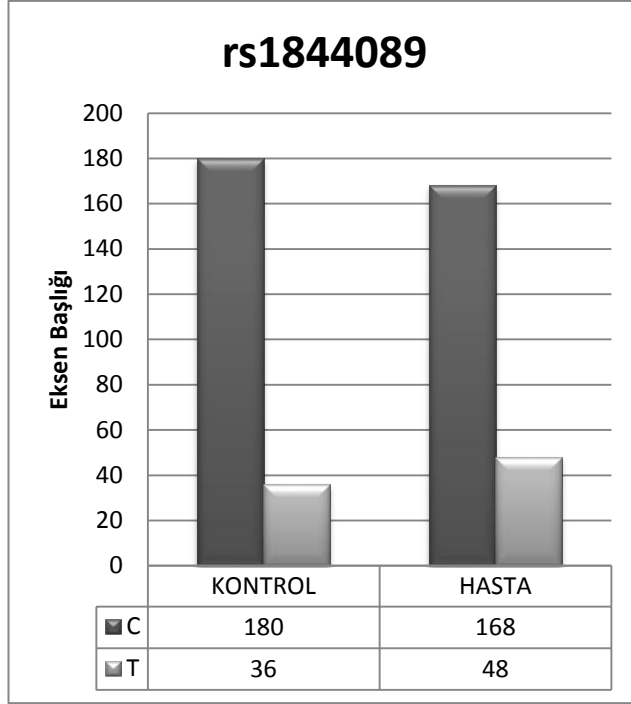
rs1844089 gen polimorfizmi, BH ve kontrol grubunda genotipler ( $p=0,160$ ) ve alleller ( $p=0,18$ ) açısından karşılaştırıldığında; istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

**Tablo 4.** rs1844089 Gen Polimorfizmi Genotip ve Allel Frekansının Hasta ve Kontrol Grubunda Dağılımı

rs1844089	KONTROL (%)	BH (%)	P
<b>CC Genotipi</b>	73 (%67,6)	65 (%60,2)	0,166
<b>CT Genotipi</b>	34 (%31,5)	38 (%35,2)	
<b>TT Genotipi</b>	1 (%0,9)	5 (%4,62)	
<b>C Alleli</b>	180 (%83,33)	168 (%77,8)	0,07
<b>T Alleli</b>	36 (%16,66)	48 (%22,2)	



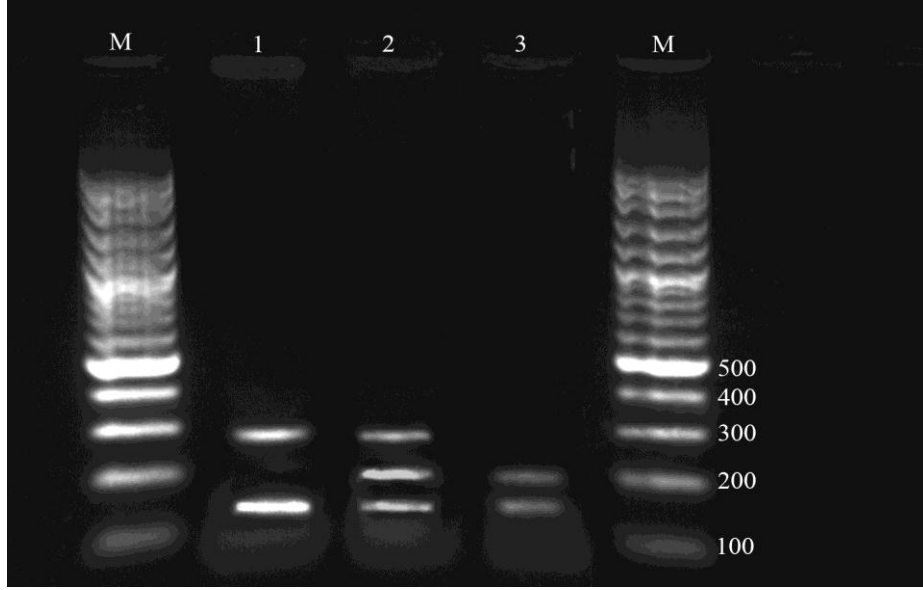
**Şekil 3.** rs1844089 polimorfizmin hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı



**Şekil 4.** rs1844089 polimorfizmin hasta ve kontrol grubundaki allel dağılımı

#### **5.2.rs9288952 CT Polimorfizmi**

PCR ile amplifiye edilen gen ürünleri Sau96I restriksiyon enzimi ile muamele edildi. rs9288952 CT polimorfizmi için %2'lik agaroz jelde kosturularak yabancı tip(CC), heterozigot (CT) ve homozigot (TT) olguları tespit edildi.



