



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BEHÇET HASTALIĞINDA İNTERLÖKİN-16 (IL-16) VE AIRE
(OTOİMMUN REGÜLATÖR GEN) GENLERİNİN PROMOTÖR
METİLASYON DURUMUNUN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Melih AKPUNAR
TIPTA UZMANLIK TEZİ

MART 2023
SAMSUN



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BEHÇET HASTALIĞINDA İNTERLÖKİN-16 (IL-16) VE AIRE
(OTOİMMUN REGÜLATÖR GEN) GENLERİNİN PROMOTÖR
METİLASYON DURUMUNUN ARAŞTIRILMASI**

PROJE NO: B.30.2.ODM.0.20.08/859-600

Dr. Melih AKPUNAR
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Demet YALÇIN KEHRİBAR

MART 2023
SAMSUN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, çok değerli hocalarım Doç.Dr. Demet YALÇIN KEHRİBAR'a ve Prof.Dr Metin ÖZGEN'e

Uzmanlık eğitimimde, her türlü bilgi ve desteği ile bana katkı sağlayan başta anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Ramis ÇOLAK olmak üzere tüm değerli hocalarıma,

Uzmanlık eğitimime çok büyük katkıda bulunan, engin bilgi ve deneyimiyle hiçbir konuda yardımını esirgemeyen, gerek tıbbi gerek sosyal yaşantıyla ilgili fikrine ihtiyaç duyduğumda zaman farketmeksizin ulaşabildiğim, üzerimde çok fazla emeği olan ve kendisini örnek aldığım sayın hocam Prof. Dr. Melda DİLEK'e

Uzmanlık eğitimimin başladığı günden beri tıbbi birikimine ve sosyal zekasına hayran olduğum, bilimsel toplantılarına büyük bir keyifle katıldığım, her daim babacanlığını hissettiğim sayın hocam Prof.Dr Mehmet TURGUT'a

Kıdemliliğe başladığım yer olan hematoloji servisinde yol göstericim olan,servis günlerim sonrasında da bir telefon uzağımda olan Dr.Derya Deniz KÜREKÇİ'ye

Uzmanlık eğitimim süresince beraber çalıştığım meslektaşlarıma,

Asistanlığa başladığım günden itibaren her zaman yanımda olan, hiçbir zaman yardımını esirgemeyen, birlikte güzel anılar biriktirdiğim, sevgili kıdemlim, biricik ablam Ceren CANTÜRK 'e

Beraber büyüdüğüm, hayatın önüme çıkardığı her türlü zorluğa birlikte göğüs gerdiğim, çocukluğumun, ilk gençliğimin her anına tanık olan, bendeki değerlerini kelimelere, cümlelere,paragraflara sığdıramayacağım hayat arkadaşım Senay İrem AKPUNAR'a ve can dostum Fuatcan BALABAN'a

Beni yetiştirip bugünlere gelmemi sağlayan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen başta annem Nurten AKPUNAR, babam Hasan AKPUNAR ve kardeşim Eranur AKPUNAR olmak üzere tüm aileme,

En içten dileklerle teşekkür ederim.

Dr.Melih AKPUNAR

BEYAN

“Behçet Hastalığında İnterlökin-16 (IL-16) ve AIRE (Otoimmün Regulator Gen) Genlerinin Promotör Metilasyon Durumunun Araştırılması” başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, başka bir çalışmadan kopya edilmediğini, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda 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 gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr.Melih AKPUNAR



ÖNSÖZ

Behçet Hastalığı dünyada en sık ülkemizde görülen, sebebi ve etiyopatogenezi hakkında henüz net bir fikir birliği sağlayamadığımız multisistemik tutulumlarla giden bir hastalıktır. Behçet Hastalığının özellikle genç erişkinleri etkilemesi ve tedavisi zor organ tutulumları ile ciddi bir morbidite oluşturmaları nedeniyle her geçen gün önemi artan bir hastalık haline gelmiştir. Son yıllarda Behçet Hastalığının oluşumunda epigenetik faktörlerin rolü önem kazanmasına rağmen yapılan bilimsel çalışmalar çok kısıtlı düzeydedir. Bu çalışmada Behçet Hastalığında interlökin-16 (IL-16) ve otoimmün regülatör genlerindeki (AIRE) epigenetik değişikliklerin belirlenmesi ve bu epigenetik değişimlerin hastalık mekanizmasıyla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamız hem AIRE geninin hem de IL-16'nın Behçet Hastalığındaki rolünü değerlendiren ilk araştırmadır.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
BEYAN	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	vii
TABLolar	ix
ŞEKİLLER	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1.Epigenetik Tanımı ve Önemi	1
1.2.DNA Metilasyonu	2
1.3.AIRE	3
1.4.Interlökin-16	4
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1 Tanım	6
2.2 Tarihçe	6
2.3 Epidemiyoloji.....	6
2.4 Etiyoloji.....	7
2.4.1 Genetik Faktörler	7
2.4.1.1 HLA Genleri	7
2.4.1.2 HLA Dışı Genler	7
2.4.1.3 Epigenetik Değişiklikler	8
2.4.2 Enfeksiyöz Etkenler	8
2.4.3 Endotel Aktivasyonu ve Tromboz	9
2.5 Klinik Bulgular	9
2.5.1 Oral Ülserler.....	9
2.5.2 Genital Ülserler	10
2.5.3 Deri Lezyonları	10
2.5.4 Oküler Hastalık	11
2.5.6 Nörolojik Tutulum	11
2.5.7 Vasküler Tutulum	11
2.5.8 Eklem Tutulumu	12
2.5.9 Renal Tutulum	12

2.5.10 Kardiyak Tutulum.....	12
2.5.11 Gastrointestinal Tutulum.....	12
2.5.12 Behçet ve Malignite	13
2.6 Tanı	13
2.7 Tedavi	14
2.7.1 Oral Aft ve Genital Ülserler.....	15
2.7.1.1 Topikal Steroidler	15
2.7.1.2 Azatiyoprin	15
2.7.1.3 TNF-alfa İnhibitörleri	15
2.7.1.4 Siklosporin	16
2.7.1.5 İnterferon Alfa.....	16
2.7.2 Kutanöz Lezyonlar	16
2.7.3 Artrit.....	16
2.7.4 Oküler Hastalık	17
2.7.4.1 Ön Üveit.....	17
2.7.4.2 Arka Üveit.....	17
2.7.5 Gastrointestinal Hastalık	17
2.7.6 Büyük Arter Hastalığı	18
2.7.7 Venöz Tromboz.....	18
2.7.8 Nörolojik Hastalık.....	18
2.8 AIRE Gen Mutasyonu.....	19
2.8.1 AIRE Eksikliği/APECED'in Klinik Özellikleri	20
2.9 Interlökin 16.....	21
3. MATERYAL VE METOD.....	22
3.1 Çalışma Popülasyonu.....	22
3.2 Klinik Veriler	22
3.2.1. Örneklerin toplanması.....	22
3.2.2. Kandan DNA İzolasyonu	23
3.2.3. Bisülfid Modifikasyonu	24
3.2.4. Metilasyon Spesifik PCR (MS-PCR):.....	25
3.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi:	26
3.2.6. İstatiksel Çalışma	26
4. BULGULAR.....	28
5.TARTIŞMA	31
KAYNAKLAR	36
EKLER	51

EK-1: Etik Kurul Onay	51
EK-2: Orijinallik Analizi	52



KISALTMALAR

AIRE	: Otoimmun Regulator Gen Mutasyonu
APACED	: Otoimmun Poliendokrinopati Kandidiyazis Ektodermal Distrofi
APS	: Otoimmun Poliglanduler Sendrom
ARK	: Arkadaş
BH	: Behçet Hastalığı
CD	: Cluster Differentiation
CMMC	: Kronik Mukokutanöz Kandidiyazis
CMV	: Sitomegalovirus
CNS	: Santral Sinir Sistemi
CTLA	: Sitotoksik T Lenfosit İlişkili Antijen
DMARD	: Hastalık Modifiye Eden Antiromatizmal İlaç
ERAP-1	: Endoplazmikretikulum Aminopeptidaz
HHV	: Human Herpes Virus
HLA	: İnsan Lökosit Antijen
HSV	: Herpes Simplex Virus
ICAM	: Hücre İçi Adezyon Molekülü
ICBD	: Uluslararası Behçet Hastalığı Kriterleri
IL	: İnterlökin
ISG	: Uluslararası Behçet Çalışma Grubu
LN	: Lupus Nefriti
MEFV	: Ailevi Akdeniz Ateşi
MHC	: Major Doku Uygunluk Kompleksi
MICA	: Majör Histokompatibilite Kompleksi Sınıf I Zincirle İlişkili Gen A
MS	: Multiple Skleroz
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NO	: Nitrik Oksit
NSAID	: Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaç
OA	: Osteoartrit
RA	: Romatoid Artrit
SLE	: Sistemik Lupus Eritamatozus
SNP	: Single Nükleotid Polimorfizmi

SSC	: Sistemik Skleroz
TNF	: Tumor Nekroz Faktör
VEGF	: Vasküler Endotelyal Growth Faktör
VZV	: Varicella Zooster Virus



TABLÖLAR

Tablo 1. ISG Tanı Kriterleri.....	14
Tablo 2. Uluslararası Behçet Hastalığı Kriterleri (ICBD)	14
Tablo 3. Metilasyon spesifik PCR için primer dizileri	25
Tablo 4. Çalışma Gruplarında Demografik ve Laboratuvar Veriler	29
Tablo 5. Behçet Hastalarının klinik özellikleri	29
Tablo 6. Behçet hastalarının ilaç kullanımı	30



ŞEKİLLER

Şekil 1. Sitozinin metilasyonu	2
Şekil 2. Bisülfıt modifikasyonu ve PZR sonrasında DNA dizisinde meydana gelen değişiklikler (Me: metil)	3



ÖZET

Giriş: Behçet Hastalığı ülkemizde sık görülen, özellikle genç erişkinlerde ciddi morbidite ile seyreden ve etiyopatogenezi hakkında henüz net bir fikir birliği sağlanamayan bir hastalıktır. Bu çalışmada Behçet Hastalığında interlökin-16 (IL-16) ve otoimmün regülatör genlerindeki (AIRE) epigenetik değişikliklerin belirlenmesi ve bu epigenetik değişimlerin hastalık mekanizmasıyla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamıza Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı Polikliniklerine başvuran 18 yaş üstü hastalar dahil edildi. Çalışma 2014 Uluslararası Behçet Hastalığı Kriterleri referans alınarak BH teşhisi konan 40 hasta ile 40 sağlıklı gönüllünün periferik kan örnekleri alınarak yapıldı. Gönüllülerden alınan kan örneklerinden DNA izolasyon kiti kullanılarak elde edilen genomik DNA'ların DNA konsantrasyonları ve saflıkları nanodrop ile ölçüldü. Sonrasında, DNA örnekleri, bisülfid modifikasyon kiti kullanılarak modifiye edildi. Daha sonra metilasyona spesifik PCR yöntemiyle, metilasyona özgül dizayn edilen primerler kullanılarak IL-16 ve AIRE genlerinin promotör metilasyon profilleri belirlendi. Çalışmanın sonuçları istatistiksel analiz programı ile değerlendirildi.

Sonuçlar: Çalışmaya alınan Behçet Hastaları ve sağlıklı kontrol grubunun her ikisinde de IL-16'nın promotör bölgesi metile olarak saptandı ve IL-16 geninin ekspresyonunun güçlü olmadığı gösterildi. Diğer taraftan AIRE geninin promotör bölgesi sağlıklı tüm bireylerde metile iken, Behçet Hastalarının tümünde unmetile olarak saptandı.

Tartışma: Çalışmamız hem AIRE geninin hem de IL-16'nın Behçet Hastalığındaki rolünü değerlendiren ilk araştırmadır. Çalışmamamızın sonuçlarına bakıldığında self toleransın gelişiminde ve sürdürülmesinde önemli rolü olduğu gösterilen AIRE geninin promotör bölgesinin unmetile olması, Behçet Hastalığında otoimmün regülatör geninin aktif hale geldiğini ve otoreaktif T hücreleri elimine eden otoimmün regülatuar protein üretimi yaptığını göstermektedir. Bu sonucun Behçet hastalığının otoimmün doğasına işaret ettiğini düşünmekteyiz. Çalışmamızın diğer bir sonucunda ise birçok romatizmal hastalığın patogenezinde rol alan IL-16'nın Behçet Hastalığı patogenezinde önemli bir rolünün olmadığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Behçet Hastalığı, İnterlökin-16 (IL-16), Otoimmün Regülatör Gen (AIRE)

ABSTRACT

Introduction: Behçet's disease is a common disease in our country, especially in young adults, with serious morbidity, and we have not yet been able to reach a clear consensus on its etiopathogenesis. This study, it was aimed to determine the epigenetic changes in Interleukin-16 (IL-16) and Autoimmune Regulator Genes (AIRE) in Behçet's Disease and to investigate the relationship of these epigenetic changes with the disease mechanism.

Methods: Patients over the age of 18 who applied to Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, and Department of Rheumatology Outpatient Clinics were included in our study. The study was conducted by taking peripheral blood samples from 40 patients diagnosed with Behçet's disease according to the 2014 International Behçet's Disease Criteria and 40 healthy volunteers. DNA concentrations and purity of genomic DNAs obtained from blood samples taken from volunteers using DNA isolation kit were measured with nanodrop. Afterwards, the DNA samples were modified using the bisulfite modification kit. Then, promoter methylation profiles of IL-16 and AIRE genes were determined by methylation-specific PCR method using primers designed specifically for methylation. The results of the study were evaluated with the statistical analysis program.

