



T.C.

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RHOA/RHO-KİNAZ (ROCK) GEN POLİMORFİZMLERİNİN VE
ROCK1 VE ROCK2 GEN EKSPRESYONLARININ BEHÇET
HASTALIĞI İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Uzm.Ecz.Elif OĞUZ

DOKTORA TEZİ

FARMAKOLOJİ ENSTİTÜ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. A. Tuncay DEMİRYÜREK

Gaziantep

2012

ÖNSÖZ

Farmakoloji doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana destek veren kıymetli tez danışmanım Prof. Dr. A. Tuncay Demiryürek'e, tez çalışmalarım sırasında değerli vaktini ve bilimsel desteğini sunan Doç. Dr. Belgin Alaşehirli'ye, bilgi ve deneyimleri ile bana destek veren Farmakoloji Anabilim Dalının değerli öğretim üyesi hocalarıma en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Aynı zamanda çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı ve Romatoloji Bilim Dalı çalışanlarına da teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmalarım süresince her zaman bana destek veren ve yardımcı olan aileme, gösterdikleri sabır ve anlayıştan dolayı değerli eşim Prof. Dr. Halit Oğuz ve çocuklarım İrem ve Kerem'e teşekkür ederim.

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri

Birimi tarafından TF.10.19. no'lu proje ile desteklenmiştir. Teşekkür ederiz.

Uzm.Ecz. Elif Oğuz

Gaziantep, 2012

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğim ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışım olmadığını beyan ederim.

Uzm. Ecz. Elif Oğuz

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
BEYAN	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xii
RESİM LİSTESİ	xiii
ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Behçet Hastalığı.....	4
2.1.1. Epidemiyoloji	4
2.1.2. Etiyopatogenezi	5
2.1.2.1. İnfeksiyöz ajanlar.....	6
2.1.2.2. Isı şoku proteinleri (İŞP, <i>heat shock proteins</i>).....	6
2.1.2.3. İmmünolojik faktörler.....	7
2.1.2.3.A. Sitokinler.....	7
2.1.2.3.B. T hücreleri	7
2.1.2.3.C. Nötrofiller.....	8
2.1.2.3.D. Endotelial hücreler	8
2.1.2.4. Hemostaz	9
2.1.2.5. Oksidatif stres, antioksidatif savunma ve eser elementler	9
2.1.2.6. Çevresel faktörler.....	10
2.1.2.7. Genetik faktörler	10
2.1.2.7.A. HLA-B51	10
2.1.2.7.B. MHC Sınıf I zinciri ile ilişkili gen (MIC)	10
2.1.2.7.C. TNF geni	11
2.1.2.7.D. IL -1 geni.....	11
2.1.2.7.E. Faktör V geni.....	11

2.1.2.7.F. İnterselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) geni	12
2.1.2.7.G. Endotelial nitrik oksid sentaz (eNOS) geni.....	12
2.1.2.7.H. Ailesel akdeniz ateşi (MEFV) geni	12
2.1.2.7. I. Sitotoksik T lenfosit-ilişkili antijen-4 (CTLA-4) geni	13
2.1.2.7. İ. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) geni.....	13
2.1.3. Tanı	13
2.1.4. Klinik bulgular	14
2.1.4.1. Oral mukoza ülserleri.....	15
2.1.4.2. Genital ülserler	15
2.1.4.3. Deri belirtileri	16
2.1.4.3.A. Papülopüstüler lezyonlar.....	16
2.1.4.3.B. Eritema nodozum benzeri lezyonlar.....	17
2.1.4.3.C. Yüzeyel tromboflebit	18
2.1.4.3.D. Ekstraenital ülser.....	19
2.1.4.3.E. Paterji reaksiyonu	19
2.1.4.3.F. Diğer deri belirtileri	20
2.1.4.4. Göz tutulumu	20
2.1.4.5. Eklem tutulumu.....	21
2.1.4.6. Gastrointestinal tutulum.....	21
2.1.4.7. Nörolojik tutulum	22
2.1.4.8. Kardiyovasküler tutulum	22
2.1.4.9. Pulmoner tutulum	22
2.1.4.10. Diğer organ tutulumları	23
2.1.5. Tedavi	23
2.1.5.1. Topikal tedavi	23
2.1.5.1.A. Kortikosteroidler	23
2.1.5.1.B. Antimikrobiyal ajanlar	24
2.1.5.1.C. Diğerleri	24
2.1.5.2. Sistemik tedavi.....	24
2.1.5.2.A. Kortikosteroidler	24
2.1.5.2.B. Kolşisin	25
2.1.5.2.C. Rebamipid	25
2.1.5.2.D. Çinko sülfat.....	25
2.1.5.2.E. Dapson	25

2.1.5.2.F. Talidomid.....	25
2.1.5.2.G. Metotreksat	26
2.1.5.2.H. Azatiopürin	26
2.1.5.2.I. Siklofosfamid	26
2.1.5.2.İ. Siklosporin A.....	26
2.1.5.2.J. Mikofenolat mofetil.....	26
2.1.5.2.K. IFN- α	27
2.1.5.2.L. Anti-TNF- α	27
2.1.5.3. Kombine tedaviler	28
2.2. Rho/Rho kinaz	28
2.2.1. Rho proteinleri	28
2.2.1. Rho aktivitesinin düzenlenmesi	28
2.2.2. Rho/Rho kinaz yolağı	29
2.2.2.1. Rho-kinaz aktivasyonunun düzenlenmesi	30
2.2.2.2. RhoA/Rho-kinazın fizyopatolojik olaylardaki rolü	32
2.2.2.2.A. Vasküler kas tonusu	32
2.2.2.2.B. Solunum sistemi	35
2.2.2.2.C. Ürojenital sistem	35
2.2.2.2D. Göz	35
2.2.2.2.E. Tümör hücreleri.....	35
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	37
3.1. Hasta ve Kontrol Grubu	37
3.2. DNA Eldesi.....	37
3.3. Real-time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Çalışması.....	38
3.3.1. Real-time PCR	39
3.3.2. Analiz.....	43
3.4. Örneklerden mRNA Eldesi	43
3.5. cDNA Eldesi	44
3.6. Real Time PCR ile gen ekspresyonunun tespiti.....	45
3.7. İstatistiksel Analiz.....	47
4. BULGULAR	49
4.1. Genotip ve Alel Analizlerinden Elde Edilen Sonuçlar	50
4.2. Gen Ekspresyonu Sonuçları.....	83

5. TARTIŞMA ve SONUÇ	85
6. KAYNAKLAR	96

KISALTMALAR

APC	: Aktive olmuş protein kinaz C
Akt	: Protein kinaz B
BH	: Behçet hastalığı
CTLA-4	: Sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen-4
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
ERK	: Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz
ERM	: Ezrin-radiksin-moesin
Gİ	: Gastrointestinal
GM-CSF	: Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
HLA	: İnsan lökosit antijeni
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HSV	: Herpes simpleks virüsü
ICAM	: İnterselüler adezyon molekülü
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
IL-23R	: İnterlökin-23 reseptör
IL12RB2	: İnterlökin12 reseptör β 2
IŞP	: Isı şoku proteinleri
İD	: İnsersiyon/delesyon
MAPK	: Mitojenle aktive olmuş protein kinaz
MBS	: Miyozin bağlayıcı alt ünite
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein-1
MEFV	: Ailesel akdeniz ateşi
MHC	: Major histokompatibilite kompleks
MIC	: MHC sınıf I zinciri ile ilişkili gen
MİF	: Makrofaj migrasyon inhibitör faktörü
MLCP	: Miyozin hafif zincir fosfataz
PAA	: Pulmoner arter anevrizması
PAI-1	: Tip 1 plazminojen aktivatör inhibitörü

PKN	: Protein kinaz N
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
RBB	: Rho'nun bağlandığı bölge
ROS	: Reaktif oksijen radikalleri
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
SSS	: Santral sinir sistemi
TBARS	: Tiyobarbütirik asit reaktif substans
TGF	: Transforming büyüme faktörü
TIR	: Toll/İnterlökin reseptör
TIRAP	: TIR domeyni içeren adaptör protein
TNF	: Tümör nekroze edici faktör
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: BH'nin Uluslararası Çalışma Grubu Tanı Kriterleri	14
Tablo 2.2. Rho-kinaz için tanımlanan substratlar	31
Tablo 3-1. RhoA/Rho-kinazla ilişkili primerler	40
Tablo 3-2. PCR tepkime koşulları	42
Tablo 3-3. ROCK1-sense ve ROCK1-antisense primerleri	45
Tablo 3-4. ROCK2- sense ve ROCK2 -antisense primerleri	45
Tablo 3-5. PCR'da kullanılan Absolute QPCR karışım, Primer ve RNaz içermeyen su miktarları	46
Tablo 4.1. Hasta grubu ve kontrol grubunun demografik özellikleri.....	49
Tablo 4.2. Hastaların klinik özellikleri	50
Tablo 4.3. <i>ROCK1</i> geni rs35996865 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	51
Tablo 4.4. <i>ROCK1</i> geni rs111312709 (Thr792Ala) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	51
Tablo 4.5. <i>ROCK1</i> geni rs2271255 (Lys222Glu) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	52
Tablo 4.6. <i>ROCK1</i> geni rs2271255 (Lys222Glu) polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları.....	53
Tablo 4.7. <i>ROCK1</i> geni rs73963110 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	54
Tablo 4.8. <i>ROCK1</i> geni rs73963110 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları	55
Tablo 4.9. <i>ROCK1</i> geni rs112130712 (Lys1054Arg) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	56
Tablo 4.10. <i>ROCK1</i> geni rs112130712 (Lys1054Arg) polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları	57
Tablo 4.11. <i>ROCK1</i> geni rs11874856 (Val355Ile) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	58

Tablo 4.12. <i>ROCK1</i> geni rs11874856 (Val355Ile) polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları.....	59
Tablo 4.13. <i>ROCK1</i> geni rs112108028 (Pro355Leu) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	60
Tablo 4.14. <i>ROCK1</i> geni rs112108028 (Pro1164Leu) polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları	61
Tablo 4.15. <i>ROCK2</i> geni rs726843 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	62
Tablo 4.16. <i>ROCK2</i> geni rs2290156 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	63
Tablo 4.17. <i>ROCK2</i> geni rs965665 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	63
Tablo 4.18. <i>ROCK2</i> geni rs10178332 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	64
Tablo 4.19. <i>ROCK2</i> geni rs2230774 (Thr431Asn) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	65
Tablo 4.20. <i>ROCK2</i> geni rs2230774 (Thr431Ser) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	66
Tablo 4.21. <i>ROCK2</i> geni rs6755196 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	67
Tablo 4.22. <i>ROCK2</i> geni rs10929732 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	68
Tablo 4.23. <i>ROCK2</i> geni rs34945852 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	69
Tablo 4.24. <i>ROCK2</i> geni rs35768389 (Asp601Val) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	70
Tablo 4.25. <i>ROCK2</i> geni rs35768389 (Asp601Val) polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları	71
Tablo 4.26. <i>ROCK2</i> geni rs1515219 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	72
Tablo 4.27. <i>ROCK2</i> geni rs1515219 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları	73
Tablo 4.28. <i>RhoA</i> geni rs2878298 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	74
Tablo 4.29. <i>RhoA</i> geni rs6784820 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	75
Tablo 4.30. <i>RhoA</i> geni rs6784820 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları	76
Tablo 4.31. <i>RhoA</i> geni rs974495 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	77

Tablo 4.32. <i>RhoA</i> geni rs974495 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları	78
Tablo 4.33. <i>RhoA</i> geni rs2177268 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	79
Tablo 4.34. <i>RhoA</i> geni rs2177268 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları	80
Tablo 4.35. <i>RhoA</i> geni rs3448 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı	81
Tablo 4.36. <i>RhoA</i> geni rs3448 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları	82
Tablo 4.37. Kontrol grubu ve BH olan olguların kanlarındaki ROCK1 mRNA içeriğinin karşılaştırılması	83
Tablo 4.38. Kontrol grubu ve BH olan olguların kanlarındaki ROCK2 mRNA içeriğinin karşılaştırılması	84

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Rho aktivitesinin düzenlenmesi.....	29
Şekil 2.2. ROCK1 ve ROCK2'nin yapısı	30
Şekil 2.3. Rho/Rho kinaz yolağının endotelial disfonksiyondaki rolü	34
Şekil 3.1. Örneklerin rs2271255 ROCK1 bölgesine ait SNP sonuçları	43
Şekil 3.2. Real time PCR ile ROCK1 gen ekspresyonunun tespiti	46
Şekil 3.3. Real time PCR ile ROCK2 gen ekspresyonunun tespiti	47
Şekil 3.4. Real time PCR ile GAPDH gen ekspresyonunun tespiti.....	47
Şekil 4.1. Kontrol grubu (n=20 beyaz kolon) ile BH olan olguların (n=20 siyah kolon) periferik kanındaki ROCK1 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması	83
Şekil 4.2. Kontrol grubu (n=20 beyaz kolon) ile BH olan olguların (n=20 siyah kolon) periferik kanındaki ROCK2 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması	84

RESİM LİSTESİ

Resim 2.1 Alt dudak mukozasında, oval-yuvarlak, tabanı gri-sarı renkte, çevresi eritemli çok sayıda ülser	15
Resim 2.2. Erkekte sık görülen skrotuma yerleşmiş genital ülser	16
Resim 2.3. Gövde ön yüzünde eritemli bir zemin üzerine yerleşmiş çok sayıda papülopüstüler lezyon	16
Resim 2.4. Kadın hastada alt ekstremitelere lokalize, subkutan yerleşimli, 1-3 cm çaplı, eritemli ve üzerinde lokal ısı artışı olan eritema nodozum benzeri lezyon	18
Resim 2.5. Erkek bir hastada eritemli, hassas ve lineer bir dizilim gösteren subkutan, nodüler lezyonlarla karakterize yüzeysel tromboflebit	19
Resim 2.6. Koltuk altına lokalize, kenarları zımbayla delinmiş gibi keskin sınırlı ve ödemli, çevresi eritemli, tabanı sarı renkte ekstra-genital ülser	19
Resim 2.7. Pikür alanında 48. saatte gözlenen eritemli papül ve/veya püstül gelişiminin görüldüğü pozitif deri paterji testi	20
Resim 3.1. Assay ve örneklerin koyulduğu çip.....	41
Resim 3.2. Fluidgim IFC Controller HX cihazına çipin yerleştirilmesi	41
Resim 3.3. BioMark™ HD Sistemi.....	42

ÖZET

RHOA/RHO-KİNAZ (ROCK) GEN POLİMORFİZMLERİNİN VE ROCK1 VE ROCK2 GEN EKSPRESYONLARININ BEHÇET HASTALIĞI İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Elif OĞUZ

Doktora Tezi, Gaziantep Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji
Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. A. Tuncay DEMİRYÜREK

Nisan 2012, 127 sayfa

Bu çalışmanın amacı Türk toplumunda *RhoA*, *Rho-kinaz (ROCK)1* ve *ROCK2* gen polimorfizmlerinin ve bunun yanında *ROCK1* ve *ROCK2* gen ekspresyonlarının Behçet hastalığı (BH) ile ilişki olup olmadığını araştırmaktır. Çalışmaya 194 Behçet hastası ve benzer yaş ve cinsiyetteki 276 sağlıklı kontrol dahil edildi. Polimorfizmler genomik DNA'da, BioMark 96.96 Dynamic Array Sistem kullanılarak analiz edildi. *ROCK1* ve *ROCK2* gen ekspresyonu için kan örneklerinden mRNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra *real time* polimeraz zincir reaksiyonu uygulandı. *RhoA* geni rs6784820'in AG genotipi, A aleli, rs974495'in GA genotipi, rs2177268'in TA genotipi, rs3448'in T aleli BH olanlar ile kontrol grubu arasında anlamlı olarak farklı idi. *ROCK1* geni rs2271255'in TC genotipi, C aleli, rs73963110'un TC, CC genotipi, C aleli, rs112130712'nin TC genotipi, C aleli, rs111874856'nın CT genotipi, T aleli, rs112108028 (Pro1164Leu)'in GA genotipi, A aleli, *ROCK2* geni rs35768389 (Asp601Val)'un TA, AA genotipi, A aleli, rs1515219'un CT, TT genotipi, T aleli BH olanlar ile kontrol grubu arasında anlamlı derecede farklıydı ($p<0.05$). Bu polimorfizmler ile BH'nin klinik belirtileri arasında da anlamlı ilişki vardı. *ROCK1* geni rs35996865, rs111312709 (Thr792Ala), *ROCK 2* geni rs726843, rs2290156, rs965665, rs10178332, rs2230774, rs2230774 (Thr431Asn), rs2230774 (Thr431Ser), rs6755196, rs10929732, rs34945852 (Lys1083Met) ve *RhoA* geni rs2878298 polimorfizmleri alel ve genotip dağılımları BH olanlar ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi. BH olanlarda *ROCK2* mRNA ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$). *RhoA*, *ROCK1* ve *ROCK2* gen polimorfizmlerinin BH ile ilişkisi ilk olarak ortaya konmuştur. Bu polimorfizmler Türk popülasyonunda BH'ye bireysel yatkınlığı belirleyebilir. Bu çalışmayla BH için yeni bir gen bölgesi belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Behçet hastalığı, ekspresyon, polimorfizm, *RhoA*, *Rho-kinaz*.

ABSTRACT
INVESTIGATION OF THE ASSOCIATION BETWEEN
RHOA/RHO-KINASE (ROCK) GENE POLYMORPHISMS AND ROCK1
AND ROCK2 GENE EXPRESSIONS AND BEHÇET'S DISEASE

Elif OĞUZ

Ph.D. Thesis, Gaziantep University, Health Sciences Enstitute, Department of
Pharmacology

Supervisor: Prof. Dr. A. Tuncay DEMİRYÜREK

April 2012, 127 pages

The aim of this study is to investigate the association between *RhoA*, *Rho-kinase (ROCK)1* and *ROCK2* gene polymorphisms and also *ROCK1*, *ROCK2* gene expressions and patients with Behçet's disease (BD) in a Turkish population. A total of 194 BD patients and 276 healthy controls with similar age and sex were included to this study. Polymorphisms were analyzed in genomic DNA using a BioMark 96.96 dynamic array system. mRNA from blood samples was extracted, and real time polymerase chain reaction was performed for *ROCK1* and *ROCK2* gene expressions. AG genotype, A allele of rs6784820, GA genotype of rs974495, TA genotype of rs2177268, T allele of rs3448 for *RhoA* gene, TC genotype, C allele of rs2271255, TC, CC genotype, C allele of rs73963110, TC genotype, C allele of rs112130712, CT genotype, T allele of rs111874856, GA genotype, A allele of rs112108028 (Pro1164Leu) for *ROCK1* gene, TA, AA genotypes, A allele of rs35768389 (Asp601Val), CT, TT genotypes, T allele of rs1515219 for *ROCK2* gene were significantly different between patients and controls ($p<0.05$). There were significant associations between the genotype and allele frequencies of these polymorphisms and manifestations of BD. No marked associations were found with *ROCK1* gene rs35996865, rs111312709 (Thr792Ala), *ROCK 2* gene rs726843, rs2290156, rs965665, rs10178332, rs2230774, rs2230774 (Thr431Asn), rs2230774 (Thr431Ser), rs6755196, rs10929732, rs34945852 (Lys1083Met) and *RhoA* gene rs2878298 polymorphisms. There was a marked increase in peripheral blood mRNA *ROCK2* expressions in patients ($p<0.05$). The association between BD and *RhoA*, *ROCK1*, *ROCK2* gene polymorphism is showed firstly in this study. These polymorphisms may modify individual susceptibility to BD in the Turkish population. A new gene region with this study has been found to explain the pathogenesis of BD.

Key words: Behçet's disease, expression, polymorphism, *RhoA*, *Rho-kinase*.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Behçet hastalığı (BH), etiyolojisi ve patojenezi tam olarak bilinmeyen, hem ven hem de arterleri etkileyen sistemik bir vaskülitir. Vaskülitten dolayı artmış oksidatif stres ve endotel disfonksiyonu bulunmaktadır. BH'deki vasküler tutulum ve trombozun endotel hasar ve endotel işlev bozukluklarından kaynaklanabileceği kaydedilmektedir. Hastalıkta endotelden plazminojen aktivatörlerinin salınımında azalma, düşük plazma prostasiklin düzeyi, ciddi damar tutulumlu olgularda artmış Von Willebrand faktör düzeyinin görülmesi endotel tabakasının etkilendiğinin göstergeleridir.

Rho, GTPaz aktivitesine sahip GDP/GTP-bağlayıcı bir proteindir. Rho proteinlerinin hücre iskeleti değişikliklerinin düzenlenmesindeki anahtar hedeflerden birisi, Rho-kinaz (ROCK) olarak adlandırılan enzimdir. Vasküler endotel disfonksiyonda Rho/Rho-kinaz yolağının aktivasyonu da önemli rol oynar ve Rho-kinaz inhibitörleri birçok patolojik durumda endotel disfonksiyonunu önleyebilir.

Rho/Rho kinaz yolağının vasküler yapının organizasyonunda rolü olması ve BH'de temel patolojinin vaskülit olması bu hastalığın patojenezinde Rho/Rho kinaz yolağının rolü olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmayla, BH'de ROCK'un etkili olup olmadığını araştırmak ve Türk popülasyonunda RhoA genine ait 5, ROCK1 genine ait 7 ve ROCK2 genine ait 12 polimorfizmin BH ile ilişki olup olmadığını ortaya koymak amaçlanmıştır.

Yaptığımız literatür taramasında BH'de Rho/Rho kinaz ile ilişkili bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma, BH'de Rho/Rho kinaz gen polimorfizmlerinin ve ekspresyonunun rolünü araştıran ilk çalışmadır.

Bu çalışmadan elde edeceğimiz bulguların BH'nin etiyopatojenezine katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Behçet Hastalığı

BH ilk kez 1937 yılında, Hulusi Behçet tarafından tekrarlayan oral, genital ülserler ve hipopiyonlu iridosiklitten oluşan üçlü semptom kompleksi ile tanımlanmış, kronik, inflamatuvar bir hastalıktır (1). Zamanla BH'nin bu üçlü semptom kompleksinden ibaret olmadığı ve nörolojik, lökomotor, intestinal, ürojenital, kardiyopulmoner ve vasküler semptomlarla karakterize bir hastalık olduğu anlaşılmıştır (2,3). BH'de temel patolojinin endotelial hücre aktivasyonu ve/veya hasarı ile gelişen sistemik bir vaskülit olduğu düşünülmektedir (4).

2.1.1. Epidemiyoloji

Dünyada en sık ülkemizde görülen BH ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar az sayıdadır. Başta Akdeniz ülkeleri, Orta Asya, Uzak Doğu ülkelerinde görülen hastalık bu dağılımı nedeniyle 'İpekyolu Hastalığı' olarak da adlandırılmaktadır (5). Bu hastalığın Türkiye'ye oranla Asya'da 20-30 kez, Avrupa ve Amerika'da yaklaşık 150 kez daha az sıklıkta görüldüğü kaydedilmiştir (6).

Hastalığın ortalama başlangıç yaşının 28 olduğu belirtilmektedir. Farklı toplumlar açısından değerlendirme yapıldığında ise Türk hastalarda ortalama başlangıç yaşı 23,3 iken Almanya'da 26, Japonya'da ise 35,7'ye kadar yükseldiği kaydedilmiştir (5). BH çok nadir olarak çocukluk çağında da ortaya çıkabilmektedir. Bu oran Türkiye'de %2, İran'da ise %3 olarak kaydedilmiştir (7).

Kadın erkek dağılımı ile ilgili sonuçlar ise değişkendir. Akdeniz ülkelerinde erkek olgularda daha sık olduğu bildirilmekle birlikte, cinsiyet farklılığının hastalığın görülmesiyle ilişkili olmadığını bildiren çalışmalar da vardır. Geniş çaplı yapılan bir araştırmada Türk Behçet hastalarında erkek/kadın oranı 1.03 olarak bulunmuştur (8). Türkiye'de yapılan farklı çalışmalarda erken yaşta hastalık başlangıcı ve erkek cinsiyetin birlikte olmasının daha şiddetli hastalık seyri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (9,10). Erkek olgularda püstüler lezyonlar, oküler bulgular, vasküler

lezyonlar daha alevli seyrederken, kadın olgularda genital ülser ve eritema nodosum daha sık gözlenmektedir (11,12).

Asya Bölgesi'ndeki prevelans oranları Irak'da 17/100000 (13), İran'da 80/100000 (14), Japonya'da ise 22/100000 (15) olarak bildirilmektedir. Avrupadaki oranlar ise Almanya'da 1.47/100000 (16), İtalya'da 3.8/100000 (17), Fransa'da 2.4/100000 (18) olarak bildirilmektedir. Amerika'da yapılan bir çalışmada hastalığın sıklığı 0.38/100000 olarak kaydedilmiştir (19).

Türkiye'de BH ile ilgili geniş çaplı beş adet prevelans çalışması yapılmıştır. İlk alan çalışması İstanbul çevresindeki 9 bölgede 4940 kişide yapılmış ve bu çalışmada BH'nin prevelansının 80/100000 olduğu tespit edilmiştir (20). Daha sonra yapılan çalışmalara bakıldığında, Yurdakul ve ark. (21) Fatsa ilçesinde erişkin toplumda 370/100000, İdil ve ark. (22) Ankara'da Park Sağlık Ocağı Bölgesi'nde 10 yaş üzeri nüfusta 110/100000, Azizlerli ve ark. (23) İstanbul'da 420/100000 prevelans değerlerini kaydetmişlerdir. Son olarak, Çakır ve ark.'nın (24) Edirne kırsal alanında yaptığı çalışmada ise hastalığın prevelansının 20/100000 olduğu kaydedilmiştir. Elde edilen farklı sonuçların bölgesel ve etnik farklılıklardan kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Bütün bu veriler prevelansın Türkiye'de (80-420/100000) diğer ülkelere göre sık olduğunu göstermektedir.

2.1.2. Etiyopatogenezi

BH'nin etiyopatogenezi henüz kesin olarak ortaya konamamıştır. Genetik olarak bu hastalığa yatkın olan bir kişide çevresel faktörlerin varlığında, immün sistemin indüklenmesi sonucunda endotel hasarın olduğu ve BH'nin klinik bulgularının görüldüğü kabul edilmektedir. Genetik yatkınlıkla beraber çeşitli hücrelerden salınan proinflamatuvar sitokinlerin BH'de görülen artmış inflamatuvar reaksiyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir (25,26).

Hastalığın patojenezinde birçok faktörden bahsedilmektedir. İmmünolojik faktörlerin, inflamasyon mediyatörlerinin, streptokok ve herpes gibi infeksiyon ajanlarının, organik fosfat yapısındaki pestisitlerin patojenezde rol aldığı savunulmuş ancak tam olarak rolleri açıklanamamıştır. Birçok sistemi tutabildiği için hastalığın temelinde altta yatan immünolojik bozukluğun rolü olabileceği ve genetik yatkınlığı

olan kişilerde mikrobiyal ve çevresel etkenler sonucunda immün sistemde değişikliklerin oluştuğu, bunun da klinik semptomlara neden olduğu düşünülmektedir (27,28).

BH genel olarak ven ve arterleri tutan vaskülit olarak tanımlanmaktadır (4,25,28). Venöz tutulum hastalığın belirgin özelliğidir ve BH başlıca venöz tutulum ve tromboza eğilim ile diğer vaskülitlerden ayrılmaktadır. BH'deki vasküler tutulum ve trombozun endotel hasar ve endotel işlev bozukluklarından kaynaklanabileceği kaydedilmektedir. Endotel hücre disfonksiyonu, vasküler geçirgenlik, lökosit migrasyonu ve trombozda önemli rol oynamaktadır (29-33). Hastalığın patojenezinde rolü olabilecek başlıca faktörler aşağıda özetlenmiştir.

2.1.2.1. İnfeksiyöz ajanlar

BH infeksiyöz bulaşıcı bir hastalık değildir, ancak tetiklenme ve gelişmesinde çevresel faktörler olarak infeksiyöz ajanlar sorumlu tutulmaktadır. Behçet hastalarında Herpes simplex virüse (HSV) karşı T hücre aracılıklı immün cevapta bozukluk saptanmıştır. Hepatit C virüsü ve parvovirüs B19 infeksiyonunun da BH patojenezi üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Ancak bu konuda henüz yeterli veri bulunmamaktadır. BH etiopatojenezinde özellikle streptokokal infeksiyonlar (*S. sangius*, *S. fecalis*, *S. pyogenes*, *S. salivarius*) üzerinde durulmaktadır. BH'nin ortaya çıkmasında bu infeksiyonların direkt etkilerinden çok, infeksiyon sonrası oluşan immün sistem disfonksiyonu sorumlu tutulmaktadır (26,34).

2.1.2.2. Isı şoku proteinleri (İŞP, *heat shock proteins*)

Stres proteinleri olarak da adlandırılan İŞP, tüm prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde bulunan ve infeksiyon, travma, ısı gibi çevresel faktörler tarafından indüklenebilen stresle ilişkili immünoreaktif proteinlerdir. İŞP, anoksi, infeksiyon ya da toksik ajanlara temas sonucu hücrelerden salıverilen proteinlerdir. İŞP, BH'nin patojenezinde sorumlu tutulan streptokok ve mikobakteriler gibi mikroorganizmalar ile ortak antijenik epitoplara sahiptirler. BH'nin etiopatojenezinde sorumlu tutulan streptokoklarda 65 kDa İŞP olması ve bu proteine karşı oluşan IgG ve IgA antikorlarının Behçet hastalarının serumlarında belirlenmesi BH patojenezinde bu moleküllerin olası rollerinin olabileceğini göstermektedir (25,34,35).

2.1.2.3. İmmünolojik faktörler

2.1.2.3.A. Sitokinler

BH kronik zeminde akut ataklarla seyreden ve ataklar sırasında çok zengin sitokin salıverilmesinin izlendiği bir hastalıktır. Çok sayıda proinflamatuvar sitokin, kemokin ve özellikle T helper-1 tipindeki sitokinlerin hastalık aktivitesi ile ilgili olduğu gösterilmiştir (26).

Tümör nekroze edici faktör (TNF)- α çeşitli inflamatuvar hastalıkların patojenezinde rolü gösterilmiş olan önemli bir proinflamatuvar sitokindir. BH ile TNF promotor bölgesindeki aleller arasında ilişki bildirilmiştir (3,33). BH’de aktif olan monositler, nötrofil aracılı doku hasarına neden olan proinflamatuvar sitokinlerden İnterlökin (IL)-1, IL-6, IL-8, TNF- α ve granülosit makrofaj koloni stimüle eden faktörü (GM-CSF) üretirler. Bu sitokinler endotel hücreleri ile etkileşime girerek polimorfonükleer lökosit (PMNL) aktivasyonuna katkıda bulunurlar ve vasküler geçirgenliği artırarak, nötrofil kemotaksisine neden olurlar (35,36).

2.1.2.3.B. T hücreleri

BH’de artmış spesifik olmayan inflamatuvar reaksiyon sonucu oluşan nonspesifik hipersensitivite zemini üzerinde antijen aracılı immün cevap klinik tablolara neden olmaktadır. T hepler-1 tipi sitokin ekspresyon paterni gösteren oligoklonal T hücre ekspansiyonu BH klinik aktivitesi ile paraleldir. BH’de CD4/CD8 oranı düşmüştür. Bu durum esas olarak CD4 hücrelerde azalma ve buna reaktif CD8 hücrelerinde artış ile yorumlanmıştır. Hastalık belirtilerinin ortaya çıkmasında anormal supresor T hücre aktivitesinin önemi vurgulanmaktadır (26).

Behçet hastalarında proinflamatuvar mediyatörler olarak adlandırılan IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, IL-18, TNF- α ve interferon (IFN)- γ ’yı üreten Th1 lenfositlerin arttığı bildirilmiştir (25,37,38). BH lezyonlarının patojenezinde direkt Th1 fenotip lenfositlerin rolüne işaret eden IL-8, monosit kemoatraktant protein-1, IFN- γ ve IL-12 mRNA’nın ekspresyonunda belirgin artış gözlenmiştir (35).

2.1.2.3.C. Nötrofiller

Nötrofiller duyarlılaşmadan önceki immün sistemin önemli elemanlarıdır ve BH’de gösterilen immünolojik bozukluklardan biri de nötrofil hiperaktivasyonudur. TNF- α , GM-CSF ve IL-8 gibi sitokinler nötrofillerin çeşitli sitokine karşı daha duyarlı hale gelmelerine neden olurlar (35,36). T hücrelerin aktive olması ile nötrofil kemotaksisi, fagositozu ve superoksit yapımı artmıştır. Nötrofil hiperaktivitesinden Th1 kaynaklı IFN- γ , TNF- α , IL-8, IL-12, IL-17 ve IL-18 gibi sitokinlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir. BH’de nötrofillere spesifik primer defekt henüz bildirilmemiştir (26,39).