**Şekil 5.** rs9288952 polimorfizmi için RFLP sonuçlarının %2'lik agaroz jel görüntüsü.( M: 100 bç'lik DNA marker. 1: TT, 2: CT, 3: CC genotipi )

rs9288952 gen polimorfizmine ait genotip frekansı BH grubunda; CC % 3,7 , CT % 17,6 , TT % 69,4 iken, kontrol grubunda CC % 1,9 , CT % 17,6 , TT % 80,6 olarak bulunmuştur (Tablo.5). Rs9288952 polimorfizmi için C allel frekansı hasta grubunda %17,1 olup kontrol grubunda %10,6 olarak hesaplandı. T allel frekansı ise hasta grubunda %82,9 kontrol grubunda ise %89,4 olarak bulundu.

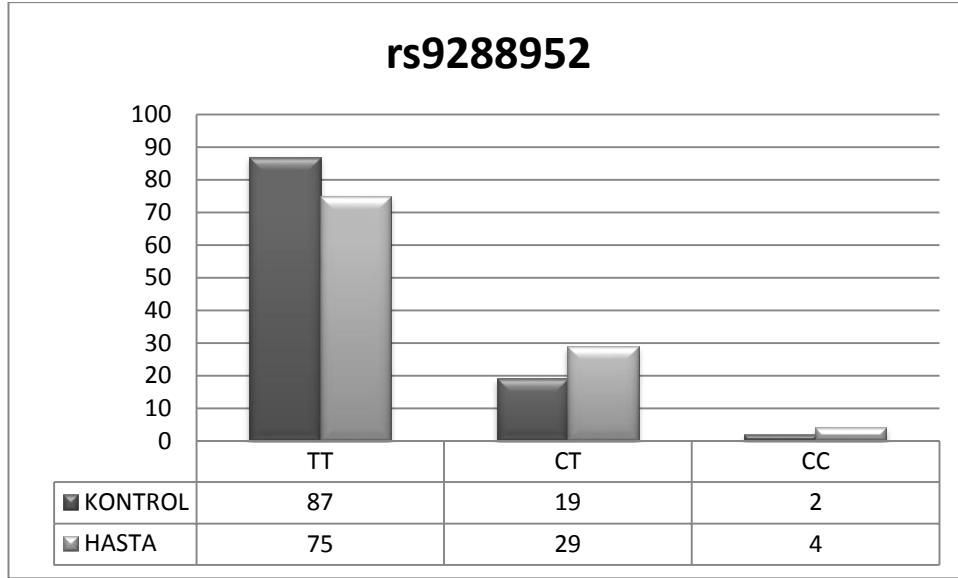
rs9288952 gen polimorfizmi genotip frekansı yönünden değerlendirildiğinde; kontrol grubunda 2 bireyin CC, 19 bireyin CT, 87 bireyinde TT genotiplerine sahip olduğu BH ise 4 bireyin CC, 19 bireyin CT, 75 bireyinde TT genotipine sahip olduğu bulunmuştur (Tablo.5).

rs9288952 gen polimorfizmi, BH ve kontrol grubunda genotipler ( $p=0,114$ ) ve alleller ( $p=0,07$ ) açısından karşılaştırıldığında; istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

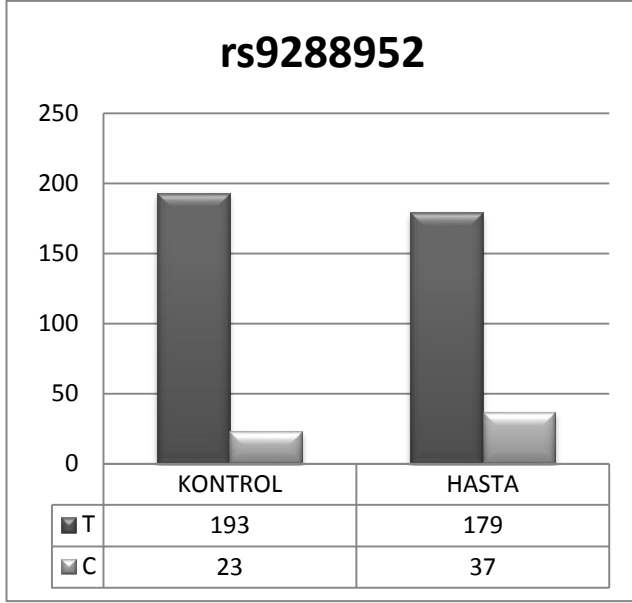


**Tablo 5.** rs9288952 Gen Polimorfizmi Genotip ve Allel Frekansının Hasta ve Kontrol Grubunda Dağılımı

rs9288952	KONTROL (%)	BH (%)	P
<b>CC Genotipi</b>	2 (1,9%)	4 (3,7%)	0,160
<b>CT Genotipi</b>	19 (17,6%)	19 (17,6%)	
<b>TT Genotipi</b>	87 (80,6%)	75 (69,4%)	
<b>C Alleli</b>	23 (10,6%)	37 (17,1%)	0,07
<b>T Alleli</b>	193 (89,4%)	179 (82,9%)	



**Şekil 6.** rs9288952 polimorfizminde gruplar arasında genotip dağılımı



**Şekil 7.** rs9288952 polimorfizmin hasta ve kontrol grubundaki allel dağılımı

Haplotipler açısından gruplar değerlendirildiğinde (Tablo 6) gruplar arasındaki farklılık anlamlı, aynı zamanda rs1844089 polimorfizmi için T, rs9288952 polimorfizmi için C allelini taşımak hastalık riskini 4.6 kat arttırmaktadır ( $p= 0.006$ ).