Results: The promoter region of IL-16 was found to be methylated in both Behçet's Diseases and healthy controls included in the study, and it was shown that the expression of the IL-16 was not strong. On the other hand, while the promoter region of the AIRE genes was methylated in all healthy individuals, it was found to be unmethylated in all Behçet's patients.

Discussion: Our study is the first to evaluate the role of both AIRE genes and IL-16 in Behçet's disease. Considering the results of our study, the unmethylation of the promoter region of the AIRE genes, which has been shown to have an important role in the development and maintenance of self-tolerance, shows that the AIRE genes gene is activated in Behçet's Disease and produces an autoimmune regulatory protein that eliminates autoreactive T cells. We think that this result indicates the autoimmune nature of Behçet's disease. Another result of our study shows that IL-16, which has a

role in the pathogenesis of many rheumatic diseases, does not have an important role in the pathogenesis of Behçet's disease.

Keywords: Behçet's Disease, Interleukin-16 (IL-16), Autoimmune Regulator Genes (AIRE)



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Behçet hastalığı (BH), ataklarla seyreden oral aft, genital ülserler, artrit, dermal lezyonlar, oküler lezyonlar, gastrointestinal ve merkezi sinir sistemi tutulumuyla karakterize inflamatuvar, multisistemik bir hastalıktır . BH'ı diğer vaskülitlerden farklı olarak her tipte (arteriyel ve venöz) ve her çaptaki (küçük, orta ve büyük) damarları tutabilme özelliği ile eşsiz bir patolojiye sahiptir. BH'nın ilk olarak Hipokrat tarafından tanımlanmış olabileceği belirtilmekle birlikte, 1937 senesinde Prof.Dr. Hulusi Behçet(Türk Dermatolog) oral aft, genital ülser ve üveit kliniğiyle modern tıp camiasının dikkatine sunmuştur (1). BH, eski ipek yolu olarak bilinen Doğu Asya ve Akdeniz boyunca uzanan coğrafyada daha yaygın olmakla birlikte tüm dünyada görülebilmektedir. Türkiye 100.000'de 80 ila 370 vaka ile sıklık açısından listenin başında gelmektedir. İpek yolu boyunca uzanan Japonya, Kore, Çin, İran, Irak ve Suudi Arabistan'da 100.000'de 13,5 ila 35 arasında değişen prevalans ile görülmektedir (2). BH'nın patogenezinin bakıldığında nötrofillerde oluşan hiperaktivasyon (oto-inflamasyon) sonucu nötrofil aracılı endotel disfonksiyonunun meydana geldiği görülmüştür. İnflamasyona sekonder oluşan endotel hasarı sonucu trombosit aktivasyonu ve tromboz kliniği görülmektedir. Fakat BH'ı trombozu geleneksel kardiyovasküler risk faktörlerinden kaynaklanan trombozun aksine bozulmuş bir immün-inflamatuvar yanıt sonucu oluşmaktadır (3). BH'nın tromboz ile sonuçlanan sıra dışı patogenezinin tedavisinde ise, antikoagülanlardan ziyade çoğunlukla immünosupresanlara dayanan tedavi yaklaşımları kullanılmaktadır (4, 5).

Son yıllarda Behçet hastalığının patogenezinde, DNA dizisinde herhangi bir değişim olmaksızın genin ifadesini etkileyerek farklı fenotiplere neden olan ve kalıtsal bir özellik olarak tanımlanan 'epigenetik faktörler' dikkat çekicidir (6).

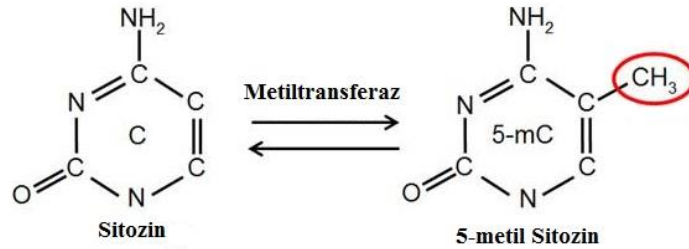
1.1.Epigenetik Tanımı ve Önemi

Epigenetik; tıp tarihinde ilk kez Waddington aracılığıyla gelişim basamaklarının genin okunuşundaki farklılıklarla düzenlenmesiyle alakası öne çıkarılarak tıp dünyasının dikkatine sunulmuştur. Öte yandan epigenetik; dna diziliminde değişim olmaksızın kromozom düzeyinde ortaya çıkan ve değişik dış görünümlere sebep olan genetik bir özellik olarak tariflenmiştir (7). Genoma zıt olarak epigenom ve epigenetik izler oldukça hareketli olup, doku ve hücre çeşitlerine has biçimlerle karşımıza çıkar. İnsan

bedenindeki her hücre esasen ortak genetik bilgi donanımındadır. Ancak, hücreleri kendine has hale getiren ontogenez esnasında farklı genlerin ifade edilmesi veya bastırılmasıdır (6). Epigenetik değişiklikler, mitoz veya mayoz bölünmelerle oluşan hücrelere aktarılabilir. Waddington tarafından tıp dünyasının dikkatine sunulduğu günden beri birçok epigenetik işleyiş biçimi tarif edilmiştir. Post-translasyonel histon modifikasyonları, DNA metilasyonu, mikroRNA (miRNA) gibi kodlanmamış RNA'ların (ncRNA) ifade edilmesidir. Bu işleyiş biçimleri özgül kromatin yapısını tayin eder ve sonuç olarak DNA dizilimine bağlı olmaksızın genin ifade edilmesine tesir ederek değişken dış görünümlere yol açarlar (8).

1.2.DNA Metilasyonu

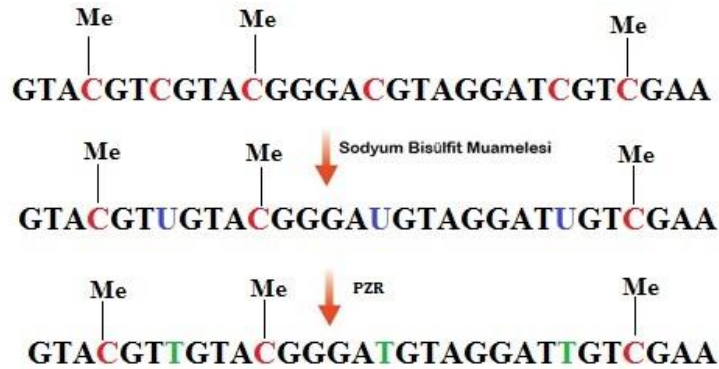
DNA metillenmesi, sitozinin 5. karbonuna (5mC) metil grubunun katılması olarak ifade edilebilir.(Şekil 1). Memelilerde DNA metilasyonu sıklıkla genlerin promotör kısımlarında kümelenmiş CpG dinükleotitlerinde gerçekleşir. Yüksek derece DNA metilasyonu, yazılım(transkripsiyon) faktörlerinin DNA'ya entegrasyonunu engelleyerek genin ifade edilmesinin baskılanmasına sebep olurken, unmetile DNA yazılım faktörleri DNA'ya bağlanabilir ve bu şekilde genin ifade edilmesi gerçekleşebilir.



Şekil 1. Sitozinin metilasyonu

Ökaryotlarda metile haldeki DNA, gen ifadesinin düzenlenmesinde ve denetlenmesinde rol almaktadır (9).Memeli genomlarındaki metile haldeki DNA'ların %80 gibi büyük bir çoğunluğu 5'-CpG-3' dinükleotitlerinde gerçekleşmesinden dolayı, incelenen bölge CpG adaları olmuştur. Memelilerde genetik materyallerdeki CpG'lerin büyük çoğunluğunun metile olduğu tespit edilmiştir. Unmetile bölgelerin önemli bir kısmı genlerin promotör kısımlarında veya ilk ekzonlarında olduğu bilinmektedir (10). Matriks metalloproteinaz ve sitokinlerin ifade edildiği gen bölgelerinde metile DNA'larda meydana gelen düzen dışı ifade ediliş birçok hastalıkta bildirilmiştir (11).Romatoid artrit (RA) hastalarının hem

sinoviyal dokularında, hem de sinoviyal fibroblastlarında DNA metilasyonun az olduğu gözlenmiştir. Buradan hareketle, DNA'nın metilasyon durumunun inflamatuvar mekanizmalarda önemli bir görev üstlendiği düşünülebilir (12). RA, SLE ve pSS hastalarında sitokin metilasyonun analize edildiği bir çalışmada, sitokin genlerinin promotör kısımlarında veya promotör bölgelerin dışındaki genlerin metilasyon açısından ifade edilişinde değişikliklere sahip olan genler gösterilmiştir(13). DNA metilasyon durumunun analiz edilmesinde en yaygın kullanılan teknikler bisülfıt modifikasyonu üzerinden geliştirilmiştir (14). Bisülfıt modifikasyonunu takiben, metilasyon spesifik PZR (MSP), bisülfıt sekanslama veya çip teknikleriyle metilasyon konumu ve miktarı anlaşılabilmektedir. DNA'nın bisülfıt ile işlenmesi, kimyasal olarak unmetile sitozinleri urasile çevirirken, metile olan sitozinler olduğu gibi kalırlar. Bu nedenle, bisülfıtleme işleminden sonra orijinal baz eşleşme hali ortadan kaybolur (Şekil 2) ve DNA sıklıkla AT içeriği bakımından zengin ve GC miktarı bakımından ise fakir olur. Bisülfıt modifikasyonundan sonra DNA karakteristik olarak A, U ve T açısından zengin ve tek iplikli hale bürünür. Bisülfıt dönüşümünden sonra, DNA'nın metilasyon durumu, metilasyon spesifik PCR yöntemi ile tespit edilebilir (15).



Şekil 2. Bisülfıt dönüşümü ve PZR'ı takiben DNA dizisinde ortaya çıkan değişiklikler (Me: metil)

1.3.AIRE

21q 22.3 kromozomunda lokalize AIRE (otoimmün regülatör gen) geni oto-reaktif T hücrelerin temizlenmesini ve self toleransın sürdürülmesini sağlayan önemli bir konuma sahiptir (16, 17). AIRE, otoreaktif T hücrelerinin negatif seçimindeki rolüyle T hücresi repertuarının şekillenmesinde önemli bir rol oynar. Ayrıca, AIRE mutasyonları, timustaki otoreaktif T hücrelerinin delesyonunu etkileyerek doğrudan

ve anti-interferon antikorlarını artırarak dolaylı olarak bağışıklık yanıtının diğer yönlerini etkileyebilir (18). AIRE geni, timusta T hücre tolerans indüksiyonunda çok önemli bir rol oynar. AIRE'nin keşfi ve timus üzerindeki etkileri, timusta antijen ekspresyonunda ve otoimmün hastalıkların gelişimindeki rolüne yeni bir ışık tutmuştur (19). Periferdeki AIRE ekspresyonu, T-hücre toleransının uyarılması için ek bir yol sağlar, ancak katkısını tam olarak değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. AIRE'nin etki mekanizmasının aydınlatılması, otoimmünitenin önlenmesine ve tedavi edilebilmesine yardımcı olabilir (20). AIRE, immün sistemin kendi bileşenlerine toleransını artırmak için kullandığı gizemli bir proteindir. Deneysel kanıtlar, AIRE'nin medüller, timik, epitel hücrelerinde belirli organ spesifik self-antijenlerin transkripsiyonunu artırdığını böylece organ spesifik timositlerin negatif seleksiyonuna neden olduğunu ileri sürmektedir. Ancak AIRE'nin etki mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir (21). AIRE gen mutasyonu otozomal resesif bir şekilde iletilir. Şimdiye kadar 50'den fazla mutasyon tanımlanmıştır. Bu mutasyonların çeşitli hastalıklara birlikteliği gösterilmiştir. AIRE gen mutasyonları sonucu; en yaygın olarak kronik kandidiyaz, otoimmün poliendokrinopati yanısıra hipoparatiroidizm, adrenal yetmezlik ve cilt distrofisi ile giden ve 'otoimmün poliendokrinopati – kandidiyazis - ektodermal distrofi (APECED) olarak adlandırılan bir klinik tablo tanımlanmıştır. Bu klinik ayrıca 'otoimmün poliendokrin sendromu tip I (APS-I veya APS1)' olarak da adlandırılır. AIRE gen mutasyonu sonucunda, otoreaktif TCR'leri eksprese eden T hücrelerinin apoptozu bozulur. Böylece otoreaktif T hücrelerin çoğalarak otoimmünitenin indüklenmesi sağlanır (22). Günümüzde araştırmacılar, periferik kanda timik seleksiyondan kaçan ilgili otoantijenlere karşı otoreaktif T hücrelerini tanımlayarak ve ortadan kaldırarak otoimmün hastalıkları önlemeye ve tedavi etmeye çalışmaktadır.