2.1.2.3.D. Endotelial hücreler

Vasküler tutulum BH’nin önemli bir komponentidir ve %9-40 oranında görülmektedir. BH’de tüm tip ve ebatlarda vasküler tutulum gözlenmesine rağmen venöz tutulum (%40) hastalığın belirgin özelliğidir ve BH başlıca venöz tutulum ve tromboza eğilim ile diğer vaskülitlerden ayrılmaktadır (26,30,31). BH’deki vasküler tutulum ve trombozun temelinde endotel hasarı ve endotel işlev bozuklukları bulunur. Dolayısıyla BH’nin temelinde endotel hücre disfonksiyonu bulunmaktadır (40,41). Endotel hücre disfonksiyonu vasküler geçirgenlik artışı, lökosit migrasyonu ve trombozda önemli rol oynamaktadır (36). Endotel hücrelerinin IL-1, TNF ve lipopolisakkaritler ile uyarılması sonucu meydana gelen nötrofil adezyonu, Behçet hastalarında sağlıklı bireylere göre daha fazladır. Aynı şekilde IL-8 ve diğer sitokinlerin de nötrofil aktivasyonundan sorumlu olduğuna dikkat çekilmiştir. Endotel kaynaklı gevşetici faktör olarak da bilinen nitrik oksit (NO), endotel hücreleri tarafından sitokin, IFN- γ , lipopolisakkarit ve endotoksin gibi immünolojik, infeksiyöz ve inflamatuvar uyarılar ile üretilmektedir (38,41). NO, trombosit adezyonunun inhibisyonu ve endotelial vazodilatasyonda rol alan, immünite ve inflamasyonun önemli bir mediyatörüdür (43). Yapılan son çalışmalar NO’nun BH seyrinde önemli olduğunu vurgulamaktadır. NO üretiminin bir göstergesi olarak serum nitrit ve nitrat düzeylerinin Behçet hastalarında azaldığı gösterilmiş ve eNOS geninin Glu298Asp polimorfizmlerinin BH’ye yatkınlık ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (44). Yıldırım ve ark. (45) ise aktif Behçet hastalarının serum NO metabolitlerinin düzeylerinin inaktif hastalara göre yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Yine başka çalışmalarda BH’de NO düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (46,47).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), özellikle makrofaj, nötrofil ve endotelyal hücrelerden salınan bir sitokindir. Anjiyojenez ve endotelyal hücreler için esansiyel bir mitojen olan VEGF'nin damar permeabilitesi üzerine önemli etkileri vardır. BH'de inflamatuvar hücrelerin, mitojenik etkisiyle vasküler endotel hücrelerde anjiyogenez ve vaskülojenenezisi modüle eden potent bir sitokin olan VEGF'yi üretebildiği kaydedilmektedir. VEGF'nin BH'de subklinik ateroskleroz için önemli bir belirteç olabileceği bildirilmiştir (48). VEGF serum düzeyinin aynı zamanda nörolojik tutulumu olan hastalarda yüksek olduğu bulunmuştur (49). BH'de artmış olduğu gösterilen TNF- α , IL-2R, IL-6 ve IL-8'in VEGF'yi artırıcı özelliği bilinmektedir. Dolayısıyla VEGF ile tetiklenen neovaskülarizasyon kronik inflamasyonda önemli rol üstlenmektedir (26).

2.1.2.4. Hemostaz

BH'de trombin-antitrombin III komplekslerinin yüksek bulunması, koagülasyon kaskadının tetiklendiğini düşündürmüştür. Faktör V Leiden mutasyonu idiyopatik sistemik venöz tromboz için bir risk faktörüdür ve %40'dan fazla sistemik venöz tromboz görülen BH ile ilişkilidir (50). Yapılan çalışmalarda Behçet hastalarında faktör V mutasyonunun yüksek olduğu ve bu mutasyonun oküler hastalık ve özellikle oküler vazooklüzyon gelişmesiyle ilişkili olduğu belirtilmiştir (29,50).

2.1.2.5. Oksidatif stres, antioksidatif savunma ve eser elementler

Behçet hastalarında aşırı süperoksit anyon üretimi, adenoazin deaminaz (ADA) aktivitesinde artış, hidrojen peroksidin (H_2O_2) indüklediği hidroksil radikali ve malondialdehit üretiminde de artış gösterilmiştir (51). Bu durum özellikle hastalığın şiddetlendiği dönemlerde olmak üzere, nötrofil aracılı immüniteye ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) miktarında artışı göstermektedir. Aktif Behçet hastalarının nötrofillerinin inaktif hastalara göre oksidatif hasara çok daha eğilimli olduğu bilinmektedir (35). Aktif BH'de nötrofillerin spontan olarak artmış oranda süperoksit radikali ürettiği görülmüştür. BH'de tiyobarbitürik asit reaktif substans (TBARS) düzeylerinde artma ve süperoksit dizmutaz (SOD) ile glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan enzim seviyelerinde azalma olduğu bildirilmektedir (46,52).

2.1.2.6. Çevresel faktörler

BH'nin dünya üzerinde belli coğrafik bölgelerde görülmesi araştırmacıları çevresel faktörlerin hastalıkla ilişkisini araştırmaya itmiştir. Hayvan modellerinde çeşitli kimyasalların, özellikle organofosfat, organoklorür ve inorganik bakır bileşenlerinin BH'ye benzer mukokütanoz sendroma yol açtığı gösterilmiştir (53).

2.1.2.7. Genetik faktörler

Hastalığın dağılımının coğrafi bölgelere göre değişmesi ve ailesel eğilimin olması BH'nin patojenezinde genetik faktörlerin önemli olduğunu düşündürmektedir. BH'de rolü olabileceği bildirilen faktörler ve genetik araştırmalar aşağıda özetlenmiştir.

2.1.2.7.A. İnsan lökosit antijeni (*human leukocyte antigen*, HLA)-B51

HLA-B51 major histokompatibilite kompleks (MHC) 6. kromozomun kısa kolunda yer alır ve T hücrelerine antijen sunumundan sorumlu çok sayıda HLA'nın kodlanmasından sorumludur. Yazıcı ve ark. (54) Türk popülasyonunda, Mizuki ve ark. (55) Japon, Yunan ve İtalyan Behçet hastalarını içeren araştırmalarında her üç etnik grupta da, Houman ve ark. (56) Tunus popülasyonunda HLA-B51 geni ile BH arasında ilişki olduğunu, bu genin hastalığa eğilimi artırdığını kaydetmişlerdir. HLA-B5101 ve HLA-A26 polimorfizmlerinin birbirinden bağımsız olarak BH patojenezine katıldığı gösterilmiştir (57). HLA-B51'in genelde Akdeniz ülkeleri ve Japonya'da BH ile ilişkili olarak yüksek olduğu belirtilmektedir (58). HLA-B51 pozitifliğinin BH'nin görüldüğü toplumlarda genel prevalansın %10-20'de görülmesi, HLA-B51'in tek başına patojenezi açıklayamayacağı, patojenezde çevresel faktörlerin ya da başka genlerin de rolü olabileceğini göstermektedir (5).

2.1.2.7.B. MHC Sınıf I zinciri ile ilişkili gen (MIC)

MHC Klas I ile ilişkili genlerden olan MIC geni kromozom 6'nın üzerinde HLA-B genine 46 kb santromerik olarak, TNF ve HLA-B genleri arasında lokalize olmuştur. BH'de mukozal lezyonların sık rastlanması ve genin yerleşimi nedeniyle MIC-A'nın BH patojenezinde rol oynayabileceği düşünülmüştür. Japon BH olanlarda MIC-A geninin A6 alelinin anlamlı olarak yüksek olduğu ve BH'de MIC-A geninin HLA-B'ye göre öncelikli bir etkisinin olabileceği öne sürülmüştür (59). Yunan toplumunda yapılan diğer bir çalışmada da MIC-A A6 alelinin BH olanlarda anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (60). Daha sonra bu molekülün hücre dışı kısmını

kodlayan ve Behçet hastalarında daha yüksek oranda pozitif saptanan MIC-A 009 aleli tanımlanmıştır (61). Stratifikasyon analiz çalışmaları, MIC-A A6 ve MIC-A 009'un BH patojenezinde doğrudan sorumlu olmadığını, HLA-B51 ile güçlü "*linkage disequilibrium*" bağlantısı içinde olduklarını göstermiştir (62,63).

2.1.2.7. TNF geni

TNF, inflamasyonla seyreden hastalıklarda önemli rolü olan proinflamatuvar bir sitokindir. TNF geni lokasyonunun HLA-B51'e yakın bölgede olması TNF polimorfizminin BH'de rolü olacağını düşündürmüştür. BH ile en güçlü ilişki -1031C aleli ile gösterilmiştir. Park ve ark. (64), Akman ve ark. (65), Kamoun ve ark. (66) TNF- α -1031C polimorfizmini BH'ye yakınlıkla ilişkili bulmuşlardır. Park ve ark. (64) TNF- α -1031C polimorfizminin yanında TNF- α -863A, -857C ve -308G alellerinin de BH ile ilişkili olduğunu kaydetmişlerdir. Bu alellerin hastalığa yakınlıkta rolü olduğu belirtilmektedir. Son olarak Touma ve ark.'nın (67) yapmış olduğu meta analiz çalışmasında -308, -238, -863, -857 ve -1031 bölgelerinde TNF geni polimorfizmleri ile BH arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve toplam 13 çalışmadaki veriler doğrultusunda -1031C, -238A ve -857T alellerinin BH ile ilişkili olduğu kaydedilmiştir.

2.1.2.7. D. IL -1 geni

IL-1, TNF gibi akut ve kronik inflamasyonda rol alan önemli bir sitokindir. IL-1 genleri 2. kromozomda birbirine yakın bir şekilde yer alırlar. IL-1A -889C aleli ve IL-1A-889/IL-1B+5887 haplotipi BH ile ilişkili bulunmuştur (68).

2.1.2.7. E. Faktör V geni

Aktive olmuş protein kinaz C (APC) rezistansı, en sık görülen venöz tromboz ile ilişkili kalıtsal koagülasyon defektidir. APC rezistansının moleküler temelini Faktör V geni nokta mutasyonu (Faktör V Leiden, G1691A) olduğu gösterilmiştir. (69). BH'de trombozun nedeni tam olarak açıklanamamıştır. Faktör V ile ilişkili olabileceğinden yola çıkılarak yapılan bir çalışmada Türk popülasyonunda Faktör V G1691A mutasyonunun BH ile ilişkili olduğu bulunmuştur (29). Diğer bir çalışmada Faktör V Leiden mutasyonunun BH olan olgularda göz bulguları olanlarda daha yüksek olduğu ve göz bulguları olan grup içinde de retinal vasküler oklüzif hastalığı olanlarda bu mutasyonun daha sık olduğu kaydedilmiştir (50). Son zamanlarda

yapılan bir çalışmada ise İtalyan popülasyonunda Faktör V H1299R mutasyonunun BH'de venöz trombus ile çok zayıf bir ilişki gösterdiği kaydedilmiştir (70).

2.1.2.7.F. İnterselüler adezyon molekülü (ICAM) -1 geni

ICAM-1 aktive vasküler endotel yüzeyinden eksprese olan ve lökosit trafiğinde önemli rol oynayan bir mediyatördür. ICAM-1 19. kromozomda yer alan tek bir gen tarafından kodlanır. Günümüze kadar en az iki polimorfik bölge (kodon 241 ve 469) saptanmıştır. Filistin ve Ürdün bölgesindeki Behçet hastalarında yapılan bir çalışmada ICAM-1 E469 aleli ile BH arasında ilişki olduğu, bu ilişkinin oküler hastalığın başlamasını etkilemediği kaydedilmiştir (71). Diğer bir çalışmada ICAM-1 K469E polimorfizmi İtalyan BH olanlarda anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve ICAM-1 469E sıklığının deri lezyonları, genital ülser, vaskülit, oküler lezyon ve artritli olgularda daha fazla olduğu tespit edilmiştir (72). Lübnan popülasyonunda yapılan bir diğer çalışmada ICAM-1 geni 469K polimorfizminin BH için risk faktörü olabileceği kaydedilmiştir (73).

2.1.2.7.G. Endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) geni

Nitrik oksit (NO), vazodilatasyona neden olan, trombosit ve lökosit adezyonunu önleyen ve böylece trombozun önlenmesinde rol alan bir mediatördür. NO, eNOS tarafından L-arjinin'den sentezlenir. eNOS'un fonksiyon bozukluğu NO'nun azalmasına neden olur. Behçet hastalarında serum NO düzeylerinin özellikle aktif dönemde azaldığı saptanmıştır. Düşük NO düzeyleri BH'deki vaskülit ve tromboz eğilimi ile ilişkili gibi görünmektedir (74). Salvarani ve ark. (44) İtalyan Behçet hastalarında eNOS Asp298 alelin BH ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Öksel ve ark. (75) eNOS Glu298Asp polimorfizmi ile BH arasında ilişki olduğunu fakat bu polimorfizm ile BH'nin klinik belirtileri ile ilişkili olmadığını kaydetmişlerdir. Ben Dhifallah ve ark. (76) eNOS'taki Glu298Asp polimorfizminin BH'ye yakınlıkla ilişkili olduğu bulunmuştur. Dursun ve ark. (77) NOS geni intron 4 VNTR polimorfizminin BH ile anlamlı ilişkisi olduğunu ve bunun daha çok göz bulgularında gözlemlendiğini kaydetmişlerdir.

2.1.2.7.H. Ailesel Akdeniz ateşi (MEFV) geni

Ailesel Akdeniz ateşi MEFV genindeki mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkan otozomal resesif bir hastalıktır. BH ile ortak klinik özellik ve coğrafi dağılımlar

göstermektedir (78). MEFV geni M694V ve V726A mutasyonun BH ile ilişkili olduğu saptanmıştır (79).

2.1.2.7.I. Sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen-4 (CTLA-4) geni

CTLA-4 immünitinin düzenlenmesinde rol alır ve ekzon 1'deki CTLA-4 49A/G polimorfizmi birçok otoimmün hastalık ile ilişkili bulunmuştur. Türk toplumunda CTLA-4 49A/G polimorfizminin BH olanlar ile kontrol grubu arasında farklılık göstermediği, oküler bulgular ve eritema nodozum benzeri bulguların A aleli ve CTLA-4'ün ekzon 1'de 49. pozisyonunda A/A genotipi olanlarda daha yüksek sıklıkta gözlemlendiği belirtilmektedir (80). Bu bulgulardan yola çıkılarak bu polimorfizmin hastalığa yatkınlıkla ilişkisinin olmadığı, fakat hastalığın modifikasyonu ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır (81). Park ve ark.'nın (82) Kore popülasyonunda yapmış olduğu bir çalışmada ise CTLA-4 21661 GG genotipi ile BH arasında ilişki olduğu ve bunun yanında CTLA-4 21722 TC ve CTLA-4 21722 CC genotiplerinin oküler bulgusu olan Behçet hastalarında daha yaygın olduğu kaydedilmiştir.

2.1.2.7.İ. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) geni

VEGF, özellikle makrofaj, nötrofil ve endotelial hücrelerden salınan bir sitokindir. BH'de inflamatuvar hücrelerin VEGF üretebildiği kaydedilmektedir (26). BH ile VEGF +936 C/T (rs3025039) ve -634 C/G (rs2010963) mutasyonları ile 2549 promotör bölgesindeki 18 baz çiftindeki insersiyon/delesyon (ID) polimorfizmi arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada İtalyan popülasyonunda I aleli ve 634C taşıyanlarda BH gelişmesinde yatkınlık olduğu tespit edilmiştir (83). Kamoun ve ark.'nın (84) Tunus popülasyonunda yapmış oldukları bir çalışmada ise VEGF ID polimorfizmini BH ile doğrudan değil, hastalıkta görülen oküler bulgularla ilişkili bulmuşlardır.

2.1.3. Tanı

BH'de kesin tanı koydurucu laboratuvar ve histopatolojik bulgular yoktur. Tanı klinik bulgularla konmaktadır. Ülkemizde Uluslararası Çalışma Grubu'nun belirlediği kriterlere göre tanı konmaktadır (85). BH Uluslararası Çalışma Grubu'na göre BH tanısı koymak için tekrarlayıcı oral ülserlerin yanında kriterlerden en az ikisinin bulunması gerekmektedir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: BH'nin Uluslararası Çalışma Grubu Tanı Kriterleri

Tekrarlayan oral aft bir yıl içerisinde en az üç defa tekrarlayan ve hekim tarafından tespit edilen minör, majör aftöz veya herpetiform lezyonlar ve aşağıdakilerden ikisi;
Tekrarlayan genital ülser: Hekim ya da hasta tarafından gözlenen aftöz ülser ya da skar
Göz lezyonları: Anterior üveit, posterior üveit, yarı lamba ile vitreusta hücre ya da retinal vaskülit
Cilt lezyonları: Hekim ya da hasta tarafından gözlenen eritema nodozum, psödo folikülit ya da papülopüstüler lezyonlar
Paterji pozitifliği: Hekim tarafından 24-48 saatte değerlendirilen

2.1.4. Klinik bulgular

BH tekrarlayan oral aft, genital ülserler ve iridosiklit üçlü semptom kompleksi olarak tanımlanmış ve daha sonra farklı organların da tutulduğu gözlenmiştir. Hastalığın klinik bulguları mukokütanöz, kas-iskelet, oftalmolojik, vasküler, santral sinir sistemi (SSS) ve diğer organ tutulumlarını içermektedir (40,86). Deri ve mukoza belirtileri, BH'nin başlangıcında ya da herhangi bir döneminde en sık saptanan ve hastalığın tanısında çok önemli rolü olan bulgulardır. Oral (%92-100) ve genital ülserler (%57-93), deri belirtileri (%38-99), göz belirtileri (%29-100) ve eklem bulguları (%16-84) hastalığın görüldüğü tüm ülkelerde en sık saptanan semptomlardır. Eritema nodozum benzeri lezyonlar (%15-78) ve papülopüstüler lezyonlar (%28-96) ise hastalığın en sık gözlenen deri belirtileridir. Hastalığın en sık başlangıç semptomu hemen tüm dünyada oral ülser olarak bildirilmiştir (%47-86) (86). Ayrıca genital ülser (%0-18) ve deri belirtilerinden özellikle eritema nodozum benzeri lezyonlar da (%0-19) başlangıç semptomu olarak saptanabilmektedir. Deri paterji reaksiyonu hastalığa özgü bir bulgudur. Ancak coğrafik olarak belirgin farklılıklar göstermekte ve pozitifliği toplumdan topluma değişmektedir (%6-71) (6,87).

2.1.4.1. Oral mukoza ülserleri

Yılda en az üç kez tekrarlama özelliği gösteren oral ülserler BH için en önemli bulgudur ve hemen her hastada görülür. Oral ülserler genellikle hastalığın ilk belirtisi olarak belirmektedir ve hastalığın sistemik semptomları ortaya çıkana kadar yıllarca tek bulgu olarak kalabilmektedir (4,7,40). Oral ülserler genellikle ayda bir veya birkaç kez tekrar edebilir. Sıklıkla yanak mukozası, dil, diş eti ve yumuşak damakta görülür (Resim 2.1). Minör, majör ve herpetiform olarak üç tip oral ülser gözlenir. Minör ülserler, en sık görülen oral lezyon olup, 2-4 mm yuvarlak veya oval, üzeri gri-sarı renkli psödomembran ile örtülü, etrafı eritemli, ödemli yüzeysel ülserlerdir. Oral ülserlerin %80'ini oluştururlar. Minör ülserler 1-2 gün içinde gelişirler ve iz bırakmadan 10-15 günde iyileşirler (85,88). En çok dudak, yumuşak damak ve farenkste yerleşen majör ülserlerin ise çapları 10 mm'den büyük olup, etrafı eritemli, ortasında gri yeşilimsi nekroz bulunan lezyonlardır. Daha derin ve ağrılıdır. Skatris bırakarak iyileşirler. Tüm oral ülserlerin %10'unu oluştururlar. Herpetiform olanlar, klinik görünüşleri nedeniyle bu isimle tanımlanmış olup, sayıları 100'e ulaşan, çapları genellikle 2-3 mm olan gruplar halinde ufak ülserler şeklindedir. Daha nadir görülen herpetiform ülserler, genellikle skatris bırakmadan iyileşir ve nadir görülen ülserlerdir (86).



Resim 2.1. Alt dudak mukozasında, oval-yuvarlak, tabanı gri-sarı renkte, çevresi eritemli çok sayıda oral ülser (86).

2.1.4.2. Jenital ülserler

Behçet hastalarının %57-93'ünde gözlenen ve BH'yi karakterize eden en önemli bulgulardandır. Genellikle papülopüstül şeklinde başlar ve hızla ülsere olarak kısa bir süre içinde ağrılı ülserlere dönüşürler. Jenital ülserler morfolojik olarak oral ülserlere benzemelerine karşın daha geniş ve daha derin yerleşimlidir (Resim 2.2) (6,7,86).

Jenital ülserlerin görülme sıklığı kadınlarda daha fazladır ve anatomik yapıdan dolayı kadınlarda ikincil infeksiyonlara yatkınlık fazladır (8).



Resim 2.2. Erkeklerde sık görülen skrotuma yerleşmiş genital ülser (86).

2.1.4.3. Deri belirtileri

BH’de deri belirtileri hastalığın tanısında son derece önemlidir ve büyük çeşitlilik gösterir. Bunlar arasında papülopüstüller lezyonlar, eritema nodozum benzeri lezyonlar, yüzeysel tromboflebit, ekstrapenital ülser, paterji reaksiyonu ve diğer vaskülitik deri belirtileri sayılabilir (86).

2.1.4.3.A. Papülopüstüller lezyonlar

Klinikte en sık gözlenen deri belirtisi olup (%65-96) eritemli zeminde follikülit veya akneiform steril püstüllerle karakterizedir. Papül şeklinde başlayan lezyonlar 24-48 saat içinde püstüle dönüşürler ve sıklıkla gövde, alt ekstremiteler ve yüz bölgesine yerleşirler (Resim 2.3) (6,86,89).



Resim 2.3. Gövde ön yüzünde eritemli bir zemin üzerine yerleşmiş çok sayıda papülopüstüller lezyon (86).

Jorizzo ve ark. (90) papülopüstüller lezyonlarda vasküler histopatolojik değişikliklerin BH tanısında kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Yapılan bir çalışmada

folliküler lezyonlar da dahil edildiğinde bu belirtinin hastaların %96'sında bulunduğu, ancak kontrol grubunda da yüksek oranda gözlenmesi (%89) nedeniyle çok spesifik bir belirti olmadığı gösterilmiştir. Bu bulgu ışığında papülopüstüler lezyonların BH için çok spesifik belirti olmadığı sadece folliküler yerleşim göstermeyen papülopüstüler lezyonların dikkate alınması gerektiği ve özellikle bu lezyonların varlığında BH tanısı alacak hastalarda histolojik olarak lökositoklastik ya da nötrofilik vasküler reaksiyon varlığının gösterilmesi durumunda bu belirtinin tanı kriteri olarak değerlendirilmesinin doğru olacağı kanısına varılmıştır (86,89). Diri ve ark. (91) papülopüstüler lezyonların artriti olan hastalarda daha sık görüldüğünü, İlknur ve ark. ise (92) bu lezyonların klinik ayrımının oldukça zor olduğunu vurgulamışlardır.

2.1.4.3.B. Eritema nodozum benzeri lezyonlar

Kadınlarda daha sık gözlenen bu önemli deri belirtisinin, hastaların %15-78'inde bulunduğu bildirilmiştir (6). Eritema nodozum benzeri lezyonlar özellikle alt ekstremitelere (Resim 2.4), daha az sıklıkla kalça, kollar, yüz ve boyun bölgesine yerleşmiştir. Subkütan yerleşimli olan bu lezyonlar ağrılıdır ve bölgesel ısı artışı gösterir. Lezyonlar 2-3 hafta içinde ülserleşme göstermeden, yerlerinde pigmentasyon bırakarak kaybolurlar ve sıklıkla tekrarlarlar (86,93,94). Klinik olarak klasik eritema nodozumdaki ayırt edilmeleri oldukça zordur. Ancak eritema nodozum benzeri lezyonların daha derin yerleşimli olmaları, sınırlarının daha belirsiz olması, birleşerek plak oluşturma ve pigmentasyon bırakarak iyileşme eğilimi ayırıcı tanıda yardımcı olmaktadır (94). Histolojik olarak klasik eritema nodozumdaki farklı olarak hastaların diğer deri belirtilerinde olduğu gibi vaskülit ya da vasküler reaksiyon temel histopatolojik görünümü oluşturur (86).



Resim 2.4. Kadın hastada alt ekstremitelerde lokalize, subkutan yerleşimli, 1-3 cm çaplı, eritemli ve üzerinde lokal ısı artışı olan eritema nodozum benzeri lezyon (86).

2.1.4.3.C. Yüzeyel tromboflebit

BH'de olguların %9-25'inde venlerde daha sık olmak üzere hem arter hem de venlerde damar tutulumu vardır (95). Tromboflebit hastaların %20-40'ında, genelde erkeklerde bacakların yüzeyel veya derin ven tromboflebiti şeklinde görülür. Vena kava superior ve inferior gibi büyük ven tutulumları da gözlenebilir. En sık gözlenen venöz damar tutulum şekli yüzeyel tromboflebittir (%47.3). Sıklıkla eritema nodozum ile karıştırılabilirler. Hastalar eritemli, hassas ve lineer bir dizilim gösteren subkutan nodüler lezyonlara sahiptir (Resim 2.5). Ayrıca ateş, halsizlik ve kırgınlık gibi belirtiler eşlik edebilir (86,93,95).



Resim 2.5. Erkek bir hastada eritemli, hassas ve lineer bir dizilim gösteren subkütan nodüler lezyonlarla karakterize yüzeyel tromboflebit (86).

2.1.4.3.D. Ekstrajenital ülser

Hastaların %3'ünde gözlendiği bildirilmiştir. Lezyon klinik olarak hastalığın aftöz lezyonlarına benzer. Bacaklar, koltuk altları (Resim 2.6), meme, boyun, ayak parmak araları, inguinal bölge ve boyun gibi alanlara lokalize olabilir. Tekrarlama özelliği gösterebilir ve genellikle sikatris bırakarak iyileşir. Çocuk hastalarda da sık görülen ekstrajenital ülserler BH'nin en karakteristik ve spesifik lezyonlarından (86,93,94).



Resim 2.6. Koltuk altında lokalize, kenarları zımbayla delinmiş gibi keskin sınırlı ve ödemli, çevresi eritemli, tabanı sarı renkte ekstrajenital ülser (86).

2.1.4.3.E. Paterji reaksiyonu

Kan almak için iğne batırma gibi minör travmanın indüklediği bir inflamatuvar reaksiyondur. Behçet hastalarının ön kol derisine steril bir iğne batırılarak aranır. 24-48 saat sonra steril bir püstülün gelişmesi şeklinde gözlenir (Resim 2.7) (86). Histopatolojik olarak polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ile ilişkili olarak gözlenir (96). BH için oldukça spesifiktir, bundan dolayı tanı kriterleri arasında

sayılmaktadır. Ancak pozitif paterji testi, normal bireylerde de, nadiren spondiloartropatililerde ve IF- α ile tedavi edilen kronik miyelositer lösemili olgularda da görülebilir. Ayrıca Türk ve Orta Doğu’lu olguların %60’ndan fazlasında ve Japon olguların %44’ünde paterji pozitifliği gözlenirken, İngiltere ve Amerika’da yaşayan olgularda bu oranlar kadar sık görülmemektedir. Bu nedenler paterji pozitifliğinin tanı değerini düşürmektedir (86,97,98).



Resim 2.7. Pikür alanında 48. saatte gözlenen eritemli papül ve/veya püstül gelişiminin görüldüğü pozitif deri paterji testi (86).

2.1.4.3.F. Diğer deri belirtileri

BH’de gözlenen diğer deri belirtileri arasında piyoderma gangrenozum, eritema multiforme benzeri lezyonlar, palpe edilebilir purpurik lezyonlar, sublingual infarktlar, hemorajik büller, fronkül ve apseler sayılabilir (86,93). Deri belirtilerinin çeşitliliği son yıllarda bildirilen yeni olgularla artmıştır. Pernio benzeri deri belirtileri, poliarterit benzeri deri belirtileri ve akral yerleşimli papülonodüler lezyonlar bunlardan bazılarıdır. Daha çok olgu bildirimleri şeklinde olan bu yeni belirtilerin gerçekten hastalığa özgün ya da rastlantısal olup olmadığı bu konudaki yeni gözlemlerin sonucuna bağlıdır (86).

2.1.4.4. Göz tutulumu

En önemli organ tutulmalarından biri olan ve körlüğe kadar götürebilen göz belirtileri değişik popülasyonlar arasında %40-70 arasında görülmektedir. Genellikle BH’nin başlangıcından sonraki 2-3 yıl içinde ortaya çıkar ve olguların yaklaşık %20’sinde ilk belirti olarak ortaya çıkabilir. En sık gözlenen belirtiler, hipopiyon, posterior üveit, vitröz birikimleri, koryoidit ve retinittir. Görme kaybı en ciddi problemdir. BH’li olgular mutlaka bir oftalmolojist tarafından muayene edilmeli ve floresein anjiyografi, renkli Doppler görüntüleme ve fundoskopik muayenelerle de

retinal belirtiler araştırılmalıdır (35,99,100). Erkeklerde ve genç erişkinlerde göz tutulumu daha sık ve seyri daha ağırken, kadınlarda ve yaşlılarda daha seyrek ve daha hafiftir (8). Hastalığın gözdeki doğal seyri, alevlenmeler ve iyileşmeler şeklindedir. Alevlenmeler çoğu kez, bazen ön, bazen de arka üveit ağırlıklı panüveit ve/veya retinal vaskülit şeklinde ortaya çıkar. Tekrarlayan üveit ataklarını takiben çoğu olguda görsel kayıplara yol açan ve erkeklerde daha sık görülen çeşitli komplikasyonlar oluşmaktadır (100). Sekonder glokom, katarakt, kistoit maküler ödem, maküla dejenerasyonu, maküler delik, optik atrofi, retina dekolmanı ve fitizis bulbi olgularda izlenen ciddi komplikasyonlardır. Oküler BH'nin son döneminde ise tekrarlayan bu ataklar sonucu total optik sinir ve retina atrofisi/skatisleşmesi, damarlarda incelmek/kılıflanma ve sklerozan değişiklikler ile tam bir körlük gelişmektedir (4,35,100).

2.1.4.5. Eklem tutulumu

Birçok sistemik hastalıkta olduğu gibi BH'de da eklem tutulumu gözlenmektedir. Eklem tutulum insidansı %40-70 arasında değişmektedir. BH'nin tanı kriterleri arasında bulunmamasına rağmen artrit, oral ve genital ülserlerden sonra en sık görülen klinik bulgulardan birisidir (101,102). BH'de görülen artrit patojenezi bilinmemekte ve multisistemik hastalığın bir parçası olarak değerlendirilmektedir (103). Sıklıkla erozyon ve deformiteye yol açmaz ve tekrarlama eğilimindedir. Özellikle el ve ayağın küçük eklemlerinde eroziv artrit gelişmesi durumunda hastalığın romatoit artritten ayrılması zor olabilmektedir (102-104).

2.1.4.6. Gastrointestinal tutulum

BH'de gastrointestinal (Gİ) tutulum toplumlar arasında değişkenlik göstermektedir ve Japonya'da Türkiye'den çok daha sıktır. BH'nin Gİ tutulumu 'İntestinal BH', 'Entero-Behçet' olarak adlandırılmaktadır. BH'de dudaklardan anüse kadar tüm Gİ kanalında tutulum görülebilir (105,106). Gİ tutulum en sık ileoçekal bölge ve kolonda gözlenir. Tutulum sıklığı değişik ülkelerde farklı oranlardadır. Klinikte özofagus ülseri, mide, duodenum, ileum ve jejunumda ülserlerle karakterizedir. Kolonda da hemorajik ülserasyonlar olabilir (106,107).

2.1.4.7. Nörolojik tutulum

BH olgularının yaklaşık %1-5'inde SSS tutulumu gözlenir. Hemipleji, kranial sinir felçleri, vaskülitte bağlı periferik sinir tutulumu ve meningoensefalit en sık gözlenen nörolojik tutulumlardır. Nörolojik tutulum BH'nin en ciddi ve yaşam kalitesini düşüren klinik belirtilerinden birisidir ve 'Nöro-Behçet' olarak adlandırılmaktadır (108,109). Nörolojik tutulumda en sık görülen klinik bulgulardan birinin davranış sorunları olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada nöropsikolojik testlerle izlenen Behçet hastalarında, dikkat azalması ve bellek sorunları, azalmış motivasyon, kişilik değişiklikleri gibi frontal lob bulguları ile karakterize özel bir kognitif etkilenme saptanmıştır. Ayrıca bu hastalarda dil işlevleri, hesaplama, görsel/uzamsal (mekansal, şekilsel-uzaysal), soyutlama ve sorun çözme yetilerinin korunduğu belirtilmiştir (110). BH'de baş ağrısı, nörolojik tutulum olsun olmasın, özellikle kadınlarda daha sık olmak üzere, hastaların büyük bir kısmında görülmektedir. Nörolojik tutulumun bir belirtisi olup olmadığının saptanması ise önemlidir (108). Nörolojik tutulumun ataklar ve düzelmeler ile seyreden bir klinik gidişi vardır. Atak sayısı arttıkça prognoz kötüleşmekte ve sekel kalma riski artmaktadır (111). Bazı Behçet hastalarında subklinik nörolojik tutulum bulgularının olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle semptom göstermeseler bile hastaların nöro-Behçet gelişimi açısından periyodik olarak takip edilmeleri gerekmektedir (108,111).

2.1.4.8. Kardiyovasküler tutulum

BH'de damar tutulumu çoğunlukla genç ve erkek hastalarda gelişir. Her çaptaki damarlar tutulabilir. Arteriyal ve venöz tutulumun her ikisi de gözlenmekle beraber venöz tutulum daha sık görülür (112,113). Venöz tutulum, yüzeysel tromboflebit ya da alt ekstremitte ile karın ve göğüs içindeki büyük venlerin tutulumu (derin ven trombozu) şeklinde olmak üzere ikiye ayrılır. En sık alt ekstremitte venleri tutulur (113). Kalp tutulumu olarak endokardit, perikardit, miyokardit, akut miyokard infarktüsü, aort anevrizması, ventriküler tromboz, konjestif kardiyomiyopati, valvüler disfonksiyon bildirilmiştir (114).

2.1.4.9. Pulmoner tutulum

BH her çapta pulmoner arteri tutarak pulmoner arter anevrizması (PAA) ya da pulmoner arter oklüzyonu gelişimine neden olur. PAA, BH'nin en ölümcül komplikasyonudur. Çoğunlukla erkeklerde ve hastalığın ortalama 5. yılında görülür.

Sıklığı erkeklerde %4'e kadar çıkmaktadır. Venöz tutulum başta olmak üzere vücudun diğer bölgelerindeki damar tutulumu ile sıkı ilişki gösterir. Hemoptizi en sık görülen semptomudur (115). Özellikle PAA, BH'deki en önemli mortalite nedenidir ve sıklık açısından aort anevrizmasından hemen sonra gelir. BH, pulmoner arterit sonucunda PAA'ya yol açan tek vaskülitir (25).