**Tablo 6.** rs1844089/rs9288952 Gen Polimorfizmi Haplotip Frekansının Hasta ve Kontrol Grubunda Dağılımı

rs1844089/rs9288952	KONTROL (%)	BH (%)	P:0,06
CT	162 (75,0%)	153 (70,8%)	
CC	18 (8,3%)	15 (6,9%)	
TT	31 (14,4%)	26 (12,0%)	
TC	5 (2,3%)	2 (10,2%)	
CT	162 (75,0%)	153 (70,8%)	

## 6.TARTIŞMA

BH oral aft ve genital ülserler, üveit ile birlikte seyreder. Hastalığın sistemik seyrinde eklem tutulumu, vasküler, intestinal, pulmoner ve nörolojik tutulum görülebilir. BH henüz patogenezi tam olarak açıklanamamış bir hastalık olmasına rağmen, herpes simpleks virüs tip 1 ve streptokoklar gibi infeksiyöz ajanlar,organik fosfat yapısındaki pestisitler gibi bazı kimyasalları içeren çevresel faktörler, genetik faktörler, immün disregülasyon suçlanan faktörlerdendir. Bu çoklu faktörler arasındaki ilişkilerin de etyopatogenezde rol oynayabileceği düşünülmektedir (9).

BH'nın coğrafik dağılımı, kısmen HLA-B51 pozitifliği yüksek olan toplumlarda görülmektedir. Moleküler biyolojik ve genetik araştırma tekniklerindeki gelişmelerle 1970'li yıllarda yapılmaya başlanan çalışmalarda, majör histokompatibilite genlerinden bazılarının BH yakalanma riskini arttırdığı yönünde veriler toplanmaya başlamıştır. Üzerinde en çok durulan ise HLA B51 antijeninin BH yakalanma riskini arttırdığı görülmüş ve bu geni taşımanın BH açısından riskinin olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmaya çalışılmıştır (79).

BH, hücrel immün sistemin aktif rol aldığı bir hastalıktır. Th1 yönünde bir cevap ve aktive T hücrelerin rolü bilinmektedir. İmmün sistemde sinyal dengesi, T hücre aktivasyonunu inhibitör sinyaller ile sınırlandırılır ve otoreaktif hücre aktivasyonundan ve aşırı hücrel cevaptan korunur.

CTLA-4, PD-1 gibi bilinen inhibitör sinyallerin yanısıra son yıllarda tanımlanmış olan BTLA'nın otoimmüitenin engellenmesinde bir rol oynayabileceğini öne süren çalışmalar vardır. BTLA'nın B hücre negatif regülasyonundaki etkisi önemli olduğundan," BH için BTLA üzerinde bir polimorfizm acaba hücrel

aktivasyona neden oluyor mudur? ” Sorusuna cevap aramak amacıyla, bu çalışmada BTLA geni rs1844089 ve rs9288952 gen polimorfizmleri ile hastalık arasındaki ilişki incelenmiştir.

BTLA, CTLA-4 ve PD-1 (programmed death-1) ile yapısal ve işlevsel benzerlikler gösteren yeni keşfedilmiş bir inhibitör reseptördür (56). CTLA-4 ve PD-1'den farklı olarak BTLA, TNFR ailesi üyesi olan HVEM'e (herpes virus entry mediator) bağlanır (59). DH, B ve T lenfositlerince birçok varyasyon ve programlarla sunumu gerçekleştirilen BTLA sunumu makrofaj ve NK hücrelerde vardır. T hücrelerinin farklılaşması ve aktivasyonu süresince ise BTLA'nın sunumu değişir (60,61).