1.4.Interlökin-16

Interleukin-16 (IL-16) ilk olarak 1982 yılında T hücresi kemoatraktan faktörü olarak tanımlandı. Bu nedenle ilk önce lenfosit kemoatraktan faktör (LCF) olarak adlandırılmıştır. Proinflamatuvar etkileri anlaşıldıktan sonra, 1994 yılından itibaren, IL-16 olarak isimlendirilmeye başlanmıştır. IL-16 antijene yanıt olarak periferik mononükleer hücrelerden sentezlenip salınan sitokinlerin başında gelmektedir (23). IL-16, ilk olarak CD81 lenfositleri tarafından üretilen majör T hücresi kemoatraktan

faktörü olarak tanımlanmakla birlikte sonraki çalışmalarda immün (T lenfosit, eozinofil, mast hücreleri ve dendritik hücreler) ve non immün (fibroblast, epitelyal ve nöral hücreler) pek çok hücreden sentezlendiği gösterilmiştir (24). CD4-T lenfositlerin ligandı olarak sentezlenen IL-16 'nın T hücrelerinin aktivasyon ve proliferasyonlarını etkilediği gösterilmiştir (25). CD8 T hücreleri, mitojenler, antijenler veya histamin veya serotonin gibi vazoaaktif aminler tarafından stimülasyona yanıt olarak IL-16'yı salgılamaktadır (26). IL-16, periferik kandaki mononükleer hücrelerden TNF- α , interlökin-1 β ve interlökin-6 benzeri inflamasyonu indükleyen sitokinlerin ekspresyonunu stimüle eder. Ayrıca IL-16, insan monositlerinde interlökin-1 β , interlökin-6, interlökin-15 ve TNF- α benzeri inflamasyonu indükleyen sitokinlerin ekspresyonunu ve üretimini aktive eder (27). IL-16 nötrofillerde istirahat halinde sentezlenen ve sitozolde depolanan bir sitokindir. IL-16 doku nekrozu sürecinde nötrofillerden salınmaktadır. IL-16'nın salınması kaspaz 3 aktivasyonuna bağlı olduğu için proapoptotik uyaranlar ile salınımı artmaktadır (28). IL-16, CD 4+ T hücreleri üzerindeki IL-2 reseptörü ve HLA-DR nin ekspresyonunu arttırmaktadır (29). IL-16, bir enflamatuar veya anti-enflamatuar yanıtın parçası olarak işlev görebilen pleiotropik etkilere sahiptir(30). Artan IL-16 ekspresyonu, alerji, astım, crohn hastalığı, multipl skleroz, romatid artrit, sistemik lupus eritematozus dahil olmak üzere bir dizi immün aracılı bozuklukla ilişkisi bildirilmiştir (31, 32). Günümüzde Behçet Hastalığının, genetik olarak duyarlı bireylerde ekzojen faktörlerin tetiklediği otoenflamatuar bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Ailesel Behçet Hastalığı vakalarının gözlemlenmesi, genetik faktörlerin patogeneizde rol oynadığını kuvvetle düşündürmektedir (27). Bu bilgilerden yola çıkarak, otoimmünitenin primer basamağında görevli olan AIRE geninin promotör metilasyon durumunun analizi, otoimmün hastalıklardaki ve Behçet Hastalığındaki rolünün aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır. Ayrıca, önemli inflamatuvar süreçlerde yer alan IL-16'nın ekspresyonunu etkileyebilecek promotör metilasyon durumundaki değişikliklerin de Behçet hastalarında araştırılmasının, bu hastalıkların kompleks patolojisinin aydınlatılmasına katkı sağlayacağı düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tanım

Behçet hastalığı (BH) tekrarlayan oral aft ve genital ülserler, cilt lezyonları, artrit gibi bulgular ve oküler, kardiyovasküler, gastrointestinal, nörolojik, ürogenital sistem gibi çeşitli sistemlerin herhangi birinde tutulum yapabilme özelliğine sahip bir hastalıktır. Diğer vaskülitlerden farklı olarak hem arteriyel hem de venöz sistemdeki her çaptaki (küçük, orta ve büyük) damarı tutabilen etyolojisi tam olarak bilinmeyen atak ve remisyon dönemleriyle kendini gösteren sistemik bir vaskülitir.

2.2 Tarihçe

BH, ilk olarak 1937 senesinde Prof. Dr.Hulusi Behçet(Türk dermatolog ve bilim insanı) tarafından oral aft, genital ülser ve üveit birlikteliği şeklinde tanımlanmıştır. Ancak hastalığa ait klinik belirti ve bulguları olan vakalar günümüzden 2400 yıl kadar önce Hipokrat tarafından da tanımlanmıştır (1, 33). Prof. Dr. Hulusi Behçet, üç hastasında orogenital bölgede tekrarlayan ülser ve oküler bölgede hipopiyonlu iridosiklit gözledikten sonra bunu yeni bir hastalık olarak tanımladığı makalesi dönemin ünlü dergisi Dermatologische Wochenschrift’de yayımlandıktan sonra Fransa’nın Paris kentinde düzenlenen bir toplantıda tıp camiasının dikkatine sunmuştur. BH’ı ile uyumlu bulgular 1908’de Blüthe, 1923’te Planner ve Remenovsky aracılığıyla tıp camiasına deklare edilmiştir. Shigita, Adamantiades ve Whitwell aracılığıyla 1920 li yıllar ve 1930 lu yılların ilk yarısı boyunca oral aft, genital ülser, iridosiklit birlikteliğine yüzeysel ven trombozu ve eklemlerde sıvı birikiminin de eklenebileceği fikri ortaya atılmıştır ancak semptom ve bulguları hastalık adı altında toplayan ilk kişi Prof. Dr. Hulusi Behçet olmuştur (34). 1941 yılında Jensen, Behçet sendromu söylemini geliştirmiştir. Bununla beraber paterji testinin tanı kriteri olarak kullanılabileceğini beyan etmiştir (35).Hastalık takip eden yıllarda Behçet sendromu, Behçet trisemptomu olarak tarif edilse de hali hazırda Behçet Hastalığı ismi kullanılmaktadır (36).

2.3 Epidemiyoloji

BH ile alakalı çok fazla epidemiyolojik çalışma yoktur. Elde edilen veriler eski ipek yolu boyunca Doğu Asya'dan Akdeniz'e uzanan coğrafyada daha yaygın olduğu yönündedir. Türkiye'de (100.000'de 80 ila 370 vaka) diğer ülkelere göre daha sık görülmektedir Hastalığın prevalansı Japonya, Kore, Çin, İran, Irak ve Suudi

Arabistan'da 100.000'de 13,5 ila 35 arasında değişmektedir (2). BH Doğu Akdeniz bölgesinde erkeklerde, Avrupa'nın kuzeyinde kadınlarda yaygındır. Tipik olarak 20 ila 40 yaşları arasındaki genç yetişkinleri etkiler, ancak nadiren çocuklarda da görülür (37). Behçet hastası çocuklara ilişkin kısıtlı veri olmasına rağmen klinik prezentasyon genellikle yetişkinlerle benzerlik göstermektedir. BH vakalarının çoğu sporadiktir, ancak ailesel kümelenme olarak bilinen birden fazla etkilenen üyeye sahip aileler bildirilmiştir ve birinci derece akrabalarda BH'ı olması hastalık riskini artırır (38).

2.4 Etiyoloji

BH'nın altında yatan neden halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Diğer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi, BH'nın da hastalığa yatkınlığı olan (genetik, çevresel..) bireylerde enfeksiyöz bir etkene maruziyet sonrası tetiklenen olağandışı immun yanıt sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir (39).

2.4.1 Genetik Faktörler

BH'nın oluşumunda sorumlu genetik faktörlerin yalnızca tek gen ile ilişkili değil, çok sayıda genin katkısı ile (poligenik) BH için uygun genetik zemin oluşmaktadır. Bunun dışında epigenetik faktörlerin de hastalık gelişimine büyük katkı sağladığı düşünülmektedir.

2.4.1.1 HLA Genleri

İnsan lökosit antijenlerinin (HLA) varlığında BH gelişme riskinin arttığı gözlenmiştir (40). 4800 vaka ve 16.289 kontrolden oluşan bir meta-analiz HLA-B51/B5 geni taşıyanlarda BH sayısında önemli bir artış olduğunu göstermiştir (41). Ancak, HLA katkısının %20'den az olduğu tahmin edilmektedir (42). HLA-B51 ile bağlantılı olarak, tümör nekroz faktörü (TNF) promotör polimorfizmi, majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf I zincirle ilişkili gen A (MICA), MHC Sınıf I ile ilgili gende bulunan GCT'nin üçlü tekrarı, endoplazmik retikulum aminopeptidaz 1'in (ERAP1) düşük aktiviteli bir varyantı olan HAP10'dan oluşan birkaç olası mekanizma suçlanmıştır (43-48).

2.4.1.2 HLA Dışı Genler

HLA dışı genler de hastalığa yatkınlığın belirlenmesinde rol oynar. Birden fazla etkilenmiş birey bulunan ailelerin genom taranması HLA dışında da farklı genetik

yatkınlar olabileceğini göstermiştir (49). Nötrofillerin yüzeyinde ifade edilen pyrin proteinini kodlayan ailesel Akdeniz ateşi (MEFV), NO (nitrik oksit) , TNF (tümör nekroz faktör), CD28 , CTLA4 (sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen) , VEGF (vasküler endotelial growht faktör), sitokrom P450, TH1 (yardımcı T hücre), interlökin-18, ICAM (hücreler arası adezyon molekülü) 1, TLR (tall benzeri reseptör) 4, MHC (major doku uyuşum kompleksi), interlökin-10 ve interlökin23R-interlökin-12RB2, Interlökin12A-AS1, STAT4 ve ERAP(endoplazmik retikulum aminopeptidaz)1, IFNGR (interferon gama reseptör)1, LNCAROD/DKK1, interlökin-10RA, VAMP1 (vezikül ilişkili membran proteini) gibi çok sayıda molekülü içiren çalışmalar yapılmış olup bu çalışmalardan çıkan sonuç BH'da genetik polimorfizmi destekler niteliktedir (49-61).

2.4.1.3 Epigenetik Değişiklikler

Epigenetik değişiklik, gen dizilerinin kendisindeki değişikliklerden değil, genlerin hücre tarafından ifadesi veya kullanılma biçimindeki değişiklikler nedeniyle meydana gelen fenotipik hücresel değişiklikleri tanımlamaktadır. BH'da immun hücrelerde DNA metilasyonu ile oluşan değişiklikler tanımlanmış ve hastalık etyolojisinde epigenetik faktörlerin önemli bir rolü olabileceği düşünülmüştür (62).

2.4.2 Enfeksiyöz Etkenler

BH'da mikrobiyotada değişiklikler olduğu bildirilmiştir. Bakteriyel etkenler içinde en fazla suçlanan ajanlar streptokoklardır. Streptokokal antijenlere yönelik deri testi sıklıkla aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olur ve bu durum bazen BH'nın sistemik alevlenmeleri ile sonuçlanabilir (63, 64). Suçlanan bir diğer bakteriyel etken *Helicobacter pylori* dir. *Helicobacter pylori* eradikasyonu ile Behçet hastalığının aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. 6 çalışmanın meta-analizi sonucunda, Behçet hastalarında 1,39 kat daha fazla *H. pylori* oranı gözlemlendiği ve tedavi edilen hastalarda mukokutanöz lezyonlarda iyileşme olduğu gözlemlenmiştir (65, 66). Viral etiyolojide ise Herpes simpleks virüsü (HSV), Parvovirüs B19 en çok suçlanan virüsler arasındadır (67, 68). Kesin kanıtlar olmamakla birlikte Herpes Simplex Virüs (HSV), Human Herpes Virüs (HHV)-6, Sitomegalovirüs (CMV), Varisella Zoster Virüs (VZV), hepatit virüslerinin de BH etiyolojisinde rolünün olduğu düşünülmektedir(68) (69).

2.4.3 Endotel Aktivasyonu ve Tromboz

BH'nın en karakteristik patolojik bulgusu endotel disfonksiyonudur (70). Etkilenen kan damarlarındaki endotelial aktivasyon, BH'da vasküler inflamasyonun yanı sıra trombozun da bir aracısıdır (71). BH'da endotel disfonksiyonuna aracılık eden etkenlerin en başında Nitrik Oksit (NO) molekülü gelmektedir. Nitrik oksit (NO), enflamatuar aktivite ve endotel fonksiyonu ile ilişkili oldukça reaktif bir moleküldür (72). Bunun yanında yapılan çalışmalarda, BH ile yüksek homosistein seviyeleri arasında da bir ilişki olduğunu göstermiştir. Hiperhomosisteineminin, BH için kazanılmış ve potansiyel olarak geri döndürülebilir bir risk faktörü ve hastalık aktivitesinin klinik bir belirteci olabileceği belirtilmektedir. Ayrıca BH trombozunda hiperhomosisteineminin önemli bir rolü aldığı düşünülmektedir (68, 72, 73). Behçet hastalarında yapılan çalışmalarda vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) seviyelerinin yüksek olduğu ve artan VEGF seviyelerin hastalık aktivitesi ile doğru orantılı olduğu görülmüştür (53, 74). Bununla beraber artmış faktör VIII, faktör XI, von Willebrand faktör antijeni, ristosetin, antitrombin III, fibrinojen ve trombosit seviyelerinin yanında, azalmış eritrosit deformabilitesinin de BH trombozuna meyil oluşturduğu görülmüştür. Fakat mevcut kanıtların çoğu, BH trombozu patogenezinin sorumlu en önemli faktörlerin endotelial inflamasyon sonucu oluşan vasküler hasardan veya intrinsik endotelial disfonksiyondan kaynaklandığını göstermektedir (75-79).