2.1.4.10. Diğer organ tutulumları

Son yıllarda BH'de böbrek tutulumunun da hedef organlardan biri olduğu gösterilmiştir. Böbrek tutulumu glomerülonefrit, amiloidoz, böbrek damar tutulumu ve interstisyel nefrit şeklinde olabilir. Böbrek tutulumunun akılda tutulması ve rutin idrar incelemesi yapılması önerilmektedir (113,116).

2.1.5. Tedavi

BH'nin tedavisini topikal ve sistemik tedavi olarak ikiye ayırmak mümkündür (117).

2.1.5.1 Topikal tedavi

Bu tedavi BH ile rekürren aftöz stomatitinin klinik görünüm ve seyrinin benzemesinden yola çıkılarak uygulanmaktadır. Rekürren aftöz stomatit için önerilen tedavi yaklaşımları BH'deki oral ülserler için genelde geçerlidir. Diğer yandan topikal tedavilerin lokal etkili olduğu ve sistemik bir tedavinin parçası olarak ele alınmaları gerektiği unutulmamalıdır (117,118).

2.1.5.1.A. Kortikosteroidler

Topikal kortikosteroidli kremler, kortikosteroidli gargaralar (20 ml su içine 5 mg prednisolon günde 4 kez) veya inhalasyon yolu ile kortikosteroid kullanılması (triamsinolonun burun spreyi) oral ülserlerin tedavisinde tercih edilir. Bu ajanlar özellikle inflamasyonu baskılayarak etkili oldukları için inflamasyonun olduğu erken dönemde (tercihen ilk 5 gün) kullanıldıklarında etkili olabilmektedirler (7,117). Topikal kortikosteroidlerin genital ülserler için de kullanılabileceği, bu amaçla potent kortikosteroidli kremlerin tek başına ya da antiseptiklerle birlikte etkili olduğu kaydedilmektedir (118). Bunun yanında topikal midriyatik ajanlar ve kortikosteroidli göz damlalarının hafif oküler bulgulara faydalı olabileceği belirtilmektedir (7).

2.1.5.1.B. Antimikrobiyal ajanlar

Genel olarak mikroorganizmaların kontaminasyonunu ve ikincil infeksiyonları önlemek için kullanılırlar (118). Antiseptik olarak heksetidin, klorheksidin ve listerin kullanılmaktadır. Bu ajanların oral ülserlerin ağrı yakınmasında etkili olmalarına karşın iyileşme süresine etkileri tartışmalıdır (116). Bunun yanında yapılan bir çalışmada listerin rekürrent aftöz ülserasyonlarda ağrının yanında iyileşme hızı üzerine de etkili olduğu belirtilmiştir (119). Antibiyotiklerden, tetrasiklin kapsülleri (250 mg'lık kapsülleri 30 ml su içinde) oral ülser tedavisi için başka bir seçenektir. Tetrasiklin antibakteriyel, antimikoplazmal ve antifungal etkilerin yanında kemotaksisi de baskılamaktadır. Sefaleksinin 250 mg'lık preperatları da 30 ml su içinde çözündürülüp tetrasikline benzer şekilde kullanılabilir (7,118).

2.1.5.1.C. Diğerleri

Son zamanlarda topikal sükralfat süspansiyonların kullanımıyla oral ve genital ülser tedavisinde etkili sonuçlar bildirilmiştir (7). Alpsoy ve ark.'nın (120) yapmış olduğu bir çalışmada sükralfat tedavisinin oral ülserlerin sıklık ve iyileşme süresi, ağrı yakınmalarını, genital ülserlerin iyileşme süresi ve ağrı yakınmalarını azalttığı kaydedilmiştir. Antiinflamatuvar ajanlar olan benzidamin ve diklofenak genelde geçici bir analjezi sağlayarak oral ülserlerde ağrı yakınmalarını gidermek için kullanılabilirler. Lokal anestezi ajanlardan lidokain (%2-5), mepiolguin (%1.5), tetrakain (%0.5-1) jel veya mukozal merhemler şeklinde oral ülserlere bağlı ağrı ve rahatsızlık hissini gidermek için kullanılabilir. Bunun dışında koloni uyarıcı faktörlerin de lokal kullanımının oral ülser ve genital ülserlerin iyileşmesini hızlandırdığı ve ağrıyı giderdiği bildirilmiştir (117).

2.1.5.2. Sistemik tedavi

2.1.5.2.A. Kortikosteroidler

Özellikle deri ve mukoza belirtileri, akut üveit ve nörolojik tutulumda etkin bir seçenek olarak kullanılır. Ancak sistemik kortikosteroidlerin bilinen yan etkileri nedeniyle uzun süreli ve yüksek dozda kullanımları sakıncalı olmakta, üstelik hastalığın ataklarını ve gelişebilecek sekellerini önlemede etkisiz kalmaktadır. İlacın başlangıç dozu 20-60 mg/gün arasında değişir ve en az 4 hafta süreyle tek başına ya da kolşisin, interferon vb. ilaçlarla kombine edilerek verilebilir. Hemen hemen

hastalığın tüm belirtilerinde uzun yıllardan beri ve yaygın olarak kullanılan bir seçenektir (4,117).

2.1.5.2.B. Kolşisin

Kolşisin nötrofillerdeki artmış kemotaksis aktivitesini inhibe ederek antiinflamatuvar etkinlik gösterir. Kolşisinin, BH’de eritema nodozum ve artralji tedavisinde etkili olduğu, özellikle kadınlarda plasebo ile kıyaslandığında, mukokütanöz ve eklem semptomlarında düzelme yaptığı, erkek hastalarda ise sadece artrit üzerine etkili bulunduğu kaydedilmektedir (7,118).

2.1.5.2.C. Rebamipid

Antiinflamatuvar etkili bir ajan olan rebamipidin 300 mg/gün 3-6 ay süreyle uygulamasının oral ülserlerin sıklık ve ağrılarında azalma yaptığı gösterilmiştir (120). Bu sonuçtan yola çıkarak rebamipidin oral ülserlerin tedavisi ve rekürrensının önlenmesinde etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

2.1.5.2.D. Çinko sülfat

Son dönemlerde yapılan bir çalışmada çinko sülfatın mukokütanöz lezyonların klinik görünümünde iyileşme sağladığını kaydetmişlerdir (122).

2.1.5.2.E. Dapson

Kolşisine benzer şekilde nötrofillerdeki artmış kemotaksis aktivitesini inhibe ederek etkinlik gösterir. Kolşisine iyi bir alternatif olan dapsonun 100-150 mg’lık dozları hastalıkta etkili bulunmuştur. Ancak ilacın kesilmesini takiben hızla yeni ataklar gözlenmektedir. Yapılan çalışmalarda umut verici sonuçların olmasının yanında hasta sayısının ve kullanım süresinin kısa olduğu vurgulanmaktadır (118).

2.1.5.2.F. Talidomid

Jenital ve oral ülserlerde, papülopüstüler lezyonlarda etkili olmasına rağmen, teratojeniteye ve periferik nöropatiye sebep olması kullanımını sınırlandırmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri’nde ilacın erkek hastalarda ya da sterilize veya post-menapozal dönemdeki kadınlarda kullanımı kabul edilmiştir (117).

2.1.5.2.G. Metotreksat

Nörolojik tutulumda (123), göz bulgularında (124), şiddetli deri ve mukoza belirtilerinde (125) yararlı olduğu kaydedilmektedir. Yarar sağlaması için haftalık 7.5-20 mg dozlarında 4 hafta veya daha uzun süre kullanılmalıdır. Gebelik ve laktasyon dönemlerinde kullanımı önerilmez. Ciddi kemik iliği depresyonu, karaciğer fonksiyon bozukluğu, akut infeksiyonlar, gastrointestinal ülserler, böbrek yetmezliği gibi önemli yan etkileri vardır (118).

2.1.5.2.H. Azatiopürin

Azatiopürin hem hümmoral hem de hüccresel immüniteyi baskılayarak antiinflamatuvar etki gösterir. Azotiopürin göz belirtileri, artrit, oral ve jenital ülser ve tromboflebit tedavisinde kullanılabilir. Azotiopürinin göz bulgularının insidans, sıklık ve şiddetini azalttığı ve bunun dışında artrit, oral ve jenital ülserasyonda etkili olduğu gösterilmiştir (7,118).

2.1.5.2.I. Siklofosfamid

Hızlı etkili alkileyici bir ajan olan siklofosfamid özellikle göz tutulumu, hastalığın en şiddetli formları olan büyük damar tutulumu (pulmoner arter tutulumu vb.) ve nörolojik tutulumda kullanılmaktadır. Miyelosupresyon, pulmoner fibrozis, böbrek toksisitesi, hemorajik sistit, infertilite, malign hastalık gelişimi ve alopesi önemli yan etkileridir (118).

2.1.5.2.İ. Siklosporin A

Siklosporin A özgün olarak T lenfosit inhibisyonu yapar ve üveitte kullanılan en iyi seçeneklerden biridir. Siklosporin 2-5 mg/kg/gün dozunda göz ataklarının sayı ve şiddetini azaltır, görmeyi düzeltir. Etkisi hızlı başlar, ancak tedavi kesilince hastalık sıklıkla tekrarlar. Bunun yanında ciddi yan etkileri nedeniyle dikkatle kullanılması gereken bir ilaçtır. Böbrek yetmezliği, hipertansiyon ve nörotoksisite ilacın temel yan etkileridir (118).

2.1.5.2.J. Mikofenolat mofetil

İnozin monofosfat dehidrogenaz inhibitörü olan mikofenolat mofetil, B hücre ve T hücre fonksiyonlarını seçici olarak inhibe eder. Sonuç olarak hücre ve hümmoral kaynaklı immün cevapları baskılar (118). Yapılan bir çalışmada üveitte etkili olduğu

kaydedilmiştir (126). Diğer bir çalışmada ise mukokütanöz tutulumlarda etkili olmadığı belirtilmiştir (127). Mikofenolat mofetil genelde iyi tolere edilen bir ilaçtır. En önemli yan etkileri Gİ ve genitoüriner semptomlardır (118).

2.1.5.2.K. IFN- α

Son yıllarda IFN- α 'nın BH tedavisinde alternatif bir ilaç olabileceği fikri gittikçe artmaktadır. BH'de IFN'nin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber antiviral ve immünomodülatör etkilerinin rol oynayabileceği düşünülmektedir (118). Yapılan bir çalışmada haftada 3 kez toplam 3 ay süreyle 6 mikrounite IFN- α 2a tedavisi özellikle deri ve mukoza lezyonlarında etkili bulunmuştur. Kötter ve ark. (128) IFN- α 2a tedavisinin oküler vaskülitlerde iyileşme sağladığını göstermişlerdir. İnterferon kullanımında başlıca yan etkiler grip benzeri semptomlardır (ateş, üşüme ve baş ağrısı). Bu semptomlar tedaviyi takip eden birkaç saat içerisinde ortaya çıkar ve bir günden az sürer (118).

2.1.5.2.L. Anti-TNF- α

TNF- α BH'nin patojenezinde önemli rolü olan ve monosit ve lenfositlerce üretilen önemli bir sitokindir. Anti-TNF- α ajanlar genellikle klasik tedavilere yanıt vermeyen olgularda kullanılmaktadır. Anti-TNF- α tedavisi hastalığın hızlı ve dramatik gelişen hemen hemen tüm semptomlarını bastırır. Hastalık özellikle genç erkek hastalarda, yaşamsal organ tutulumu ile ilişkili olduğunda anti-TNF- α ajanlar potansiyel etkilerinden dolayı sağ kalım oranını artırmak ve hastalığın seyrini düzeltmek için kullanılabilir. Tedaviye dirençli olgularda mukokütanöz lezyonların tedavisinde yeni ve etkili bir seçenek gibi görünmektedirler (118). BH tedavisinde en sık kullanılan anti-TNF ajan infliksimabtır. İnfliksımab göz tutulumu başta olmak üzere SSS tutulumu, Gİ sistem (GİS) tutulumu, mukokütanöz bulgular, vasküler tutulum ve artrit tedavisi için kullanılmıştır. Diğer bir anti-TNF- α ajanı olan etanerseptinin ise mukokütanöz bulgulara etkili olduğu gösterilmiştir. Adalimumab üzerinde daha az çalışma yapılmış bir ajandır. Hemen hemen tüm çalışmalarda, oküler ve Gİ semptomlar, artrit ve serebral vaskülit yanında inatçı mukokütanöz lezyonlar için olumlu sonuçlar bildirilmektedir. Bununla birlikte yüksek maliyet, kullanımın enjeksiyonla olması, bazı toksik etkilerinin olması, ideal doz, sıklık ve uygulama süresinin belirlenmemiş olması bu ilaçların şu an birincil ilaç olarak kullanımlarını kısıtlamaktadır (4,129).

2.1.5.3. Kombine tedaviler

BH'nin seyri esnasında kombine tedavilerin yeri önemlidir. Bu tip tedaviler çoğunlukla kortikosteroid ve immünosüpresif, kortikosteroid ve siklosporin kombinasyonu şeklinde olabileceği gibi kortikosteroid ve antikoagülan kombinasyonu şeklinde de uygulanabilmektedir. Kombine tedaviler en çok sırası ile SSS tutulumu, oküler tutulum, vasküler tutulum, eklem tutulumu ve daha az olarak da mukokutanöz tutulumda uygulanmaktadır (4,118).

2.2. Rho/Rho kinaz

2.2.1. Rho proteinleri

Rho proteinleri monomerik GTP'azların Ras süperfamilyasının Rho subfamilyası üyeleridir. Rho geni ilk olarak 1985'de bir deniz salyangozu olan *Aplysia*'dan bir Ras homoloğu olarak klonlanmıştır (130). Memelilerde çeşitli izoformlarla birlikte on farklı Rho GTPaz tanımlanmıştır. Bunlar Rho (A, B, C izoformları), Rac (1, 2, 3 izoformları), Cdc42 (Cdc42Hs, G25K izoformları), Rnd1/Rho6, Rnd2/Rho7, Rnd3/RhoE, RhoD, RhoG, TC10 ve TTF olarak adlandırılmıştır. Rho, Rac ve Cdc42 özellikleri en iyi bilinen üyelerdir (131). RhoA, RhoB ve RhoC (genel olarak Rho olarak ifade edilir) benzer amino asit dizilişi gösterirler ve hücre içi hedefleri aynıdır (132,133). Rho'nun açıklanan birçok fonksiyonu RhoA ile yapılan çalışmalara dayanmaktadır. RhoA, vücutta en fazla bulunan ve en çok çalışılan bir Rho proteini alt tipidir (134,135). Rho ailesinin üyeleri (Rap, RaI ve RhoA, RhoB, RacI ve Cdc42'yi içeren Rho alt birimi) aktin hücre iskeletinin farklı konformasyonel formlarının düzenlenmesinde önemlidirler. Rho ailesinin üyelerinin, aktinin yeniden şekillenmesinin, farklı yönlerinin düzenlenmesindeki rolü, ilk olarak fibroblast büyüme faktörü uyarısına yanıt çalışmaları ile açığa çıkarılmıştır (136,137). Rho ailesinin üyeleri ile düzenlenen sinyal ileti yolları kanser, inflamasyon, bakteriyel infeksiyon ve arteriyel hipertansiyonu içine alan birtakım patolojik durumlarda önemli roller almaktadırlar (138,139).

2.2.1.1. Rho aktivitesinin düzenlenmesi

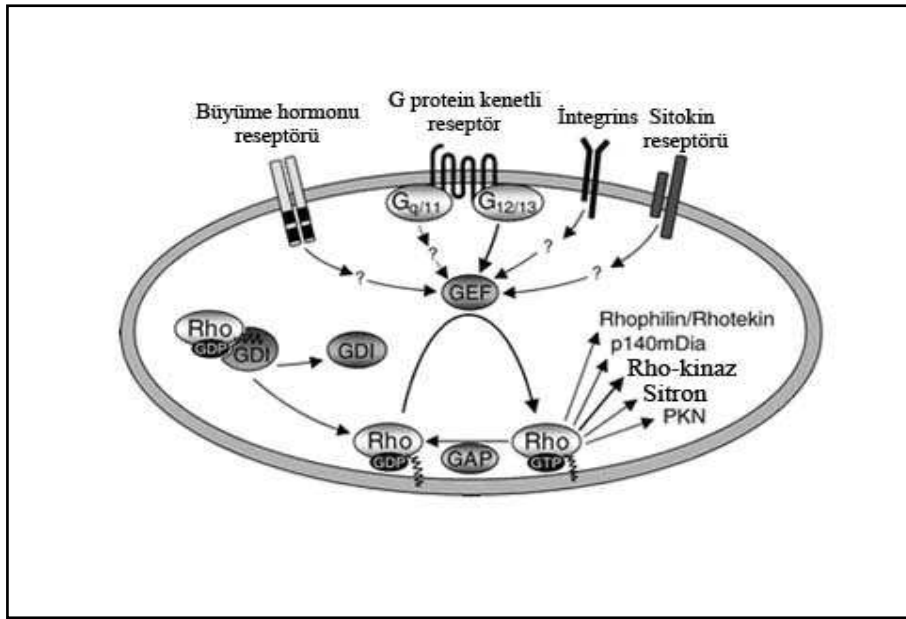
Küçük G proteinleri olan Rho alt tipleri GDP, GTP, GTP'az aktivitesi ve efektörleri ile etkileşen amino asit dizilimine sahiptirler. Küçük G proteinlerinin GDP-bağlı inaktif ve GTP-bağlı aktif olmak üzere birbirine dönüşebilen iki şekli vardır. Bu dönüşüm üç grup protein tarafından düzenlenir (Şekil 2.1). Bunlar:

1- GTPaz aktive edici proteinler (GAPs): Rho'nun intrinsik GTPaz aktivitesini artırarak GTP bağlı Rho'nun inaktivasyonunu kolaylaştırır.

2- GTPaz ayırıcı inhibitörler (GDIs): Bazı Rho ailesi GTPazlarının membrana bağlanmalarını inhibe eder. Nükleotid ayrılmasını ve böylece aktivasyonunu önler.

3- Guanin nükleotid değiştirici faktör (GEF): İnaktif GDP-Rho'yu aktif GTP-Rho'ya dönüştürür.

Rho'ya özgü GEF'ler, GDP ayrışmasını ve bunu izleyerek GTP bağlanmasını başlatarak Rho'nun aktivasyonunu artırırlar. Bundan sonra GTP-Rho, C-terminali kuyruğu aracılığıyla hücre membranına hedeflenir ve Rho-kinaz (ROCK), protein kinaz N (PKN), rhophilin/rhotekin, sitron, p140 mDia ve fosfolipaz D gibi alt efektörlerini aktive eder (Şekil 2.1) (140,141).



Şekil 2.1. Rho aktivitesinin düzenlenmesi (141)

GAP: GTPaz aktive edici protein, GDI: GTPaz ayırıcı inhibitör, GEF: Guanin nükleotid değiştirici faktör. PKN: Protein kinaz N.

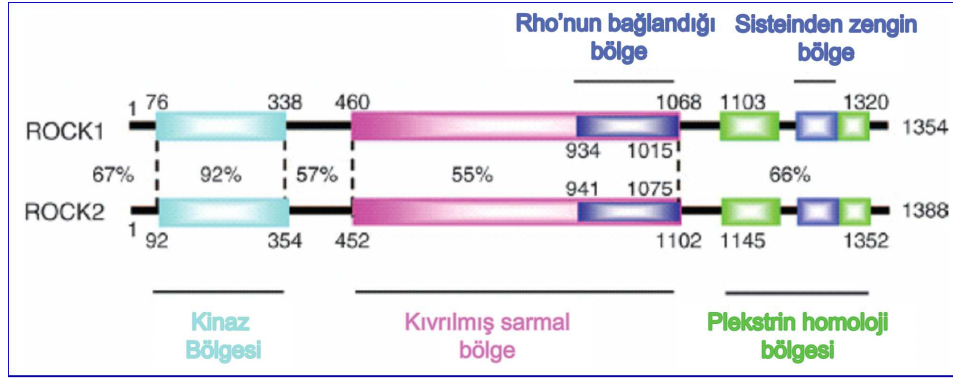
2.2.2.Rho/Rho-kinaz yolağı

Rho-kinaz bir serin/treonin protein kinazdır ve moleküler ağırlığı yaklaşık 160 kDa'dur. Rho-kinaz enziminin ROCK1 (ROCKI, p160ROCK, ROCK β , ROK β) ve ROCK2 (ROCKII, ROCK α , ROK α) olarak iki izoformu vardır (134,142). Her iki enzim tüm hücrelerde eksprese edilir. ROCK2'nin beyin ve kalpte, ROCK1'in

akciğer, karaciğer, dalak, böbrek ve testiste daha fazla eksprese edildiği bildirilmiştir. Rho-kinaz enziminin hemen hemen her dokuda varlığı gösterilmiştir (134,143). İnsan ROCK1 geni 18. kromozomda (18q11.1) ve ROCK2 geni 2. kromozomda (2p24) yerleşmiştir (144).

2.2.2.1. Rho-kinaz aktivasyonunun düzenlenmesi

Rho-kinazın N-terminalinde kinaz bölgesi vardır. Orta bölgesinde kuramsal olarak kıvrılmış sarmal (*coiled-coil*) bölge ve C-terminal bölgesinde plekstrin homoloji bölgesi bulunur. Rho-kinaz üzerinde Rho'nun bağlandığı bölge (RBB), enzimin kıvrılmış sarmal bölgesinin C terminalinde lokalize olmuştur. GTP-bağlı Rho'nun bu bölgeye bağlanması ile Rho-kinazın etkinliği artmaktadır (Şekil 2.2) (145).



Şekil 2.2. ROCK1 ve ROCK2'nin yapısı (145).

ROCK1: Rho-kinaz 1, ROCK2: Rho-kinaz 2.

ROCK, PKN, rhofilin, rhotekin, p14mDia ve sitron kinaz GTP-bağlayıcı küçük Rho proteininin efektörleridir (146). Bu efektör proteinler içinde en fazla araştırılan ve etkisi ortaya konan ROCK enzimidir. ROCK'un Rho dışında miyozin fosfatazin (MLCP) miyozin bağlayıcı altünitesi (MBS), ezrin- radixin-moesin (ERM) ailesi, addusin, vimentin ve LİM kinaz-1 gibi birçok substratı daha tanımlanmıştır (Tablo 2.2) (142).

Tablo 2.2. Rho-kinaz için tanımlanan substratlar

Substrat	Oluşan etki	Hücre yanıtı	Referans
MYPT1	MLCP'nin inhibisyonu	Hücre kasılmasında artış	143
MLC	Miyozin ATPaz'ın aktivasyonu	Hücre kasılmasında artış	147
ERM	ERM'nin aktivasyonu	Mikrovillüs oluşumu	148
Adducin	F-aktine bağlanmada artış	Hücre göçü	149
LIMK1/2	Kofilin fosforilasyonunun aktivasyonu	Stress liflerinin oluşumu	150
CPI-17	MLCP'nin inhibisyonu	Hücre kasılmasında artış	151
GFAP	Depolimerizasyon	Sitokin artışı	152
Vimentin	Depolimerizasyon	Sitokin artışı	153
CPI-17	MLCP'nin inhibisyonu	Hücre kasılmasında artış	151
P300	Asetil transferaz aktivitesinde artış	Transkripsiyon artışı	154

ROCK'un, miyozin fosfataz inhibisyonu aracılığı ile miyozin hafif zincir fosforilasyonunu artırdığı gösterilmiştir (143). Fosforilasyon için ortak amino asit zinciri R/KXS/T ya da KXXS/T (R:arjinin, K:lösin, X:herhangi bir amino asit, S:serin, T:treonin)'dir (155). ROCK2 spesifik olarak miyozin hafif zincirinin (MLC), miyozin hafif zincir kinaz (MLCK) tarafından fosforile edilen Ser19 rezidüsünü fosforile eder. Ek olarak ROCK'lar MLCP aktivitesi inhibisyonu yolu ile indirekt olarak MLC fosforilasyonunu düzenlerler. MLCP'nin inhibisyonunun primer olarak Ca^{+2} sensitizasyonuna katıldığı için ROCK2 düz kas hücrelerinin Ca^{+2} ile kontraksiyonunu etkileyebilirler. MLCP haloenzimi üç alt üiteden oluşur:

1. Katalitik alt ünite (PPI)
2. Miyozin bağlayıcı alt ünite (MBS)
3. Küçük katalitik olmayan alt ünite (M21)

Türlere bağılı olarak ROCK, MBS'yi 697. treonin, 854. serin ve 855. treonin amino asidinden fosforiller. Treoninin fosforilasyonu MLCP aktivitesini düşürür ve bazı örneklerde MLCP'nin miyozinden ayrılmasını inhibe eder. ROCK'lar aynı zamanda ezrinde 567., radiksinde 697. ve moesinde 558. treonin amino asitleri olmak üzere ERM proteinlerini fosforile eder. ROCK aracılı fosforilasyonu ERM proteinlerinin baş-kuyruk bağlantısının bozulmasına neden olur. ROCK1, kofilini fosforile eden LİM kinazın etkinliğini artıran LİM kinaz-1'i 508. ve LİM kinaz-2'yi 505. treonin amino asidinden fosforile eder. Kofilin aktin filamentlerinin *turnover*'ını düzenleyen aktin-bağlayıcı ve depolimerize edici bir proteindir (142,155). ROCK, MLCP'yi fosforile etmek suretiyle inhibe ederek vasküler çizgili kas hücrelerinin kasılmasına, stres liflerinin oluşumuna ve hücre göçüne aracılık eder (155). ROCK, Rho proteinlerinin hücre iskeleti değişikliklerinin düzenlenmesindeki anahtar hedeflerinden biridir. Hücreye Rho'yu aktive eden uyarılar geldiğinde veya Rho'nun aşırı ekspresyonu olduğunda ROCK sitoplazmadan membrana göç eder (157).

2.2.2.2. RhoA/Rho-kinazın fizyopatolojik olaylardaki rolü

ROCK enziminin damar fizyolojisi ve kardiyovasküler bozukluklar üzerinde önemli fonksiyonları olduğu gösterilmiştir. ROCK enzimi hücre kasılmasının majör düzenleyicisi olarak bilinmesine rağmen migrasyon, proliferasyon, hücre apoptozisi, gen transkripsiyonu ve diferensiyasyonun kontrolünü de sağladığı gösterilmiştir. Bundan dolayı ROCK aktivasyonu, endotelial geçirgenlik ve migrasyonun artırılması aracılığı ile anjiyojenik sürecin başlatılmasında anahtar bir olgu gibi görünmektedir (158).

2.2.2.2.A. Vasküler kas tonusu

Rho-kinazlar, trombus şekillenmesi, inflamasyon/oksidatif stres ve fibrozisi hızlandırmak suretiyle çeşitli molekülleri artan düzenlemeyle kontrol eder. Rho-kinaz aynı zamanda, damar düz kas hücrelerinde hiperkontraksiyon, proliferasyon ve migrasyonun uyarılması ve inflamatuvar hücre motilitesinin artırılmasına aracılık eder. Birçok çalışmada, Rho-kinazın vazospazm, arteroskleroz, iskemi/reperfüzyon hasarı, hipertansiyon, pulmoner hipertansiyon, inme ve kalp yetmezliği patojenezine ve sempatik sinir aktivitesinin artırılmasına önemli ölçüde karıştığı gösterilmiştir (159,161,133). Rho-kinaz yolağının vasküler inflamasyondaki rolünün incelendiği çalışmalarda bu yolağın aterojeze katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür.

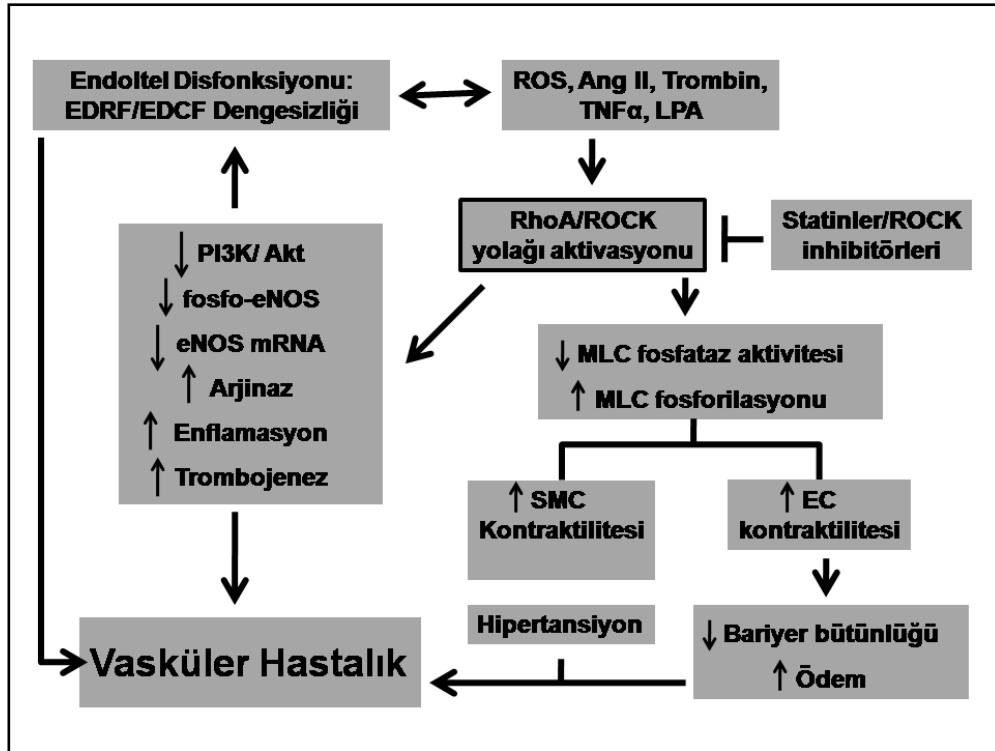
Monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) monositlerin geçişini düzenlemekte ve aterojeneze katılmaktadır. Rho-kinaz, hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) aktivasyonuna bağımlı anjiyotensin-ilişkili MCP-1 üretimini düzenlemektedir (162). İntegrinler ERK ile aktive olurken p38-mitojenle aktive olmuş protein kinaz (MAPK) ve Rho MCP-1 aracılıklı kemotaksisi kontrol eder. Rho ve Rho-kinaz MCP-1 sinyallenmesinde p38-MAPK'nin akışını kontrol eder. Bundan dolayı ERK ve p-38 MAPK MCP-1 ile oluşan integrin aktivasyonu ve kemotaksise neden olan farklı sinyal kaskadlarını düzenler (163). ERK ve Rho-kinaz yolaklarının aktivasyonunun anjiyotensin II tarafından tip I plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI-1) ekspresyonunun sağlanması için gerekli olduğunu gösteren bulgular kaydedilmiştir (156).

Rho sinyalinin arteriyel hipertansiyondaki rolü ilk olarak 1997'de bulunmuştur (164). Yapılan bir çalışmada NO ilişkili vazodilatasyonun Rho-kinazın vazokonstriktör aktivitesinin inhibisyonu aracılığıyla olduğu hipotezi ileri srlmştir (165). Yakın zamanda yapılmış olan bir çalışmada Rho-kinaz inhibitörü olan fasudil hipertansif hastalarda kullanılmış ve bu çalışmanın sonuçları Rho/Rho kinaz yolağının hipertansif hastalarda yükselmiş sistemik vasküler rezistansa katıldığını göstermiştir (166).

Rho-kinaz inhibitörü olan Y-26732'nin sıçanlarda yapılan *in vivo* deneylerde, seçici olarak arteriyel basıncını dşrdğinin tespit edilmesi Rho-kinazın hipertansiyonun oluşumuna katılabileceği fikrini vermiştir (164). Mukai ve ark. (160) yapmış oldukları çalışmada hipertansif sıçanlarda Rho-kinaz aktivitesinin ve ekspresyonunun arttığını tespit etmiştir. NOS inhibitörü olan L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda Y-27632'nin kan basıncını dşrdğu tespit edilmiştir (167). Rho-kinazın hipertansiyonda hangi moleküler mekanizmayla aktive olduğu bilinmemektedir. Anjiyotensin II, endotelin-I, 5-HT, alfa adrenerjik uyarı ve reaktif oksijen radikallerinin hipertansiyonda rol alabileceği kaydedilmektedir (168).

Endotel kaynaklı gevşetici faktörler ve endotel kaynaklı kastırıcı faktörler arasında bir dengesizlik olarak tanımlanan sürekli vasküler endotel disfonksiyon, vasküler hastalıklara yol açan reaktif oksijen radikalleri, anjiyotensin II, trombin, TNF-, lizofosfatidik asit gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanmaktadır. Bu faktörler Rho/Rho-

kinaz yolağı aktivasyonu ile vasküler kontraksiyonu değiştirerek diyabet ve diğer vasküler hastalıklarda endotel hücreler ve düz kas hücrelerinde anormal fonksiyonların görülmesine neden olur. Bu sonuçta endotel bariyer disfonksiyonuna/ dem ve düz kas h creti kontraktilite artışına ve hipertansiyona neden olur. Ek olarak RhoA/ROCK yolağının aktivasyonu arjinazın aktivite ve ekspresyonunda artışa yol açarak eNOS fonksiyonu için gerekli bir substrat olan L-arjinini sınırlar. RhoA/ROCK yolağı aynı zamanda trombusun şekillenmesi ve vasküler inflamasyon mekanizması ile de ilişkilidir (şekil 2. 3) (169).



şekil 2.3. Rho/Rho kinaz yolağının endotel disfonksiyondaki rolü (169).

EDRF: Endotel kaynaklı gevşetici faktör, EDCF: endotel kaynaklı kasıcı faktör, ROS: Reaktif oksijen radikaller, AngII: Anjiyotensin II, TNF : Tümör nekrozis alfa, LPA: lizofosfatidik asit, MLC: Miyozin hafif zincir, SMC: Düz kas hücreleri, EC: Endotel hücreler eNOS: endotel nitrik oksit.

ROCK birçok mekanizma aracılığı ile endotel hücreler tarafından üretilen nitrik oksiti (NO) negatif yönde düzenler. RhoA/ROCK aktivasyonu endotel NO sentaz (eNOS) ekspresyonunu azaltır (17). Sonuç olarak, ROCK inhibitörleri veya statinler

eNOS ekspresyonunu kontrol ederler (171). ROCK enzimleri aynı zamanda, PI3-kinaz/ protein kinaz B (Akt) yolunu inhibe etmek ve arjinaz aktivitesini uyarmak suretiyle eNOS fonksiyonlarını negatif yönde düzenlerler (172,173). ROCK-bağımlı sinyal yolu, vasküler fonksiyonları düzenleyen temel düzenleyici olarak bilinmektedir ve hipertansiyon gibi arteriyal fonksiyon bozukluklarında önemli bir rol oynamaktadır.