Yapılan bir çalışmada BTLA'nın, kısmen MHC-uyumsuz olan kardiyak allograftlerin kabulü ile ilişkili olduğu bulunmuştur (80). Yeni yapılan bir çalışmada, hafıza hücrelerinde ve CD8+ T hücrelerinde hücre içi dengelerde BTLA/ HVEM etkileşiminin rolü olduğu gösterilmiştir. BTLA'nın veya onun ligandı HVEM'den yoksun farelerde hafıza CD8+ T hücrelerinin sayılarında artış gözlenmiştir (81). BTLA geninden yoksun farelerde BTLA'nın sunumu, nitrophenol-conjugated keyhole limpet hemocyanin nitrophenol ile bağışıklama yapıldıktan sonra serum Ig değerlerinin yükseldiği görülmüştür. Üstelik BTLA geninden yoksun fareler, deneysel otoimmün ensefalomyelitte daha yüksek bir hassasiyet gösterir ve hızlandırılmış BTLA kaybı, kısmen MHC-uyumsuz kardiyak allograft rejeksiyonuna neden olur (80). BTLA bağlanması, esas olarak T hücrelerine inhibitör bir sinyali oluşturur ve böylece T hücre toleransı bakımından önemli bir rolü oynayabilir. BTLA, buna ek olarak, farklı inflamasyon alanlarında BH'da T hücre yanıtını ayarlayabilir.

Sonuç olarak, BTLA yolağı Behçet gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda kritik rol alabilir. Çalışmamızda BH'nda BTLA geni rs1844089 ve rs9288952 gen polimorfizmleri arasındaki ilişki incelenmiştir.

Çalışmamızda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)-Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi kullanılarak 108 Behçet hastası ve 108 sağlıklı bireyde, BTLA geni rs1844089 C>T ve rs9288952 C>T polimorfizmleri çalışılmıştır. rs1844089 genotip dağılımları hasta grubunda CC: %60,2, CT: %35,2, TT: %4,6, kontrol grubunda ise CC: %67,6, CT: %31,5, TT: %0,9 olarak bulunmuştur. rs9288952 polimorfizmi için genotip dağılımları hasta grubunda TT: %69,4, CT: %26,9, CC: %3,7, kontrol grubunda ise TT: %80,6, CT: %17,6, CC: %1,9 olarak bulunmuştur. Her iki genotip ve allel frekansları açısından hasta grubuyla kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır (P >0.05). Ancak bu iki polimorfizm için haplotip analizi yapıldığında gruplar arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur. Aynı anda rs1844089 polimorfizmi için T, rs9288952 polimorfizmi için C allelini taşımak hastalık riskini 4.6 kat arttırmaktadır (p=0.006).

Çalışmamızın sonucunda elde edilen veriler bu iki polimorfizmin direkt olarak BH ile ilişkili olmadığını düşündürmekle birlikte TC haplotipinin bir risk oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu haplotipin BH'nin otoinflamatuvar patogenezindeki risk oranı veya rolünün ortaya konulması için çalışma daha büyük bir hasta popülasyonu ile yapılarak desteklenmelidir.

## 7.KAYNAKLAR

1. Yazıcı H Behçet's Disease. In: Klippel J H. Eds Rheumatology, 2 Ed., London: Mosby; 1998; 26: 1-6
2. Tsuyoshi S, Mitsuhiro T, Noboru S, Goro I. Behçet disease, N Engl J Med, 1999;341(17):1284-1291.
3. Alpsoy, E., Aktekin, M., ER, H., Durusoy, C., Yılmaz, E. Distribution and frequency of papulopustular lesions in Behçet's disease, *Int J Dermatol* 1998;37:839-843.
4. Emmi L. Brugnolo F, Marchione T. Pathogenesis and therapy of Behçet disease. *Ann Ital Med Int* 1997;12(1):20-25.
5. Saylan T, Mat C, Fresko İ, Melikoğlu M: Behçet's Disease In The Middle East Clinic in Dermatology 1999;17: 209-230.
6. Yazıcı H, Fresko I, Tunç R, Melikoğlu M. Behçet's Syndrome: Pathogenesis, Clinical Manifestations and Treatment. Gene V Ball, S. Louis Bridges (editörler) Vasculitis, Oxford. Oxford University Pres, 2002: p.406-432.
7. Zouboulis CC. Epidemiology of Behçet's disease. *Ann Med Intern* 1999;150:488- 498.
8. Kontogiannis V, Powel RJ. Behçet's disease. *Postgrad Med J* 2000; 76: 629-637.
9. Zouboulis CC, Kotter I, Djawari D, Kirch W, Khol PK, Ochsendorf FR: Epidemiological features of Adamantiades-Behçet's disease in Germany and in Europe. *Yonsei Med J* 1997; 38: 411-422.