2.5 Klinik Bulgular

BH'da mükerrer ve sıklıkla ağrının eşlik ettiği mukokutanöz ülser lezyonların varlığı ortak klinik özellik olarak karşımıza çıkmaktadır ancak mortalite ve morbiditenin temelini oküler sistemin, arterlerin, venlerin ve merkezi sinir sisteminin tutulumu oluşturur. Ayrıca deri ve eklem tutulumları da sık görülmektedir. Renal ve periferik sinir sistemi tutulumu ise diğer vaskülitlerle kıyaslandığında daha nadirdir(80).

2.5.1 Oral Ülserler

Oral ülserler BH'nın en sık karşılaşılan bulgusudur. Histolojik olarak yaygın oral ülserlere ve tekrarlayan aftöz stomatitlere benzeyen, ancak daha yaygın olma eğiliminde olan mükerrer oral aftöz ülserasyonlar şeklindedir. BH oral ülserleri, boyutları birkaç milimetre ile 20 mm arasında değişkenlik gösteren, dairesel yapıda,

sınırları belirgin ve eritemli, beyaz-sarı nekroze tabanlı ve ağırlı lezyonlar şeklindedir. Oral ülserlerin boyutu, şekli ve dağılımı kişiden kişiye ve hatta aynı kişide ataktan atağa farklılık gösterebilir. Şiddetli vakalarda oral alımı sınırlayabilen oral ülserler, karakteristik olarak bir ila üç hafta içinde kendiliğinden iyileşir (81, 82). Oral ülserler sigara içen BH'da daha az görülmektedirler (83).

2.5.2 Genital Ülserler

BH için en özgün lezyon genital ülserasyondur (84). Genital ülserler karakter olarak oral aftlara benzer bunla birlikte oral aftlardan farklı olarak skar dokusu ile iyileşme gösterebilirler. Genital ülserasyonlar erkeklerde skrotumda ve azalan sıklıkta peniste, kadınlarda ise vulvada yerleşir. Oral ülserlere nazaran daha az sıklıktadırlar. Oral aftın aksine genital lezyonlarda skar oluşumu sıktır. Ülserlere sekonder skrotal skar oluşumu Behçet hastalığı dışında çok nadirdir. Genitoüriner inflamatuvar hadiseler sıklıkla erkeklerde; varikosel, epididimit kadınlarda; salpenjit olarak karşımıza çıkar (85, 86). BH'da genital ülser hastaların % 75' inde veya daha fazlasında görülür (87). Ancak bu oranın %93'lere kadar çıkabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (88).

2.5.3 Deri Lezyonları

BH'nın önemli bir kısmında deri lezyonları görülmektedir. Cilt belirtileri değişkenlik gösterir. Sıklıkla akne benzeri lezyonlar, psödofollikülit, eritema nodosum, flebit, eritema multiforme, döküntü (papülo-vezikülo-püstüler) ve palpabl purpura olarak örneklendirilebilir. Eritema nodozum lezyonlarından alınan biyopsilerin %50'sinde orta damar vaskülit ve septal pannikülit patolojisinin olduğu görülmüştür (89). Akneiform benzeri lezyonlar sıklıkla eklem tutulumları ile beraberlik göstermektedir (90, 91). BH'a özgü yapılan lokal deri reaksiyonu paterji testi olarak adlandırılmaktadır. Paterji testi standart 20 gauge boyutunda steril künt uçlu iğne ile deride bir delik oluşturulduktan 48 saat sonrasında meydana gelen papülo-püstüler lezyon olarak tanımlanır (92). BH'da Paterji testi pozitifliği Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa hastalarında %10 ila 20 gibi düşük oranlarda görülürken, BH'nın endemik olduğu bölgelerden pozitiflik oranı %50 ila 75'e kadar çıkmaktadır (93).

2.5.4 Oküler Hastalık

BH'nın oküler tutulum sıklığı incelenen popülasyona bağlı değişkenlik göstermekle birlikte % 25 ila 75 oranında görülmektedir. Erkek popülasyonda oküler tutulum kadınlara göre daha yüksek orandadır. Oküler tutulum genellikle bilateral, epizodik ve çoğunlukla panüveit şeklindedir. İzole ön üveit tutulumu ise nadirdir. BH'nın en karakteristik oküler tutulumu ön kamarada pürülan içerik birikimi ile giden hipopiyonlu irittir. Arka üveit, optik nörit, retinal vaskülit, damar tıkanıklığı sistemik immünoşupresif tedavi gerektiren aksi halde total görme kaybı ile sonuçlanabilen BH'nın en korkulan göz tutulumlarıdır (126). Behçet üveiti olan 880 Türk hasta ile yapılan retrospektif bir çalışmada hastaların %68'inin erkek ve başlangıç yaşının erkeklerde 28,5, kadınlarda 30 olduğu görülmüştür. Ayrıca oküler tutulumun % 78,1 oranında bilateral ve sıklıkla panüveit şeklinde olduğu saptanmıştır. Bir dekatlık süreçte görme kaybının erkeklerde % 30, kadınlarda %17 oranında olduğu görülmüştür (94).

2.5.6 Nörolojik Tutulum

Nörolojik tutulum, Behçet hastalarının % 10'undan azında görülür (95). Santral ve periferik sinir sistemi tutulumu olabilir. Beyin sapı, omurilik, sağ ve sol hemisfer tutulumları daha sık görülür. Spinal sinir kökleri, periferik sinir ve kas tutulumu daha nadirdir (96). Hastalığın başlamasından yaklaşık 5 sene sonra ortaya çıktığı belirtilmektedir (97). Erkek cinsiyette daha sık görülür. Kötü prognoz göstergesidir. En sık görülen semptom baş ağrısıdır. Baş ağrısı, nörolojik tutulumu olan hastaların %80'inde görülmektedir (98).

2.5.7 Vasküler Tutulum

BH'nın kliniğe yansıyan özelliklerinin çoğunun vaskülitte bağlı olduğu düşünülmektedir. BH hem arteriyel hem venöz sistemde her boyuttaki (küçük, orta ve büyük) kan damarlarını tutabilme özelliği ile eşsizdir. Bu geniş çaplı vasküler tutulum şekli, BH'nın vasküler tutulumun en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biri olmasına neden olur. BH'da arter tutulumu anevrizma şeklinde görülürken ven tutulumu daha çok tromboz ile seyretmektedir. Örneğin BH'da görülen pulmoner arter anevrizması yaklaşık % 25 gibi yüksek bir mortalite oranı taşımaktadır (99). 2319 Türk Behçet hastası üzerinde yapılan bir araştırmada, hastaların % 14,3'ünde vasküler

tutulum görülürken, vasküler tutulum yüzde 50 civarında yüzeysel ven trombozu şeklinde prezente olmaktadır. Derin ven trombozu yüzde 30 civarı, arteriyel tutulumun ise yüzde 3 civarı hastada olduğu görülmüştür (100).

2.5.8 Eklem Tutulumu

BH'da eklem tutulumu eklemden inflamasyon ve ağrı olarak kendini gösterir. Aktivasyon dönemindeki BH'nın yaklaşık %50 sinde, non-eroziv, asimetrik ve özellikle orta ve büyük eklemlerin monoartriküler tutulumu (en sık diz, ayak bileği...) görülebilmektedir. BH artritinden alınan eklem sıvısı ve biyopsi örneklerinde inflamasyon belirgindir (101). Artrit ataklar ve remisyonlar halinde gerçekleşir. Atak süresi birkaç haftadan birkaç aya kadar uzayabilir, ancak genellikle non-steroidal antiinflamatuar ilaçlara (NSAID) iyi yanıt verirler. Genellikle eklem harabiyeti ve deformitelerine ilerlemezler (102).

2.5.9 Renal Tutulum

BH'nın renal sistem üzerinde tutulum boyutundaki etkileri diğer vaskülitik hadiselerden nazaran sıklık ve şiddet bakımından daha azdır. BH renal tutulumu proteinüri, hematüri veya hafif böbrek yetmezliği ile prezente olur. Ciddi böbrek tutulumu BH'da nadirdir (103) .

2.5.10 Kardiyak Tutulum

BH'da semptomatik kardiyak tutulum nadirdir. BH'da perikardit, miyokardit, miyokard enfarktüsünün eşlik ettiği ya da etmediği koroner arterit görülebilmektedir. Ayrıca nadir olarak mitral kapak prolapsusu, atriyal septal anevrizma, arteriyel anevrizma, ileti defektleri, ventriküler aritmiler, endokart iltihabı, intrakardiyak tromboz ve aort yetersizliği de dahil kapak yetmezliği BH'da oluşabilecek kardiyak anormalliklerdir (104, 105).

2.5.11 Gastrointestinal Tutulum

BH'nın gastrointestinal prezentasyonu Entero-Behçet şeklinde de isimlendirilmektedir. Gastrointestinal sistem tutulumunun belirtileri karın ağrısı, diyare, kilo kaybı ve kanamadır. BH'nın gastrointestinal tutulumunu inflamatuvar barsak hastalığından ayırt etmek zordur çünkü iki tutulumun da klinik belirti ve semptomları örtüşebilir. İnflamatuvar barsak hastalıkları gibi BH'da da gastrointestinal ülserasyonlar ve barsak

perforasyonu oluşabilmektedir. En sık terminal ileum (özellikle ilioçekal bölge), çekum ve assendan kolonda tutulumu görülmektedir (106, 107). Özellikle ileoçekal bölgede görülen volkan şeklinde ülserlerden alınan biyopsilerde, kronik ve non-spesifik inflamasyon görülmektedir (108).

2.5.12 Behçet ve Malignite

Behçet hastalarında malignite sıklığının artabileceğine dair veriler mevcuttur. Güven ve ark. 451 yetişkin Behçet hastasının dahil olduğu bir çalışmada medyan 124 aylık takipte 11 kanser vakası gözlemlenmiş, ilgili yaş ve cinsiyet grubunda beklenen sayılarla karşılaştırıldığında kanser riskinde bir artışla ilişkilendirmiştir (109). Sae Jung Na ve ark. Behçet hastalarını sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında; Behçet hastalarının malignite açısından daha yüksek bir riske sahip olduğu sonucuna ulaşmıştır. Ağız boşluğu, farinks, tiroid, prostat, lösemi, lenfoma çalışmadaki Behçet hastalarında başlıca gözlenen malignitelerdir (110).

2.6 Tanı

BH kendine özgü sistemik belirtilere eşlik eden mükerrer aftöz ülserler eklenince güçlüce akla gelir. BH açısından şüphe uyandırması gereken sistemik belirtiler arasında oküler hastalık (özellikle hipopiyon, panüveit veya retinal vaskülit), merkezi sinir sistemi parankimal bulguları dahil nörolojik hastalık, vasküler hastalık (özellikle pulmoner arter anevrizmaları, serebral, hepatik ven ve inferiyor vena cava trombozu...) ve paterji pozitifliği bulunmaktadır. Genital ülserasyonlar, BH'nın tespiti için daha spesifik ve daha az sensitiftir (111). BH'da patognomonik bir laboratuvar testi yoktur. Hastalığın aktif dönemlerinde ESH ve CRP gibi inflamasyonun belirteçleri, ferritin, beyaz kan hücreleri, trombositler, monosit-lenfosit oranı, nötrofiller ile trombositlerin lenfositlere bölünmesiyle hesaplanan sistemik immün-enflamasyon indeksi (SII) yüksek bulunabilir (112). Sonuç olarak klinik bulgular temelinde teşhis konur. Diğer sistemik hastalıkların yokluğunda, tekrarlayan oral afta (yılda en az üç kez) tekrarlayan genital ülser (ülserasyon veya yara izi), oküler lezyon, cilt lezyonu, paterji testi pozitifliği klinik özelliklerden ikisinin eşlik etmesi halinde Behçet hastalığı teşhisi konur. 1990 senesinde Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu (ISG), yedi ülkedeki on iki araştırma grubundaki 914 tane hastanın klinik ve laboratuvar verilerini inceleyerek Behçet Hastalığı tanı kriterlerini

belirlemiştir (87). ISG kriterleri, daha önce tanımlanmış olan ölçütler ile karşılaştırıldığında % 92 duyarlılık ve % 97 özgüllük oranıyla Behçet hastalığı teşhisinde güven veren bir ölçek olmuştur (113). ISG kriterlerine göre, oral aft ile beraber iki bulgunun daha olması ile tanı koyulabilir. Bahsi geçen bulgular Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. ISG Tanı Kriterleri

Oral Ülser	Yılda 3 veya daha fazla sayıda tekrarlayan minör, majör ve herpetiform aftlar
Oral ülserle ilaveten aşağıdaki 4 bulgudan 2’sinin olması;	
Genital Ülser	Aftöz ülserasyonların ya da skarların oluşması(Gözlem hasta ya da hekim kaynaklı olabilir)
Oküler Lezyonlar	Anterior üveit, posterior üveit, biyomikroskop muayenesinde vitreal hücre ya da oftalmologca saptanmış retinal vaskülit
Deri Lezyonları	Eritema nodosum, psödofollikülit, papülopüstüller, akneiform lezyonlar ve yüzeysel tromboflebit
Paterji Testi	24-48 saat içerisinde hekim tarafından gözlenen püstül

BH için Uluslararası Kriterler 2014 senesinde tekrar gözden geçirilmiştir. Güncellenen kriterlerde oral, genital, oküler tutulum bulguları ikişer; cilt lezyonları, vasküler tutulum bulguları ve sinir sistemi tutulum bulguları birer puan olarak belirlenmiştir. Toplamda dört veya daha yüksek puan, Behçet hastalığı tanısı koydurur (114). Bahsi geçen kriterler Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Uluslararası Behçet Hastalığı Kriterleri (ICBD)

Klinik Bulgu	Puan
Oral Ülser	2
Genital Ülser	2
Göz Tutulumu	2
Cilt Lezyonları	1
Vasküler Tutulum	1
Nörolojik Tutulum	1
Pozitif Paterji Testi	1

2.7 Tedavi

Behçet hastalığında tedavinin hedefi; tekrarlayan atakları ve geri döndürülemez organ hasarını önlemektir. Bu amaçla, inflamatuvar alevlenmeler hemen baskılanmalıdır. Hedefe optimal ulaşım için koordineli multidisipliner bir çalışma gereklidir. Behçet

hastalığının klinik heterojenliği göz önünde bulundurulduğunda, terapötik yaklaşım oldukça değişkendir ve baskın hastalık tezahürüne göre tedavi planı şekillenir.