2.2.2.2.B. Solunum sistemi

Asetilkolinle solunum yolları aşırı duyarlı hale getirilmiş sıçanlarda oluşan Ca^{+2} aracılıklı kontraksiyonda RhoA'nın etkili olduğu kaydedilmiştir (174). Rho kinaz inhibitörü olan Y-27632'nin beta-adenoreseptörlerden bağımsız olarak farklı bir mekanizmayla teofilinden daha güçlü bir bronkodilatör etki gösterdiği bildirilmiştir (175).

2.2.2.2.C. Ürojenital sistem

İnsan gebe miyometriumunda RhoA, ROCK1 ve ROCK2 ekspresyonlarının olduğu ve Y-27632'nin oksitosinle oluşan miyometriyum kasılmasını azalttığı gösterilmiştir (176). Preeklampside ROCK2 ekspresyonunun arttığı ve Rho/Rho-kinaz yolağının ve özellikle ROCK2'nin preeklampsinin etyoloji ve patojenezine katılabileceği öne sürülmüştür (177). Rho/Rho kinaz yolağının mesane kontraksiyonunun düzenlenmesine katılmaktadır (178). Rho-kinaz inhibitörlerinin erektil disfonksiyonunun tedavisinde yeni bir teröpatik ajan olabileceği üzerinde durulmaktadır (179).

2.2.2.2.D. Göz

Rho and Rac GTPazların lens epitelyal hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu ve yaşam süresi için kritik öneme sahip olabileceği bildirilmektedir (180). ROCK inhibitörlerinin glokom ve diğer oküler hastalıkların tedavisinde yeni bir potansiyel ajan olabileceği üzerinde durulmaktadır (181).

2.2.2.2.E. Tümör hücreleri

Rho/Rho kinaz yolağının aktivasyonunun, tümör hücre invazyonuna neden olmaktadır. Bu yolağı inhibe eden fasudil insan ve sıçan tümör modellerinde

tümörün ilerlemesini azaltmaktadır (182). Yeni antikanser tedavi rejimlerine ilerde Rho proteinlerini inhibe eden ajanların girebileceği kaydedilmektedir (183).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta ve kontrol grubu

Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji Kliniği'ne başvuran, Uluslararası BH Çalışma Grubu'nun kriterlerine göre BH tanısı konmuş olan 194 hasta ve BH olmayan 276 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Uluslararası Çalışma Grubu kriterlerinden en az ikisini taşıyan ve bu şikayeti nedeni ile immünsupresif ilaç kullanmakta olan veya majör organ tutulumu olup (SSS, vasküler gibi) bu nedenle immünosupresif ilaç kullanan hastalar aktif Behçet hastaları olarak kabul edildi. BH tanısı tekrarlayan oral aft, bir yıl içerisinde en az üç defa tekrarlayan ve hekim tarafından tespit edilen minör, majör aftöz veya herpetiform lezyonlar ile aşağıdaki bulgulardan herhangi ikisinin bulunması ile kondu.

Çalışma Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 06-2009/233 no'lu kararı ile Etik kurul onayı aldı. Hasta ve sağlıklı kontrol grubundan imzalanmış bilgilendirilmiş olur formu alındı.

3.2. DNA eldesi

Hastalardan (n=194) ve sağlıklı gönüllülerden (n=276) kan örneği alındı ve DNA izolasyonu yapılmak üzere -20 °C'de saklandı. EDTA'lı tüpler içerisinde -20 °C'de bulunan kan örnekleri çıkartılarak oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi. Kan örnekleri oda sıcaklığına geldikten sonra 15 ml'lik santrifüj tüplerine alınarak tüplerin üzerine örneklerin hacmi kadar saf su eklendi. Tüpler iyice altüst edildikten sonra 4000 devir/dk'da 20 dk santrifüj edildi. Tüplerin üst fazları pipetle çekilerek atıldı ve üzerine tekrar su eklendi. Bu işlem üç defa tekrar edildi. Üçüncü santrifüjün ardından, atılan sıvı kısmın yerine her bir tüpe 3 ml ürelî parçalama çözeltisi eklenerek çözünmesi için tüpler 15 dk karıştırıldı. Ardından 400 µl %20'lik SDS ve 100 µl 10 mg/ml proteinaz K eklenerek 37°C'de 1 gece için inkübasyona bırakıldı (184).

Ertesi gün inkübasyondan çıkarılan örneklerle 2 ml 5 M NaCl eklendi ve 10-15 dk altüst edildi. Ardından, üzerlerine 8 ml kloroform eklenerek 4000 devir/dk'da 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonunda oluşan 3 kısımdan üstteki kısım temiz bir tüpe

alınarak, üzerine hacmi kadar soğuk %96'lık etil alkol eklendi. Alkol ilavesi ile çöken DNA'lar pipet ucu ile 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne alınarak üzerlerine 1000 µl %70'lik etil alkol eklendi. Tüpler 13000 devir/dk'da 10 dk santrifüj edilerek DNA'ların tüpün dibine yapışması sağlandı. Bu işlem 3 kez tekrar edildi. En son santrifüj işleminden sonra, alkol dikkatli bir şekilde döküldü. Tüplerin dibine yapışması sağlanan DNA'lar vakumlu kurutucuda yarım saat bekletildi ve üzerlerine gerekli miktarlarda steril distile su eklendi. Birkaç gün 4°C' de bekletilerek çözünmesi sağlanan DNA'lar saklanmak üzere -20°C'lik derin dondurucuya kaldırıldı (184).

3.3. Real Time -Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) çalışması

Nano teknoloji temelli yüksek kapasiteli Real Time PCR ile mutasyon analizi BioMark™ HD Sistem (Fluidigm, South San Francisco, CA, Amerika) ile yapıldı. SNP (*Single nucleotide polymorphism*, tek nükleotid polimorfizmi) analizi için izole edilen DNA'lar pre-amplifiye edildi.

Rho-kinaz ile ilişkili mutasyon PreAmp primerleri kullanılarak gerekli PCR koşulları uygulandı.

Pre-amplifiye karışım:

Qiagen multiplex PCR karışım	5 µl
Primer pool	1 µl
DNaz RNaz içermeyen su	1.5 µl

Pre-amplifikasyon karışımı hazırlandı, plağa pipetlendi üzerlerine DNA eklenerek uygun PCR koşulları AB Applied Biosystems 96 kuyucuklu Thermal Cycler cihazı kullanılarak uygulandı.

PreAmp termal program

15 dk	95°C	
15 sn	95°C	} 14 döngü
4 dk	60°C	
∞	4°C	

3.3.1. Real-time PCR

Rho-kinaz SNP analizi için tasarlanan 24 primer (Tablo 3.1) aynı çipte çalışıldı. Örnek ve primerler için iki farklı karışım hazırlandı.

Örnek ve PCR Karışımı:

KASP 2X reagent karışım	496.80 µl
GT sample loading reagent	49.68 µl
DNaz RNaz içermeyen su	31.92 µl

Hazırlanan karışıma 1:100 oranında dilüe edilmiş pre-amplifiye DNA'lar eklendi ve çipe pipetle yüklendi.

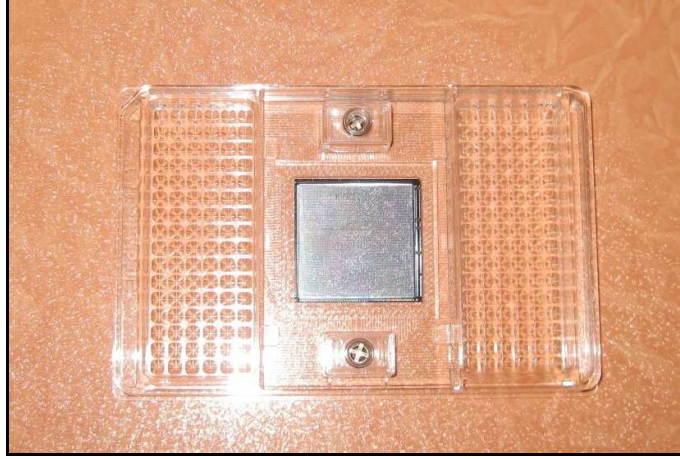
Primer karışımı:

2X assay loading reagent	575.00 µl
MgCl ₂ (50 mM)	92.00 µl
DNaz RNaz içermeyen su	322.00 µl

Tablo 3-1. RhoA/Rho-kinazla ilişkili primerler

Polimorfizm	Bölge	Gen	
rs3448	C/T	RHOA	ras homolog gene family, member A
rs2878298	C/T	RHOA	ras homolog gene family, member A
rs6784820	A/G	RHOA	ras homolog gene family,member A
rs974495	A/G	RHOA	ras homolog gene family,member A
rs2177268	A/T	RHOA	ras homolog gene family, member A
rs2271255	C/T	ROCK1	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 1
rs73963110	C/T	ROCK1	Rho-associated,coiled-coil containing protein kinase 1
rs35996865	G/T	ROCK1	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 1
rs112130712	G/C	ROCK1	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 1
rs111312709	T/C	ROCK1	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 1
rs111874856	C/T	ROCK1	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 1
rs112108028	G/A	ROCK1	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 1
rs2230774a	C/A	ROCK2	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 2
rs2230774b	C/G	ROCK2	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 2
rs35768389	A/T	ROCK2	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 2
rs34945852	A/T	ROCK2	Rho-associated,coiled-coil containing protein kinase 2
rs1515219	C/T	ROCK2	Rho-associated,coiled-coil containing protein kinase 2
rs726843	C/T	ROCK2	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 2
rs2290156	C/G	ROCK2	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 2
rs965665	C/G	ROCK2	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 2
rs10178332	A/C	ROCK2	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 2
rs6755196	A/G	ROCK2	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 2
rs10929732	A/G	ROCK2	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 2

Hazırlanan karışım yeni bir plağa pipetle eklendi ve RhoA/Rho-kinaz mutasyon primer plağından primerler alınarak karışıma ilave edildikten sonra çipe (Resim 3.1) yüklendi. Primer ve örneklerin çipte bulunan kuyucuklara giderek karışması ve RT-PCR'a hazır hale getirilmesi için çip, Fluidigm IFC Controller HX cihazına (Resim 3.2) yerleştirildi.



Resim 3.1. Primer ve örneklerin koyulduğu çip



Resim 3.2. Fluidigm IFC Controller HX cihazına çipin yerleştirilmesi

IFC Controller HX cihazında işlem bittikten sonra çip BioMark™ HD Sistemi'ne (Resim 3.3) yerleştirildi ve uygun PCR koşulları uygulandı (Tablo 3.2).



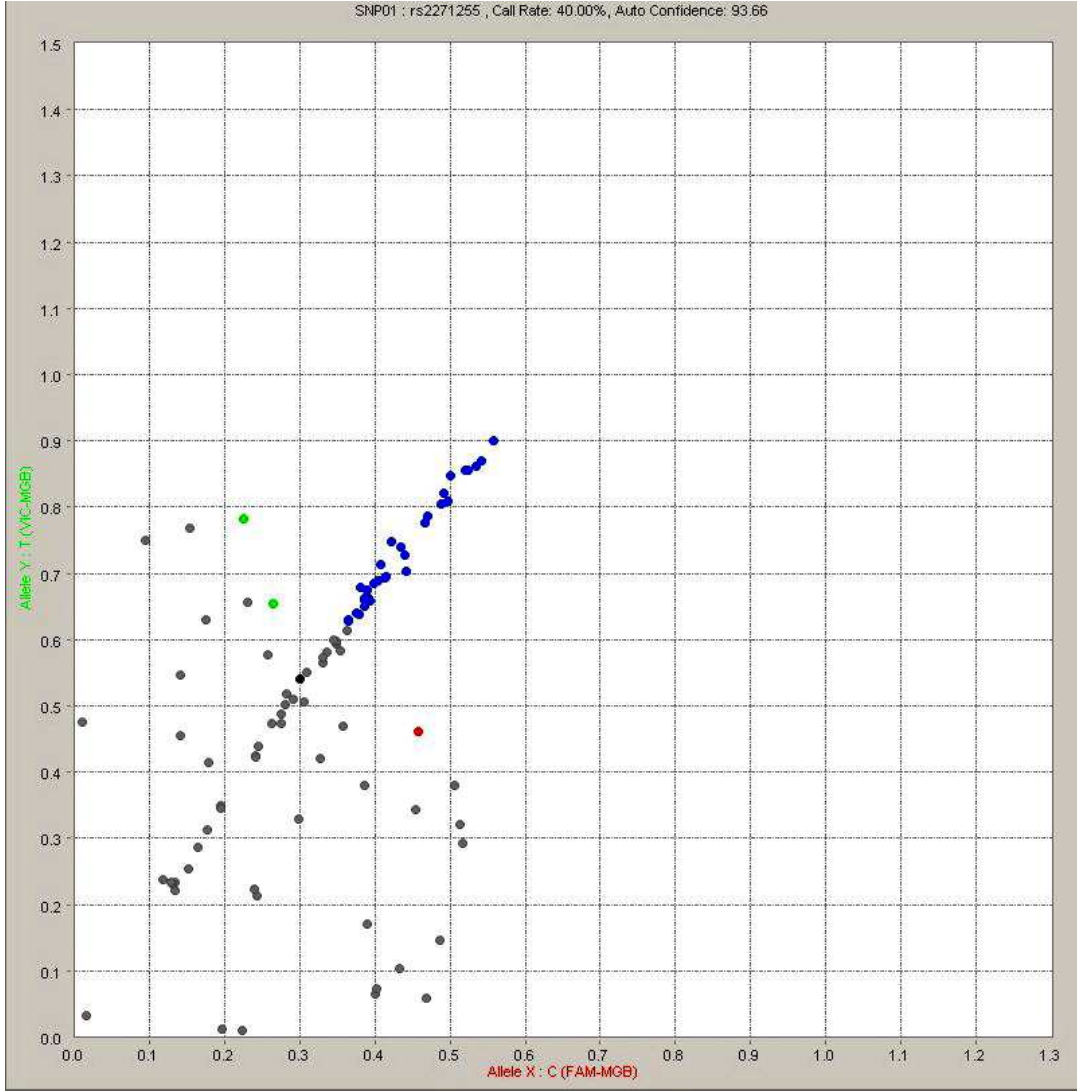
Resim 3.3. BioMark™ HD Sistemi

Tablo 3.2. PCR tepkime koşulları.

Basamak	Sıcaklık	Süre
İlk denatürasyon	70°C	30 dk
	25°C	10 dk
Denatürasyon	94 C	15 dk
20 döngü	94°C	10 sn
	57°C	10 sn
	94°C	10 sn
18 döngü	94°C	10 sn
	57°C	20 sn
	72 °C	40 sn

3.3.2. Analiz

Her bir assay her bir örnek için ayrı ayrı analiz edildi (Şekil 3.1). Örneklerin wild type, mutant veya heterozigot olmalarına göre istatistiksel hesaplamalar yapıldı.



Şekil 3.1. Örneklerin rs2271255 ROCK1 bölgesine ait SNP sonuçları.

3.4. Örneklerden mRNA eldesi

RNA izolasyonu 20 Behçet hastası ve 20 sağlıklı kontrolden alınan kan örneklerinde yapıldı. RNA eldesi için 5'er ml'lik EDTA'lı tüplere kanlar alındıktan sonra 15 ml'lik falkon tüplerin içerisine 1000 µl perifer kan konulup üzerine konulan kan miktarının 5 katı kadar eritrosit parçalama çözeltisi (*lysis buffer*) konup, buz içerisinde 10 dk inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon bitiminde örnekler 2500 rpm de 10 dk santrifüj edilip pelletin dipte toplanması sağlandı. Dipte toplanan pellete

dokunmadan üstteki süpernatant kısım döküldü ve üzerine ilk başta konulan kan miktarının 2 katı kadar eritrosit *lysis buffer* konulup iyice vorteks edilip pelletin çözünmesi sağlandı. Vorteks sonrasında pellet iyice çözündükten sonra 2500 rpm de 10 dk santrifüj edilip yine üstteki kısım döküldü. Dipte toplanan pelletin yoğunluğuna göre 600-1000 µl arasında β-merkaptotanol eklendi ve pellet çözününceye kadar iyice pipetaj yapıldı. β-merkaptotanol ve pellet karışımı daha sonra filtreli mor tüplere alınıp maksimum devirde 2 dk santrifüj edilerek karışımın alttaki tüpe geçmesi sağlandı. Filtreli tüpler atılarak altta bulunan karışımın üzerine ilk başta pellet üzerine ne kadar β-merkaptotanol konulduysa o kadar %70'lik alkol kondu ve pipetaj yapıp karışım filtreli beyaz tüplere alındıktan sonra 12000 rpm'de 15 sn santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki tüpler atılıp filtreli tüpler 2 ml'lik örnek tüplerine kondu ve üzerine 700 µl buffer RWI konulup 12000 rpm'de 15 sn santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki tüpler atılıp filtreli tüpler yeni 2 ml'lik örnek tüplerine kondu ve üzerine 500 µl buffer RPE konulup 12000 rpm'de 15 sn santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki tüpler atılıp filtreli tüpler yeni 2 ml'lik sample tüplere kondu ve üzerine 500 µl buffer RPE konulduktan sonra 12000 rpm de 3 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki tüpler atılarak filtreli tüpler yeni 2 ml'lik tüplere alındı, üzerine hiçbir şey konmadan 14000 rpm de 1 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında filtreli tüpler 1,5 ml'lik ependorf tüplere alınarak üzerine 50 µl RNaz içermeyen su konulup 12000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi ve izolasyon işlemi tamamlandı. Santrifüj sonrasında ependorfta bulunan RNA hiç bekletilmeden -80°C derin dondurucuya alınıp çalışma yapılncaya kadar saklandı.

3.5. cDNA sentezi

Gerçekleştirilen çalışmada cDNA'lar Qiagen miScript Reverse Transcription Kit kullanılarak sentezlendi. PCR koşulları ve PCR karışımı, kullanılan kitte belirtildiği şekilde yapıldı.

PCR karışımı:

miScript RT Buffer, 5x	4 µl
miScript Reverse Transcriptase Karışım	1 µl
RNaz/DNaz içermeyen su	5.0 µl
mRNA örneği	10.0 µl
Toplam hacim	20 µl

cDNA sentezi, 37°C’de 60 dk, 95°C’de 5 dk olacak şekilde PCR cihazı ayarlanarak gerçekleştirildi.

3.6. Real time PCR ile gen ekspresyonunun tespiti

Real time PCR ile ROCK1 gen ekspresyonunun tespiti için NM-005406 numaralı ROCK1 bölgesi ROCK1-sense ve ROCK1-antisense primerleri ile çalışıldı (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. ROCK1-sense ve ROCK1-antisense primerleri

	Primer	Tm
Sense	5'-GTTTATTCCTACACTCTACCACTTTC -3'	56.8°C
Antisense	5'-TGGCACTTAACATGGCATCTT-3'	56.4°C

Tm: erime sıcaklığı

Real time PCR ile ROCK2 gen ekspresyonunun tespiti için NM-004850 numaralı ROCK2 bölgesi ROCK2-sense ve ROCK2-antisense primerleri ile çalışıldı (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. ROCK2-sense ve ROCK2-antisense primerleri

	Primer	Tm
Sense	5'-GAAAGAGCTGGAGATCAAAGAGA -3'	56.7°C
Antisense	5'-TTAGTGTCCTATTAGTTTCCTCAAGA -3'	56.6°C

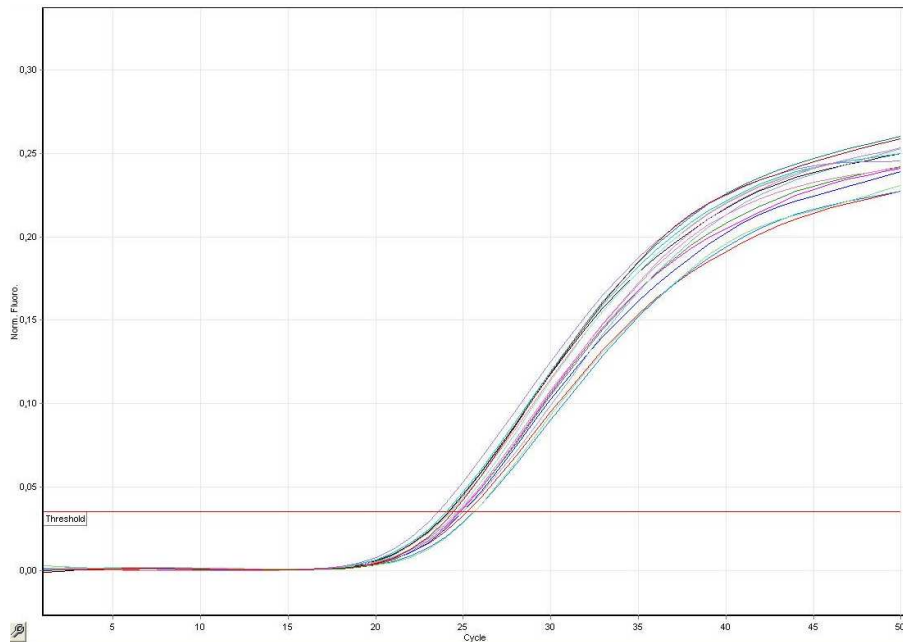
Tm: erime sıcaklığı

Hamarat (*Housekeeping*) gen olarak GAPDH kullanıldı. Termo Absolute QPCR mix (Cat. No: AB1B21A) kullanılarak PCR yapıldı (Tablo 3.5).

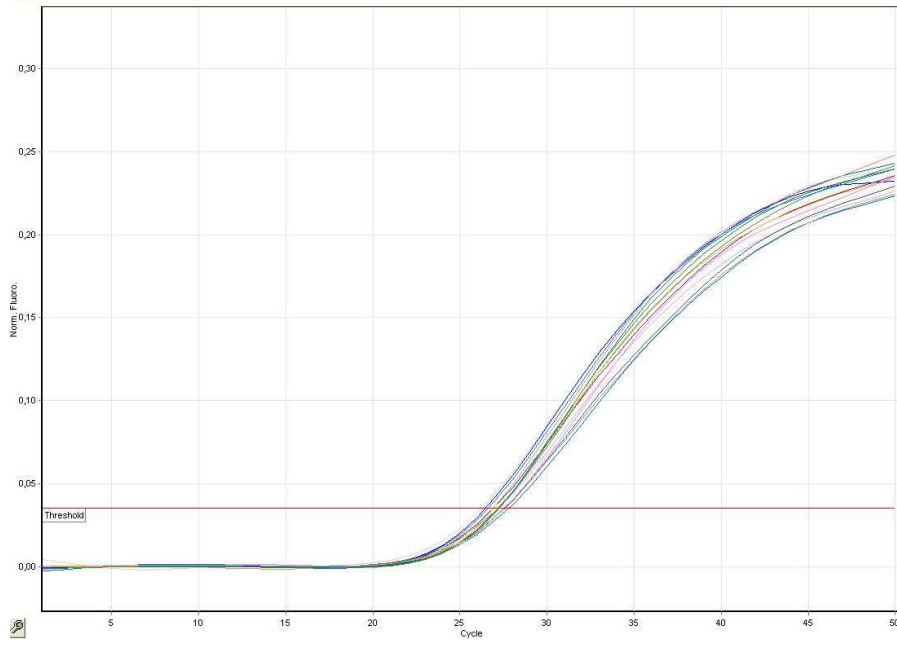
Tablo 3.5. PCR’da kullanılan Absolute QPCR karışım, Primer ve RNaz içermeyen su miktarları.

	ROCK1	ROCK2	GAPDH
	karışımı	karışımı	karışımı
Absolute QPC karışımı	12.5 µl	12.5 µl	12.5 µl
Primer	1 µl	1 µl	1 µl
RNaz içermeyen su	6.5 µl	6.5 µl	6.5 µl

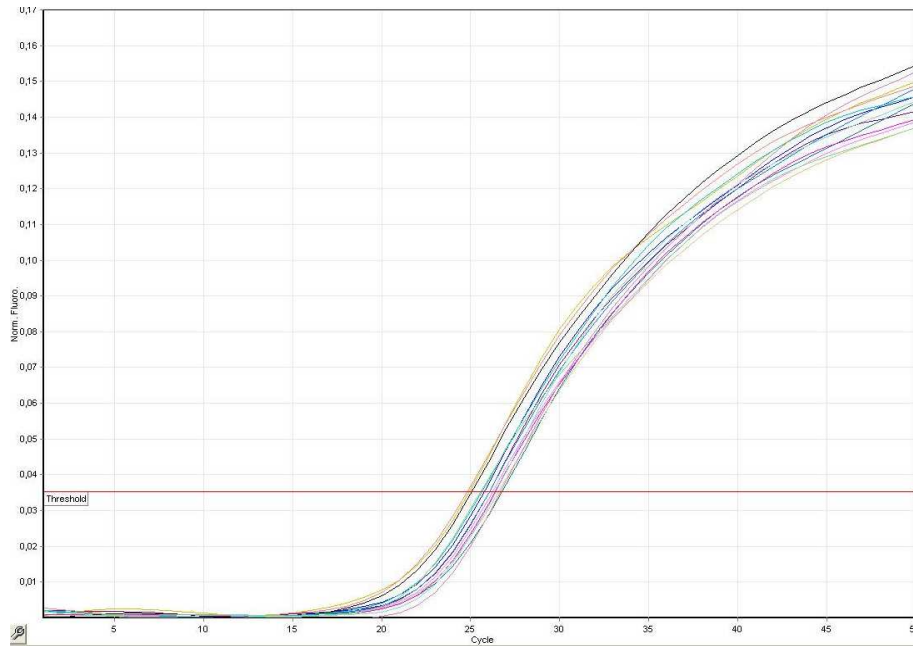
Hazırlanan her bir karışım her hasta için 20 µl PCR karışımı ve 50 ng’a dilüe edilmiş 5 µl cDNA, 0.1ml’lik tüplere dağıtıldı. Qiagen Rotor-Gene Q Real-time cihazı (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak PCR yapıldı. 95°C’de 10 dk, 50 siklus 15 sn 95°C, 30 sn 50°C, 72°C’de 15 sn PCR şartlarına tabi tutuldu. Gen ekspresyonu seviyesi ROCK1 (Şekil 3.2), ROCK2 (Şekil 3.3) ve GAPDH Ct değerleri (Şekil 3.4) hesaplanarak belirlendi.



Şekil 3.2. Real time PCR ile ROCK1 gen ekspresyonunun tespiti



Şekil 3.3. Real time PCR ile ROCK2 gen ekspresyonunun tespiti



Şekil 3.4. Real time PCR ile GAPDH gen ekspresyonunun tespiti.

3.7. İstatistiksel analiz

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. İstatistiksel analizler *GraphPad Instant* versiyon 3.05 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, ABD) kullanılarak yapıldı. Genotip ve alel frekanslarının karşılaştırılmasında Ki-kare

bağımsızlık testi, *Yates* düzeltmeli Ki-kare testi ve *Fisher*'in kesin ki kare testi kullanıldı. İki grup ortalamalarının karşılaştırılmasında eşleşmemiş *Student t*-testi uygulandı. Gen ekspresyonlarının sonuçlarının karşılaştırılmasında *Mann-Whitney U* testi kullanıldı. Bütün istatistiksel testler ve P değerleri çift taraflı idi $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji polikliniğine başvuran, BH tanısı almış 194 Behçet hastası (hasta grubu) ve 276 sağlıklı gönüllü (kontrol grubu) dahil edildi. Hastaların %53.1'i erkek, %46.9'u kadın, kontrol grubunun %56.9'u erkek, %43.1'i kadındı. Behçet hastalarının yaş ortalaması 35.3 ± 10.0 , kontrol grubunun yaş ortalaması 36.6 ± 9.1 idi. Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında cinsiyetler ($p=0.4717$) ve yaş ortalamaları ($p=0.1440$) açısından anlamlı farklılık yoktu (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Hasta grubu ve kontrol grubunun demografik özellikleri

	Hasta grubu (n=194)	Kontrol grubu (n=276)	P değeri
Yaş ortalaması	35.3 ± 10.0	36.6 ± 9.1	0.1440
Cinsiyet			
Erkek (n, %)	103 (53.1)	157 (56.99)	
Kadın (n, %)	91 (46.9)	119 (43.1)	0.4717

Hastaların klinik bulguları değerlendirildiğinde oral aftöz ülserlerin bütün hastalarda görüldüğü, bunun dışında en fazla genital ülserin, en az da nörolojik tutulumun olduğu görüldü. Diğer klinik bulguların görülme sırası ise akneiform lezyonlar, pozitif paterji testi, üveit, artrit, eritema nodozum, HLA pozitiflik, vasküler tutulum şeklindeydi (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Hastaların klinik özellikleri

Klinik bulgu	n (%)
Oral aftöz ülser	194 (100.0)
Jenital aft	142 (73.2)
Akneiform lezyon	77 (39.7)
Pozitif paterji testi	74 (38.1)
Üveit	62 (32.0)
Artrit	50 (25.8)
Eritema nodozum	39 (20.1)
HLA	34 (17.5)
Vasküler tutulum	29 (14.9)
Nörolojik tutulum	13 (6.7)

4.1. Genotip ve alel analizlerinden elde edilen sonuçlar

Behçet hastaları ve kontrol grubundaki *ROCK1* geni, *ROCK2* geni ve *RhoA* geni polimorfizmlerinin genotip ve alel dağılımları belirlendi. Primer ya da cihazdan kaynaklanan nedenlerden dolayı bazı polimorfizmlerde alel ve genotip dağılımları tüm hasta ve kontrol grubunda tespit edilemedi. Her polimorfizm için sonuç alınan hasta ve kontrol grubu sayıları (n) belirtildi. Her üç gen için çalışılmış olan polimorfizmlerin genotip ve alel dağılımlarının kontrol grubu ile karşılaştırılmaları, ayrıca hastalarda saptanan klinik bulgular (jenital ülser, pozitif paterji testi, akneiform lezyon, vasküler tutulum, üveit, artrit) ile ilişkilerinin olup olmadığı istatistiksel olarak analiz edildi ve elde edilen sonuçlar aşağıda belirtildi. Nörolojik tutulum gösteren olguların sayısı düşük (n=13) olduğu için istatistiksel değerlendirme yapılamadı.

***ROCK1* geni**

rs35996865 polimorfizmi

TT, TG ve GG genotiplerinin dağılımı sırası ile hasta grubunda %56.8, %35.4 ve %7.8 ve kontrol grubunda %57.7, %34.2 ve %8.1 şeklindeydi. Alel sıklıklarına bakıldığında T ve G aleli sırası ile Behçet hastası grubunda %74.5 ve %25.5, kontrol grubunda ise %74.8 ve %25.2 olarak bulundu. Genotip dağılımı ve alel sıklıkları açısından hasta ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. *ROCK1* geni rs35996865 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=222) n (%)	Hasta grubu (n=192) n (%)	P	OR (95% CI)
T/T	128 (57.7)	109 (56.8)		
T/G	76 (34.2)	68 (35.4)	0.8985	1.051 (0.694-1.591)
G/G	18 (8.1)	15 (7.8)	1.0000	0.979 (0.471-2.034)
T	332 (74.8)	286 (74.5)		
G	112 (25.2)	98 (25.5)	0.9861	1.016 (0.742-1.390)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs111312709 (Thr792Ala) polimorfizmi

TT ve TC genotip dağılımları sırası ile hasta grubunda %91.9 ve %8.1, kontrol grubunda ise %94.0 ve %6 şeklindeydi. Her iki grupta da CC genotipi gözlenmedi. Alel sıklıklarına bakıldığında T ve C aleli sırası ile hasta grubunda % 96.0 ve %4.0, kontrol grubunda %97.0 ve %3 olduğu gözlemlendi (Tablo 4.4). Genotip dağılımı ve alel sıklıkları açısından Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık yoktu.

Tablo 4.4. *ROCK1* geni rs111312709 (Thr792Ala) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=252) n (%)	Hasta grubu (n=173) n (%)	P	OR (95% CI)
T/T	237 (94.0)	159 (91.9)		
T/C	15 (6.0)	14 (8.1)	0.4359	1.39 (0.653-2.962)
C/C	0 (0.0)	0 (0.0)		
T	489 (97.0)	332 (96.0)		
C	15 (3.0)	14 (4.0)	0.4440	1.375(0.655-2.886)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs2271255 (Lys222Glu) polimorfizmi

TT, TC ve CC genotip dağılımları sırası ile hasta grubunda %63.1, %35.1 ve %1.8, kontrol grubunda %46.7, %48.0 ve %5.3 şeklindeydi. Behçet hastalarında TC genotipi kontrole göre anlamlı olarak düşüktü. Alel sıklıklarına bakıldığında T ve C aleli sırası ile hasta grubunda %80.6 ve %19.4, kontrol grubunda ise %70.7 ve %29.3 şeklindeydi. C aleli Behçet hastalarında kontrole göre anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.5). Genotip dağılımları ve alel sıklıkları açısından Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık vardı.

Tablo 4.5. *ROCK1* geni rs2271255 (Lys222Glu) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=150) n (%)	Hasta grubu (n=111) n (%)	P	OR (95% CI)
T/T	70 (46.7)	70 (63.1)		
T/C	72 (48.0)	39 (35.1)	0.0256	0.542 (0.325-0.904)
C/C	8 (5.3)	2 (1.8)	0.1004	0.250 (0.051-1.220)
T	212(70.7)	179 (80.6)		
C	88 (29.3)	43 (19.4)	0.0126	0.579 (0.382-0.877)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

Klinik bulgulara göre değerlendirme yapıldığında, TC genotipi ve C alelinin genital ülser, pozitif paterji testi, akneiform lezyon üveit ve HLA pozitiflik gösteren olgularda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu görüldü. C aleli ek olarak artritli olgularda da kontrol grubuna göre düşüktü. Vasküler tutulum ve eritema nodozumlu olgular ile kontrol grubu arasında ise genotip ve alel dağılımı açısından anlamlı bir farklılık yoktu (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. *ROCK1* geni rs2271255 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımları.