10. Azizlerli G, Kose AA, Sarica R, Gül A, Tutkun IT, Kulaç M: Prevalence of Behçet Disease in İstanbul, Turkey. *Int J Dermatol* 2003;42:803-806.
11. Çakır N, Derviş E, Benian O. et al. Prevalence of Behçet Disease in rural western Turkey: a preliminary report. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22: 53-55.
12. Tuzun Y, Yurdakul S, Cem Mat M, et al.. Epidemiology of Behcet's syndrome in Turkey. *Int J Dermatol* 1996;35:618-620.
- 13-Türsen, Ü., Gürler, A. Behçet Hastalığı ve Genetik Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji AD. *T Klin Dermatoloji*, 2000; 10:37-43.
- 14-Ohno S, Ohguchi M, Hirose S. Close association of HLABw51 with Behçet's disease. *Arch Ophthalmol* 1982;100:1455-1458.
- 15-Fresko, İ. Behçet hastalığı ve genetik. *Aktüel Tıp Dergisi*, 1997; 689.
- 16-Verity DH, Marr JE, Ohno S, Wallace GR, Stanford MR. Behcet's disease, the silkroad and HLA-B51. *Tissue Antigens* 1999; 54:213-20.
17. Alpsoy E, Yilmaz E, Savas A, Coskun M, Yegin O. HLA antigens and linkage disequilibrium patterns in Turkish Behçet's patients. *J Dermatol* 1998;25:158-162.
18. Önder M. Epidemiology of Behcet's Disease. *Turkderm* 2009;43(2):28-31.
19. Hamzaoui K, Ayed K, Slim A, Hamza M, Touraine J. Natural killer cell activity, interferon-gamma and antibodies to herpes viruses in patient's with Behçet's disease. *Clin Exp Immunol* 1990;79:28-34.
20. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F, et al. Cytokine profile in Behcet's disease patients. Relationship with disease activity. *Scand J Rheumatol*. 2002;31:205-210.

- 21--Alpsoy, E. Behçet Hastalığı. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji ve Veneroloji Anabilim Dalı. *Türkderm*, 2009;2: 21-3
- 22- Takeno, M., Kariyone, A., Yamashita, N., et al. Excessive function of peripheral blood neutrophils from patients with Behcet's disease and from HLA-B51 transgenic mice. *Arthritis Rheum*, 1995;38:426-33.
- 23-Hirohata, S., Oka, H., Mizushima, Y. Streptococcal-related antigens stimulate production of IL6 and interferon-gama by T cells from patients with Behcet's disease. *Cell Immunol*, 1992;140:410-9.
- 24- Sayın, N., Alpsoy, E., Akman, et al. The role of IL-17 in activity of Behcet's disease. *Journal of Investigative Dermatology* 2009;129:99.
- 25- Hasan, A., Fortune, F., Wilson, A., et al. Role of gamma delta T cells in pathogenesis and diagnosis of Behcet's disease. *Lancet*, 1996;347:789-94.
- 26- Şahin, S., Lawrence, R., Direskeneli, et al. Monocyte activity in Behcet's disease. *Br J Rheumatol*, 1996;35:424-9.
- 27- Bacanlı, A., Sallakçı, N., Yavuzer, U., et al. Toll-like receptor 2 Arg753Gln gene polymorphism in Turkish patients with Behcet's disease. *Clin Exp Dermatol*, 2006;31:699-701.
- 28- Mahesh, S.P., Li, Z., Buggage, R., et al. Alpha tropomyosin as a self-antigen in patients with Behcet's disease. *Clin Exp Immunol*, 2005; 140:368-75.
- 29- Lee, K.H., Chung, H.S., et al. Human alpha-enolase from endothelial cells as a target antigen of antiendothelial cell antibody in Behcet's disease. *Arthritis Rheum*, 2003;48:2025-35.
- 30- Lu, Y., Ye, P., Chen, S.L., et al. Identification of kinectin as a novel Behcet's disease autoantigen. *Arthritis Res Ther*, 2005; 7:1133-9.



31. International Study Group for Behçet's Disease. Criteria for diagnosis of Behçet's syndrome. *Lancet* 1990;335:1078-1080.
32. Alpsoy E., Zouboulis C.C., Ehrlich G.E. Mucocutaneous Lesions of Behçet's Disease. *Yonsei Med J* Aug, 2007; 573-85
33. Kim, B. and P.E. LeBoit, *Histopathologic features of erythema nodosum--like lesions in Behcet disease: a comparison with erythema nodosum focusing on the role of vasculitis*. *Am J Dermatopathol*, 2000. 22(5): p. 379-90.
34. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. International Study Group for Behçet's Disease.(1990): *Lancet* May, 5, 335(8697), 1078–80
35. Evereklioglu C. Current concepts in the etiology and treatment of Behçet's disease. *Surv Ophthalmol* Jul-Aug, 2005;297-350
36. Kitaichi N., Miyazaki A., Iwata D., Ohno S., Stansford M.R., Chams H. Ocular features of Behçet's disease: an international collaborative study. *Br J Ophthalmol* Dec 2007;1579–82
37. Sarica-Kucukoglu, R., et al., *Vascular involvement in Behcet's disease: a retrospective analysis of 2319 cases*. *Int J Dermatol*, 2006. 45(8): p. 919-21.
38. Atzeni F., Sarzi-Puttini P., Doria A., Behçet's disease and cardiovascular involvement. *Lupus* 2005;723–6
39. Tursen, U., A. Gurler, and A. Boyvat, *Evaluation of clinical findings according to sex in 2313 Turkish patients with Behcet's disease*. *Int J Dermatol*, 2003. 42(5): p. 346-51.
40. Lee, S.H., et al., *MRI findings in neuro-behçet's disease*. *Clin Radiol*, 2001. 56(6): p. 485-94.