2.7.1 Oral Aft ve Genital Ülserler

Orogenital ülserlerin tedavisine belirtilerin şiddeti ve diğer sistemlerdeki tutulum varlığı rehberliğinde karar verilir.

2.7.1.1 Topikal Steroidler

İzole oral ve genital ülser varlığında triamsinolon asetonid krem gibi topikal kortikosteroidler başlangıç tedavisi olarak düşünülebilirken genital ülserler için güçlü topikal kortikosteroidler akla gelmelidir. Bunlara ek olarak topikal sukralfat, topikal kortikosteroidlerin kombinasyonu bunlara alternatif olarak kullanılması düşünülebilir (115). Pimekrilimusun, 90 Behçet hastanın katıldığı randomize bir çalışmada genital ülserlerin iyileşme süresini kısalttığı gözlenmiştir (116). Plasebo ve kolşisinin karşılaştırıldığı 169 hasta içeren randomize kontrollü bir çalışmada, kolşisin kolunda genel hastalık aktivitesinde azalma ve ayrıca oral aft, genital ülser, psödo folikülit ve eritema nodozumda iyileşme gözlenmiştir (117). Orogenital ülserasyon ataklarının önlenmesi için, oral glukokortikoidler, kolşisin ve apremilast kullanılabilir. Randomize kontrollü çalışmalardan ulaşılan sonuçlar bir fosfodiesteraz inhibitörü olan apremilastın oral ülserlerin tedavisinde faydalı olduğunu göstermiştir (118, 119). BH ile ilgili klinik tecrübeler, sistemik glukokortikoid tedavisinin, topikal tedaviye yanıt vermeyen orogenital lezyonlar için etkili olduğunu göstermektedir (120). Dirençli orogenital ülserlerin tedavisinde bir sonraki basamağa geçiş aşağıda anlatıldığı gibi vaka bazında belirlenmelidir.

2.7.1.2 Azatiyoprin

Azatiyoprinin orogenital ülserasyonda faydalı olduğu bilinmektedir. Randomize kontrollü bir çalışmada, BH tanılı 73 hasta azatiyopürine karşılık plasebo ile tedavi edilmiş ve iki yıl sonunda azatiyoprin alan hastaların oral ve genital ülserleri daha az görüldüğü sonucu elde edilmiştir (121).

2.7.1.3 TNF-alfa İnhibitörleri

Tümör nekroz faktörü (TNF)-alfa inhibitörleri randomize çalışmalarda mukokutanöz lezyonlara faydalı olduğu gösterilmiştir (122).

2.7.1.4 Siklosporin

Genellikle oküler tutulumda kullanılmasına rağmen siklosporinin mukokutanöz hastalıklar için etkinliğini destekleyen bazı kanıtlar vardır. Mukokutanöz belirtileri olan 96 hastayla yapılan randomize bir çalışmada, siklosporin diğer deri lezyonlarının yanı sıra oral ve genital ülserlerin tedavisinde kolşisinden üstün olduğu sonucuna ulaşılmıştır (123).

2.7.1.5 İnterferon Alfa

İnterferon alfa tedavisinin 50 hasta içeren randomize bir çalışmada orogenital lezyonların ağrısını, sıklığını ve şiddetini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (124).

2.7.2 Kutanöz Lezyonlar

BH deri lezyonları genellikle kolşisin ve düşük-orta doz glukokortikoidlere iyi cevap verirler.

2.7.3 Artrit

BH'da görülen non-eroziv artrit tedavisinde kolşisin ve nonsteroidal antiinflatuvar ilaçlar (NSAID'ler) kullanılmaktadır. BH ilişkili artrit tedavisinde kolşisinin etkinliği, Behçet Hastalıklı 116 hastada kolşisine karşılık plasebonun kullanıldığı bir çalışmada, kolşisin tedavisi ile iki yıllık takipten sonra artrit eklem sayısında azalma olduğu sonucuna ulaşılmıştır (125). Eklem inflamasyonu kolşisin ile remisyona sokulamayan Behçet hastalarında sistemik glukokortikoidler eklenebilir. Dirençli eklem inflamasyonu için kolşisine alternatif olarak azatiyoprin, tümör nekroz faktör alfa inhibitörleri ile tedavi seçeneği düşünülmelidir. BH tanılı 73 hasta içeren bir çalışmada, hastalar azatiyoprin ve plasebo kollarına randomize edilmiş ve iki yıllık takip sonunda azatiyoprin alan hastalarda artrit epizodlarının daha az olduğu saptanmıştır. Artrit tedavisi için TNF-alfa inhibitörlerinin etkinliği; şiddetli ve/veya diğer tedavilere dirençli hastalığı nedeniyle TNF-alfa inhibitör tedavisi alan 124 hastayı içeren çok merkezli bir çalışmada gösterilmiştir (121) (122). Kolşisine veya diğer DMARD'lara dirençli artrit olan 50 hasta üzerinde yapılan gözlemsel bir çalışmada, altı aylık apremilast tedavisi ile eklem semptomlarında, %65 oranında tam yanıt ve %17 oranda kısmi yanıt bildirmiştir (126).

2.7.4 Oküler Hastalık

2.7.4.1 Ön Üveit

BH'da ön üveit sıklıkla bölgesel kortikosteroidler ve skopolamin ya da siklopentolat ile tedavi edilir. Ön üveiti bölgesel kortikosteroidlerle remisyon sağlanamayan hastalarda sistemik glukokortikoidler verilebilir.

2.7.4.2 Arka Üveit

Arka üveit, kontrol altına alınmazsa görme kaybı riski oluşturduğundan sıkı immünsüpresif tedavi gerektirir. Sistemik glukokortikoidlerin yüksek dozda verilmesi ve diğer immünosüpresif ajanlarla kombinasyonu gereklidir. Bu ek immünosüpresif ajanlardan herhangi birinin diğerlerine göre kullanımını destekleyen veriler sınırlıdır. Azatioprin ve /veya monoklonal TNF-alfa antagonistleri, IFN-alfa, siklosporin klinik pratikte en çok kullanılan ajanlardır. Sınırlı mevcut verilere, yan etki profiline ve BH'da kullanımına ilişkin deneyime dayanarak, arka üveit vakalarının çoğunda başlangıç tedavisi için azatiyoprini glukokortikoidlerle birlikte kullanımı tercih edilir. (121, 127). Başlangıç tedavisine yeterli yanıt vermeyen veya başvuru anında ciddi göz hastalığı olan hastalarda, oral DMARD'a ek olarak en yaygın olarak infliksimab veya adalimumab olmak üzere bir monoklonal TNF-alfa inhibitörü kullanılır (128, 129). Siklosporin kullanıldığı aktif üveiti olan 23 hastadan oluşan randomize kontrollü bir çalışmada görme keskinliğinde belirgin iyileşme görülmüştür (130). Glukokortikoidler, siklosporin ve azatioprin kombinasyonuna yanıt vermeyen oküler hastalığı olan hastalar tek başına interferon alfa-2a tedavisine yanıt verebilir (131, 132). Arka üveitin tedavisinde metotreksat ve prednizolon kombinasyonu 682 hastada değerlendirildi. 15 yıllık takibin sonucunda hastalarda belirgin iyileşme gözlemlendi (133).

2.7.5 Gastrointestinal Hastalık

BH'da belirgin bir gastrointestinal tutulum ortaya çıktığında uzun süreli glukokortikoid tedavisinden kaçınmak için ek bir ajan kullanımı gerekmektedir (108). BH'nın gastrointestinal tutulumunda glukokortikoidlerle birlikte azatioprin verilen 37 hastanın dahil olduğu bir çalışmada medyan 69 aylık takipte yüzde 65 gibi bir oranla hastalığın gastrointestinal tutulumu kontrol altına alındı(134). Glukokortikoid ve azatioprin kombinasyonunda hastalığın kontrol altına alamadığı durumlarda TNF-alfa inhibitörleri kullanılır (108, 134-136). Sülfasalazin ve diğer aminosalisilat ajanları

sıklıkla inflamatuvar barsak hastalığının tedavisinde kullanıldığı gibi gastrointestinal hastalığı tedavi etmek için de kullanılır (137). Diğer alternatif seçenekler ise mikofenolat mofetil ve metotreksattır. Klinik olarak endike olduğunda total parenteral beslenme, enteral beslenme ve cerrahi kullanılabilir (135).

2.7.6 Büyük Arter Hastalığı

BH'da arteriyel tutulum görülebilmektedir. BH her çapta arterlerin dilatasyonlarına ve anevrizmalarına yol açabilir (99, 138). Bahsedilen arter tutulumları kombine medikal ve cerrahi ya da girişimsel radyoloji tedavilerini gerektirebilir. Büyük arter tutulumlarında çoğunlukla yüksek doz glukokortikoid ve siklofosamid tercih edilir. Birkaç küçük çalışma infliksimab, adalimumab ve tosilizumab dahil olmak üzere TNF-alfa inhibitörleri ile iyileşme bildirmektedir(139). Cerrahi ve/veya girişimsel radyoloji işlemleri endike olduğunda, bu girişimlerin BH remisyonda iken yapılması idealdir. Ancak genişleyen veya yırtılan anevrizmalarda veya organı tehdit eden iskemilerde acilen müdahale etmek gerekir.

2.7.7 Venöz Tromboz

BH'daki venöz hastalığın, tromboza yol açan endotel inflamasyonundan kaynaklandığına inanılmaktadır (99). BH'da venöz trombotik olayları önleme yaklaşımı, antikoagülasyon uygulamasından çok sistemik inflamasyonun kontrolüdür. Tedavi, posterior üveitte olduğu gibi kullanılan başka bir immünoşüpresif ajanla kombinasyon halinde glukokortikoidleri içermelidir. Venöz trombozlu 296 hasta içeren retrospektif bir çalışmada, immünoşüpresan ve glukokortikoid tedavilerinin nüks oranlarını azalttığı belirlenmiştir (140).

2.7.8 Nörolojik Hastalık

Önemli bir parankimal tutulumu olan hastalarda tedavi seçimi BH'nın ciddiyetine, steroid tedavisine yanıtına, prezente olan nörolojik hastalığa ve bu hastalığın seyrine bağlıdır (141). Azatiyoprin, mikofenolat, metotreksat ve siklofosamid gibi tedaviler birinci basamakta yaygın olarak kullanılır. Bölgesel parankimal lezyonlar, akut beyin enflamasyonları ve orta çaptaki damarların vaskülit potansiyel olarak ölümcül olabilen hastalık belirtileridir. Yüksek doz steroid tedavisine ek bir immünoşüpresif ajanla tedavi edilmelidirler. Buna rağmen remisyon sağlanamazsa infliksimab gibi bir TNF-alfa inhibitörü de kullanılabilir (142). Dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta

siklosporin ile tedavi edilen hastalarda diğer tedavilere nazaran daha sık nörolojik tutulum ve atak gözlenmiş olmasıdır. Bu nedenle siklosporinle tedavi önerilmemektedir (141, 143).