Genotip/ Alel	Kontrol (n=150) n (%)	J.Ü. (n=88) n(%)	P	E. N. (n=30) n (%)	P	P. P. (n=51) n (%)	P	A.L. (n=57) n (%)	P	V.T. (n=17) n (%)	P	Üveit (n=37) n (%)	P	Artrit (n=28) n (%)	P	HLA+ (n=27) n (%)	P
T/T	70 (46.7)	62 (70.4)		20 (66.7)		37 (72.5)		40 (70.2)		12 (70.6)		27 (73.0)		19 (67.9)		22 (81.5)	
T/C	2 (48.0)	24 (27.3)	0.0012	9 (30.0)	0.0665	14 (27.5)	0.0069	16 (28.0)	0.0077	5 (29.4)	0.1251	10 (27.0)	0.0153	9 (32.1)	0.0972	5 (18.5)	0.0027
C/C	8 (5.3)	2 (2.3)	0.1853	1 (3.3)	0.6795	0 (0.0)	0.0529	1 (1.8)	0.1614	0 (0.0)	0.5910	0 (0.0)	0.1096	0 (0.0)	0.3488	0 (0.0)	0.1941
T	212 (70.7)	148 (84.1)		49 (81.7)		88 (86.3)		96 (84.2)		29 (85.3)		64 (86.5)		47 (83.9)		49 (90.7)	
C	88 (29.3)	28 (15.9)	0.0015	11 (18.3)	0.1122	14 (13.7)	0.0015	18 (15.8)	0.0053	5 (14.7)	0.1043	10 (13.5)	0.0049	9 (16.1)	0.0491	5 (9.3)	0.0013

J.Ü.: Genital ülser, E.N.: Eritema nodozum, P.P.: Pozitif paterji, A.L.: Akneiform lezyon, V.T.: Vasküler tutulu

rs73963110 polimorfizmi

TT, TC ve CC genotipleri sırası ile hasta grubunda %39.3, %42.1 ve %18.6, kontrol grubunda ise %71.6, %25.6 ve %2.8 olarak tespit edildi. TC ve CC genotipleri Behçet hastalarında belirgin olarak yüksekti. Alel sıklığına bakıldığında, T ve C aleli sırası ile Behçet hastalarında %60.4 ve %39.6, kontrol grubunda %84.4 ve %15.6 olarak tespit edildi. C aleli Behçet hastalarında belirgin olarak yüksekti. Genotip dağılımı ve alel sıklıkları kontrol grubu ve Behçet hastalarında anlamlı farklılık gösterdi (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. *ROCK1* geni rs73963110 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=215) n (%)	Hasta grubu (n=140) n (%)	P	OR (95% CI)
T/T	154 (71.6)	55 (39.3)		
T/C	55 (25.6)	59 (42.1)	<0.0001	3.004 (1.860-4.851)
C/C	6 (2.8)	26 (18.6)	<0.0001	12.133(4.74131.055)
T	363 (84.4)	169 (60.4)		
C	67 (15.6)	111 (39.6)	<0.0001	3.559 (2.498-5.070)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

TC, CC genotipi ve C aleli, klinik bulguların hepsinde (jenital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, vasküler tutulum, üveit, artrit ve HLA pozitiflik) kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. *ROCK1* geni rs73963110 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımı.

Genotip/ Alel	Kontrol (n=215) n (%)	J.Ü. (n=113) n (%)	P	E. N. n=33 n (%)	P	P. P. (n=57) n (%)	P	A.L. (n=67) n (%)	P	V.T. (n=26) n (%)	P	Üveit (n=51) n (%)	P	Artrit (n=38) n (%)	P	HLA+ (n=33) n (%)	P
T/T	154 (71.6)	46 (40.7)		15 (45.5)		23 (40.4)		34 (50.7)		8 (30.8)		23 (45.1)		15 (39.5)		16 (48.5)	
T/C	55 (25.6)	48 (42.5)	<0.0001	15 (45.5)	0.0104	28 (49.1)	0.0002	27 (40.3)	0.0116	12 (46.1)	0.0034	23 (45.1)	0.0029	14 (36.8)	0.0269	3 (39.4)	0.0485
C/C	6 (2.8)	19 (16.8)	<0.0001	3 (9.0)	0.0498	6 (10.5)	0.0038	6 (9.0)	0.0162	6 (23.1)	<0.0001	5 (9.8)	0.0126	9 (23.7)	<0.0001	4 (12.1)	0.0153
T	363 (84.4)	140 (61.9)		45 (68.2)		74 (64.9)		95 (70.9)		28 (53.8)		69 (67.6)		44 (57.9)		45 (68.2)	
C	67 (15.6)	86 (38.1)	<0.0001	21 (31.8)	0.0028	40 (35.1)	<0.0001	39 (29.1)	0.0007	24 (46.2)	<0.0001	33 (32.4)	0.0002	32 (42.1)	<0.0001	21 (31.8)	0.0028

J.Ü.: Genital ülser, E.N.: Eritema nodozum, P.P.: Pozitif paterji, A.L.: Akneiform lezyon, V.T.: Vasküler tutulum

rs112130712 (Lys1054Arg) polimorfizmi

TT, TC ve CC genotipleri sırası ile hasta grubunda %44.4 %55.0 ve %0.6, kontrol grubunda %92.9, %7.1 ve %0.0 şeklindeydi. TC genotipi Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Alelere bakıldığında, T ve C aleli sırası ile hasta grubunda %71.9 ve %28, kontrol grubunda %96.5 ve %3.5 olarak tespit edildi. C aleli Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (Tablo 4.9). Genotip dağılımı ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık gösteriyordu.

Tablo 4.9. *ROCK1* geni rs112130712 (Lys1054Arg) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=255) n (%)	Hasta grubu (n=171) n (%)	P	OR (95% CI)
T/T	237 (92.9)	76 (44.4)		
T/C	18 (7.1)	94 (55.0)	<0.0001	16.285 (9.240-28.703)
C/C	0 (0.0)	1 (0.6)	0.2452	9.314 (0.375-231.19)
T	492 (96.5)	246 (71.9)		
C	18 (3.5)	96 (28.1)	<0.0001	10.667 (6.302-18.055)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

Klinik bulgulara göre değerlendirme yapıldığında TC genotipi ve C alelinin tüm klinik bulguları (jenital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, vasküler tutulum, üveit, artrit ve HLA pozitiflik) gösteren hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. *ROCK1* geni rs11203712 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımı

Genotip/ Alel	Kontrol (n=255) n (%)	J.Ü. (n=123) n (%)	P	E. N. (n=31) N (%)	P	P. P. (n=65) n (%)	P	A.L. (n=66) n (%)	P	V.T. (n=26) n (%)	P	Üveit (n=51) n (%)	P	Artrit (n=41) n (%)	P	HLA+ (n=33) n (%)	P
T/T	237 (92.9)	62 (50.4)		19 (61.3)		38 (58.5)		45 (68.2)		15 (60.0)		33 (57.9)		18 (43.9)		22 (78.6)	
T/C	18 (7.1)	61 (49.4)	<0.0001	12 (38.7)	<0.0001	27 (41.5)	<0.0001	21 (31.8)	<0.0001	10 (40.0)	<0.0001	24 (42.1)	<0.0001	23 (56.1)	<0.0001	6 (21.4)	0.0207
C/C	0 (0.0)	0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)	
T	492 (96.5)	185 (75.2)		50 (80.6)		103 (79.2)		111 (77.1)		40 (80.0)		90 (78.9)		59 (72.0)		50 (89.3)	
C	18 (3.5)	61 (24.8)	<0.0001	12 (19.4)	<0.0001	27 (20.8)	<0.0001	33 (22.9)	<0.0001	10 (20.0)	<0.0001	24 (21.1)	<0.0001	23 (28.0)	<0.0001	6 (10.7)	0.0236

J.Ü.: Genital ülser, E.N.: Eritema nodozum, P.P.: Pozitif paterji, A.L.: Akneiform lezyon, V.T.: Vasküler tutulum

rs111874856 (Val355Ile) polimorfizmi

CC ve CT genotipleri sırası ile Behçet hastalarında %41.1 ve %58.9, kontrol grubunda %91.3 ve %8.7 olarak tespit edildi. Her iki grupta da TT genotipine rastlanmadı. CT genotipi Behçet hastalarında kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Alel sıklıkları değerlendirildiğinde C ve T aleli sırası ile hasta grubunda %70.6, %29.4, kontrol grubunda ise %95.7 ve %4.3 şeklindeydi (Tablo 4.11). T aleli hasta grubunda kontrole göre belirgin derecede yüksekti. Genotip dağılımı ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı olarak farklıydı.

Tablo 4.11. *ROCK1* geni rs111874856 (Val355Ile) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı.

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=242) n (%)	Hasta grubu (n=175) n (%)	P	OR (95% CI)
C/C	221 (91.3)	72 (41.1)		
C/T	21 (8.7)	103 (58.9)	<0.0001	15.055 (8.777-25.822)
T/T	0 (0.0)	0 (0.0)		
C	463 (95.7)	247 (70.6)		
T	21 (4.3)	103 (29.4)	<0.0001	9.194 (5.609-15.070)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

Klinik bulguların tümünde (jenital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, vasküler tutulum, üveit, artrit ve HLA pozitiflik) CT genotipi ve T aleli kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. *ROCK1* geni rs111874856 (Val355Ile) polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımı.

Genotip/ Alel	Kontrol (n=242) n (%)	J.Ü. (n=128) n(%)	P	E. N. (n=35) n (%)	P	P. P. (n=68) n (%)	P	A.L. (n=71) n (%)	P	V.T. (n=26) n (%)	P	Üveit (n=55) n (%)	P	Artrit (n=41) n (%)	P	HLA+ (n=31) n (%)	P
C/C	221 (91.3)	60 (46.9)		18 (51.4)		35 (51.5)		44 (62.0)		15 (57.7)		30 (54.5)		17 (41.5)		23 (74.2)	
C/T	21 (8.7)	68 (53.1)	<0.0001	17 (48.6)	<0.0001	33 (48.5)	<0.0001	27 (38.0)	<0.0001	11 (42.3)	<0.0001	25 (45.5)	<0.0001	24 (58.5)	<0.0001	8 (25.8)	0.0087
T/T	0 (0.0)	0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)	
C	463 (95.7)	188 (73.4)		53 (24.3)		103 (75.7)		115 (81.0)		41 (78.8)		85 (77.3)		58 (70.7)		54 (87.1)	
T	21 (4.3)	68 (26.6)	<0.0001	17 (75.7)	<0.0001	33 (24.3)	<0.0001	27 (19.0)	<0.0001	11 (21.2)	<0.0001	25 (22.7)	<0.0001	24 (29.3)	<0.0001	8 (12.)	0.0109

J.Ü.: Genital ülse, E.N.: Eritema nodozum, P.P.: Pozitif paterji, A.L.: Akneiform lezyon, V.T.: Vasküler tutulum

rs112108028 (Pro1164Leu) polimorfizmi

GG ve GA genotipi sırası ile hasta grubunda %89.7 ve %10.3, kontrol grubunda ise %60 ve %39.7 şeklindeydi. Her iki grupta da AA genotipine rastlanmadı. GA genotipi Behçet hastalarında anlamlı derecede düşüktü. Alel sıklıklarına bakıldığında G ve A aleli sırası ile hasta grubunda %94.8 ve %5.2, kontrol grubunda %80.2 ve %19.8 olarak tespit edildi (Tablo 4.13). A aleli Behçet hastalarında anlamlı derecede düşüktü. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı olarak farklıydı.

Tablo 4.13: *ROCK1* geni rs112108028 (Pro1164Leu) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=252) n (%)	Hasta grubu (n=174) n (%)	P	OR (95% CI)
G/G	152 (60.3)	156 (89.7)		
G/A	100 (39.7)	18 (10.3)	<0.0001	0.175 (0.101-0.304)
A/A	0 (0.0)	0 (0.0)		
G	404 (80.2)	330 (94.8)		
A	100 (19.8)	18 (5.2)	<0.0001	0.220 (0.131-0.372)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

Vasküler tutulum dışındaki tüm klinik bulguları (jenital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, üveit, artrit ve HLA pozitiflik) gösteren olgularda GA genotipi ve A aleli kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. *ROCK1* geni rs112108028 (Pro1164Leu) polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımı

Genotip/ Alel	Kontrol (n=252) n (%)	J.Ü. (n=124) n (%)	P	E. N. (n=36) n (%)	P	P. P. (n=66) n (%)	P	A.L. (n=70) n (%)	P	V.T. (n=25) n (%)	P	Üveit (n=58) n (%)	P	Artrit (n=42) n (%)	P	HLA+ (n=31) n (%)	P
G/G	152 (60.3)	110 (88.7)		31 (86.1)		59 (89.4)		62 (88.6)		19 (76.0)		51 (87.9)		36 (85.7)		29 (93.5)	
G/A	100 (39.7)	14 (11.3)	<0.0001	5 (13.9)	0.0026	7 (10.6)	<0.0001	8 (11.4)	<0.0001	6 (24.0)	0.1370	7 (12.1)	<0.0001	6 (14.3)	0.0015	2 (6.5)	0.0001
A/A	0 (0.0)	0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)	
G	404 (80.2)	234 (94.4)		67 (93.1)		125 (94.7)		132 (94.3)		44 (88.0)		109 (94.0)		78 (92.9)		60 (96.8)	
A	100 (19.8)	14 (5.6)	<0.0001	5 (6.9)	0.0055	7 (5.3)	<0.0001	8 (5.7)	<0.0001	6 (12.0)	0.2564	7 (6.0)	0.0002	6 (7.1)	0.0034	2 (3.2)	0.0004

J.Ü.: Genital ülser, E.N.: Eritema nodozum, P.P.: Pozitif paterji, A.L.: Akneiform lezyon, V.T.: Vasküler tutulum

ROCK2 geni

rs726843 polimorfizmi

CC, CT ve TT genotip dağılımları sırası ile hasta grubunda %42.9, %20.8 ve %36.8, kontrol grubunda %43.1, %20.1 ve %36.8 şeklindeydi. Alel sıklıklarına bakıldığında C ve T aleli hasta grubunda %53.3 ve %46.7, kontrol grubunda %53.1 ve %46.9 şeklindeydi. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. ROCK2 geni rs726843 polimorfizminin, genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrolgrubu (n=209) n (%)	Hasta grubu (n=168) n (%)	P	OR (95% CI)
C/C	90 (43.1)	72 (42.9)		
C/T	42 (20.1)	35 (20.8)	0.9940	1.042 (0.604-1.797)
T/T	77 (36.8)	61 (36.3)	0.9665	0.990 (0.627-1.564)
C	222 (53.1)	179 (53.3)		
T	196 (46.9)	157 (46.7)	0.9643	0.993 (0.745-1.325)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs2290156 polimorfizmi

GG, GC ve CC genotipleri sırası ile hasta grubunda %58.9, %18.9 ve %22.2, kontrol grubunda %52.5, %25.2 ve %22.3 şeklindeydi. Alel sıklıklarına bakıldığında G ve C alelleri sırası ile hasta grubunda %68.3 ve %31.7, kontrol grubunda %65.1 ve %34.9 olarak tespit edildi. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. *ROCK2* geni rs2290156 polimorfizminin, genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=238) n (%)	Hasta grubu (n=180) n (%)	P	OR (95% CI)
G/G	125 (52.5)	106 (58.9)		
G/C	60 (25.2)	34 (18.9)	0.1387	0.668 (0.408-1.095)
C/C	53 (22.3)	40 (22.2)	0.7283	0.890 (0.548-1.446)
G	310 (65.1)	246 (68.3)		
C	166 (34.9)	114 (31.7)	0.3687	0.865 (0.647-1.158)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs965665 polimorfizmi

GG, GC ve CC genotipleri sırası ile hasta grubunda %77.5, %20.4 ve %2.1 ve kontrol grubunda %75.0, %23.6 ve %1.4 şeklindeydi. Alel frekanslarına bakıldığında G ve C aleli sırası ile hasta grubunda %87.7 ve %12.3, kontrol grubunda %86.8 ve %13.2 olarak tespit edilmiştir. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi (Tablo 4.17).

Tablo 4.17. *ROCK2* geni rs965665 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=276) n (%)	Hasta grubu (n=191) n (%)	P	OR (95% CI)
G/G	207 (75.0)	148 (77.5)		
G/C	65 (23.6)	39 (20.4)	0.5148	0.839 (0.535-1.316)
C/C	4 (1.4)	4 (2.1)	0.7244	1.399 (0.344-5.684)
G	479 (86.8)	335 (87.7)		
C	73 (13.2)	47 (12.3)	0.7534	0.921 (0.622-1.363)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs10178332 polimorfizmi

AA, AC ve CC genotipleri sırası ile hasta grubunda %71.0, %15.6 ve %13.4, kontrol grubunda %68.3, %22.5 ve %9.2 şeklindeydi. Alel frekanslarına bakıldığında A ve C aleli sırası ile hasta grubunda %78.8 ve %21.2, kontrol grubunda %79.6 ve %20.4 olarak tespit edilmiştir. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi (Tablo 4.18).

Tablo 4.18. ROCK2 geni rs10178332 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=218) n (%)	Hasta grubu (n=179) n (%)	P	OR (95% CI)
A/A	149 (68.3)	127 (71.0)		
A/C	49 (22.5)	28 (15.6)	0.1679	0.670 (0.398-1.129)
C/C	20 (9.2)	24 (13.4)	0.3309	1.408 (0.743-2.667)
A	347 (79.6)	282 (78.8)		
C	89 (20.4)	76 (21.2)	0.8461	1.051 (0.745-1.482)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs2230774 (Thr431Asn) polimorfizmi

CC, CA, ve AA genotipleri sırası ile hasta grubunda %27.3, %44.4 ve %28.3 ve kontrol grubunda %30.2, %45.7 ve %24.1 şeklindeydi. Alel frekanslarına bakıldığında C ve A aleli sırası ile hasta grubunda %49.5 ve %50.5, kontrol grubunda %53.0 ve % 47.0 olarak tespit edilmiştir. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi (Tablo 4.19).

Tablo 4.19. *ROCK2* geni rs2230774 (Thr431Asn) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=265) n (%)	Hasta grubu (n=187) n (%)	P	OR (95% CI)
C/C	80 (30.2)	51 (27.3)		
C/A	121 (45.7)	83 (44.4)	0.8370	1.076 (0.687-1.686)
A/A	64 (24.1)	53 (28.3)	0.3758	1.299 (0.783-2.154)
C	281 (53.0)	185 (49.5)		
A	249 (47.0)	189 (50.5)	0.3244	1.153 (0.885-1.503)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs2230774 (Thr431Ser) polimorfizmi

CC, CG ve GG genotipleri sırası ile hasta grubunda %25.3, %46.7 ve %28.0, kontrol grubunda %30.7, %44.4 ve %24.9 şeklindeydi. Alel frekanslarına bakıldığında C ve G aleli sırası ile hasta grubunda %48.6 ve %51.4, kontrol grubunda %52.9 ve %47.1 olarak tespit edilmiştir. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi (Tablo 4.20).

Tablo 4.20. *ROCK2* geni rs2230774 (Thr431Ser) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=257) n (%)	Hasta grubu (n=182) n (%)	P	OR (95% CI)
C/C	79 (30.7)	46 (25.3)		
C/G	114 (44.4)	85 (46.7)	0.3475	1.281 (0.809-2.027)
G/G	64 (24.9)	51 (28.0)	0.2897	1.369 (0.816-2.296)
C	272 (52.9)	177 (48.6)		
G	242 (47.1)	187 (51.4)	0.2361	1.187 (0.908-1.554)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs6755196 polimorfizmi

GG, GA ve AA genotipleri sırası ile hasta grubunda %75.9, %20.9 ve %3.2, kontrol grubunda %72.9, %25.3 ve %1.8 şeklindeydi. Alel frekanslarına bakıldığında G ve A aleli sırası ile hasta grubunda %86.4 ve %13.6, kontrol grubunda %85.5 ve %14.5 olarak tespit edilmiştir. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi (Tablo 4.21).

Tablo 4.21. *ROCK2* geni rs6755196 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=273) n (%)	Hasta grubu n=187 n (%)	P	OR (95% CI)
G/G	99 (72.9)	142 (75.9)		
G/A	69 (25.3)	39 (20.9)	0.3635	0.792 (0.506-1.240)
A/A	5 (1.8)	6 (3.2)	0.5370	1.682 (0.503-5.620)
G	467 (85.5)	323 (86.4)		
A	79 (14.5)	51 (13.6)	0.7951	0.933 (0.639-1.364)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs10929732 polimorfizmi

GG, GA ve AA genotipleri sırası ile hasta grubunda %66.7, %29.7 ve %3.6, kontrol grubunda %70.0, %27.8 ve %2.2 şeklindeydi. Alel frekanslarına bakıldığında G ve A aleli sırası ile hasta grubunda %81.5 ve %18.5, kontrol grubunda %83.9 ve %16.1 olarak tespit edilmiştir. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi(Tablo 4.22).

Tablo 4.22. *ROCK2* geni rs10929732 polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=273) n (%)	Hasta grubu (n=192) n (%)	P	OR (95% CI)
G/G	191 (70.0)	128 (66.7)		
G/A	76 (27.8)	57 (29.7)	0.6648	1.119 (0.743-1.686)
A/A	6 (2.2)	7 (3.6)	0.3918	1.741 (0.572-5.301)
G	458 (83.9)	313 (81.5)		
A	88 (16.1)	71 (18.5)	0.3911	1.181 (0.837-1.666)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs34945852 (Lys1083Met) polimorfizmi

TT, TA ve AA genotipleri sırası ile hasta grubunda %72.2, %19.9 ve %7.9, kontrol grubunda %70.6, %13.9 ve %15.5 şeklindeydi. Alel frekanslarına bakıldığında T ve A aleli sırası ile hasta grubunda %82.1 ve %17.9, kontrol grubunda %77.6 ve %22.4 olarak tespit edilmiştir. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi (Tablo 4.23).

Tablo 4.23. *ROCK2* geni rs34945852 (Lys1083Met) polimorfizminin genotip ve alel dağılımı

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=194) n (%)	Hasta grubu (n=126) n (%)	P	OR (95% CI)
T/T	137 (70.6)	91 (72.2)		
T/A	27 (13.9)	25 (19.9)	0.3493	1.394 (0.761-2.553)
A/A	30 (15.5)	10 (7.9)	0.0791	0.502 (0.234-1.077)
T	301 (77.6)	207 (82.1)		
A	87 (22.4)	45 (17.9)	0.1954	0.752 (0.504-1.123)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs35768389 (Asp601Val) polimorfizmi

TT, TA ve AA genotipleri sırası ile hasta grubunda %41.8, %30.3 ve %27.9, kontrol grubunda %64.6, %9.4 ve %26.0 şeklindeydi. Alel frekanslarına bakıldığında T ve A aleli sırası ile hasta grubunda %57.0 ve %43.0, kontrol grubunda %69.3 ve %30.7 olarak tespit edilmiştir. TA, AA genotipi ve A aleli Behçet hastalarında kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulundu. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı olarak farklıydı (Tablo 4.24).

Tablo 4.24. *ROCK2* geni rs35768389 (Asp601Val) polimorfizminin genotip ve alel dağılımları

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=246) n (%)	Hasta grubu (n=165) n (%)	P	OR (95% CI)
T/T	159 (64.6)	69 (41.8)		
T/A	23 (9.4)	50 (30.3)	<0.0001	5.009 (2.836-8.850)
A/A	64 (26.0)	46 (27.9)	0.0479	1.656 (1.032-2.657)
T	341 (69.3)	188 (57.0)		
A	151 (30.7)	142 (43.0)	0.0004	1.706 (1.276-2.280)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

Klinik bulgularla yapmış olduğumuz karşılaştırmada TA genotipi genital ülser, pozitif paterji testi, akneiform lezyon, vasküler tutulum, üveitte artritli, HLA pozitiflik saptanan olgularda, AA genotipi pozitif paterji, akneiform lezyon HLA pozitiflik saptanan olgularda yüksek bulundu. A alelinin de genital ülser, pozitif paterji testi, akneiform lezyon, vasküler tutulum, üveit, HLA pozitiflik görülen olgularda yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 4.25).

Tablo 4.25. *ROCK2* geni rs35768389 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımı

Genotip/ Alel	Kontrol (n=246) n (%)	J.Ü. (n=121) n (%)	P	E. N. (n=33) n (%)	P	P. P. (n=63) n (%)	P	A.L. (n=70) n (%)	P	V.T. (n=27) n (%)	P	Üveit (n=55) n (%)	P	Artrit (n=40) n (%)	P	HLA+ (n=30) n (%)	P
T/T	159 (64.6)	52 (43.0)		16 (48.5)		20 (31.7)		23 (32.9)		11 (40.8)		22 (40.0)		20 (50.0)		11 (36.7)	
T/A	23 (9.4)	34 (28.1)	<0.0001	6 (18.2)	0.0976	6 (25.4)	<0.0001	21 (30.0)	<0.0001	6 (22.2)	0.0222	15 (27.3)	0.0002	9 (22.5)	0.0215	6 (20.0)	0.0222
A/A	64 (26.0)	35 (28.9)	0.0686	11 (33.3)	0.2651	27 (42.9)	0.0003	26 (37.1)	0.0018	10 (37.0)	0.0841	18 (32.7)	0.0623	11 (27.5)	0.5285	13 (43.3)	0.0184
T	341 (69.3)	138 (57.0)		38 (57.6)		56 (44.4)		67 (47.9)		28 (51.9)		59 (53.6)		49 (61.3)		28 (46.7)	
A	151 (30.7)	104 (43.0)	0.0014	28 (42.4)	0.0756	70 (55.6)	<0.0001	73 (52.1)	<0.0001	26 (48.1)	0.0143	51 (46.4)	0.0024	31 (38.7)	0.1916	32 (53.3)	0.0007

J.Ü.: Genital ülser, E.N.: Eritema nodozum, P.P.: Pozitif paterji, A.L.: Akneiform lezyon, V.T.: Vasküler tutulum

rs1515219 polimorfizmi

CC, CT ve TT genotipi sırası ile hasta grubunda %52.0, %27.7 ve %20.3, kontrol grubunda %31.7, %44.6 ve %23.7 şeklindeydi. Alel sıklıklarına bakıldığında C ve T aleli sırasıyla hasta grubunda %65.8 ve %34.2, kontrol grubunda ise %54 ve %46 olarak tespit edildi. CT ve TT genotipi dağılımları ve T alel sıklığı Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak düştü (Tablo 4.26).

Tablo 4.26. ROCK2 geni rs1515219 polimorfizminin genotip ve alel dağılımları

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=224) n (%)	Hasta grubu (n=177) n (%)	P	OR (95% CI)
C/C	71 (31.7)	92 (52.0)		
C/T	100 (44.6)	49 (27.7)	<0.0001	0.378 (0.238-0.600)
T/T	53 (23.7)	36 (20.3)	0.0217	0.524 (0.310-0.886)
C	242 (54.0)	233 (65.8)		
T	206 (46.0)	121 (34.2)	0.0010	0.610 (0.458-0.814)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

Tüm klinik bulguları (jenital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, vasküler tutulum, üveit, artrit ve HLA pozitiflik) gösteren hastalarda CT genotipi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düştü. TT genotipi eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, üveit ve HLA pozitifliğe göre anlamlı derecede düştü. Alel frekanslarına bakıldığında T alelinin vasküler tutulum (jenital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyon, üveit, artrit, HLA pozitiflik) dışındaki diğer tüm klinik bulgularda kontrol grubuna göre düşük olduğu görüldü (Tablo 4.27).

Tablo 4. 27. *ROCK2* geni rs1515219 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımı

Genotip/ Alel	Kontrol (n=224) n (%)	J.Ü. (n=131) n (%)	P	E.N. (n=36) n (%)	P	P. P. (n=68) n (%)	P	A.L. (n=72) n (%)	P	V.T. (n=26) n (%)	P	Üveit (n=57) n (%)	P	Artrit (n=41) n (%)	P	HLA+ (n=32) n (%)	P
C/C	71 (31.7)	69 (52.7)		26 (72.2)		41 (60.3)		51 (70.8)		14 (53.8)		37 (64.9)		22 (53.7)		26 (81.25)	
C/T	100 (44.6)	33 (25.2)	<0.0001	4 (11.1)	<0.0001	17 (25.0)	0.0002	9 (12.5)	<0.0001	4 (15.4)	0.0050	15 (26.3)	0.0003	11 (26.8)	0.0123	2 (6.25)	<0.0001
T/T	53 (23.7)	29 (22.1)	0.0607	6 (16.7)	0.0141	10 (14.7)	0.0052	12 (16.7)	0.0012	8 (30.8)	0.6445	5 (8.8)	0.0003	8 (19.5)	0.1451	4 (12.5)	0.0028
C	242 (54.0)	171 (65.3)		56 (77.8)		99 (72.8)		111 (77.1)		32 (61.5)		89 (78.1)		55 (67.1)		54 (84.4)	
T	206 (46.0)	91 (34.7)	0.0043	16 (22.2)	0.0003	37 (27.2)	0.0001	33 (22.9)	<0.0001	20 (38.5)	0.3766	25 (21.9)	<0.0001	27 (32.9)	0.0386	10 (15.6)	<0.0001

J.Ü.: Genital ülser, E.N.: Eritema nodozum, P.P.: Pozitif paterji, A.L.: Akneiform lezyon, V.T.: Vasküler tutulum

RhoA geni

rs2878298 polimorfizmi

GG, GA ve AA genotipleri sırası ile hasta grubunda %35.1, %48.4 ve %16.5, kontrol grubunda %43.0, %39.1 ve %17.9 şeklindeydi. Alel frekanslarına bakıldığında G ve A aleli sırası ile hasta grubunda %59.3 ve %40.7, kontrol grubunda %62.5 ve %37.5 olarak tespit edildi. Genotip ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi (Tablo 4.28).

Tablo 4.28. RhoA geni rs2878298 polimorfizminin genotip ve alel dağılımları

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=263) n (%)	Hasta grubu (n=194) n (%)	P	OR (95% CI)
G/G	113 (43.0)	68 (35.1)		
G/A	103 (39.1)	94 (48.4)	0.0591	1.517 (1.006-2.287)
A/A	47 (17.9)	32 (16.5)	0.7572	1.131 (0.659-1.943)
G	329 (62.5)	230 (59.3)		
A	197 (37.5)	158 (40.7)	0.3505	1.147 (0.877-1.501)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

rs6784820 polimorfizmi

AA, AG ve GG genotipi ve G aleli sırası ile hasta grubunda %43.6, %27.1 ve %29.3, kontrol grubunda %59.4, %14.2 ve %26.4 olarak bulundu. Alel frekanslarına bakıldığında A ve G aleli sırası ile hasta grubunda %57.1 ve %42.9, kontrol grubunda %66.5 ve %33.5 olarak tespit edildi. AG genotip ve G aleli hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Genotip dağılımları ve alel sıklığı Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı derecede farklılık gösterdi (Tablo 4.29).

Tablo 4.29. *RhoA* geni rs6784820 polimorfizminin genotip ve alel dağılımları

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=155) n (%)	Hasta grubu (n=140) n (%)	<i>P</i>	OR (95% CI)
A/A	92 (59.4)	61 (43.6)		
A/G	22 (14.2)	38 (27.1)	0.0033	2.605 (1.406-4.828)
G/G	41 (26.4)	41 (29.3)	0.1753	1.508 (0.878-2.590)
A	206 (66.5)	160 (57.1)		
G	104 (33.5)	120 (42.9)	0.0250	1.486 (1.064-2.075)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

Klinik bulgulara göre yapılan değerlendirmede, AG genotipi artrit dışındaki tüm klinik bulguları (jenital ülser, pozitif paterji testi, akneiform lezyon, vasküler tutulum, üveit, HLA pozitiflik) gösteren hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. G aleli jenital ülser, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlu olgularda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (Tablo 4.30).

Tablo 4.30. *RhoA* geni rs6784820 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımı

Genotip/ Alel	Kontrol (n=155) n (%)	J.Ü. (n=99) n (%)	P	E.N. (n=31) n (%)	P	P. P. (n=51) n (%)	P	A.L. (n=59) n (%)	P	V.T. (n=22) n (%)	P	Üveit (n=42) n (%)	P	Artrit (n=30) n (%)	P	HLA+ (n=27) n (%)	P
A/A	92 (59.4)	42 (42.4)		13 (41.9)		18 (35.3)		24 (40.7)		7 (31.8)		18 (42.8)		12 (40)		11 (40.8)	
A/G	22 (14.2)	24 (24.2)	0.0187	11 (35.5)	0.0088	18 (35.3)	0.0009	16 (27.1)	0.0178	9 (40.9)	0.0029	12 (28.6)	0.0280	8 (26.7)	0.0763	8 (29.6)	0.0383
G/G	41 (26.4)	33 (33.4)	0.0793	7 (22.6)	0.7969	15 (29.4)	0.1660	19 (32.2)	0.1552	6 (27.3)	0.3505	12 (28.6)	0.3893	10 (33.3)	0.2211	8 (29.6)	0.4312
A	206 (66.5)	108 (54.5)		37 (59.7)		54 (51.4)		64 (54.2)		23 (52.3)		48 (57.1)		32 (53.3)		30 (55.6)	
G	104 (33.5)	90 (45.5)	0.0093	25 (40.3)	0.1704	48 (48.6)	0.0196	54 (45.8)	0.0259	21 (47.7)	0.0943	36 (42.9)	0.1463	28 (46.7)	0.0728	24 (44.4)	0.1636

J.Ü.: Genital ülser, E.N.: Eritema nodozum, P.P.: Pozitif paterji, A.L.: Akneiform lezyon, V.T.: Vasküler tutulum

rs974495 polimorfizmi

GG, GA ve AA genotipi sırası ile hasta grubunda %49.7, %28.1 ve %22.2, kontrol grubunda %55.5, %16.5 ve %28.0 olarak bulundu. GA genotipi hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Alel frekanslarına bakıldığında G ve A aleli sırası ile hasta grubunda %63.7 ve %36.3, kontrol grubunda %63.8 ve %36.2 olarak tespit edildi (Tablo 4.31). Genotip dağılımı Behçet hastaları ve kontrol grubunda anlamlı derecede farklılık gösterdi. Alel frekansları ise hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi.