41. Ozenc, A., Y. Bayraktar, and A. Baykal, *Pyloric stenosis with esophageal involvement in Behcet's syndrome*. *Am J Gastroenterol*, 1990. 85(6): p. 727-8.
42. Bottomley, W.W., et al., *Esophageal involvement in Behcet's disease. Is endoscopy necessary?* *Dig Dis Sci*, 1992. 37(4): p. 594-7.
43. Akpolat T., Akkoyunlu M., Akpolat I., et al. Renal Behçet's Disease: A Cumulative Analysis. *Semin Arthritis Rheum* Apr, 2002; 31(5), 317-37
- 44-Cho Y.H., Jung J., Lee K.H., Clinical Features of Patients with Behçet's Disease and Epididymitis. *J Urol* Oct, 2003;170(4 Pt 1), 1231-3
45. Sarica R., Azizlerli G., Köse A., et al. Juvenile Behçet's disease among 1784 Turkish Behçet's patients. *Int J Dermatol* Feb, 1996; 35(2), 109-11
46. Uzun S., Alpsoy E., Durdu M., Akman A. The clinical course of Behçet's disease in pregnancy: a retrospective analysis and review of the literature. *J Dermatol* Jul, 2003;30(7), 499-502
47. Köse A.A. Behçet Hastalığının Gebelikteki Seyri. *Türkderm* 2003;37(1), 37-40
- 48-Evereklioğlu C. Current concepts in the etiology and treatment of Behçet's disease. *Surv Ophthalmol* Jul-Aug, 2005;50(4), 297-350
- 49-Criteria for diagnosis of Behçet's disease. International Study Group for Behçet's Disease. (1990): *Lancet* May, 5, 335(8697), 1078-80
- 50- Yazıcı H, Başaran G, Hamuryudan V. The ten year mortality in Behcet's syndrome. *Br J Rheumatol* 1996;35:139-41.
- 51-Seyahi E. Behçet Hastalığında Prognoz. *Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri İmmunoloji Romatoloji Dergisi* 2005;59-63

- 52-Kural-Seyahi E., Fresko D., Seyahi N. et al. Hamuryudan The long-term mortality and morbidity of Behçet's syndrome: a 2-decade outcome survey of 387 patients followed at a dedicated center. *Medicine(Baltimore)* Jan, 2003; 60-76
- 53-Akpolat T. Management of the patient with Behcet's disease. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:3002-3004.
54. Yazıcı H, Barnes CG. Practical treatment recommendations for pharmacotherapy of Behcet's syndrome. *Drugs* 1991;42:796-804.
- 55-Melikoglu M., Fresko I., Mat C., et al. Short-term trial of etanercept in Behçet's disease: A double blind, placebo controlled study. *J Rheumatol* Jan, 2005;98-105
- 56-Watanabe, N., M. Gavrieli, J. R. Sedy, et al. BTLA is a lymphocyte inhibitory receptor with similarities to CTLA-4 and PD-1. *Nat. Immunol.* 2003;670-679.
- 57- Ravetch JV, Lanier LL. Immune inhibitory receptors. *Science* 2000;290:8489.
- 58- Gavrieli M, Watanabe N, Loftin SK, Murphy TL, Murphy KM. Characterization of phosphotyrosine binding motifs in the cytoplasmic domain of B and T lymphocyte attenuator required for association with protein tyrosine phosphatases SHP-1 and SHP-2. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;1236-1243
- 59-Sedy JR, Gavrieli M, Potter KG. B and T lymphocyte attenuator regulates T cell activation through interaction with herpesvirus entry mediator. *Nat Immunol* 2005;90-98.
- 60-Han P, Goularte OD, Rufner K, Wilkinson B, Kaye J. An inhibitory Ig superfamily protein expressed by lymphocytes and APCs is also an early marker of thymocyte positive selection. *J Immunol.* 2004;5931-5939.