2.8 AIRE Gen Mutasyonu

Otoimmün regülatör gen (AIRE) 21q 22.3 kromozomunda lokalizedir. İran Yahudilerinde 1:9000, Sardinyalılarda 1:14,500 ve Finlerde 1:25,000 sıklıkta saptanır. AIRE, medüller timik epitel hücrelerinden (mTEC'ler) eksprese edilen ve bağışıklık sistemimizde önemli bir rol üstlenen transkripsiyonel regülatördür. AIRE oto-reaktif T hücrelerin temizlenmesinde önemli bir rol üstlenerek self toleransın sürdürülmesini sağlamaktadır (16) (17). Yapılan çalışmalar AIRE'nin ayrıca periferik lenfoidlerde de ifade edildiğini göstermektedir (144). Fakat AIRE'nin periferik immun toleranstaki rolleri ve önemi henüz net değildir (145). AIRE gen mutasyonu otozomal resesif bir şekilde kalıtılır. Şimdiye kadar 50'den fazla mutasyon saptanmış ve çeşitli hastalıklarla birlikteliği gösterilmiştir. Hastalar kronik kandidiyaz, otoimmün poliendokrinopati, hipoparatiroidizm, adrenal yetmezlik ve cilt distrofisinden muzdariptir. Bu nedenle bu hastalığa verilen isim: otoimmün poliendokrinopati – kandidiyazis - ektodermal distrofi (APECED) olmuştur. Bu durum ayrıca otoimmün poliendokrin sendromu tip I (APS-I veya APS1) olarak da adlandırılır. AIRE gen mutasyonunun patogeneğinde lenfosit olgunlaşması sırasında antijene özgü reseptör genlerinin rastgele yeniden düzenlenmesi bulunur (146-148). AIRE transkriptleri, monosit/dendritik hücreler ve radyosensitif lenf düğümü stromal hücreleri dahil olmak üzere sekonder lenfoid organlarda da saptanmıştır. Anormal AIRE, bozulmuş klonal silme ile sonuçlanır, böylece T hücrelerinin otoimmüniteyi indüklemesine izin verir(22, 149). AIRE transkriptleri, monosit/dendritik hücreler ve radyosensitif lenf düğümü stromal hücreleri dahil olmak üzere sekonder lenfoid organlarda da saptanmıştır (150, 151). Bu durum AIRE'nin self toleransı idame ettirmede tamamlayıcı roller oynadığını düşündürmektedir. AIRE genindeki patojenik varyantlar çoklu organ otoimmünitesine yol açar (152) ve endokrin sistem en sık tutulan bölgelerin başında gelir. İnflamasyonun şiddeti ve hangi organlar/sistemin hedefleneceği genetik geçmişe (insan lökosit antijeni [HLA]-DR) göre değişir. Örneğin; HLA-DRB1*15-DQB1*0602, tip 1 diabetes mellitusa karşı koruyucu görünürken (153, 154), HLA-DRB1*04-DQB1*0302 alopesi ile ve HLA-DRB1*DQ1*0602 ise adrenal yetmezlik

ile ilişkilidir (155). Anti-CD20 antikoru ile B hücrelerinin silinmesi, AIRE eksikliği olan farelerde otoimmüitenin iyileşmesiyle sonuçlanmıştır, bu da B hücreleri ve otoantikörler tarafından antijen sunumunun CMCC(kronik mukokutanöz kandidiyazis) nin patogenezinde önemli olduğunu düşündürmektedir (156). AIRE eksikliği ile ilişkili akciğer hastalığı (157) ve tip 1 diabetes mellitus (158) hastaları rituksimab ile başarılı bir şekilde tedavi edilirken, otoimmün tubulointerstisyel nefritte uygulanan rituksimab tedavisine cevap çelişkili sonuçlar vermiştir (159, 160). AIRE eksikliği olan hastalarda Candida enfeksiyon sıklığındaki artış ilgi çekicidir. IL-17 ve IL-22 düzeylerinde azalmanın Candidiazise yol açtığı bilinmektedir. Diğer taraftan AIRE eksikliği olan hastaların serumunda IL-17 ve IL-22'ye karşı otoantikörler gösterilmiştir (161). APECED sendromu ile ilgili yapılan bir çalışmada, IL-17A otoantikörlerinin hastalığın ciddiyeti ile korele olduğunu belirtilmiştir (162). Başka bir çalışma ise AIRE eksikliği ve diğer CMCC tipleri olan hastalarda kandidaya bozulmuş Th-17 yanıtlarının olduğu görülmüştür (163).

2.8.1 AIRE Eksikliği/APECED'in Klinik Özellikleri

AIRE eksikliği/otoimmün poliendokrinopati – kandidiyazis - ektodermal distrofi (APECED) klasik üçlüsü; mukokutanöz kandidiyazis, hipoparatiroidizm ve adrenal yetmezliktir (164). APECED sendromunda aynı genetik mutasyonu taşıyan aynı aile bireyleri arasında bile klinik prezentasyon ve hastalığın seyri açısından geniş farklılıklar bildirilmektedir (164, 165). Bu klinik heterojenite, tanıda önemli bir gecikmeye yol açabilir (166). Ağız mukozasının, tırnakların, derinin, yemek borusunun, vajina ve gastrointestinal sistemin kronik veya tekrarlayan kandidal enfeksiyonu hastaların % 60'ında ortaya çıktığı görülmüştür. Hipoparatiroidizm, bu hastalıkta en sık görülen endokrin anormalliktir ve hastaların yaklaşık %30 unu etkilemektedir. Adrenal yetmezlik, hastalıkta en sık görülen üçüncü klinik özelliktir. Tip1 diabetes mellitus, hipotiroidizm, büyüme hormonu eksikliği, addison hastalığı, hipogonadizm, vitiligo ve alopesi areata gibi hastalığın diğer klinik belirti ve bulguları daha az sıklıkta görülür (164, 165). Kronik Candida enfeksiyonuna bağlı olduğu tahmin edilen komplikasyonlar arasında körlüğe yol açabilen keratokonjonktivit, özofagus striktürü ve ağız ve özofagusun skuamöz hücreli karsinoması yer alır (167, 168). Diğer oral ve gastrointestinal belirtiler arasında kronik ishal ve kabızlık yer alır (164). Bunların yanında pulmoner hastalık, interstisyel nefrit ve ensefalopati de

görülebilmektedir (165). AIRE eksikliği ayrıca sıra dışı özellikler gösterebilir (164). Küçük çocuklar, yaşamlarının ilk yılında bile ateş ve periyodik döküntü, kuru gözler (169), ekzokrin pankreas yetmezliği veya (170) hipokalemi, hipertansiyon veya tübüler interstisyel nefrit (171, 172) dahil olmak üzere böbrek tutulumu ile başvurabilirler.

2.9 Interlökin 16

Interlökin-16, T helper lenfositler, dendritik hücreler, makrofajlar ve eozinofiller yüzeyindeki CD4'e bağlanan ve göç yanıtını uyaran proinflamatuvar bir sitokindir. IL-16 nötrofillerde sentezlenip sitozolde depolanan bir sitokindir. IL-16 nekroza sekonder olarak nötrofillerden salınmaktadır. IL-16'nın salınması kaspaz 3 aktivasyonuna bağlı olduğu için proapoptotik uyaranlar salınmasına yol açabilir. T hücresi antijen reseptörü/CD3'e bağlı aktivasyonu inhibe eder (28). IL-16, CD4 T hücreleri üzerindeki IL-2 reseptörü ve HLA-DR'nin ekspresyonunu artırır (29) ve T hücresi antijen reseptörü/CD3'e bağlı aktivasyonu inhibe eder. IL-16, bir inflamatuvar veya anti-inflamatuvar yanıtın parçası olarak işlev görebilen pleiotropik etkilere sahiptir (30, 173). Artan IL-16 ekspresyonu, alerji, astım, crohn hastalığı, multipl skleroz, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus dahil olmak üzere bir dizi immün aracılı bozuklukla ilişkisi bildirilmiştir (31). IL-16, CD4 ve CD9 için doğal liganddır ve CD4+T hücreleri (özellikle Th1 hücreleri), ayrıca CD8 T hücreleri, NK hücreleri, B hücreleri, monositler, nötrofiller, dendritik hücreler ve mast hücreleri için güçlü bir kemoatraktandır. IL-16, T hücresi reseptör aktivasyonundan bağımsız olarak CD4 T hücrelerini aktive edebilir ve proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına yol açabilir (174). IL-16 romatoid artrit (RA) patogeneğinde Th hücrelerinin sinoviyumda birikmesine katkıda bulunur (175). IL-16 konsantrasyonları RA'lı hastalarda OA'lı hastalara göre anlamlı derecede yüksektir (176) (175) (177). Öte yandan Multipl sklerozlu (MS) hastalarda yapılan bir çalışmada da mekanizma tam bilinmemekle birlikte IL-1'nin serum seviyelerinin arttığı gözlenmiştir (178). Sistemik lupus eritematozus (SLE) için de benzer durum söz konusudur. IL-16 polimorfizmleri, SLE riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir (179). Plazma IL-16 seviyeleri, böbrek tutulumu da dahil olmak üzere SLE şiddeti ile ilişkilendirilmiştir (180).

3. MATERİYAL VE METOD

3.1 Çalışma Popülasyonu

Çalışmamıza 1 Ekim 2022 ve 31 Ocak 2023 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Romatoloji ve Genel Dahiliye Bilim Dalları polikliniklerine başvuran, 2014 Uluslararası Behçet Hastalığı Kriterlerini (ICBD) karşılayan, ek hastalığı olmayan, 18 yaşının üzerinde, yeni tanı ve/veya takipli gönüllü 40 hasta dahil edildi. Gebelik, emzirme, alerji öyküleri olanlar ve aktif enfeksiyonu olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Kontrol grubuna, 18 yaşının üzerinde, herhangi bir hastalığı olmayan, aktif enfeksiyonu olmayan, sağlıklı gönüllülerden oluşan 40 kişi dahil edildi. OMÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (OMU-KAEK 2021/634). Katılımcılara çalışma anlatıldıktan sonra hem sözlü hem yazılı halde rızaları alındı.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri

1. 18-65 yaşları arasında olmak
2. İletişim kurulabilecek bilişsel fonksiyonlara sahip olmak
3. 2014 Behçet Hastalığı Kriterlerini karşılamak
4. Bilimsel çalışmaya alınmayı kabul etmek

Çalışmaya alınmama kriterleri

1. Ek romatolojik hastağı olmak
2. Gebelik, emzirme, alerji öyküsünün olması
3. Malignite öyküsünün olması
4. Aktif enfeksiyonunun olması

3.2 Klinik Veriler

Hastaların isim soyisim bilgileri, cinsiyeti, yaş, tanı yaşı, oral ve genital ülser öyküsü, cilt bulguları, geçirilmiş tromboz, üveit veya artrit öyküsü, paterji testi sonucu, ilaç ve sigara kullanımı not alındı. Hasta ve kontrol grubunun detaylı anamnezleri alınıp fizik muayeneleri yapıldı.

3.2.1. Örneklerin toplanması

Çalışmaya katılmaya gönüllü Behçet hastaları ve sağlıklı bireylerden periferik kan örnekleri alınarak yapılmıştır. Çalışma için OMÜ Klinik Araştırmalar Etik

Kurulu'ndan onay alınmıştır (OMU-KAEK 2021/634). Çalışmaya dahil edilecek hasta ve kontrol gruplarındaki tüm gönüllü katılımcılar araştırma hakkında aydınlatılarak, yazılı rızaları alınmıştır.

3.2.2. Kandan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için; hasta ve sağlıklı kontrollerden oluşan gönüllülerden toplanan 2mL periferik kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınıp, çalışma yapılana kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir. Daha sonra kan numunelerinden genomik DNA'nın ayrıştırılması amacıyla, ticari bir kandan genomik DNA ayrıştırma malzeme takımı (Pure Link® Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen, ABD) kullanılmış ve kitin protokolüne göre tüm işlemler yapılmıştır. Elde edilen DNA numunelerinin yoğunluk ve aralık durumları bir nanodrop spektrofotometre (Jenway Genova Nano, İngiltere) aracılığıyla ölçülerek belirlenmiştir. Sonrasında, metilasyon analizi için bu DNA örneklerine bisülfıt modifikasyonu işlemi uygulanmıştır.

Kan örneklerinden genomik DNA'nın izolasyonu ticari kitin protokolü kullanılarak aşağıdaki aşamalar ile gerçekleştirildi:

1. Steril 15 cl'lik tüpe 200µl kan numunesi koyuldu.
2. Kan numunesine 20µl ProteinazK, 20µl RNaseA eklenip vorteksle karıştırılarak oda ısısında 120 saniye bekletildi.
3. Kite bulunan Lizis/binding bufferdan 200µl eklenip homojen olana kadar vorteks ile karıştırıldı.
4. Sonrasında, 55°C'de ısı bloğunda 15 dakika bekletildi.
5. Sonra oluşan lizatın içine %100'lük etanolden 200µl eklenip homojen olana kadar vorteks ile karıştırıldı.
6. Sonra tüm karışım kolon içeren santrifüj tüplerine alınıp 10.000×g'de 60 saniye oda ısısında santrifüj edildi. Sonrasında tüpte toplanan sıvı atıldı.
7. Kolona yıkama solüsyonu-1'den 500µl eklenerek 10.000×g'de 60 saniye oda ısısında santrifüj edildi. Sonrasında toplama tüpündeki sıvı atıldı.
8. Kolona yıkama solüsyonu-2'den 500µl eklenerek en yüksek hızda 120 saniye oda ısısında santrifüj edildi. Sonrasında tüpte toplanan sıvı atıldı.
9. Kolon hertürlü mikroorganizmadan arınık yeni bir tüpe yerleştirildi ve üzerine kite mevcut olan elution bufferdan eklenip 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Sonrasında maksimum hızda oda sıcaklığında 1dk santrifüj yapılarak DNA örnekleri saflaştırılmış oldu.

10. Sonrasında DNA örneklerinin miktarları ve saflığı bir nanodrop DNA sayacı ile belirlendi.

11. Elde edilen DNA örnekleri –80 santigrat derecede korundu.

3.2.3. Bisülfite Modifikasyonu

DNA'nın bisülfite modifikasyon işlemi, EpiJet Bisülfite Modifikasyon malzeme takımı (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak ve bu malzeme takımının protokolüne tamamen uyarak yapılmıştır. Bu yöntem, DNA'nın bisülfite muamelesiyle metillenmemiş olan sitozinlerin deamine olarak urasile dönüştürülmesi mantığı üzerinden çalışmaktadır. Metile halde bulunan sitozinlerde ise bu değişim gerçekleşmemektedir. Bu prensibe dayanarak, DNA örneklerine bisülfite muamelesi yapıldıktan sonra metilasyona spesifik tasarlanan primer dizileri ile metilasyon-spesifik PCR analizleri yapılmıştır.