Tablo 4.31. *RhoA* geni rs974495 polimorfizminin genotip ve alel dağılımları

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=200) n (%)	Hasta grubu (n=171) n (%)	P	OR (95% CI)
G/G	111 (55.5)	85 (49.7)		
G/A	33 (16.5)	48 (28.1)	0.0228	1.899 (1.123-3.213)
A/A	56 (28.0)	38 (22.2)	0.7282	0.886 (0.538-1.460)
G	255 (63.8)	218 (63.7)		
A	145 (36.2)	124 (36.3)	0.9984	1.000 (0.741-1.351)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

Klinik bulgulara göre yapılan değerlendirmede, akneiform lezyonu olanlarda AA genotipi ve A aleli, vasküler tutulum gösteren hastalarda ise sadece A aleli kontrol grubundan anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.32).

Tablo 4.32. *RhoA* geni rs974495 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel sıklığı.

Genotip/ Alel	Kontrol (n=200) n (%)	J.Ü. (n=121) n (%)	P	E.N. (n=30) n (%)	P	P. P. (n=63) n (%)	P	A.L. (n=68) n (%)	P	V.T. (n=24) n (%)	P	Üveit (n=51) n (%)	P	Artrit (n=38) n (%)	P	HLA+ (n=29) n (%)	P
G/G	111 (55.5)	64 (52.9)		21 (70.0)		39 (61.9)		46 (67.6)		18 (75.0)		29 (56.9)		24 (63.2)		17 (58.6)	
G/A	33 (16.5)	33 (27.3)	0.0804	3 (10.0)	0.2967	13 (20.6)	0.8488	13 (19.1)	1.0000	2 (8.3)	0.2509	12 (23.5)	0.4141	7 (18.4)	1.0000	8 (27.6)	0.6128
A/A	56 (28.0)	24 (19.8)	0.3776	6 (20.0)	0.2748	11 (17.5)	0.1623	9 (13.2)	0.0166	4 (16.7)	0.2221	10 (19.6)	0.4463	7 (18.4)	0.2953	4 (13.8)	0.2204
G	255 (63.8)	161 (66.5)		45 (75.0)		91 (72.8)		105 (77.2)		38 (79.2)		70 (68.6)		55 (72.4)		42 (72.4)	
A	145 (36.2)	81 (33.5)	0.5292	15 (25.0)	0.1186	35 (27.8)	0.1009	31 (22.8)	0.0054	10 (20.8)	0.0369	32 (31.4)	0.4213	21 (27.6)	0.1889	16 (27.6)	0.2525

J.Ü.: Genital ülser, E.N.: Eritema nodozum, P.P.: Pozitif paterji, A.L.: Akneiform lezyon, V.T.: Vasküler tutulum

rs2177268 polimorfizmi

TT, TA ve AA genotipleri sırası ile hasta grubunda %48.5, %33.5 ve %18.0, kontrol grubunda %61.7, %12.2 ve %26.1 olarak tespit edildi. Alel frekanslarına bakıldığında T ve A aleli sırası ile hasta grubunda %65.2 ve %34.8, kontrol grubunda %67.8 ve %32.2 olarak bulundu. TA genotipi Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (Tablo 4.33). Genotip dağılımı Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede farklıydı. Alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi.

Tablo 4.33. *RhoA* geni rs2177268 polimorfizminin genotip ve alel dağılımları

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=222) n (%)	Hasta grubu (n=161) n (%)	P	OR (95% CI)
T/T	137 (61.7)	78 (48.5)		
T/A	27 (12.2)	54 (33.5)	<0.0001	3.513 (2.049-6.024)
A/A	58 (26.1)	29 (18.0)	0.7249	0.878 (0.519-1.485)
T	301 (67.8)	210 (65.2)		
A	143 (32.2)	112 (34.8)	0.5035	1.123 (0.829-1.521)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

TA genotipi eritema nodozum dışındaki karşılaştırdığımız tüm klinik bulguları (jenital ülser, pozitif paterji testi, akneiform lezyon, vasküler tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik) gösteren hastalarda anlamlı olarak yüksekti. Alel sıklıkları hiçbir klinik bulgu için kontrol grubundan anlamlı derecede farklı değildi (Tablo 4.34).

Tablo 4.34. *RhoA* geni rs2177268 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel dağılımı.

Genotip/ Alel	Kontrol (n=222) n (%)	J.Ü. (n=114) n (%)	P	E.N. (n=31) n (%)	P	P. P. (n=62) n (%)	P	A.L. (n=66) n (%)	P	V.T. (n=25) n (%)	P	Üveit (n=53) n (%)	P	Artrit (n=36) n (%)	P	HLA+ (n=33) n (%)	P
T/T	137 (61.7)	61 (53.5)		21 (67.7)		34 (54.8)		37 (56.1)		15 (60.0)		31 (58.5)		18 (50.0)		17 (51.5)	
T/A	27 (12.2)	32 (28.1)	0.0017	7 (22.6)	0.2876	16 (25.8)	0.0253	16 (24.2)	0.0458	5 (20.0)	0.3521	14 (26.4)	0.0350	12 (33.3)	0.0058	12 (36.4)	0.0046
A/A	58 (26.1)	21 (18.4)	0.5824	3 (9.7)	0.0923	12 (19.4)	0.7194	13 (19.7)	0.7272	5 (20.0)	0.7992	8 (15.1)	0.3297	6 (16.7)	0.8127	4 (12.1)	0.4467
T	301 (67.8)	154 (67.5)		49 (79.0)		80 (66.7)		90 (68.2)		35 (70.0)		76 (71.7)		48 (66.7)		46 (69.7)	
A	143 (32.2)	74 (32.5)	0.9479	13 (21.0)	0.0790	40 (33.3)	0.9014	42 (31.8)	0.9330	15 (70.0)	0.8732	30 (28.3)	0.5082	24 (33.3)	0.9572	20 (30.3)	0.8665

J.Ü.: Genital ülser, E.N.: Eritema nodozum, P.P.: Pozitif paterji, A.L.: Akneiform lezyon, V.T.: Vasküler tutulum

rs3448 polimorfizmi

CC, CT ve TT genotipleri sırası ile hasta grubunda %68.4, %14.9 ve %16.7, kontrol grubunda %60.9, %15.9 ve %23.2 şeklindeydi. Genotip dağılımları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi. Alel frekanslarına bakıldığında C ve T aleli sırası ile Behçet hastalarında %75.9 ve %24.1, kontrol grubunda %68.8 ve %31.2 olarak kaydedildi. T aleli Behçet hastalarında anlamlı olarak düşük bulundu (Tablo 4.35).

Tablo 4-35. *RhoA* geni rs3448 polimorfizminin genotip ve alel dağılımları

Genotipler/ Aleller	Kontrol grubu (n=207) n (%)	Hasta grubu (n=168) n (%)	P	OR (95% CI)
C/C	126 (60.9)	115 (68.4)		
C/T	33 (15.9)	25 (14.9)	0.5602	0.830 (0.466-1.480)
T/T	48 (23.2)	28 (16.7)	0.1262	0.639 (0.376-1.086)
C	285 (68.8)	255 (75.9)		
T	129 (31.2)	81 (24.1)	0.0397	0.702 (0.507-0.972)

OR: Odds oranı, CI: güvenlik aralığı

Klinik bulgulara göre karşılaştırma yapıldığında, TT genotipinin pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar artrit ve HLA pozitiflik gösteren hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu görüldü. T aleli vasküler tutulum dışındaki tüm klinik bulguları (jenital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyon, üveit, artrit ve HLA pozitiflik) gösteren olgularda kontrol grubuna göre düşüktü (Tablo 4.36).

Tablo 4.36. *RhoA* geni rs3448 polimorfizminin genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji, akne, vasküler tutulum, nörolojik tutulum, üveit, artrit, HLA pozitiflik saptanan hastalar ve kontrol grubundaki genotip ve alel sıklığı.

Genotip/ Alel	Kontrol (n=207) n (%)	J.Ü. (n=111) n (%)	P	E.N. (n=34) n (%)	P	P. P. (n=61) n (%)	P	A.L. (n=64) n (%)	P	V.T. (n=26) n (%)	P	Üveit (n=49) n (%)	P	Artrit (n=36) n (%)	P	HLA+ (n=30) n (%)	P
C/C	126 (60.9)	79 (71.2)		26 (76.5)		47 (77.0)		50 (78.2)		19 (73.1)		34 (69.4)		31 (86.1)		23 (76.7)	
C/T	3 (15.9)	13 (11.7)	0.2365	5 (14.7)	0.6330	7 (11.5)	0.2326	7 (10.9)	0.2322	4 (15.4)	1.0000	10 (20.4)	0.8353	3 (8.3)	0.1450	5 (16.7)	1.0000
T/T	48 (23.2)	19 (17.11)	0.1448	3 (8.8)	0.0626	7 (11.5)	0.0294	7 (10.9)	0.0197	3 (11.5)	0.2026	5 (10.2)	0.0650	2 (5.6)	0.0070	2 (6.6)	0.0460
C	285 (68.8)	171 (77.0)		57 (83.8)		101 (82.8)		107 (83.6)		42 (80.8)		78 (79.6)		65 (90.3)		51 (85.0)	
T	129 (31.2)	51 (23.0)	0.0381	11 (16.2)	0.0179	21 (17.2)	0.0039	21 (16.4)	0.0017	10 (19.2)	0.1065	20 (20.4)	0.0488	7 (9.7)	<0.0001	9 (15.0)	0.0095

J.Ü.: Genital ülser, E.N.: Eritema nodozum, P.P.: Pozitif paterji, A.L.: Akneiform lezyon, V.T.: Vasküler tutulum

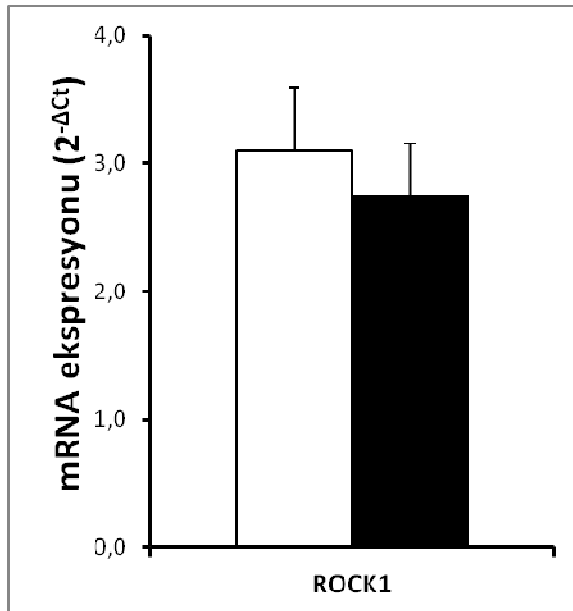
4.2. Gen ekspresyonu sonuçları

Yaptığımız gen ekspresyonu çalışması sonucunda hasta grubunun kanındaki *ROCK1* mRNA içeriği, kontrole göre biraz düşük bulundu, ama bu düşüş anlamlı değildi (Tablo 4.37, Şekil 4.1). *ROCK2* mRNA içeriği ise kontrole göre belirgin derecede yükseldi (Tablo 4.38, Şekil 4.2). BH olanlarda *ROCK2* gen ekspresyonu yaklaşık %300 artmıştı.

Tablo 4.37. Kontrol grubu ve BH olan olguların kanlarındaki *ROCK1* mRNA içeriğinin karşılaştırılması.

ROCK1	Kontrol grubu (n=20) Medyan (min–maks)	Hasta grubu (n=20) Medyan (min–maks)	Katı	P*
$\Delta CT = Ct(\text{hedef}) - Ct(\text{GAPDH})$	-1.455 (-3.06-0.43)	-1.145 (-2.69-1.14)	$\Delta\Delta Ct: (-1.455) - (-1.145) = -0.31$	0.6360
İçerik = $2^{-\Delta Ct}$	2.742 (0.74-8.34)	2.234 (0.45-6.45)	$2.742/2.234=1.23$	0.6360

*Mann–Whitney U testi

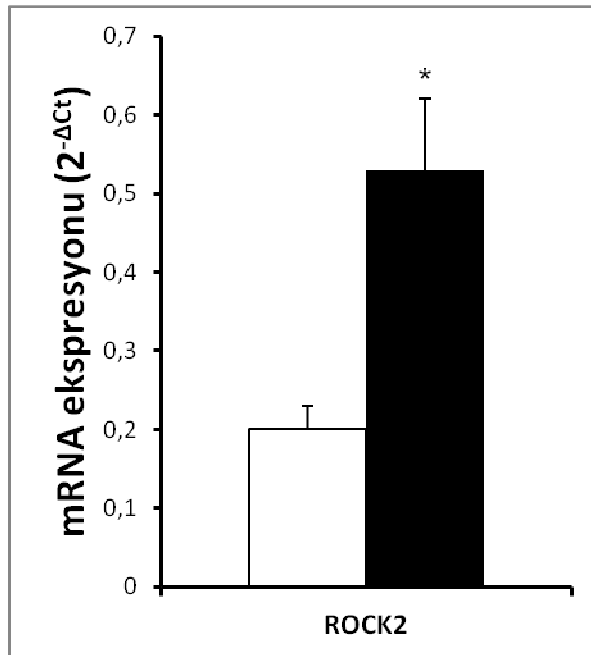


Şekil 4.1. Kontrol grubu (n=20 beyaz kolon) ile BH olan olguların (n=20 siyah kolon) periferik kanındaki *ROCK1* mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması.

Değerler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir.

Tablo 4.38. Kontrol grubu ve BH olan olguların kanlarındaki ROCK2 mRNA içeriğinin karşılaştırılması.

ROCK2	Kontrol grubu (n=20) Medyan (min-maks)	Hasta grubu (n=20) Medyan (min-maks)	Katı	P
$\Delta C_T = C_T(\text{hedef})$ – $C_T(\text{GAPDH})$	2.63 (1.00-5.06)	0.95 (-0.53 to 4.26)	$\Delta\Delta C_T: 2.63-0.95$ =1.68	0.0018
İçerik = $2^{-\Delta C_T}$	0.163 (0.03-0.50)	0.518 (0.05-1.44)	0.163/0.518 =0.31	0.0018



Şekil 4.2. Kontrol grubu (n=20 beyaz kolon) ile BH olan olguların (n=20 siyah kolon) periferik kanındaki ROCK2 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırılması. Değerler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

BH bütün çaplardaki arter ve venleri etkileyebilen nedeni tam olarak bilinmeyen sistemik bir vaskülitir. Hastalık yaygın klinik semptomlarla karakterize olduğundan etiyopatogeneze birden fazla mekanizmanın varlığı düşünülmektedir. Genetik olarak bu hastalığa duyarlı bir bireyde, uygun çevresel faktörlerin devreye girmesiyle immün sistemin tetiklendiği, endotel hasarının olduğu ve BH'nin klinik bulgularının ortaya çıktığı kabul edilmektedir (25). Rho/Rho kinaz yolağının endotel hasarında rolü olmasından yola çıkılarak yapılan bu çalışmada *ROCK1*, *ROCK2* ve *RhoA* gen polimorfizmleri ile BH arasındaki ilişki incelenmiştir.

BH'nin HLA-B5 ve özellikle de HLA-B51 (HLA-B5101 ve HLA-B5108 alelleri) ile sıkı bir ilişkide olduğu bilinmektedir (185-188). Günümüzdeki verilere göre HLA-B5101 geni çeşitli etnik gruplarda BH'ye yakınlıkla ilişkili kabul edilen en önemli gendir. Behçet hastası olsun olmasın HLA-B51 geni taşıyan kişilerin nötrofilleri aşırı fonksiyon göstermektedir. HLA-B51'in hastalığın daha şiddetli klinik formları ile ve göz tutulumu ile sık birliktelik gösterdiği bildirilmiştir (189). Toplumlar arasında HLA-B51 sıklığı da değişiklikler göstermekte, Türk ve Japon Behçet hastalarında görülme sıklığı yüksek iken, İngiliz hastalarda bu oran düşmektedir (190). Ailesinde BH olanlar da dahil olmak üzere, HLA-B51 pozitif olanların birçoğunda BH görülmemektedir. Behçet hastalarının %60'tan fazla bir oranda HLA-B51 ilişkili olduğu (189), ancak bu ilişkinin hastalığa olan genetik yakınlıktaki rolünün %20 civarında olduğu kaydedilmektedir (55). Bu durum, HLAB-51'in hastalığın mekanizmasını tek başına açıklayamayacağını ve BH'ye yakınlıkta bazı başka genlerin de sorumlu olabileceğini düşündürmektedir (191).

Diğer HLA genlerinin de (HLA-C ve HLA-DR) BH'ye yakınlıkla ilişkili olabileceği gösterilmiştir (192). Meguro ve ark. da (57) BH'nin patojenezine iki tane birbirinden bağımsız HLA aleli olan HLA-B5101 ve HLA-A26'nin katıldığını göstermiştir.

Mizuki ve ark. (59) MICA geni mikrosatellit polimorfizmi ile BH arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan stratifikasyon ve linkage analizi esas şüpheli genin

HLA-B51 olduğu, MICA009'un ise HLA-B51 ile aynı kromozomda yan yana bulunduğu için (*linkage disequilibrium*) BH ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (59,61). Aynı şekilde MICA A6 alelinin de HLA-B51 ile *linkage disequilibrium* içinde olduğu için BH ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (63).

TNF- α geni, 6. kromozomun kısa kolunda HLA-B'ye 200 kb yakınlığında bir yerleşim gösterir. Ahmad ve ark. (193) İngiliz toplumunda, Akman ve ark. (65) Türk toplumunda TNF- α 1031 T/C polimorfizminin, HLA-B51'den bağımsız olarak hastalıkla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. TNF- α ile BH'nin ilişkisinin incelendiği çalışmaların toplu olarak ele alındığı bir meta analiz çalışmasında TNF- α geni -1031C, -238A ve -857T polimorfizmlerinin çeşitli etnik gruplarda BH ile ilişkili olduğu kaydedilmiştir (67).

Ailesel Akdeniz ateşi ve BH'nin bazı klinik bulguları ve coğrafi dağılımlarının benzerlik göstermesinden yola çıkılarak, Behçet olgularında MEFV gen mutasyonları da çalışılmış, M694V ve V726A mutasyonun BH ile ilişkili olduğu saptanmıştır (70).

eNOS geni ekson 7'deki (Glu298Asp) polimorfizmin, düşük NO düzeyine neden olarak, BH'deki tromboza katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. eNOS GluAsp298 polimorfizmi İtalyan (44) ve Tunus toplumunda (76) BH ile ilişkili bulunurken, Türk toplumunda anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (194).

Endotel hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu stimüle eden, potent anjiogenik sitokin olan VEGF'nin -634C/G ve 2549. bölgedeki ID polimorfizmi İtalyan toplumunda BH ile ilişkili bulunurken (83), Tunus toplumunda ID polimorfizmi sadece oküler bulgularla (84) ilişkili bulunmuştur.

Bunların dışında ICAM-1 (71), IL-1, (68), IL-1 β (195), IL-10, IL-23 reseptör (IL23R), IL 12 reseptör β 2 (IL12RB2) (196,197) ve CD28 (81) genlerinin de BH'ye yatkınlık ya da patojenezde rolü olabileceğine dair veriler bulunmaktadır. IL-8 haplotip sıklığının BH olanlarda anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmektedir (198). Toll/IL reseptör 1 (TIR) *domeyni* içeren adaptör protein (TIRAP) geninin polimorfizmlerinin etnik kökene bağlı olarak BH ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (199). Bunun yanında CTLA-4 polimorfizminin BH ile ilişkisi tartışmalı olarak kalmaya devam etmektedir (82,200). Bu çalışmalar hep beraber ele alındığında,

BH'ye yatkınlığın belirlenmesinde kişinin genetik faktörlerinin önemli role sahip olduğu fikri oluşmaktadır.

RhoA/ROCK sinyal yolağının vasküler hastalıkların patolojisine katıldığı ve bu yolağın ateroskleroz, pulmoner hipertansiyon ve inme gibi birçok kardiyovasküler olayda rol aldığı, bunun yanında RhoA/ROCK'un NO üzerinde de etkili olduğu gösterilmiştir (201,202). ROCK enziminin damar fizyolojisi ve kardiyovasküler bozukluklar üzerinde önemli fonksiyonları olduğu, ROCK inhibitörleri olan fasudil (HA-1077), hidroksifasudil ve Y-27632 ile hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konmuştur (132,203,204). Rho-kinaz inhibitörü olan Y-26732'nin sıçanlarda *in vivo* yapılan deneylerde, selektif olarak arteriyel basıncı düşürdüğüünün tespit edilmesi Rho-kinazın hipertansiyonun oluşumuna katkıda bulunabileceği fikrini vermiştir (163). NOS inhibitörü olan L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda Y-27632'nin kan basıncını düşürdüğü tespit edilmiştir (159). ROCK'un hipertansiyonda hangi moleküler mekanizmayla aktive olduğu bilinmemekte, anjiyotensin II, endotelin-I, 5-HT, alfa adrenerjik uyarı ve reaktif oksijen radikallerinin hipertansiyonda rol alabileceği kaydedilmektedir (167). Son bilgiler ROCK enzimlerinin hipertansiyon oluşumunda önemli bir rolü olduğunu işaret etmekte ve hipertansif vasküler hastalıklarda diğer farklı yolların ROCK enzim yolu ile birleştiğini göstermektedir (132).

Rho-kinaz ile ilgili polimorfizm çalışmaları az sayıdadır ve daha çok hipertansiyon ile ilişkilidir. Seasholtz ve ark. (205) *ROCK2* Thr431Asn polimorfizmi ile hipertansiyon arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu bölge ROCK dimerizasyonu ve Rho bağlanması ile ilişkili olduğu düşünülen kıvrılmış sarmal bölgedeki proteine ait amino asidi kodlamaktadır. Yapılan bu çalışmada, *ROCK2* genindeki bu polimorfizmin kan basıncında sistemik rezistansla ilişkili değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Bununla beraber, Çin toplumunda yapılan bir çalışmada *ROCK2* Thr431Asn polimorfizminin hipertansiyonla ilişkili olmadığı kaydedilmiştir (206). Rankinen ve ark.'nın (207) yapmış olduğu çalışmada *ROCK2* rs965665, rs10178332 ve rs6755196 polimorfizmleri düşük hipertansiyon riski ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada aynı zamanda rs965665, rs10178332 ve rs6755196'nın *ROCK2*'nin ekspresyonunda ya da aktivitesinde azalmaya neden olabilecek fonksiyonel bölge varyantlarını içeriyor olabileceği belirtilmiştir. Bunun yanında *ROCK2* genine ait

çeşitli polimorfizmlerin (rs9808232, rs726843, rs5829297, s4027164, rs1546597, rs978906 ve rs8966) Fin toplumunda preeklampsi ile ilişki göstermediği bulunmuştur (207).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada diyabetik sıçanlardaki retinal mikrovaskülaritede de Rho/ROCK aktivasyonunun olduğu gösterilmiştir (209). Ancak, Türk toplumunda ROCK2 rs1130757 (Arg83Lys) ve Thr431Asn polimorfizmlerinin diyabetik retinopati ile ilişkisinin olmadığı kaydedilmiştir (210).

Rho kinazlar kıvrılmış sarmal bölgede paralellik gösteren dimerlerdir ve dimerize olan kinaz bölgesi fosforilasyon olmayınca aktif şekle geçer (211). Dimerik yapı normal *in vivo* fonksiyon için gerekli olduğundan kıvrılmış sarmal bölgede oluşan değişikliğin dimerizasyon, Rho bağlanması ve sonuç olarak ROCK aktivasyonu ve substratlarının fosforilasyonunu etkilediği söylenebilir (212).

Bu çalışmada *ROCK1* genine ait 7, *ROCK2* genine ait 12, RhoA genine ait 5 polimorfizm bölgesinin BH ile ilişkisi araştırıldı. Bu genlere ait polimorfizmlerin genotip ve alel analizleri yapıldı. Bunun yanı sıra BH ile ilişkili olan polimorfizmlerin alel ve genotiplerinin klinik bulgulardaki dağılımı bulunarak kontrol grubundan farklı olup olmadığı araştırıldı.

ROCK1 genine ait rs35996865, rs111312709 (Thr792Ala) polimorfizmlerinin genotip ve alel dağılımları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. Bununla beraber diğer 5 polimorfizm (rs2271255, rs73963110, rs112130712, rs111874856, rs112108028 (Pro1164Leu)) ile BH arasında ilişki olduğu tespit edildi.

rs2271255 TC genotipi hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. Alel sıklığına bakıldığında C alelinin de Behçet hastalarında kontrole göre anlamlı olarak düşük olduğu görüldü. Bu polimorfizmlerin klinik bulgulara yansımaları incelendiğinde, TC genotipinin genital ülser, pozitif paterji testi, akneiform lezyon üveit ve HLA pozitiflik gösteren olgularda kontrol grubuna göre düşük olduğu, C alelinin ise bu klinik bulgulara ek olarak artritli olgularda da kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlendi. Genotip dağılımı ve alel sıklıklarına göre

Behçet hastalarında eritema nodozum ve vasküler tutulum görülmesinin ise bu polimorfizm ile ilişkili olmadığı tespit edildi.

rs73963110 TC ve CC genotipleri hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Bunun yanında C alelinin de hastalarda kontrole göre yüksek olduğu tespit edildi. TC ve CC genotipi genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, vasküler tutulum, üveit, artrit ve HLA pozitiflik saptanan hastalarda kontrole göre anlamlı derecede yüksekti. C aleli de aynı şekilde bütün bu klinik bulguların görüldüğü hastalarda anlamlı derecede yüksekti. Sonuç olarak bu polimorfizmin genotip ve alel dağılımı karşılaştırdığımız tüm klinik bulgular ile (genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, vasküler tutulum, üveit, artrit ve HLA pozitiflik) ilişkili görünmektedir.

rs112130712 TC genotipi Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Alel sıklıklarına bakıldığında C alelinin de aynı şekilde hasta grubunda kontrole göre yüksek olduğu görüldü. Bu polimorfizmin de TC genotipi ve C aleli karşılaştırdığımız tüm klinik bulgular (genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, vasküler tutulum, üveit, artrit ve HLA pozitiflik) açısından kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti.

rs111874856 CT genotipi Behçet hastalarında kontrol grubuna göre yüksekti. Alel sıklığına bakıldığında T alelinin hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü. Hastaların klinik bulgularına göre genotip ve alellerin dağılımı incelendiğinde CT genotipi ve T aleli tüm klinik bulguları (genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, vasküler tutulum, üveit, artrit ve HLA pozitiflik) gösteren hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti.

rs112108028 (Pro1164Leu) GA genotipi Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü. Alel sıklıklarına bakıldığında A alelinin de Behçet hastalarında kontrol grubuna göre düşük olduğu görüldü. GA genotipi ve aynı zamanda A aleli genital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, üveit, artrit ve HLA pozitiflik saptanan olgularda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü.

ROCK2 genine ait rs726843, rs2290156, rs965665, rs10178332, rs2230774 (Thr431Asn), rs2230774 (Thr431Ser), rs6755196, rs10929732, rs34945852 (Lys1083Met) polimorfizmlerinin genotip dağılımı ve alel sıklıkları Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi. Bunun yanında rs35768389 (Asp601Val) ve rs1515219 polimorfizmleri ile BH olan olgularla anlamlı bir ilişki olduğu görüldü.

rs35768389 (Asp601Val) TA ve AA genotipinin dağılımı hasta grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı olarak farklılık gösterdi. TA genotipi Behçet hastalarında belirgin derecede yüksekti. AA genotipi de hasta grubunda daha yüksekti. Genotip dağılımlarındaki bu farklılık anlamlıydı. Alel sıklıklarına bakıldığında A alelinin Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü.

rs1515219 CT, TT genotipi Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşüktü. Alel frekanslarına bakıldığında T alelinin hastalarda anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü. CT genotipi karşılaştırılan tüm klinik bulgulara (jenital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, vasküler tutulum, üveit, artrit ve HLA pozitiflik) kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü. TT genotipi; eritema nodozum, pozitif paterji, akneiform lezyon, üveit ve HLA pozitiflik gösteren olgularda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü. Alel sıklığına bakıldığında T alelinin vasküler tutulum dışındaki tüm klinik bulgulara kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu tespit edildi.

RhoA geni rs2878298'in genotip ve alel dağılımlarının hasta grubu ve kontrol grubunda anlamlı farklılık göstermediği tespit edildi. Diğer dört polimorfizm (rs6784820, rs974495, rs2177268, rs3448) ise BH ile ilişkili idi.

rs6784820 AG genotipi hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Alel sıklığına bakıldığında G aleli hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü. AG genotipi artrit dışındaki klinik bulguları gösteren hastalarda (jenital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyon vasküler tutulum, üveit ve HLA pozitiflik) kontrol grubuna göre yüksek bulundu. G aleli jenital ülser, pozitif paterji testi ve akneiform lezyon görülen hastalarda kontrol grubuna göre yüksekti.

rs974495 GA genotipi hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Alel sıklıklarına bakıldığında ise kontrol grubu ve hasta grubu arasında anlamlı farklılık yoktu. Klinik bulgular açısından değerlendirme yapıldığında genotip dağılımlarına göre sadece akneiform lezyon saptanan hastalarda AA genotipinin kontrol grubuna göre anlamlı düşüş gösterdiği gözlemlendi. Bunun yanında alel sıklıkları açısından A alelinin akneiform lezyon ve vasküler tutulumu olan hastalarda da kontrol grubuna göre düşük olduğu görüldü.

rs2177268 TA genotipi hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Alel frekansları değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. Klinik bulguların ilişkisi incelendiğinde eritema nodozum dışındaki tüm klinik bulguların (jenital ülser, pozitif paterji testi, akneiform lezyon vasküler tutulum, üveit ve HLA pozitiflik) görüldüğü hastalarda TA genotipinin anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. Alel frekanslarının hiçbir klinik bulgu ile kontrol grubu arasında farklılık göstermediği tespit edildi.

rs3448 genotip dağılımları hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermedi. T aleli ise Behçet hastalarında kontrol grubuna göre düşük bulundu. Klinik bulgulara göre değerlendirme yapıldığında ise TT genotipinin pozitif paterji, akneiform lezyon, artrit ve HLA pozitiflik saptanan hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu görüldü. Alel frekanslarına bakıldığında ise T alelinin vasküler tutulum dışındaki tüm klinik bulguların (jenital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyon, üveit ve HLA pozitiflik) görüldüğü hastalarda kontrol grubuna göre düşük olduğu görüldü.

Rho/Rho kinaz yolağı üyelerinden *RhoA*, *ROCK1* ve *ROCK2* genlerine ait bu polimorfizmlerin anlamlı olarak sağlıklı kontrol grubundan farklı olması bu hastalığa yatkınlıkta yeni bir gen bölgesi olabileceğini düşündürülebilir. Bu sonuçların özellikle, HLA-B51 negatif olan hastalarda patojenezi açıklamak için büyük bir önemi olacağını düşünmekteyiz.

Rho/RhoA yolağındaki bu polimorfizmlerin hastalığa yatkınlıkla ilişkisinin yanı sıra klinik semptomlarla da (jenital ülser, eritema nodozum, pozitif paterji testi, akneiform lezyonlar, vasküler tutulum, üveit, artrit ve HLA pozitiflik) ilişkisi ortaya

konmuştur. *ROCK1* geni rs73963110 rs11203712 ve rs111874856, *ROCK2* geni rs1515219, *RhoA* geni rs6784820 polimorfizmlerinin tüm klinik bulgularla ilişkili olması bu polimorfizmlerin hastalığın tüm evrelerinde etkili ve önemli olduğunu göstermektedir. Bunun yanında hastaların %73.2'sinde görülen genital ülser *RhoA* geni rs974495 polimorfizmi ile anlamlı olarak ilişkili bulunmazken, BH ile anlamlı ilişkisi olduğu gösterilen *RhoA* genine ait diğer polimorfizmlerin ve bunun yanında *ROCK1*, *ROCK2* genine de ait bu tezde çalışılan ve anlamlı ilişki saptanan polimorfizmlerin tümü ile anlamlı ilişki göstermekteydi. Bu bulgu *RhoA* geni rs974495 polimorfizminin Behçet hastalarında genital ülser oluşma riski ile ilişkili olabileceği fikrini vermektedir. Yine önemli bir bulgu olarak rs3448 TT genotipi dağılımları hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermezken, pozitif paterji, akneiform lezyon, artrit ve HLA pozitiflik saptanan hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü. Bu da rs3448 TT genotipinin sadece bu klinik bulgularla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada aynı zamanda Behçet hastaları ve sağlıklı kontrol grubunda *ROCK1*, *ROCK2* gen ekspresyonlarının düzeyleri de incelenmiş ve *ROCK2* gen ekspresyonunun Behçet hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu ortaya konmuştur. Bu sonuç endotel hasarında primer etkisi olan Rho/Rho kinaz yolağının BH'nin patojenezinde rolü olabileceğini göstermektedir.

BH'nin altında yatan patojenik mekanizma henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla beraber vasküler olayların meydana gelmesinde, vaskülitlere bağlı olarak oluşan endotelial hücre hasarı ve bunun sonucundaki endotelial disfonksiyonun anahtar rolünün olduğu düşünülmektedir (213,214). BH olan olgularda, nötrofil fonksiyonlarının ve ROS artışı ile birlikte oksidan ve antioksidan sistem arasında bir dengesizlik olmaktadır (35,215). Kemotaksis, fagositoz gibi artmış nötrofil fonksiyonları ve ROS'un aşırı üretiminin BH'de görülen oksidatif doku hasarından sorumlu olabileceği kaydedilmektedir (216,217). BH'de artmış olan kemotaksis, fagositoz, süperoksit üretimi ve miyeloperoksidaz ekspresyonu ile hiperaktif olan nötrofiller çeşitli sitokinleri üretirler (39). BH'de nötrofil infiltrasyonu, endotelial hücre şişmesi (*swelling*) ve fibrinoid nekrozlar görülmektedir (218). Hastaların plazmalarında antioksidan A vitamini, E vitamini ve β -karoten seviyeleri düşük bulunmuştur (219,220). BH olan olgularda brakial arter akış hızı ile ölçülen

endotelial disfonksiyonun antioksidan C vitamini verilmesi ile düzelmesi bu hastalığın etiyopatogenezinde oksidatif stresin rol aldığını göstermektedir (42,220,221).