- 61-Hurchla MA, Sedy JR, Gavrieli M, B and T lymphocyte attenuator exhibits structural and expression polymorphisms and is highly induced in anergic CD4+ T cells. *J Immunol.* 2005;3377-3385.
- 62- Bretscher PA. A two-step, two-signal model for the primary activation of precursor helper T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:185–190.
- 63- Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol* 2005;23:515–548.
- 64- Freeman GJ, Wherry EJ, Ahmed R, Sharpe AH. Reinvigorating exhausted HIV-specific T cells via PD-1-PD-1 ligand blockade. *J Exp Med* 2006;203:2223–2227.
- 65- Cai G, Anumanthan A, Brown JA, et al. CD160 inhibits activation of human CD4+ T cells through interaction with herpesvirus entry mediator. *Nat Immunol* 2008;9:176–185.
- 66-Mauri DN, et al. LIGHT, a new member of the TNF superfamily, and lymphotoxin alpha are ligands for herpesvirus entry mediator. *Immunity* 1998;8:21–30.
- 67-. Wang Y, et al. The role of herpesvirus entry mediator as a negative regulator of T cell mediated responses. *J Clin Invest* 2005;115:711–717.
68. Montgomery RI, Warner MS, Lum BJ, Spear PG. Herpes simplex virus-1 entry into cells mediated by a novel member of the TNF / NGF receptor family. *Cell* 1996;87:427–436.
69. Ware CF. Targeting lymphocyte activation through the lymphotoxin and LIGHT pathways. *Immunol Rev* 2008;223:186–201.
- 70-P. Waterhouse, J. M. Penninger, E. Timms et al., “Lymphoproliferative

disorders with early lethality in mice deficient in Ctl $\alpha$ -4,” *Science*, vol. 270, no. 5238, pp. 985–988, 1995

71-H. Nishimura, T. Okazaki, Y. Tanaka et al., “Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice,” *Science*, vol. 291, no. 5502, pp. 319–322, 2001.

72- L. Prokunina, C. Castillejo-Lo’pez, F.O’ berg et al., “A regulatory polymorphism in PDCD1 is associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in humans,” *Nature Genetics*, vol. 32, no. 4, pp.2002; 666–669

73- G. K. Bertsias, M. Nakou, C. Choulaki et al., “Genetic, immunologic, and immunohistochemical analysis of the programmed death 1/programmed death ligand 1 pathway in human systemic lupus erythematosus,” *Arthritis and Rheumatism*, vol. 60, no. 1, pp. 2009;207–218

74- Y. H. Lee, Y. R. Kim, J. D. Ji, J. Sohn, and G. G. Song, “Polymorphisms of the CTLA-4 exon 1 and promoter gene in systemic lupus erythematosus,” *Lupus*, vol. 10, no. 9, pp. 2001;601–605

75- A. Iwata, N.Watanabe, Y. Oya et al., “Protective roles of B and T lymphocyte attenuator in NKT cell-mediated experimental hepatitis,” *Journal of Immunology*, vol. 184, no. 1, pp. 2010;127–133

76- L. C. Gonzalez, K. M. Loyet, J. Calamine-Fenaux et al., “A coreceptor interaction between the CD28 and TNF receptor family members B and T lymphocyte attenuator and herpesvirus entry mediator,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, no. 4, pp. 2005;1116–1121

- 77- Y. Oya, N. Watanabe, T. Owada et al., "Development of autoimmune hepatitis-like disease and production of autoantibodies to nuclear antigens in mice lacking B and T lymphocyte attenuator," *Arthritis and Rheumatism*, vol. 58, no. 8, pp.2008;2498–2510
- 78- S. C. Lin, C. C. Kuo, and C. H. Chan, "Association of a BTLA gene polymorphism with the risk of rheumatoid arthritis," *Journal of Biomedical Science*, vol. 13, no. 6, pp.2006;853–860
- 79- Keskinbora, H.K. Behçet hastalarında HLA doku antijenlerinin Değerlendirilmesi. *Retina-Vitreus*, 1996
- 80- Tao R, Wang L, Han R, et al. Differential effects of B and T lymphocyte attenuator and programmed death-1 on acceptance of partially versus fully MHC-mismatched cardiac allografts. *J. Immunol* 2005: 5774-5782.
- 81- Krieg C, Boyman O, Fu YX, Kaye J. B and T lymphocyte attenuator regulates CD8+T cell intrinsic homeostasis and memory cell generation. *Nat. Immunol.* 2007;162-171.

## 8.EKLER

### GÖNÜLLÜ FORMU

#### **Sayın Gönüllü;**

Bütün organları tutabilen, kronik, tekrarlayıcı, sistemik bir vaskülit hastalık olarak tanımlanan Behçet Hastalığı olan kişilerde hastalıkta sorumlu olduğu düşünülen BTLA gen polimorfizmi ile ilgili bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi “Elazığ ili ve çevresinde Behçet Hastalığı olan kişilerde BTLA gen polimorfizminin araştırılması”dır.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bu araştırmayı yapmak istememizin nedeni, Türkiye, 8-42/10.000 prevalansı ile hastalığın en sık olduğu ülkedir .Elazığ ili ve çevresinde de yaygın olarak görülmektedir. İnceleyeceğimiz BTLA gen polimorfizmi ise;şimdiye kadar Behçet Hastaları üzerinde çalışılmamış olması ve bu gen üzerindeki bozukluğa bağlı olduğuna inanmaktayız. Populasyonda kontrol grubu ve hasta grubu olacaktır.Kontrol grubunu sağlıklı kişiler oluşturacaktır. Behçet Hastalarında BTLA geninin farklı polimorfizmlerine sahip bireylerin belirlenmesi, allel frekanslarının saptanması, hastalıklara karşı yatkınlıkların belirlenmesi ve bu gen polimorfizminin Behçet Hastaları üzerinde etkili olup olunmadığı bulunmuş olacaktır ve bireylerin sağlıklı bir şekilde yaşamlarını sürdürebilmeleri için gerekli önlemlerin alınması açısından çalışmamız önem taşımaktadır.

Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesinin ve Fırat Üniversitesi Tıbbi Biyoloji A.D'nin ortak katılımı ile gerçekleştirilecek bu çalışmaya katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz ancak katılmayı kabul ettiğinizde katıldığınıza dair sizden bir imza alınacaktır.

Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahiptir. Yapacağımız çalışmanın maddi olarak desteklenmesi için FÜBAP'a başvurulacaktır. Çalışmaya Behçet Hastaları ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu bireylerin katılımı öngörülmektedir. Sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubundaki, Behçet Hastaları grubundaki bireyler çalışma hakkında bilgilendirilip, rızaları alındıktan sonra kan alınacaktır. Çalışmamız SGK'ya ek bir maliyet getirmeyecektir. Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz bulgular kaydedilecektir. Yine izniniz doğrultusunda bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 2 (iki) ml kadar kan almamız gerekmekte ve kilonuz, boyunuz, yaşıınız, kaç yıldır hasta olduğunuz ve doğduğunuz yer ile ilgili soruları cevaplamanız istenecektir. Behçet Hastalarından ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubundan alınan kan örnekleri EDTA'lı tüplerde ve -20 derecede muhafaza edilecektir. Muhafaza ettiğimizimiz kan örneklerinden DNA izolasyon kiti kullanılarak DNA ekstraksiyonu yapılacaktır. Elde edilen DNA'lar BTLA polimorfizmi için ilgili primerlerle "polimeraz zincir reaksiyonu"(polymerase chain reaction: PCR)yöntemi kullanılarak çoğaltılacaktır. PCR ürünleri, polimorfizmin tesbiti için jel elektroforezinde



yürütülerek değerlendirilecektir. Sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu ile diğer gruplar arasında allel ve genotip frekansları karşılaştırılacaktır. Bu nedenle Sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu allel ve genotip frekanslarındaki farklılıkların belirlenmesi açısından büyük önem arz etmektedir. Çalışmamızda, sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu ve diğer gruplardaki bireylerin sağlıkları, onurları ve mahremiyetleri korunacaktır. Bireylere ait bütün bilgiler gizli tutulacaktır.

Bu çalışmanın size ek bir yararı bulunmamaktadır. Çalışma için yapılan işlemlerin sizin sağlığınıza herhangi bir zararı olmayacaktır. Çalışmaya katıldığınız takdirde kolunuzdan 2 ml kan alınacaktır ve kilonuz, boyunuz, yaşınız, kaç yıldır hasta olduğunuz ve doğduğunuz yer ile ilgili soruları cevaplamanız istenecektir. Bu araştırmanın sonuçları yalnızca bilimsel amaçlar için kullanılacak ve kimliğiniz her zaman gizli tutulacaktır. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz ancak katılmayı kabul ettiğinizde katıldığınıza dair sizden bir imza alınacaktır.

#### **Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler:**

- 1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz.
- 2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

**Katılımcının/Hastanın Beyanı:**

Tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim). Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde

“katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

<b>Katılımcı</b>	<b>Görüşme Tanığı</b>	<b>Katılımcı ile görüşen hekim</b>
<b>Adı, Soyadı:</b>	<b>Adı, Soyadı:</b>	<b>Adı Soyadı, ünvanı:</b>
Adres:	Adres:	Adres:
Tel:	Tel:	Tel:
İmza:	İmza:	İmza:

## 9.ÖZGEÇMİŞ

<b>Adı Soyadı</b>	YASİN ÇETİN
<b>Doğum Yılı</b>	30/07/1985
<b>Yazışma Adresi</b>	Özalper Mh. T.Özal 1. Cd. Nilay Konutları A-Blok D:10 Merkez/MALATYA
<b>Telefon</b>	05453135384
<b>e-posta</b>	<a href="mailto:yasin8544@hotmail.com">yasin8544@hotmail.com</a>

## EĞİTİM

<b>Mezuniyet Yılı</b>	<b>Derece</b>	<b>Üniversite</b>	<b>Öğrenim Alanı</b>
2008	Lisans	İnönü ÜNİVERSİTESİ	Sağlık Memurluğu

## SÖZEL SUNUM

	<b>Sunum Adı</b>	<b>Yıl</b>
1	“Behçet Hastalarında BTLA Gen Polimorfizminin Tanımlanması” 22.ULUSAL İMMÜNOLOJİ KONGRESİ	2013