Bisülfite modifikasyonu:

1. 500ng/20µl DNA örneği bir steril PCR tüpüne alındı ve üzerine kitte bulunan Modification Reagent'dan 120µl eklenip pipetajla karıştırıldı.
2. Sonra bu karışım 98 santigrat derecede 600 saniye ve 60 santigrat derecede iki buçuk saat bekletildi.
3. İnkübasyon işlemleri sonrasında kolon içeren bir tüp içine tüm karışım aktarılıp üzerine kitte bulunan Binding Buffer'dan 400µl pipetaj ile karıştırıldı. Sonra 12000rpm'de 30 saniye santrifüj yapıldı. Sonrasında tüpte biriken sıvı atıldı.
4. Kolona kitin içinde mevcut olan yıkama solüsyonundan 200µl eklenip, 12000rpm'de 30 saniye oda sıcaklığında santrifüj yapıldı. Sonrasında tüpte biriken sıvı atıldı.
5. Sonra kolona kitte bulunan Desulfonation Buffer'dan 200µl eklenerek oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyon yapıldı. Bu süre sonunda 12000rpm'de 30 saniye oda sıcaklığında santrifüj yapıldı. Biriken sıvı atıldı.
6. Kolona kitin içinde mevcut olan yıkama solüsyonundan 200µl eklenip, 12000rpm'de oda sıcaklığında santrifüj yapıldı. Biriken sıvı atıldı.

7. Sonra yıkama işlemi tekrarlandı.
8. Yıkama işlemlerinden sonra kolon steril bir santrifüj tüpüne alınıp üzerine 10µl Elution Buffer eklenip 12000rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Böylece bisülfitle modifiye edilmiş DNA örnekleri elde edildi.
9. Bu DNA numuneleri PCR'da işlenmek amacıyla -20 santigrat derecede saklandı.

3.2.4. Metilasyon Spesifik PCR (MS-PCR):

MSP yönteminde *IL-16* ve *AIRE* genlerinin promotör kısımlarını kopyalamak için, özel programlar kullanılarak metile spesifik primerler (MSP) ve unmetile spesifik primerler (USP) tasarlandı. Bu PCR primerlerini tasarlamak amacıyla, öncelikle 'www.ensembl.org' web adresinden ilgili genlerin promotör dizileri elde edilip sonra bu diziler 'http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi' web sayfasındaki veri havuzuna kaydedilerek MSP ve USP primerler tasarlandı. PCR reaksiyonlarındaki spesifik diziler Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3.Metilasyon spesifik PCR için primer dizileri

<i>IL-16 MSP-F</i>	5'- TGATTATTTAAGGATTGAGGAGTGTC-3'
<i>IL-16 MSP-R</i>	5'- AAATAAACATAAAAAATTCTCCACGTC-3'
<i>IL-16 USP-F</i>	5'- TTATTTAAGGATTGAGAGTGTTGG-3'
<i>IL-16 MSP-R</i>	5'- AAATAAACATAAAAAATTCTCCACATC-3'
<i>AIRE MSP-F</i>	5'-GTCGAGGTAGGATAGGGTTATATTC-3'
<i>AIRE MSP-R</i>	5'-AAAAACACTTCCCTATAATAAAAAACG-3'
<i>AIRE USP-F</i>	5'-GTTGAGGTAGGATAGGGTTATATTTG-3'
<i>AIRE USP-R</i>	5'-AAACACTTCCCTATAATAAAAAACACT-3'

(MSP-F:metilasyona özgül forward primer, MSP-R: metilasyona özgül reverseprimer
USP-F: umetilasyona özgül forward primer, USP-R: unmetilasyona özgül reverse primer)

MSP metodunda, *Taq* DNA Polimeraz enzim malzeme takımı (Thermo Fisher, Litvanya) , metilasyona has oligonükleotit diziler kullanılmıştır. MSP reaksiyon karışımı için; toplam 25µl'lik reaksiyon hacmi için, 2.5 µl PCR tamponu, 0.2 µl/200 µM dNTP mix, 20pmol/µl forward primer, 20pmol/µl revers primer, 150ng/3µl

bisülfitle modifiye DNA örneği, 1.25U *Taq* DNA polimeraz enzimi ve steril su kullanılmıştır. Metilasyon spesifik PCR protokolü için: Başlangıç denatürasyonu için 95°C’de 3dk, sonrasında 40 döngü şeklinde 95°C’de 40sn denatürasyon, *IL-16* geni için 57°C’de *AIRE* geni için 51 °C’de primer bağlanması ve 72°C’de 70sn uzama yapılmıştır. Sonrasında 72°C’de 7dk son uzama yapılarak reaksiyon sonlandırılmıştır. PCR ürünleri hemen agaroz jel elektroforezine alınmadığında örnekler PCR ürünleri hemen agaroz jel elektroforezine alınmadığında örnekler –20°santigrat derecede korunmuştur.

3.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi:

Metilasyon spesifik PCR reaksiyonu sonrasında meydana gelen ürünler %2’lik agaroz jelde ve bir size marker (#SM1193, Thermo Fisher Scientific, Litvanya) ile birlikte elektroforez (Junyi JY300C, Çin) yapılmıştır. %2’lik agaroz jelin oluşturulması: 5 cl 1X Tris-Borik asit-EDTA (TBE) laboratuvar kabına boşaltıldı ve üstüne hassas bir ölçümle ile tartılan 1 gr agaroz eklendi. Meydana gelen homojen olmayan karışım, mikrodalga fırında kaynama işlemi gerçekleşene kadar ısıtıldı. Meydana gelen saydam homojen ürünün sıcaklığı 80 santigrat dereceye kadar soğutma işlemi gerçekleştirildikten sonra 0.5mg/ml’lik konsantre etidyum bromürden (EtBr) 50µl eklendi. Sonrasında jel, taraklanmış haldeki elektroforez tabağına boşaltıldı ve yaklaşık bir saat boyunca katılaşması amacıyla bırakıldı. Jelin katılaşmasının ardından içindeki tarak çıkarıldı ve 1X TBE içeren yatay konumdaki elektroforez tankına koyuldu. PCR örnekleri elektroforezde yürütüldükten sonra elde edilen bant sonuçları bir UV transillüminatörü (Daihan Scientific, Güney Kore) ile görüntülenerek analiz edilmiştir. Yalnızca metile-spesifik primerle amplifiye olan örnekler metile, hem metile hem unmetile-spesifik primerle amplifiye olan örnekler ise unmetile olarak değerlendirilmiştir.

3.2.6. İstatiksel Çalışma

İstatistiksel analizde "IBM SPSS for Windows Version 22.0" programından yararlanıldı. Sayısal değişkenlerde veriler ortalama ve standart sapma ile gösterildi. Çalışmaya katılan bireylerin demografik verileri ve klinik bulgularına ait sayı ve yüzde değerleri hesaplandı. Behçet hastalığında *IL-16* ve *AIRE* geninin promotör metilasyon durumu araştırıldı; değişkenlerin dağılımının normal olması durumunda t testi ile,

normal olmaması durumunda ise Mann Whitney-U testi ile değerdendirildi. Veriler arasındaki ilişkiler, değışkenlerin dağılımı normal olduğunda Pearson korelasyon testiyle, normal olmadığında ise Spearman's korelasyon testiyle incelendi. İstatistiksel anlamlılık $P<0.05$ olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

Çalışmaya Behçet hastalığı tanısı konmuş 40 hasta ile 40 sağlıklı kontrolden oluşan toplam 80 kişi alındı. Hasta grubunda 20 kadın (%50) ve 20 erkek (%50) vardı. Kontrol grubunda 20 kadın (%50) ve 20 erkek (%50) bulunuyordu. Hastaların ortalama yaşı 35.1 ± 5.7 yıl, kontrol grubunun ortalama yaşı 37.02 ± 11.4 yıl olarak saptandı. İki grubun laboratuvar değerleri karşılaştırıldığında, ESH ortalama değeri hastalarda 29.7 ± 20 mm/saat iken, kontrol grubunda 17.9 ± 10.4 mm/saat olarak görüldü ($p=0.002$). CRP ortalaması hastalarda 7.5 ± 13.1 mg/dl iken, kontrol grubunda bu değer 3.5 ± 1.8 mg/dl olarak hesaplandı.

Lökosit sayısı hasta grubunda $7977 \pm 1875/\text{mm}^3$, kontrol grubunda $6836 \pm 1559/\text{mm}^3$ olarak saptandı. Hemoglobin değeri ortalaması hastalarda 13.4 ± 1.7 g/dL, kontrol grubunda 13.8 ± 2.4 g/dL, trombosit sayısı hasta grubunda $272.800 \pm 68.100/\text{mm}^3$ 'd, kontrol grubunda $260.9 \pm 55.5/\text{mm}^3$ olarak saptandı. Üre değeri ortalaması hasta grubunda 12.2 ± 3.3 mg/dL, kontrol grubunda 11.8 ± 2.6 mg/dL, kreatinin ortalaması hasta grubunda 0.7 ± 0.1 mg/dL, kontrol grubunda 0.8 ± 0.1 mg/dL olarak görüldü. AST ortalaması hastalarda 17.7 ± 6.5 U/L, kontrol grubunda 20.1 ± 7.1 , ALT ortalaması hastalarda 17.6 ± 9.8 U/L, kontrol grubunda 20.7 ± 14.4 U/L olarak bulundu.

Hem BH grubunda hem de sağlık kontrol grubundaki tüm gönüllülerde IL-16 geninin metile olduğu saptandı.

AIRE geninde ise daha farklı bir sonuç bulundu. Sağlıklı kontrol grubundaki tüm katılımcılarda AIRE geni metile iken, tüm Behçet hastalarında unmetile olduğu belirlendi. Bu durum karaciğer ve böbrek fonksiyonlar ile ilişkili değildi. Yine cinsiyet ve yaş ile de ilişkili olmadığı saptandı.

Gruplar arasında yaş ($p:0.3$), cinsiyet ($p:1$), CRP ($p:0.6$), lökosit sayısı ($p:0.7$), hemoglobin ($p:0.4$), trombosit ($p:0.3$), üre ($p:0.5$), AST ($p:0.1$) ve ALT ($p:0.2$) değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu. ESH ($p:0.002$), kreatin değeri ($p:0.02$) ve AIRE düzeyleri ($p:0.000$) arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark görüldü. Hasta ve kontrol gruplarına ait demografik veriler ve laboratuvar değerleri Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Çalışma Gruplarında Demografik ve Laboratuvar Veriler

	Sağlıklı Kontrol	Behçet Hastalığı	P değeri
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	20/20	20/20	1
Yaş (yıl)	35.1±5.7	37.02±11.4	0.3
Sigara(Var/Yok)	0/40	7/33	0.012
Hipertansiyon(Var/Yok)	0/40	5/35	0.055
DiabetesMellitus(Var/Yok)	0/40	3/37	0.2
Ateroskleroz(Var/Yok)	0/40	1/39	1
CRP mg/dl	3.5±1.8	7.5±13.1	0.6
ESH mm/saat	17.9±10.4	29.7±20	0.002
WBC bir/ul	7337.5±2807.6	7515±2197.4	0.7
Hemoglobin g/dl	13.8±2.4	13.4±1.7	0.4
Platelet bin/ul	260.9±55.5	272.8±68.1	0.3
Üre mg/dl	11.8±2.6	12.2±3.3	0.5
Kreatinin mg/dl	0.8±0.1	0.7±0.1	0.02
AST ıu/l	20.1±7.1	17.7±6.5	0.1
ALT ıu/l	20.7±14.4	17.6±9.8	0.2
CRP: C-reaktif protein, ESH: Eritrosit Sedimentasyon Hızı, WBC: Beyaz Kan Hücresi AST: Aspartat transaminaz, ALT: Alanin transaminaz			

BH olanların klinik bulgularına bakıldığında 40 hastanın 39'un oral ülser, 27'sinde genital ülser, 32'sinde papülopüstüler lezyon, 26'sında eritema nodosum, 18'inde paterji pozitifliği, 16'sında artrit, 5'inde damar tutulumu, 15'inde üveit ve 2'sinde nörolojik tutulum vardı. BH grubunun klinik özellikleri Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. Behçet Hastalarının klinik özellikleri

Klinik Özellik	Var/Yok (N:40)
Oral Ülser	39/1
Genital Ülser	27/13
Papülopüstüler Lezyon	32/8
Eritema Nodosum	26/14
Paterji	18/22
Artrit	16/24
Damar Tutulum	5/25
Üveit	15/25
Nörolojik Tutulum	2/38
Aktif Yakınma	10/30

BH grubunda 39 hasta kolşsin tedavisi aldığı saptandı. Bunun dışında 18 hastanın kortikosteroid, 23 hastanın azatioprin, 17 hastanın anti-TNF tedavi, 3 hastanın metotreksat ve 4 hastanın dapson tedavisi olduğu belirlendi. İlaç kullanımı Tablo 6'te özetlenmiştir.