Rho/Rho-kinaz yolağının inflamatuvar süreçlere katıldığını gösteren ROS doğrudan Rho/Rho-kinaz sinyal yolağında etki gösterebilir (222). Arterlerde Rho/Rho-kinaz yolağı ROS ile aktive olabilir (223). Rho-kinaz vasküler inflamasyon, *remodeling* ve endotelial disfonksiyona katılmaktadır (168,224). Endotelial hücrelerde NF-κB aracılıklı oluşan inflamatuvar cevap Rho-kinaz modülasyonundan kaynaklanabilmektedir (225). Rho-kinazın aterosklerozun erken dönemindeki etkilerinin NFκB aktivasyonu ve T lenfosit proliferasyonunu düzenlemesiyle ilişkili olabileceği bildirilmiştir (226). Rho-kinaz IL-6 gibi proinflamatuvar moleküllerin (227) ve makrofaj migrasyon inhibitör faktörünün (MIF) (228) up-regülasyonuna aracılık etmektedir. Ek olarak Rho-kinaz lökosit kemotaksisini (229) ve transendotelial migrasyonunu düzenlemektedir (230). İnflamasyona uğramış büyük kan damarlarında, Rho-kinaz sinyalinin lökosit-endotel etkileşimlerine katıldığı *in vivo* olarak gösterilmiştir (231). Rho/Rho-kinaz yolağı sıkı bağlantılar yolu ile endotel hücre permeabilitesine aracılık eder (232,233). Bu verilere göre BH'de ROS'un üretildiğini ve Rho/Rho-kinaz yolağı aracılığıyla sinyal oluşturduğunu söyleyebiliriz. Sonuç olarak bu faktörler vasküler hastalıklarda inflamatuvar stimülasyonların artışı sonucu oluşan endotelial disfonksiyona katılabilirler.

Rho-kinazın trombositlerde eksprese olarak hücre şekil değişikliklerini düzenlediği ve mediyatör salınımını etkilediği bilinmektedir (234,235). Rho/Rho- kinaz yolağı aynı zamanda trombus oluşumuna da katılmaktadır (225,236). Trombinin Rho/Rho-kinaz yolu ile eNOS'u baskıladığı ve trombinin bu etkisinin kardiyovasküler hastalıklarda görülen endotel disfonksiyonda önemli olabileceği belirtilmiştir (170). Rho-kinaz, trombosit aktive edici faktör, plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI)-1 (237,238) ve doku faktörü (239) gibi trombojenik ajanları ve transforming büyüme faktörü (TGF)-β1'i (228) de içine alan fibrojenik molekülleri de *up-regüle* eder. Monosit migrasyonu ve endotel hücrelere bağlanması vasküler ağdaki inflamatuvar ve trombotik cevapların önemli komponentleridir. Rho/Rho-kinaz monositlerin migrasyonu ve/veya kemotaktik cevaplarına katılmaktadır (240,241). ROCK aynı

zamanda monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) gen ekspresyonunda da yer almaktadır (242). Bu veriler Rho-kinazın inflamasyona uğramış endotele trombosit akışının düzenlenmesine katılmasının BH'deki trombotik cevaplarda etkili olduğu fikrini ortaya koymaktadır.

VEGF'nin vasküler sızıntı ve maküler ödeme yol açan hastalıklarda önemli rolü olduğu görülmektedir (243). İnflamatuar ve proinflamatuvar sitokinler VEGF ekspresyonunu indükler ve VEGF'nin kendisi, endotel hücrelerde NOS ekspresyonunu *up-regüle* ederek yüksek miktarda NO üretimini ve lökosit mobilizasyonunu indükler (244). BH'de prostasiklin üretiminin bozulması, endotel kaynaklı von Willebrand faktör, trombomodulin, E-selektinin serum düzeylerinin yüksekliği ve fibrinolitik sistem anormallikleri endotel disfonksiyonunu göstermektedir (34). BH'de oluşan trombotik olaylarda vaskülitlere bağlı oluşan endotelial hücre hasarının en önemli rolü oynadığı düşünülmektedir (42,245). Venöz sistemin katılımı daha çok tromboflebit olgularında görülmektedir. Hastaların 1/3'ü derin ya da yüzeysel venlerde ve daha çok alt ekstremitelerde olmak üzere tromboflebit gözlenmektedir. Geniş aderent trombus oluşumu damar oklüzyonunu göstermektedir (246,247). BH'deki vasküler tutulum ve trombozun temelinde endotel hasarı ve endotel işlev bozuklukları bulunur. NO, endotel kaynaklı gevşetici faktör olarak da bilinmektedir ve aktif Behçet hastalarında serum NO düzeyleri tartışmalıdır (47,247). Endotele spesifik bir sitokin olan ve endotele bağlı vazodilatasyon ve NO üretimini güçlü bir şekilde uyaran VEGF seviyelerinin Behçet hastalarında yükseldiği ve bu yükselmenin oküler bulgular ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (83,248-250). Behçet hastalarında görülen NO seviyesindeki artış VEGF kaynaklı olabileceği kaydedilmiştir (34).

Vasküler endotel hücrelerde VEGF ekspresyonu, Rho/Rho-kinaz yolağı ile düzenlenir (251). Bunun dışında, Rho/Rho-kinaz sinyal yolağı VEGF ve nötrofillere cevap olarak oluşan endotel hiperpermeabilitesi ile ilişkilidir (252,253,254). Rho-kinazın TGF- β ile stimüle olan VEGF sentezini, stresle etkinleşmiş protein kinaz/c-Jun N terminal kinaz (SAPK/JNK) yolağının aktivasyonu yolu ile düzenlediği gösterilmiştir (255). Bryan ve ark. (256) Rho/Rho-kinaz sinyal yolağının VEGF ile indüklenen migrasyonun yanında VEGF aracılıklı hücre permeabilitesi ve yaşam süresini de düzenlediğini kaydetmişlerdir. Rho-kinaz aynı zamanda eNOS

ekspresyonunun *down-regüle* eder (257) ve Akt-aracılıklı eNOS aktivasyonunun inhibe eder (258). Rho-kinaz ek olarak endotelde NO üretimini baskılamak için direkt olarak eNOS'u fosforile eder (259). Bu veriler Rho-kinaz aracılıklı etkilerin BH'de endotelial fonksiyon ve ardından oluşan vasküler hasarda önemli olabileceğini göstermektedir.

Yapmış olduğumuz çalışma, *RhoA*, *ROCK1* ve *ROCK2* genindeki genetik polimorfizmlerin BH'ye yatkınlığı bireysel olarak değiştirebileceğini gösteren ilk çalışmadır. *ROCK2* gen ekspresyonunun BH olanlarda yüksek bulunması da bu hastalıkta Rho/Rho-kinaz yolağının rolü olduğunu destekleyen önemli bir bulgudur. Sonuç olarak, yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçları, etiyopatogenezi henüz aydınlatılamamakla birlikte genetik faktörlerin rol oynadığı ve vasküler patojenezinde endotel hasarın temel neden olduğu düşünülen BH'de Rho/Rho-kinaz yolağının rolünün olabileceğini ortaya koymuştur. Bu çalışma ile BH patojenezinin açıklanmasına ışık tutacak yeni bir gen bölgesi ortaya konmuştur. *RhoA* ve Rho-kinaz gen polimorfizmlerinin aktiviteye etkisi bilinmediği için bu konuda bir yorum yapılamamıştır. Bu çalışmanın sonuçlarının aynı zamanda BH tedavisi için geliştirilecek olan potansiyel terapötik yaklaşımlara ışık tutacağını düşünmekteyiz. *RhoA*, *ROCK1* ve *ROCK2* polimorfizmlerinin genotiplemesi, BH gelişme riskinin erken dönemde tespiti için kullanılabilecek bir belirteç olabilir. Bunun yanında, farklı etnik gruplarda ve bağımsız gruplarda yeni çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

1. Behcet H. Über rezidivierende aphtosa, durch ein Virus verursachte Geschwüre am Mund, am Auge und an den Jenitalien. *Dermatol Wochenschr.* 1937;105:1152-1157.
2. Borlu M. Behçet hastalığında etyopatogenez. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences).* 2007;16(1):63-72.
3. Krause I, Weinberger A. Behçet's disease. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20(1):82-87.
4. Mendes D, Correia M, Barbedo M, Vaio T, Mota M, Gonçalves O, Valente J. Behçet's disease--a contemporary review. *J Autoimmun.* 2009;32(3-4):178-188.
5. Önder M. Epidemiology of Behcet's Disease. *Turkderm.* 2009;43(2):28-31.
6. Zouboulis CC. Epidemiology of Adamantiades-Behcet's disease. *Ann Med Interne (Paris).* 1999;150:488-498.
7. Marshall SE. Behçet's disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2004;18(3):291-311.
8. Tursen U, Gurler A, Boyvat A. Evaluation of clinical findings according to sex in 2313 Turkish patients with Behcet's disease. *Int J Dermatol.* 2003;42:346-351.
9. Yurdakul S, Hamuryudan V, Yazıcı H. Behçet syndrome. *Curr Opin Rheumatol.* 2004;16(1):38-42.
10. Kural-Seyahi E, Fresko I, Seyahi N, Ozyazgan Y, Mat C, Hamuryudan V, Yurdakul S, Yazici H. 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).* 2003;82(1):60-76.

11. Davatchi F, Shahram N, Chams H. The influence of gender on the frequency of clinical symptoms in Behcet's disease. *Adv Exp Med Biol.* 2003;528:565-66.
12. Bang D, Oh S, Lee KH, Lee ES, Lee S. Influence of sex on patients with Behcet's disease in Korea. *Adv Exp Med Biol.* 2003;528:59-63.
13. Al-Rawi ZS, Neda AH. Prevalence of Behçet's Disease among Iraqis. *Adv Exp Biol.* 2003;528:37-41.
14. Davatchi F, Jamshidi AR, Banihashemi AT, Gholami J, Forouzanfar MH, Akhlaghi M, Barghamdi M, Noorolahzadeh E, Khabazi AR, Salesi M, Salari AH, Karimifar M, Essalat-Manesh K, Hajialiloo M, Soroosh M, Farzad F, Moussavi HR, Samadi F, Ghaznavi K, Asgharifard H, Zangiabadi AH, Shahram F, Nadji A, Akbarian M, Gharibdoost F. WHO-ILAR COPCORD Study (Stage 1, Urban Study) in Iran. *J Rheumatol.* 2008;35(7):1384-1390.
15. Kaneko F, Nakamura K, Sato M: Epidemiology and Behcet's disease in Asian countries and Japan. *Adv Med Biol.* 2003;528:25-29.
16. Papoutsis NG, Abdel-Naser MB, Altenburg A, Orawa H, Kötter I, Krause L, Pleyer U, Djawari D, Stadler R, Wollina U, Kohl PK, Gollnick HP, Kirch W, Ochsendorf FR, Keitel W, Martus P, Zouboulis CC. Prevalence of Adamantiades-Behçet's disease in Germany and the municipality of Berlin: Results of a nationwide survey. *Clin Exp Rheumatol.* 2006; 24(5 Suppl 42):125.
17. Salvarani C, Pipitone N, Catanoso MG, Cimino L, Tumati B, Macchioni P, Bajocchi G, Olivieri I, Boiardi L. Epidemiology and clinical course of Behçet's disease in the Reggio Emilia area of Northern Italy: A seventeen-year population-based study. *Arthritis Rheum.* 2007;57(1):171-8.
18. Mahr A, Belarbi L, Wechsler B, Jeanneret D, Dhote R, Fain O, Lhote F, Ramanoelina J, Coste J, Guillevin L. Population-based prevalence study of Behçet's disease: differences by ethnic origin and low variation by age at immigration. *Arthritis Rheum.* 2008;58(12):3951-3959.

19. Calamia KT, Wilson FC, Icen M, Crowson CS, Gabriel SE, Kremers HM
Epidemiology and clinical characteristics of Behçet's disease in the US: A
population-based study. *Arthritis Rheum.* 2009;61(5):600-604.
20. Demirhindi O, Yazıcı H, Binyıldız P. Silivri Fener köyü yöresinde Behçet
hastalığının sıklığı ve bu hastalığın toplum içerisinde taranmasında
kullanılabilecek bir yöntem. *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi.* 1981;12:509-514.
21. Yurdakul S, Günaydın İ, Tüzün Y. The prevalence of Behçet's syndrome in
rural area in Northern Turkey. *J Rheumatol.* 1988;15:820-822.
22. Idil A, Gürler A, Boyvat A, Caliskan D, Ozdemir O, Isik A, Tunçbilek A,
Koçyigit P, Calikoglu E. The prevalence of Behçet's disease above the age of
10 years. The results of a pilot study conducted at the Park Primary Health Care
Center in Ankara, Turkey. *Ophtalmic Epidemiol.* 2002;9(5):325-331.
23. Azizlerli G, Köse AA, Sarica R, Gül A, Tutkun IT, Kulaç M, Tunç R,
Urgancıoğlu M, Dişçi R. Prevalance of Behçet's disease in İstanbul, Turkey. *Int
J Dermatol.* 2003;42(10):803-6.
24. Cakir N, Dervis E, Benian O, Pamuk ON, Sonmezates N, Rahimoglu R, Tuna S,
Cetin T, Sarikaya Y. Prevalance of Behçet's disease in rural Western Turkey: A
preliminary report. *Clin Exp Rheumatol.* 2004;22(Suppl 34):53-55.
25. Doğanavşargil E, Keser G. Behçet hastalığı.. *T Klin J Int Med Sci.* 2005;1:80-
91.
26. Öztaş P, Polat M, Gür G, Allı N. Behçet hastalığı etyopatogenezi. *Türkiye
Klinikleri J Dermatol.* 2006, 16:181-185.
27. Türsen U, Gürler A. Behçet hastalığı ve genetik. *T Klin Dermatoloji.* 2000; 10:
37-43.

28. Yurdakul S, Yazici H. Behçet's syndrome. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2008;22(5):793-809.
29. Gul A, Ozbek U, Ozturk C, Inanc M, Konice M, Ozcelik T. Coagulation factor V gene mutation increases the risk of venous thrombosis in Behcet's disease. *Br J Rheumatol*. 1996;35(11):1178-1180.
30. Pay S. Behçet hastalığı: Etiyoloji ve patogenez. *T Klin J Int Med Sci* 2005;1:10-18.
31. Zouboulis CC, Vaiopoulos G, Marcomichelakis N, Palimeris G, Markidou I, Thouas B, Kaklamanis P. Onset signs, clinical course, prognosis, treatment and outcome of adult patients with Adamantiades-Behcet's disease in Greece. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21(4 Suppl 30):19-26.
32. Lehner T. Immunopathogenesis of Behcet's disease. *Ann Med Interne*. 1999;150:483-7.
33. Verity DH, Wallace GR, Vaughan RW, Stanford MR. Behcet's disease: from Hippocrates to the thir millennium. *Br J Ophthalmol*. 2003;87:1175-83.
34. Yıldırım M, Kılınç Y, Ceyhan AM. BEHÇET HASTALIĞI patogenezindeki yenilikler S.D.Ü. Tıp Fak. Derg. 2009;16(3):29-34.
35. Evereklioglu C. Current concepts in the etiology and treatment of Behcet disease. *Surv Ophthalmol*. 2005;50:297-350.
36. Boyvat A. Behçet hastalığının etyopatogenezi. *T Klin J Dermatol*. 2004;1415-1421.
37. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F, Bessioud M, Hazma M, Ayed K. Cytokine profile in Behçet's disease patients. Relationship with disease activity. *Scand J Rheumatol*. 2002;31(4):205-10.

38. Evereklioglu C, Er H, Turkoz Y, Cekmen M. Serum levels of TNF-alpha, sIL-2R, IL-6, and IL-8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behcet's disease. *Mediators Inflamm.* 2002;11:87-93
39. Zierhut M, Mizuki N, Ohno S, Inoko H, Gül A, Onoé K, Isogai E. Immunology and functional genomics of Behcet's disease. *Cell Mol Life Sci.* 2003;60:1903-1922.
40. Arca E, Gür AR. Behçet hastalığı. *T Klin J Med Sci.* 2003;23:261-268.
41. Duygulu F, Evereklioglu C, Calis M, Borlu M, Cekmen M, Ascioglu O. Synovial nitric oxide concentrations are increased and correlated with serum levels in patients with active Behcet's disease: a pilot study. *Clin Rheumatol* 2005;24:324-330.
42. Chambers JC, Haskard DO, Kooner JS. Vascular endothelial function and oxidative stress mechanisms in patients with Behçet's syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2001; 37:517-520.
43. Baskın H. İnflamasyonda nitrik oksit yanıtı. *Aknem Derg.* 1999;13(3):374-379.
44. Salvarani C, Boiardi L, Casali B, Olivieri I, Ciancio G, Cantini F, Salvi F, Malatesta R, Govoni M, Trotta F, Filippini D, Paolazzi G, Nicoli D, Farnetti E, Macchioni P Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in Behcet's disease. *J Rheumatol.* 2002; 29(3): 535-540.
45. Yildirim M, Baysal V, Inaloz HS, Doguc D. The significance of serum nitric oxide levels in Behcet's disease and recurrent aphthous stomatitis. *J Dermatol* 2004;31:983-988.
46. Taysi S, Sari RA, Dursun H, Yilmaz A, Keles M, Cayir K, Akyuz M, Uyanik A, Guvenc A. Evaluation of nitric oxide synthase activity, nitric oxide, and homocysteine levels in patients with active Behcet's disease. *Clin Rheumatol.* 2008 Dec;27(12):1529-34.

47. Şahan F, Özdemir Ş, Karakuzu A, Aktaş A, Kızıltunç A. Behçet hastalığında serum nitrik oksit seviyeleri. *Türkiye Klinikleri Dermatol.* 2001;11:77-80.
48. Oztürk MA, Unverdi S, Oktar SO, Bukan N, Gülbahar O, Ureten K, Göker B, Haznedaroglu S, Sungur G, Ciftçi TU, Onat AM. Vascular endothelial growth factor and carotid intima-media thickness in patients with Behçet's disease. *Clin Rheumatol.* 2008;27(8):961-966.
49. Hamzaoui K, Ayed K, Hamza M, Hamzaoui A. VEGF and mRNA VEGF expression in CSF from Behçet's disease with neurological involvement. *J Neuroimmunol.* 2009 ;213(1-2):148-153.
50. Verity DH, Vaughan RW, Madanat W, Kondeatis E, Zureikat H, Fayyad F, Kanawati CA, Ayesh I, Stanford MR, Wallace GR. Factor V Leiden mutation is associated with ocular involvement in Behcet disease. *Am J Ophthalmol.* 1999; 128(3): 352-356.
51. Erkilic K, Evereklioglu C, Cekmen M, OzkirisA, Duygulu F, Dogan H. Adenosine deaminase enzyme activity is increased and negatively correlates with catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in patients with Behcet's disease: original contributions/clinical and laboratory investigations. *Mediators Inflamm* 2003;12:107-116.
52. Tüzün A, Aydın A, Turan M. Erythrocyte antioxidant activity and trace element levels in Behçet's disease. *Biol Trace Elem Res.* 1998;64(1-3):169-174.
53. Lee S, Bang D, Lee E, Sohn S. Behcet's Disease. A guide to its clinical understanding. Berlin: Springer-Verlag; 2001. p.15-18.
54. Yazici H, Chamberlain MA, Schreuder I, D'Amato J, Muftuoglu M. HLA antigens in Behçet's disease: a reappraisal by a comparative study of Turkish and British patients. *Ann Rheum Dis.* 1980;39(4):344-348.

55. Mizuki N, Ota M, Yabuki K, Katsuyama Y, Ando H, Palimeris GD, Kaklamani E, Accorinti M, Pivetti-Pezzi P, Ohno S, Inoko H. Localization of the pathogenic gene of Behçet's disease by microsatellite analysis of three different populations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41(12):3702-8.
56. Houman MH, Neffati H, Braham A, Harzallah O, Khanfir M, Miled M, Hamzaoui K. Behçet's disease in Tunisia. Demographic, clinical and genetic aspects in 260 patients. *Clin Exp Rheumatol.* 2007;25(4 Suppl 45):58-64.
57. Meguro A, Inoko H, Ota M, Katsuyama Y, Oka A, Okada E, Yamakawa R, Yuasa T, Fujioka T, Ohno S, Bahram S, Mizuki N. Genetics of Behçet disease inside and outside the MHC. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(4):747-754.
58. de Menthon M, Lavalley MP, Maldini C, Guillevin L, Mahr A. HLA-B51/B5 and the risk of Behçet's disease: a systematic review and meta-analysis of case-control genetic association studies. *Arthritis Rheum.* 2009;61(10):1287-1296.
59. Mizuki N, Ota M, Kimura M, Ohno S, Ando H, Katsuyama Y, Yamazaki M, Watanabe K, Goto K, Nakamura S, Bahram S, Inoko H. Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene: a strong association of six GCT repetitions with Behcet disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:1298-1303.
60. Yabuki K, Ohno S, Mizuki N, Ando H, Tabbara KF, Goto K, Nomura E, Nakamura S, Ito N, Ota M, Katsuyama Y, Inoko H. HLA class I and II typing of the patients with Behçet's disease in Saudi Arabia. *Tissue Antigens.* 1999;54(3):273-277.
61. Wallace GR, Verity DH, Delamaine LJ, Ohno S, Inoko H, Ota M, Mizuki N, Yabuki K, Kondiatis E, Stephens HA, Madanat W, Kanawati CA, Stanford MR, Vaughan RW. MIC-A allele profiles and HLA class I associations in Behçet's disease. *Immunogenetics.* 1999;49(7-8):613-617.

62. Mizuki N, Ota M, Katsuyama Y, Yabuki K, Ando H, Goto K, Nakamura S, Bahram S, Ohno S, Inoko H. Association analysis between the MIC-A and HLA-B alleles in Japanese patients with Behcet's disease. *Arthritis Rheum.* 1999; 42(9): 1961-6.
63. Cohen R, Metzger S, Nahir M, Chajek-Shau T. Association of the MIC-A gene and HLA-B51 with Behçet's disease in Arabs and non-Ashkenazi Jews in Israel. *Ann Rheum Dis.* 2002;61:157–160.
64. Park K, Kim N, Nam J, Bang D, Lee ES. Association of TNFA promoter region haplotype in Behçet's Disease. *J Korean Med Sci.* 2006;21(4):596-601.
65. Akman A, Sallakci N, Coskun M, Bacanli A, Yavuzer U, Alpsoy E, Yegin O. TNF-alpha gene 1031 T/C polymorphism in Turkish patients with Behçet's disease. *Br J Dermatol.* 2006;155(2):350-356.
66. Kamoun M, Chelbi H, Houman MH, Lacheb J, Hamzaoui K. Tumor necrosis factor gene polymorphisms in Tunisian patients with Behcet's disease. *Hum Immunol.* 2007;68(3):201-205.
67. Touma Z, Farra C, Hamdan A, Shamseddeen W, Uthman I, Hourani H, Arayssi T. TNF polymorphisms in patients with Behçet disease: a meta-analysis. *Arch Med Res.* 2010;41(2):142-146.
68. Karasneh J, Hajeer AH, Barrett J, Ollier WE, Thornhill M, Gul A. Association of specific interleukin 1 gene cluster polymorphisms with increased susceptibility for Behcet's disease. *Rheumatology (Oxford).* 2003;42(7):860-864.
69. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369(6475):64-67.

70. Caramaschi P, Poli G, Bonora A, Volpe A, Tinazzi I, Pieropan S, Bambara LM, Biasi D. A study on thrombophilic factors in Italian Behcet's patients. *Joint Bone Spine*. 2010;77(4):330-334.
71. Verity DH, Vaughan RW, Kondeatis E, Madanat W, Zureikat H, Fayyad F, Marr JE, Kanawati CA, Wallace GR, Stanford MR. Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphisms in Behçet's disease. *Eur J Immunogenet*. 2000;27(2):73-76.
72. Kim EH, Mok JW, Bang DS, Lee ES, Lee SN, Park KS. Intercellular adhesion molecule-1 polymorphisms in Korean patients with Behcet s disease. *J Korean Med Sci*. 2003;18(3):415-418.
73. Chmaisse HN, Fakhoury HA, Salti NN, Makki RF. The ICAM-1 469 T/C gene polymorphism but not 241 G/A is associated with Behçets disease in the Lebanese population. *Saudi Med J*. 2006;27(5):604-607.
74. İlknur T, Özkan Ş, Kırkalı G, Fetil M, Koçtürk S, Tokgöz Z, Güneş AT. Behçet hastalığında artmış plazma nitrit ve nitrat düzeyleri. *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2005;19(2):85-90.
75. Oksel F, Keser G, Ozmen M, Aksu K, Kitapcioglu G, Berdeli A, Doganavsargil E. Endothelial nitric oxide synthase gene Glu298Asp polymorphism is associated with Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2006;24(5Suppl 42):79-82.
76. Ben Dhifallah I, Houman H, Khanfir M, Hamzaoui K. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is associated with Behçet's disease in Tunisian population. *Hum Immunol*. 2008;69(10):661-665.
77. Dursun A, Durakbasi-Dursun HG, Dursun R, Baris S, Akduman L. Angiotensin-converting enzyme gene and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in Behçet's disease with or without ocular involvement. *Inflamm Res*. 2009;58:401-405.

78. Schwartz T, Langevitz P, Zemer D, Gazit E, Pras M, Livneh A. Behcet's disease in Familial Mediterranean fever: characterization of the association between the two diseases. *Semin Arthritis Rheum.* 2000; 29(5): 286-295.
79. Touitou I, Magne X, Molinari N, Navarro A, Quéllec AL, Picco P, Seri M, Ozen S, Bakkaloglu A, Karaduman A, Garnier JM, Demaille J, Koné-Paut I. MEFV mutations in Behcet's disease. *Hum Mutat.* 2000; 16(3): 271-272.
80. Sallakci N, Bacanli A, Coskun M, Yavuzer U, Alpsoy E, Yegin O. CTLA-4 gene 49A/G polymorphism in Turkish patients with Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol.* 2005;30(5):546-550.
81. Gunesacar R, Erken E, Bozkurt B, Ozer HT, Dinkci S, Erken EG, Ozbalkan Z. Analysis of CD28 and CTLA-4 gene polymorphisms in Turkish patients with Behcet's disease. *Int J Immunogenet.* 2007;34(1):45-49.
82. Park KS, Baek JA, Do JE, Bang D, Lee ES. CTLA4 gene polymorphisms and soluble CTLA4 protein in Behcet's disease. *Tissue Antigens.* 2009;74(3):222-227.
83. Salvarani C, Boiardi L, Casali B, Olivieri I, Cantini F, Salvi F, Malatesta R, La Corte R, Triolo G, Ferrante A, Filippini D, Paolazzi G, Sarzi-Puttini P, Nicoli D, Farnetti E, Chen Q, Pulsatelli L. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in Behçet's disease. *J Rheumatol.* 2004;31(9):1785-1789.
84. Kamoun M, Houman MH, Hamzaoui A, Hamzaoui K. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and serum levels in Behçet's disease. *Tissue Antigens.* 2008;72(6):581-587.
85. International Study Group for Behçet's Disease. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. *Lancet.* 1990;335(8697):1078-1080.

86. Alpsoy E. Behçet hastalığının deri ve mukoza belirtileri. *Türkderm.* 2003;37:92-99.
87. Alpsoy E, Zouboulis CC, Ehrlich GE. Mucocutaneous lesions of Behcet's disease. *Yonsei Med J.* 2007;48(4):573-585.
88. Kontogiannis V, Powell RJ. Behçet's disease. *Postgrad Med J.* 2000; 76: 629-637.
89. Alpsoy E, Aktekin M, Er H, Durusoy C, Yilmaz E. A randomized, controlled and blinded study of papulopustular lesions in Turkish Behçet's patients. *Int J Dermatol.* 1998;37(11):839-842.
90. Jorizzo JL, Abernethy JL, White WL, Mangelsdorf HC, Zouboulis CC, Sarica R, Gaffney K, MatC, Yazici H, al Ialaan A. Mucocutaneous criteria for the diagnosis of Behcet's disease: analysis of clinicopathologic data from multiple international centers. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:968-976.
91. Diri E, Mat C, Hamuryudan V, Yurdakul S, Hizli N, Yazici H. Papulopustular skin lesions are seen more frequently in patients with Behcet's syndrome who have arthritis: a controlled and masked study. *Ann Rheum Dis* 2001;60:1074-1076.
92. İlknur T, Pabuccuoglu U, Akin C, Lebe B, Gunes AT. Histopathologic and direct immunofluorescence findings of the papulopustular lesions in Behcet's disease. *Eur J Dermatol* 2006;16:146-150.
93. Aktan Ş, İlknur T. Behçet hastalığı mukokutan bulguları. *T Klin J Int Med Sci.* 2007;3:15-20.
94. Kalayciyan A, Arzuhal N. Deri ve mukoza belirtileri. *T Klin J Int Med Sci* 2005;1:19-23.

95. Koc Y, Gullu I, Akpek G, Akpolat T, Kansu E, Kiraz S, Batman F, Kansu T, Balkanci F, Akaya S. Vascular involvement in Behcet's disease. *J Rheumatol* 1992;19:402-410.
96. Ergun T, Gurbuz O, Harvell J, Jorizzo J, White W. The histopathology of pathergy: a chronologic study of skin hyperreactivity in Behcet's disease. *Int J Dermatol* 1998;37(12):929-933.
97. Kontogiannis V, Powell RJ. Behçet's disease. *Postgrad Med J*. 2000; 76: 629-637.
98. Akmaz O, Erel A, Gürer MA. Comparison of histopathologic and clinical evaluations of pathergy test in Behçet's disease. *Int J Dermatol*. 2000;39(2):121-125.
99. Önder M, Epidemiology of Behcet's Disease. *Turkderm* 2009;43 (Suppl)2: 28-31.
100. Evereklioglu C, İlhan Ö. Oküler Behçet hastalığı. *J Int Med Sci* 2007;3(9):21-25.
101. Kim HA, Choi KW, Song YW. Arthropathy in Behçet's disease. *Scand J Rheumatol*. 1997;26:125-129.
102. Gur A, Sarac AJ, Burkan YK, Nas K, Cevik R. Arthropathy, quality of life, depression, and anxiety in Behcet's disease: Relationship between arthritis and these factors. *Clin Rheumatol* 2006;25:524-531.
103. Akar S. Behçet hastalığında eklem tutulumu. *T Klin J Int Med Sci* 2007;3:26-28.
104. Lee SK, Lee J. Behcet's disease--a rheumatologic perspective. *Yonsei Med J*. 1997;38:395- 400.

105. Akbaylar H. Multisistem tutulumlarıyla Behçet hastalığı: Entero-Behçet. T Klin J Int Med Sci 2007;3:29-32.
106. Bayraktar Y, Özarslan E, Van Threl DH. Gastrointestinal manifestations of Behçet's disease. J Clin Gastroenterol, 2000; 30(2): 144-154.
107. Korkmaz C. Behçet hastalığında damar ve diğer organ tutulumları Türkiye Klinikleri J Int Med Sci. 2005;1(25):42-47.
108. Akdal G. Multisistem tutulumlarıyla Behçet hastalığı: Nöro-Behçet. T Klin J Int Med Sci 2007;3:33-35.
109. Serdaroglu P. Behcet's disease and the nervous system. J Neurol 1998;245:197-205.
110. Oktem-Tanor O, Baykan-Kurt B, Gurvit IH, Akman-Demir G, Serdaroglu P. Neuropsychological follow-up of 12 patients with neuro-Behcet disease. J Neurol 1999;246:113-119.
111. Akman-Demir G, Serdaroglu P, Tasci B, and The Neuro-Behcet Study Group. Clinical patterns of neurological involvement in Behcet's disease: evaluation of 200 patients. Brain 1999;122:2171-2182.
112. İnanc M. Behçet hastalığında venlerin tutulumu. Aktuel Tıp Dergisi, 1997; 2(2): 95-97.
113. Korkmaz C. Behçet hastalığında damar ve diğer organ tutulumları. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi. 2005; 1(25): 42-47.
114. Gürgün C, Ercan E, Ceyhan C, Yavuzgil O, Zoghi M, Aksu K, Cinar CS, Türkoglu C. Cardiovascular involvement in Behçet's disease. Jpn Heart J. 2002;43(4):389-398.

115. Hamuryudan V. Behçet hastalığında pulmoner arter tutulumu. Türkiye Klinikleri J Cardiovasc Surg-Special Topics 2011;3(2):18-22.
116. Sağlam F, Çamsarı T. Multisistem tutulumlarıyla Behçet hastalığı: Böbrek tutulumuyla Behçet hastalığı. T Klin J Int Med Sci 2007;3:44-46.
117. Alpsoy E. Behçet hastalığında tedavi. Türk Dermatoloji Dergisi. 2007;1:1-7.
118. Alpsoy E, Akman A. Behçet's disease: an algorithmic approach to its treatment. Arch Dermatol Res. 2009;301(10):693-702.
119. Meiller TF, Kutcher MJ, Overholser CD, Niehaus C, DePaola LG, Siegel MA. Effect of an antimicrobial mouthrinse on recurrent aphthous ulcerations. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1991;72(4):425-429.
120. Alpsoy E, Er H, Durusoy C, Yılmaz E. The use of sucralfate suspension in the treatment of oral and genital ulceration of Behcet disease: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. Arch Dermatol 1999;135:529-532.
121. Matsuda T, Ohno S, Hirohata S, Miyanaga Y, Ujihara H, Inaba G, Nakamura S, Tanaka S, Kogure M, Mizushima Y. Efficacy of rebamipide as adjunctive therapy in the treatment of recurrent oral ulcers in patients with Behçet's disease: a randomised, doubleblind, placebo-controlled study. Drugs R D. 2003;4:19–28.
122. Sharquie KE, Najim RA, Al-Dori WS, Al-Hayani RK. Oral zinc sulfate in the treatment of Behcet's disease: A double blind cross-over study. J Dermatol 2006;33:541–546.
123. Kikuchi H, Aramaki K, Hirohata S. Low dose MTX for progressive neuro-Behçet's disease. A follow-up study for 4 years. Adv Exp Med Biol. 2003;528:575–578.

124. Davatchi F, Shahram F, Chams H, Jamshidi AR, Nadji A, Chams C, Akbarian M, Gharibdoost F. High dose methotrexate for ocular lesions of Behçet's disease. Preliminary shortterm results. *Adv Exp Med Biol.* 2003;528:579–584.
125. Jorizzo JL, White WL, Wise CM, Zanolli MD, Sherertz EF. Low-dose weekly methotrexate for unusual neutrophilic vascular reactions: cutaneous polyarteritis nodosa and Behçet's disease. *J Am Acad Dermatol.* 1991;24:973–978.
126. Neri P, Mariotti C, Cimino L, Mercanti L, Giovannini A. Long-term control of cystoid macular oedema in noninfectious uveitis with mycophenolate mofetil. *Int Ophthalmol.* 2009;29:127–133.
127. Adler YD, Mansmann U, Zouboulis CC. Mycophenolate mofetil is ineffective in the treatment of mucocutaneous Adamantiades–Behçet's disease. *Dermatology.* 2001;203:322–324.
128. Kötter I, Zierhut M, Eckstein A, Vonthein R, Ness T, Günaydin I, Grimbacher B, Blaschke S, Peter HH, Kanz L, Stübiger N. Human recombinant interferon-alpha2a for the treatment of Behçet's disease with sight threatening posterior or panuveitis. *Br J Ophthalmol.* 2003;87:423–431.
129. Tatlıcan S. Behçet hastalığı tedavisinde anti-TNF ajanlar. *Türk J Rheumatol.* 2009; 24: 27-38.
130. Madaule P, Axel R. A novel ras-related gene family. *Cell.* 1985;41(1):31-40.
131. Bishop AL, Hall A. Rho GTPases and their effector proteins. *Biochem J.* 2000;348 (2):241-255.

132. Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology. *Nature*. 2002;420(6916):629-635.
133. Özdemir E, Bağcivan İ. Rho-kinaz enzim sisteminin vasküler kas tonusu üzerine fizyopatolojik etkileri *Genel Tıp Derg*. 2011;21(1):35-42.
134. Fukata Y, Amano M, Kaibuchi K. Rho-Rho-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells. *Trends Pharmacol Sci*. 2001; 22:32-39.
135. Miao L, Calvert JW, Tang J, Parent AD, Zhang JH. Age-related RhoA expression in blood vessels of rats. *Mech Ageing Dev*. 2001;122(15):1757-1770.
136. Kaibuchi K, Kuroda S, Amano M. Regulation of the cytoskeleton and cell adhesion by the Rho family GTPases in mammalian cells. *Annu Rev Biochem*. 1999;68:459-486.
137. Vojtek AB, Cooper JA. Rho family members: activators of MAP kinase cascades. *Cell*. 1995;82(4):527-529.
138. Zohn IM, Campbell SL, Khosravi-Far R, Rossman KL, Der CJ. Rho family proteins and Ras transformation: the RHOad less traveled gets congested. *Oncogene*. 1998;17(11):1415-1438.
139. Subauste MC, Von Herrath M, Benard V, Chamberlain CE, Chuang TH, Chu K, Bokoch GM, Hahn KM. Rho family proteins modulate rapid apoptosis induced by cytotoxic T lymphocytes and Fas. *J Biol Chem*. 2000;275(13):9725-9733.
140. Bishop AL, Hall A. Rho GTPases and their effector proteins. *Biochem J*. 2000;348 (Pt 2):241-255.

141. Wettschureck N, Offermanns S. Rho/Rho-kinase mediated signaling in physiology and pathophysiology. *J Mol Med (Berl)*. 2002;80(10):629-638.
142. Amano M, Nakayama M, Kaibuchi K. Rho-kinase/ROCK: A key regulator of the cytoskeleton and cell polarity. *Cytoskeleton (Hoboken)*. 2010;67(9):545-554.
143. Kimura K, Ito M, Amano M, Chihara K, Fukata Y, Nakafuku M, Yamamori B, Feng J, Nakano T, Okawa K, Iwamatsu A, Kaibuchi K. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). *Science*. 1996;273:245–248.
144. Shi J, Wei L. Rho kinase in the regulation of cell death and survival. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2007;55(2):61-75.
145. Liao JK, Seto M, Noma K. Rho kinase (ROCK) inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2007;50(1):17-24.
146. Matsui T, Amano M, Yamamoto T, Chihara K, Nakafuku M, Ito M, Nakano T, Okawa K, Iwamatsu A, Kaibuchi K. Rho-associated kinase, a novel serine threonine kinase, as a putative target for small GTP binding protein Rho. *EMBO J* 1996;15:2208–2216.
147. Amano M, Ito M, Kimura K, Fukata Y, Chihara K, Nakano T, Matsuura Y, Kaibuchi K. Phosphorylation and activation of myosin by Rho-associated kinase (Rho-kinase). *J Biol Chem* 1996;271:20246–20249.
148. Fukata Y, Kimura K, Oshiro N, Saya H, Matsuura Y, Kaibuchi K. Association of the myosin-binding subunit of myosin phosphatase and moesin: Dual regulation of moesin phosphorylation by Rho-associated kinase and myosin phosphatase. *J Cell Biol*. 1998;141:409–418.

149. Fukata Y, Oshiro N, Kinoshita N, Kawano Y, Matsuoka Y, Bennett V, Matsuura Y, Kaibuchi K. Phosphorylation of adducin by Rho-kinase plays a crucial role in cell motility. *J Cell Biol.* 1999;145:347–361.
150. Maekawa M, Ishizaki T, Boku S, Watanabe N, Fujita A, Iwamatsu A, Obinata T, Ohashi K, Mizuno K, Narumiya S. Signaling from Rho to the actin cytoskeleton through protein kinases ROCK and LIM-kinase. *Science.* 1999;285:895–898.
151. Koyama M, Ito M, Feng J, Seko T, Shiraki K, Takase K, Hartshorne DJ, Nakano T. Phosphorylation of CPI-17, an inhibitory phosphoprotein of smooth muscle myosin phosphatase by Rho-kinase. *FEBS Lett.* 2000;475:197–200.
152. Yasui Y, Amano M, Nagata K, Inagaki N, Nakamura H, Saya H, Kaibuchi K, Inagaki M. Roles of Rho-associated kinase in cytokinesis; mutations in Rho-associated kinase phosphorylation sites impair cytokinetic segregation of glial filaments. *J Cell Biol* 1998;143:1249–1258.
153. Goto H, Kosako H, Tanabe K, Yanagida M, Sakurai M, Amano M, Kaibuchi K, Inagaki M. Phosphorylation of vimentin by Rho-associated kinase at a unique amino-terminal site that is specifically phosphorylated during cytokinesis. *J Biol Chem.* 1998;273:11728–11736.
154. Tanaka T, Nishimura D, Wu RC, Amano M, Iso T, Kedes L, Nishida H, Kaibuchi K, Hamamori Y. Nuclear Rho kinase, ROCK2, targets p300 acetyltransferase. *J Biol Chem.* 2006;281:15320–15329.
155. Zhou Q, Gensch C, Liao JK. Rho-associated coiled-coil-forming kinases (ROCKs): potential targets for the treatment of atherosclerosis and vascular disease. *Trends Pharmacol Sci.* 2011;32(3):167-173.

156. Jalil J, Lavandero S, Chiong M, Ocaranza MP. Rho/Rho kinase signal transduction pathway in cardiovascular disease and cardiovascular remodeling. *Rev Esp Cardiol.* 2005;58(8):951-961.
157. Sin WC, Chen XQ, Leung T, Lim L. RhoA-binding kinase alpha translocation is facilitated by the collapse of the vimentin intermediate filament network. *Mol Cell Biol.* 1998;18(11):6325-6339.
158. Büssemaker E, Pistrosch F, Förster S, Herbrig K, Gross P, Passauer J, Brandes RP. Rho kinase contributes to basal vascular tone in humans: role of endothelium-derived nitric oxide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293(1):H541-547.
159. Sato S, Ikegaki I, Asano T, Shimokawa H. Antiischemic properties of fasudil in experimental models of vasospastic angina. *Jpn J Pharmacol.* 2001;87(1):34-40.
160. Mukai Y, Shimokawa H, Matoba T, Kandabashi T, Satoh S, Hiroki J, Kaibuchi K, Takeshita A. Involvement of Rho-kinase in hypertensive vascular disease: a novel therapeutic target in hypertension. *FASEB J.* 2001;15(6):1062-1064.
161. Shimokawa H, Takeshita A. Rho-kinase is an important therapeutic target in cardiovascular medicine. *ArteriosclerThromb Vasc Biol.* 2005;25:1767-1775.
162. Funakoshi Y, Ichiki T, Shimokawa H, Egashira K, Takeda K, Kaibuchi K, Takeya M, Yoshimura T, Takeshita A. Rho-kinase mediates angiotensin II-induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in rat vascular smooth muscle cells. *Hypertension.* 2001;38(1):100-104.
163. Ashida N, Arai H, Yamasaki M, Kita T. Distinct signaling pathways for MCP-1-dependent integrin activation and chemotaxis. *J Biol Chem.* 2001;276(19):16555-60.

164. Uehata M, Ishizaki T, Satoh H, Ono T, Kawahara T, Morishita T, Tamakawa H, Yamagami K, Inui J, Maekawa M, Narumiya S. Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension. *Nature*. 1997;389(6654):990-994.
165. Chitaley K, Webb RC. Nitric oxide induces dilation of rat aorta via inhibition of rho-kinase signaling. *Hypertension*. 2002;39(2 Pt 2):438-442.
166. Masumoto A, Hirooka Y, Shimokawa H, Hironaga K, Setoguchi S, Takeshita A. Possible involvement of Rho-kinase in the pathogenesis of hypertension in humans. *Hypertension*. 2001;38(6):1307-1310.
167. Seko T, Ito M, Kureishi Y, Okamoto R, Moriki N, Onishi K, Isaka N, Hartshorne DJ, Nakano T. Activation of RhoA and inhibition of myosin phosphatase as important components in hypertension in vascular smooth muscle. *Circ Res*. 2003;92(4):411-418.
168. Rikitake Y, Liao JK. ROCKs as therapeutic targets in cardiovascular diseases. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2005;3(3):441-451.
169. Yao L, Romero MJ, Toque HA, Yang G, Caldwell RB, Caldwell RW. The role of RhoA/Rho kinase pathway in endothelial dysfunction. *J Cardiovasc Dis Res*. 2010;1(4):165-170.
170. Laufs U, Liao JK. Post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase. *J Biol Chem*. 1998;273(37):24266-24271.
171. Eto M, Barandiér C, Rathgeb L, Kozai T, Joch H, Yang Z, Lüscher TF. Thrombin suppresses endothelial nitric oxide synthase and upregulates endothelin-converting enzyme-1 expression by distinct pathways: role of Rho/ROCK and mitogen-activated protein kinase. *Circ Res*. 2001;89(7):583-590.

172. Li Z, Dong X, Wang Z, Liu W, Deng N, Ding Y, Tang L, Hla T, Zeng R, Li L, Wu D. Regulation of PTEN by Rho small GTPases. *Nat Cell Biol.* 2005;7(4):399-404.
173. Laufs U, Marra D, Node K, Liao JK. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Co reductase inhibitors attenuate vascular smooth muscle proliferation by preventing Rho GTPase-induced down-regulation of p27(Kip1). *J Biol Chem* 1999;274:21926–21931.
174. Chiba Y, Misawa M. Probable involvement of the augmented agonist-induced Ca^{2+} sensitization of airway smooth muscle contraction in the pathogenesis of airway hyperresponsiveness. *Nihon Yakurigaku Zasshi.* 1999;114(3):185-190.
175. Iizuka K, Shimizu Y, Tsukagoshi H, Yoshii A, Harada T, Dobashi K, Murozono T, Nakazawa T, Mori M. Evaluation of Y-27632, a rho-kinase inhibitor, as a bronchodilator in guinea pigs. *Eur J Pharmacol.* 2000;406(2):273-279.
176. Moran CJ, Friel AM, Smith TJ, Cairns M, Morrison JJ. Expression and modulation of Rho kinase in human pregnant myometrium. *Mol Hum Reprod.* 2002;8(2):196-200.
177. Ark M, Yilmaz N, Yazici G, Kubat H, Aktaş S. Rho-associated protein kinase II (rock II) expression in normal and preeclamptic human placentas. *Placenta.* 2005;26(1):81-84.
178. Wibberley A, Chen Z, Hu E, Hieble JP, Westfall TD. Expression and functional role of Rho-kinase in rat urinary bladder smooth muscle. *Br J Pharmacol.* 2003;138(5):757-766.
179. Williams SK, Melman A. Novel therapeutic targets for erectile dysfunction. *Maturitas.* 2012;71(1):20-27.

180. Maddala R, Reddy VN, Epstein DL, Rao V. Growth factor induced activation of Rho and Rac GTPases and actin cytoskeletal reorganization in human lens epithelial cells. *Mol Vis.* 2003;9:329-336.
181. Honjo M, Tanihara H, Inatani M, Kido N, Sawamura T, Yue BY, Narumiya S, Honda Y. Effects of rho-associated protein kinase inhibitor Y-27632 on intraocular pressure and outflow facility. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(1):137-144.
182. Ying H, Biroc SL, Li WW, Alicke B, Xuan JA, Pagila R, Ohashi Y, Okada T, Kamata Y, Dinter H. The Rho kinase inhibitor fasudil inhibits tumor progression in human and rat tumor models. *Mol Cancer Ther.* 2006;5(9):2158-2164.
183. Fritz G, Kaina B. Rho GTPases: promising cellular targets for novel anticancer drugs. *Curr Cancer Drug Targets.* 2006;6(1):1-14.
184. Cantürk M. Böbrek taşı hastalarında bikunin gen çok yapıllığı ve mutasyon taraması. 2005, Gaziantep Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 70 sayfa, Gaziantep, (Prof. Dr. Ahmet Arslan).
185. Ohno S, Ohguchi M, Hirose S, Matsuda H, Wakisaka A, Aizawa M. Close association of HLA-Bw51 with Behçet's disease. *Arch Ophthalmol.* 1982;100(9):1455-1458.
186. Mizuki N, Inoko H, Ando H, Nakamura S, Kashiwase K, Akaza T, Fujino Y, Masuda K, Takiguchi M, Ohno S. Behçet's disease associated with one of the HLA-B51 subantigens, HLA-B* 5101. *Am J Ophthalmol.* 1993;116(4):406-409.
187. Koumantaki Y, Stavropoulos C, Spyropoulou M, Messini H, Papademetropoulos M, Giziaki E, Marcomichelakis N, Palimeris G,

- Kaklamani P, Kaklamani E. HLA-B51 in Greek patients with Behçet's disease. *Hum Immunol*. 1998;59:250-255.
188. Mizuki N, Ota M, Katsuyama Y, Yabuki K, Ando H, Shiina T, Nomura E, Onari K, Ohno S, Inoko H. HLA-B*51 allele analysis by the PCR-SBT method and a strong association of HLA-B*5101 with Japanese patients with Behçet's disease. *Tissue Antigens*. 2001;58(3):181-184.
189. Zouboulis CC, May T. Pathogenesis of Adamantiades-Behçet's disease. *Med Microbiol Immunol*. 2003;192(3):149-155.
190. Gül A, Hajeer AH, Worthington J, Barrett JH, Ollier WE, Silman AJ. Evidence for linkage of the HLA-B locus in Behçet's disease, obtained using the transmission disequilibrium test. *Arthritis Rheum*. 2001;44(1):239-240.
191. Hayasaka S, Kurome H, Noda S. HLA antigens in a Japanese family with Behçet's disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1994;32(10):589-590.
192. Mineshita S, Tian D, Wang LM, Jian XY, Li SY, Fang GZ, Bian TY, Liao HS, Tsuchida M, Tanaka H, Sakuma A. Histocompatibility antigens associated with Behçet's disease in northern Han Chinese. *Intern Med*. 1992;31(9):1073-1075.
193. Ahmad T, Wallace GR, James T, Neville M, Bunce M, Mulcahy-Hawes K, Armuzzi A, Crawshaw J, Fortune F, Walton R, Stanford MR, Welsh KI, Marshall SE, Jewell DP. Mapping the HLA association in Behçet's disease: a role for tumor necrosis factor polymorphisms? *Arthritis Rheum*. 2003;48(3):807-813.
194. Kara N, Senturk N, Gunes SO, Bagci H, Yigit S, Turanli AY. Lack of evidence for association between endothelial nitric oxide synthase gene

polymorphism (glu298asp) with Behçet's disease in the Turkish population. Arch Dermatol Res. 2006;297(10):468-471.

195. Ozçimen AA, Dilek K, Bingöl U, Sarıcaoğlu H, Sarandöl A, Taşkapılıoğlu O, Yurtkuran M, Yurtkuran MA, Oral HB. IL-1 cluster gene polymorphisms in Turkish patients with Behçet's disease. Int J Immunogenet. 2011;38(4):295-301.
196. Mizuki N, Meguro A, Ota M, Ohno S, Shiota T, Kawagoe T, Ito N, Kera J, Okada E, Yatsu K, Song YW, Lee EB, Kitaichi N, Namba K, Horie Y, Takeno M, Sugita S, Mochizuki M, Bahram S, Ishigatsubo Y, Inoko H. Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. Nat Genet. 2010;42(8):703-706.
197. Remmers EF, Cosan F, Kirino Y, Ombrello MJ, Abaci N, Satorius C, Le JM, Yang B, Korman BD, Cakiris A, Aglar O, Emrence Z, Azakli H, Ustek D, Tugal-Tutkun I, Akman-Demir G, Chen W, Amos CI, Dizon MB, Kose AA, Azizlerli G, Erer B, Brand OJ, Kaklamani VG, Kaklamanis P, Ben-Chetrit E, Stanford M, Fortune F, Ghabra M, Ollier WE, Cho YH, Bang D, O'Shea J, Wallace GR, Gadina M, Kastner DL, Gül A. Genome-wide association study identifies variants in the MHC class I, IL10, and IL23R-IL12RB2 regions associated with Behçet's disease. Nat Genet. 2010;42(8):698-702.
198. Lee EB, Kim JY, Zhao J, Park MH, Song YW. Haplotype association of IL-8 gene with Behcet's disease. Tissue Antigens. 2007;69(2):128-132.
199. Durrani O, Banahan K, Sheedy FJ, McBride L, Ben-Chetrit E, Greiner K, Vaughan RW, Kondeatis E, Hamburger J, Fortune F, Stanford MR, Murray PI, O'Neill LA, Wallace GR. TIRAP Ser180Leu polymorphism is associated with Behcet's disease. Rheumatology (Oxford). 2011;50(10):1760-1765.

200. Du L, Yang P, Hou S, Zhou H, Kijlstra A. No association of CTLA-4 polymorphisms with susceptibility to Behçet disease. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(10):1378-1381.
201. Wirth A. Rho kinase and hypertension. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1802(12):1276-1284.
202. Miao L, Dai Y, Zhang J. Mechanism of RhoA/Rho kinase activation in endothelin-1 induced contraction in rabbit basilar artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283(3):983-999.
203. Fukumoto Y, Matoba T, Ito A, Tanaka H, Kishi T, Hayashidani S, Abe K, Takeshita A, Shimokawa H. Acute vasodilator effects of a Rho-kinase inhibitor, fasudil, in patients with severe pulmonary hypertension. *Heart*. 2005;91(3):391-392.
204. Dai ZK, Wu BN, Chen IC, Chai CY, Wu JR, Chou SH, Yeh JL, Chen IJ, Tan MS. Attenuation of pulmonary hypertension secondary to left ventricular dysfunction in the rat by Rho-kinase inhibitor fasudil. *Pediatr Pulmonol*. 2011;46(1):45-59.
205. Seasholtz TM, Wessel J, Rao F, Rana BK, Khandrika S, Kennedy BP, Lillie EO, Ziegler MG, Smith DW, Schork NJ, Brown JH, O'Connor DT. Rho kinase polymorphism influences blood pressure and systemic vascular resistance in human twins: role of heredity. *Hypertension*. 2006;47(5):937-947.
206. Zhao Q, Wang L, Yang W, Chen S, Huang J, Fan Z, Li H, Lu X, Gu D. Interactions among genetic variants from contractile pathway of vascular smooth muscle cell in essential hypertension susceptibility of Chinese Han population. *Pharmacogenet Genomics*. 2008;18(6):459-466.
207. Rankinen T, Church T, Rice T, Markward N, Blair SN, Bouchard C. A major haplotype block at the rho-associated kinase 2 locus is associated

with a lower risk of hypertension in a recessive manner: the HYPGENE study. *Hypertens Res.* 2008;31(8):1651-1657.

208. Peterson H, Laivuori H, Kerkelä E, Jiao H, Hiltunen L, Heino S, Tiala I, Knuutila S, Rasi V, Kere J, Kivinen K. ROCK2 allelic variants are not associated with pre-eclampsia susceptibility in the Finnish population. *Mol Hum Reprod.* 2009;15(7):443-449.
209. Arita R. Mechanism of diabetes-induced microvascular damage and therapeutic potential of ROCK inhibition. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi.* 2011;115(11):985-997.
210. Demiryurek AT, Erbagci I, Oztuzcu S, Alasehirli B, Ozkara E, Seker M, Sönmez A, Ozsan M, Camci C. Lack of association between the Thr431Asn and Arg83Lys polymorphisms of the ROCK2 gene and diabetic retinopathy. *Curr Eye Res.* 2010;35(12):1128-1134.
211. Yamaguchi H, Kasa M, Amano M, Kaibuchi K, Hakoshima T. Molecular mechanism for the regulation of rho-kinase by dimerization and its inhibition by fasudil. *Structure.* 2006;14(3):589-600.
212. Doran JD, Liu X, Taslimi P, Saadat A, Fox T. New insights into the structure-function relationships of Rho-associated kinase: a thermodynamic and hydrodynamic study of the dimer-to-monomer transition and its kinetic implications. *Biochem J.* 2004;384(Pt 2):255-262.
213. Schmitz-Huebner U, Knop J. Evidence for an endothelial cell dysfunction in association with Behçet's disease. *Thromb Res.* 1984;34(4):277-285.
214. Haznedaroglu IC, Ozcebe OI, Ozdemir O, Celik I, Dündar SV, Kirazli S. Impaired haemostatic kinetics and endothelial function in Behçet's disease. *J Intern Med.* 1996;240(4):181-187.

215. Yazici C, Köse K, Çalış M, Demir M, Kirnap M, Ateş F. Increased advanced oxidation protein products in Behçet's disease: a new activity marker? *Br J Dermatol*. 2004;151(1):105-111.
216. Eksioğlu-Demiralp E, Direskeneli H, Kibaroglu A, Yavuz S, Ergun T, Akoglu T. Neutrophil activation in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2001;19(5 Suppl 24):S19-24.
217. Acikgoz N, Ermiş N, Yağmur J, Cansel M, Karıncaoğlu Y, Ataş H, Cuglan B, Barutcu I, Pekdemir H, Özdemir R. Elevated oxidative stress markers and its relationship with endothelial dysfunction in Behçet disease. *Angiology*. 2011;62(4):296-300.
218. Mendoza-Pinto C, García-Carrasco M, Jiménez-Hernández M, Jiménez Hernández C, Riebeling-Navarro C, Nava Zavala A, Vera Recabarren M, Espinosa G, Jara Quezada J, Cervera R. Etiopathogenesis of Behcet's disease. *Autoimmun Rev*. 2010;9(4):241-5.
219. Korkmaz S, Erturan I, Nazıroğlu M, Uğuz AC, Cığ B, Övey IS. Colchicine modulates oxidative stress in serum and neutrophil of patients with Behçet disease through regulation of Ca^{+2} release and antioxidant system. *J Membr Biol*. 2011;244(3):113-20.
220. Kökçam I, Naziroglu M. Effects of vitamin E supplementation on blood antioxidants levels in patients with Behçet's disease. *Clin Biochem*. 2002;35(8):633-639.
221. Köse K, Doğan P, Aşcıoğlu M, Erkiliç K, Aşcıoğlu O. Oxidative stress and antioxidant defenses in plasma of patients with Behçet's disease. *Tohoku J Exp Med*. 1995;176(4):239-248.
222. Jin L, Ying Z, Webb RC. Activation of Rho/Rho kinase signaling pathway by reactive oxygen species in rat aorta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;287(4):H1495-500.

223. Bailey SR, Mitra S, Flavahan S, Flavahan NA. Reactive oxygen species from smooth muscle mitochondria initiate cold-induced constriction of cutaneous arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289(1):H243-50.
224. Kataoka C, Egashira K, Inoue S, Takemoto M, Ni W, Koyanagi M, Kitamoto S, Usui M, Kaibuchi K, Shimokawa H, Takeshita A. Important role of Rho-kinase in the pathogenesis of cardiovascular inflammation and remodeling induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats. *Hypertension*. 2002;39(2):245-250.
225. Anwar KN, Fazal F, Malik AB, Rahman A. RhoA/Rho-associated kinase pathway selectively regulates thrombin-induced intercellular adhesion molecule-1 expression in endothelial cells via activation of I kappa B kinase beta and phosphorylation of RelA/p65. *J Immunol* 2004;173:6965-6972.
226. Mallat Z, Gojova A, Sauzeau V, Brun V, Silvestre JS, Esposito B, Merval R, Groux H, Loirand G, Tedgui A. Rho-associated protein kinase contributes to early atherosclerotic lesion formation in mice. *Circ Res*. 2003;93(9):884-888.
227. Radeff JM, Nagy Z, Stern PH. Rho and Rho kinase are involved in parathyroid hormone-stimulated protein kinase C alpha translocation and IL-6 promoter activity in osteoblastic cells. *J Bone Miner Res*. 2004;19(11):1882-1891.
228. Hattori T, Shimokawa H, Higashi M, Hiroki J, Mukai Y, Tsutsui H, Kaibuchi K, Takeshita A. Long-term inhibition of Rho-kinase suppresses left ventricular remodeling after myocardial infarction in mice. *Circulation*. 2004;109(18):2234-2239.
229. Thorlacius K, Slotta JE, Laschke MW, Wang Y, Menger MD, Jeppsson B, Thorlacius H. Protective effect of fasudil, a Rho-kinase inhibitor, on

- chemokine expression, leukocyte recruitment, and hepatocellular apoptosis in septic liver injury. *J Leukoc Biol.* 2006;79(5):923-931.
230. Saito H, Minamiya Y, Saito S, Ogawa J. Endothelial Rho and Rho kinase regulate neutrophil migration via endothelial myosin light chain phosphorylation. *J Leukoc Biol.* 2002;72(4):829-836.
231. Slotta JE, Braun OO, Menger MD, Thorlacius H. Fasudil, a Rho-kinase inhibitor, inhibits leukocyte adhesion in inflamed large blood vessels in vivo. *Inflamm Res.* 2006;55(9):364-367.
232. Wojciak-Stothard B, Potempa S, Eichholtz T, Ridley AJ. Rho and Rac but not Cdc42 regulate endothelial cell permeability. *J Cell Sci.* 2001;114(Pt 7):1343-1355.
233. Wojciak-Stothard B, Ridley AJ. Rho GTPases and the regulation of endothelial permeability. *Vascul Pharmacol.* 2002;39(4-5):187-199.
234. Fujita A, Saito Y, Ishizaki T, Maekawa M, Fujisawa K, Ushikubi F, Narumiya S. Integrin-dependent translocation of p160ROCK to cytoskeletal complex in thrombin-stimulated human platelets. *Biochem J.* 1997;328 (Pt 3):769-775.
235. Suzuki Y, Yamamoto M, Wada H, Ito M, Nakano T, Sasaki Y, Narumiya S, Shiku H, Nishikawa M. Agonist-induced regulation of myosin phosphatase activity in human platelets through activation of Rho-kinase. *Blood.* 1999 15;93(10):3408-3417.
236. Eto M, Kozai T, Cosentino F, Joch H, Luscher TF. Statin prevents tissue factor expression in human endothelial cells: Role of Rho/Rho-kinase and Akt pathways. *Circulation* 2002;105:1756-1759.
237. Takeda K, Ichiki T, Tokunou T, Iino N, Fujii S, Kitabatake A, Shimokawa H, Takeshita A. Critical role of Rho-kinase and MEK/ERK pathways for

- angiotensin II-induced plasminogen activator inhibitor type-1 gene expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(5):868-873.
238. Nakakuki T, Ito M, Iwasaki H, Kureishi Y, Okamoto R, Moriki N, Kongo M, Kato S, Yamada N, Isaka N, Nakano T. Rho/Rho-kinase pathway contributes to C-reactive protein-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(10):2088-2093.
239. Matsumoto Y, Uwatoku T, Oi K, Abe K, Hattori T, Morishige K, Eto Y, Fukumoto Y, Nakamura K, Shibata Y, Matsuda T, Takeshita A, Shimokawa H. Long-term inhibition of Rho-kinase suppresses neointimal formation after stent implantation in porcine coronary arteries: involvement of multiple mechanisms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(1):181-186.
240. Worthylake RA, Burrige K. RhoA and ROCK promote migration by limiting membrane protrusions. *J Biol Chem.* 2003;278(15):13578-84.
241. Honing H, van den Berg TK, van der Pol SM, Dijkstra CD, van der Kammen RA, Collard JG, de Vries HE. RhoA activation promotes transendothelial migration of monocytes via ROCK. *J Leukoc Biol.* 2004;75(3):523-528.
242. Funakoshi Y, Ichiki T, Shimokawa H, Egashira K, Takeda K, Kaibuchi K, Takeya M, Yoshimura T, Takeshita A. Rho-kinase mediates angiotensin II-induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in rat vascular smooth muscle cells. *Hypertension.* 2001;38(1):100-104.
243. Campochiaro PA. Targeted pharmacotherapy of retinal diseases with ranibizumab. *Drugs Today (Barc).* 2007;43(8):529-537.
244. Takagi H, King GL, Ferrara N, Aiello LP. Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor receptor KDR/Flk gene expression through

- adenosine A2 receptors in retinal capillary endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996;37(7):1311-13121.
245. Leiba M, Sidi Y, Gur H, Leiba A, Ehrenfeld M. Behçet's disease and thrombophilia. *Ann Rheum Dis*. 2001;60(12):1081-1085.
246. Seyahi E, Yurdakul S. Behçet's Syndrome and thrombosis. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2011;3(1):e2011026.
247. Evereklioglu C, Turkoz Y, Er H, Inaloz HS, Ozbek E, Cekmen M. Increased nitric oxide production in patient with Behcet's disease: is it a new activity marker? *J Am Acad Dermatol*. 2002;46:50-54.
248. Erol N. Vasküler endotelial büyüme faktörü ve anti-VEGF ajanlar. *Ret-Vit* 2007;15(Özel Sayı):35-40.
249. Cekmen M, Evereklioglu C, Er H, Inalöz HS, Doganay S, Türköz Y, Ozerol IH. Vascular endothelial growth factor levels are increased and associated with disease activity in patients with Behçet's syndrome. *Int J Dermatol*. 2003;42(11):870-875.
250. Shaker O, Ay El-Deen MA, El Hadidi H, Grace BD, El Sherif H, Abdel Halim A. The role of heat shock protein 60, vascular endothelial growth factor and antiphospholipid antibodies in Behçet disease. *Br J Dermatol*. 2007;156(1):32-37.
251. Erdem F, Gündoğdu M, Kiki I, Ali Sari R, Kiziltunç A. Vascular endothelial and basic fibroblast growth factor serum levels in patients with Behçet's disease. *Rheumatol Int*. 2005;25(8):599-603.
252. van Nieuw Amerongen GP, Koolwijk P, Versteilen A, van Hinsbergh VW. Involvement of RhoA/Rho kinase signaling in VEGF-induced endothelial cell migration and angiogenesis in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(2):211-217.

253. Breslin JW, Yuan SY. Involvement of RhoA and Rho kinase in neutrophil-stimulated endothelial hyperpermeability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;286(3):H1057-1062.
254. Sun H, Breslin JW, Zhu J, Yuan SY, Wu MH. Rho and ROCK signaling in VEGF-induced microvascular endothelial hyperpermeability. *Microcirculation*. 2006;13(3):237-247.
255. Kuno M, Takai S, Matsushima-Nishiwaki R, Minamitani C, Mizutani J, Otsuka T, Harada A, Adachi S, Kozawa O, Tokuda H. Rho-kinase inhibitors decrease TGF-beta-stimulated VEGF synthesis through stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase in osteoblasts. *Biochem Pharmacol*. 2009;77(2):196-203.
256. Bryan BA, Dennstedt E, Mitchell DC, Walshe TE, Noma K, Loureiro R, Saint-Geniez M, Campaigniac JP, Liao JK, D'Amore PA. RhoA/ROCK signaling is essential for multiple aspects of VEGF-mediated angiogenesis. *FASEB J*. 2010 ;24(9):3186-3195.
257. Takemoto M, Sun J, Hiroki J, Shimokawa H, Liao JK. Rho-kinase mediates hypoxia-induced downregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2002;106(1):57-62.
258. Ming XF, Viswambharan H, Barandier C, Ruffieux J, Kaibuchi K, Rusconi S, Yang Z. Rho GTPase/Rho kinase negatively regulates endothelial nitric oxide synthase phosphorylation through the inhibition of protein kinase B/Akt in human endothelial cells. *Mol Cell Biol*. 2002;22(24):8467-8477.
259. Sugimoto M, Nakayama M, Goto TM, Amano M, Komori K, Kaibuchi K. Rho-kinase phosphorylates eNOS at threonine 495 in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;361(2):462-427.

ÖZGEÇMİŞ

Elif Oğuz 13.03.1973 tarihinde Mardin'in Midyat ilçesinde doğdu. İlköğrenimini 1985 yılında Erzurum Atatürk İlkokulunda, lise eğitimini 1991 yılında Gaziantep Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 1996 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ni bitirdi. 1996-1998 yılları arasında Şanlıurfa Sosyal Sigortalar Hastane'sinde sorumlu eczacı olarak, 1999-2001 yılları arasında Harran Üniversitesi'nde uzman kadrosunda eczacı olarak çalıştı. Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı'nda 2002 yılında yüksek lisansını tamamladıktan sonra Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda Öğretim Görevlisi olarak çalışmaya başlayan Elif Oğuz halen aynı görevde bulunmaktadır. Evli ve iki çocuk annesidir. İyi derecede İngilizce bilmektedir.