Tablo 6. Behçet hastalarının ilaç kullanımı

Kullanılan İlaç	Kullanan hasta sayısı	Kullanan hasta yüzde oranı
Kolsişin	39	%97,5
Steroid	18	%45
Azatioprin	23	%57,5
Anti-TNF	17	%42,5
Metotreksat	3	%7,5
Dapson	4	%10



5.TARTIŞMA

Bu çalışmada, yaşadığımız coğrafyada çok sık görülen, özellikle genç yaştaki hastalarda ciddi morbiditeye sebep olabilen ve etyopatogenezi hakkında henüz net bir fikir birliği sağlayamadığımız Behçet Hastalığındaki epigenetik değişikliklerin araştırılması hedeflenmiştir. AIRE ve IL-16 genlerinin daha önceki çalışmalarda bazı romatizmal hastalıkların etyopatogenezinde rol almasından yola çıkarak BH’da IL-16 ve AIRE genlerinin olası rollerinin olabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla AIRE ve IL-16 genlerinin promotör metilasyon durumunun BH patogeneziyle ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda; hem BH grubunda hem de sağlıklı kontrol grubunda çalışmaya katılan tüm bireylerde IL-16 geninin promotör bölgesi metile saptanmış olup, IL-16 gen ifadesinin her iki grupta da farklılık göstermediği görülmüştür. Diğer taraftan çalışmamızda sağlıklı gönüllülerin hepsinde AIRE geninin promotör bölgesi metile saptanırken BH olanların tamamında unmetile olarak saptanmıştır. Bu sonuçtan yola çıkarak BH’da AIRE gen ifadesinin aktif hale geldiği görülmüştür. AIRE self tolerans gelişiminde ve sürdürülmesinde çok önemli bir role sahiptir. AIRE gen mutasyonları periferel Treg eksikliğine sebep olur ve timusta oto-reaktif T hücrelerinin eliminasyonuna engel olur (18). Böylece genç yaşlarda otoimmün hastalıkların gelişmesine neden olur. Bunlar dışında da pek çok araştırma AIRE genindeki mutasyonların otoimmün hastalıkların gelişimine neden olduklarını göstermişlerdir. Bu bilgiler AIRE geninin otoimmün romatizmal inflamatuvar hastalıklardaki önemini ortaya koymaktadır. AIRE geninin olası rolü ve epigenetik modifikasyonları bize BH’nın etyopatogenezi hakkında ipuçları verileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda da sağlıklı kişilerde AIRE geni metile iken BH grubunda promotör bölgesinin unmetile olduğu ve güçlü bir gen ifadesinin ortaya çıktığı görüldü. Bu sonuç BH etyopatogenezinde AIRE geninin rolü olduğunu göstermektedir.

Lovewell ve ark. AIRE geni rs2075876 ve rs760426 polimorfizmlerinin timik negatif seçilimi bozduğu, dolayısıyla otoimmün hastalıklara yatkınlığı arttırdığı bildirilmiştir (181).

Attia ve ark.’nın SLE tanılı 99 hasta ile yaptıkları çalışmalarında AIRE single nucleotid polimorfizmlerinden (SNP) rs2075876 ve rs760426’nın rolünü araştırmışlardır. AIRE rs760426 SLE’a duyarlılık ile ilişkili iken, AIRE

rs2075876'nin hastalığın kas iskelet sistemi tutulumu ve SLE nefriti gibi fenotipik ifadesi ile ilişkili olabileceği saptanmıştır. Ek olarak AIRE rs2075876 ve rs760426 varyantlarının homozigotluğu durumunda hastaların daha yüksek hastalık şiddetine sahip oldukları belirlenmiştir (182). Montufar-Robles ve ark.'nın SLE tanılı 460 Meksikalı hasta ile yaptıkları araştırmada AIRE rs2075876 ve AIRE rs878081'i SNP'lerini araştırmışlardır. AIRE rs2075876 ile ilgili bulgular Attia ve ark.'nın yaptığı çalışmayı destekler niteliktedir. Öte yandan AIRE SNP rs878081 varyantının SLE'a duyarlılık ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Fakat Attia ve ark. nın aksine AIRE rs2075876 ve AIRE rs878081 ile lupus nefriti arasında bir ilişki saptamamışlardır (183).

AIRE geninin polimorfizmleri, birkaç çalışmada RA için risk varyantları olarak incelenmiştir. Song Shao ve ark.'nın RA tanılı 232 hasta ve 313 sağlıklı kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada, AIRE rs2075876 ve AIRE rs760426 SNP'lerinin RA duyarlılığını arttırdığını göstermişlerdir (184). Feng ve ark. RA tanılı 691 hasta ve 800 sağlıklı kontrolden oluşan çalışmalarında RA hastalarında AIRE rs2075876 sıklığının arttığını ve RA'ya duyarlılık ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Diğer taraftan AIRE rs933150 ve rs760426 gen polimorfizmi ile RA arasında sınırdan bir ilişki olduğu gösterilmiştir (185). Xu ve ark. tarafından yapılan sistematik bir metaanalizde, RA tanılı 6755 hasta ve 7970 sağlıklı kontrol grubunda AIRE geni SNP'leri rs2075876 ve rs760426 araştırılmış ve her iki SNP için de tüm genetik modeller altında RA için risk faktörü olarak tanımlanmıştır. İlgili çalışmaların çoğu Uzak Doğu popülasyonlarından elde edildiğinden, yazarlar bu sonuçların Kafkasyalılar için de farklı çalışmalar ile doğrulanması gerektiğini düşünmüşlerdir (186). Çünkü bahsi geçen çalışmalarda Asyalılar ve Kafkasyalılar arasındaki farklılıkların minör alel frekanslarının ırksal farklılığına, SNP'lerin etnik kökene özgü etkisine, farklı çevresel maruziyetlere, hastalığın çok faktörlü etiyojisine, klinik hastalık heterojenliği ve bazı çalışmaların küçük örneklem boyutuna bağlanmıştır (187, 188). Kafkasyalı RA hastalarında, AIRE gen polimorfizmlerini araştıran başka bir çalışmada, AIRE rs2776377, rs2075876, rs1055311 ve rs1800520 SNP'leri ile RA arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken, rs878081'in bir risk varyantı olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, RA hastalarının daha sık AIRE rs878081 varyant homozigotluğu gösterdiği saptanmıştır (186). Lim ve ark.'ı tarafından yapılan 14361 RA tanılı hasta

ve 43923 sağlıklı kontrol içeren daha güncel bir metaanalizde AIRE rs2075876'nın tüm genetik modellerde RA riskini artırdığı saptanmıştır (187).

AIRE geni ürünü 'otoimmün regülatuar' adlı proteindir ve bu proteinin otreaktivite kazanan tüm T hücrelerin yıkım mekanizmasından sorumlu olduğu bilinmektedir (18). Bizim çalışmamızda otoimmün hastalıkların patogeneğinde rol alan AIRE geni promotör bölgesinin tüm Behçet hastalarında -sağlıklı kontrol grubunun aksine-unmetile olduğu saptandı. Bu sonucun BH'nın otoimmün doğasına işaret edebileceğini düşünmekteyiz. Sağlıklı kontrol grubunda olduğu gibi normal şartlarda bu genin metile halde sessiz olması gerekirken BH grubunda aktif olması (unmetile), AIRE geninin aktifleşme sebebinin oluşan otreaktif T hücre klonlarını elimine etmeye çalışması olabilir. Bu sonuçlardan yola çıkarak epigenik faktörlerin ve epigenetik değişiklerin BH patogeneğinde önemli etkisinin olabileceği düşünülebilir. Bu olasılıkları aydınlatacak daha fazla epigenetik çalışmalara ihtiyaç vardır.

İnterlökin-16 (IL-16), inflamasyonu indükleyen bir sitokin olup aynı zamanda lenfosit kemoatraktan faktörüdür.Çeşitli immün sistem hücreleri üzerindeki CD4'e bağlanarak bu hücrelerin proliferasyonuna ve inflamasyonlu bölgelere göçüne neden olur (189).

BH ile ilgili yapılan birçok çalışmada T helper (Th) 1 tipi sitokin yanıtı gözlemlenmiştir, ancak bazı çalışmalarda Th2 yanıtı için de kanıtlar gösterilmiştir. Gerçekte BH Th1 ve Th2 aktivitesinin bir karışımı gibi görünmektedir (68, 190-192). BH'da Th1 ve Th17'nin hastalığın aktif fazlarında rol oynadığı belirtilirken, Th2'nin ise hastalığın seyri ve şiddeti üzerinde etkili olabileceğini öne sürülmüştür. BH ile ilgili yapılan çok sayıda çalışmada sitokinlerin rolü araştırılmıştır. İnterlökin-2, interlökin -6, interlökin -8, interlökin -12, interlökin -18, TNF-alfa ve ifn-gamanın hastalık patogeneğinde rolü olabileceği belirtilmiştir (68, 190, 193, 194) . Ancak, BH'da IL-16'nın rolünü araştırın herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız bu açıdan bir ilktir.

Murato ve ark. 88 RA hastası ile yaptıkları çalışmalarında, RA tedavisinde IL-16'nın klinik yanıtla ilişkili yararlı bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir (189)._Benzer şekilde El Atta ve ark.'nın yaptıkları 30 RA tanılı hastayı içeren çalışmalarında IL-16 gibi proinflamatuvar sitokinlerin RA patogeneğinde rol oynayabileceği belirtmişlerdir (195).

Fava ve ark. SLE tanılı 30 hasta ile yaptıkları çalışmalarında, IL-16'nın lupus nefriti patogenezinde histolojik aktiviteyi yansıttığını ve IL-16'nın lupus nefritli böbreklerden eksprese edilen sitokinlerin başında geldiğini göstermişlerdir. Fava ve ark.ları bu sonuçlardan yola çıkarak IL-16'nın SLE'da hem biyobelirteç hem de tedavi edilebilir bir hedef olarak kullanabileceğini öne sürmüşlerdir (196). Lard ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, şiddetli hastalığı olan SLE hastalarında IL-16 düzeylerinin, şiddetli hastalığı olmayanlara ve sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğunu bildirmiştir; ayrıca, SLE hastalık aktivite indeksi ile IL-16 seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon saptamışlardır (180).

Kawabata ve ark.'nın yaptığı 57 hasta içeren sistemik skleroz (SSc) tanılı hastaların doku çalışmalarında, IL-16'nın kılcal damarları infiltre eden lenfositlerde ifade edildiğini saptamışlardır. Bu durumun SSc hastalarında artmış serum IL-16 düzeylerinin cilt sklerozu, eritem ve pigmentasyonla giden kutanöz semptomlara yol açabileceğini düşünmüşlerdir (197). Benzer şekilde Duan ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarında SSc hastalarının plazmasında IL-16 düzeylerinin belirgin olarak arttığını bildirmişlerdir (198). Patolojisinde damar endotel disfonksiyonu olan BH'da IL-16'nın rolünü araştıran herhangi bir çalışma yoktur.

Yoon ve ark. 'nın 78 vaskülit hastası ile yaptıkları çalışmalarında IL-16' nın, antinötrofil sitoplazmik antikorla ilişkili vaskülitte önemli bir ilişkisinin olduğunu bulmuşlardır (199).

Kouchak ve ark. 84 multiple skleroz (MS) tanılı hastayı inceledikleri çalışmalarında, MS hastalarında IL-16 seviyelerinde artış gözlemlemişlerdir. IL-16'nın C-C kemokin reseptör tip 5 (CCR5) molekülü üzerinden Th1 hücreleri ile etkileşimde olduğunu, MS hastalarının beynindeki T hücre infiltrasyonu göz önüne alındığında, IL-16'nın otoimmüniteye katkısının olabileceğini belirtmişlerdir (178).

Literatüre bakıldığında BH'da IL-16'nın rolünü araştıran bir çalışma yoktur. Çalışmamız bu açıdan bir ilktir. Çalışmamızda BH'da IL-16 geninin promotör bölge metilasyonunun olduğu ve bu genin ifadesinin BH 'da güçlü olmadığı saptanmıştır. Daha önce yapılan romatolojik hastalıklarla ilgili çalışmalarda IL-16'nın serum ve doku düzeyleri değerlendirilmiş ve SLE, RA, SSc ve vaskülit patogenezinde IL-16'nın önemli bir rol aldığı belirtilmiştir. Fakat patogenezinde Th1 ve Th2'nin ve pek

çok sitokinin birlikte rol aldığı BH'da IL-16'nın önemli bir rolünün olmadığı saptanmıştır.

Bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları vardır. Çalışmamızda AIRE ve IL-16 genlerindeki promotör bölge metilasyonu çalışılmasına karşın IL-16 ekspresyonu veya IL-16 serum düzeyinin çalışılmaması bu araştırmanın kısıtlılığıdır. Benzer şekilde otoimmün regülatör gen ekspresyonu veya serum düzeyinin de değerlendirilmesi çalışmanın sonucuna daha fazla katkı sağlayabilirdi. Bunun yanında AIRE ile ilişkili olarak T hücrelerin apoptotik aktivitesinin de değerlendirilmesi çalışmayı güçlendirebilirdi. Çalışmamıza alınan tüm hastalar ilaç tedavisi almaktaydı. Bu durum metilasyonu ve gen ifadesini değiştirebilir. Bununla birlikte çalışmamız BH'da hem AIRE geninin hem de IL-16'nın rolünü araştıran ilk çalışmadır. Bu nedenle literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

BH'nın otoimmün bir hastalık mı yoksa otoinflamatuar bir hastalık mı olduğu konusunda literatürde çelişkili sonuçlar vardır. Otoimmünitenin primer basamağında görevli olan AIRE geninin promotör metilasyon durumunun analizi BH'nın patogenezinde otoimmünitenin rolünün olabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, çalışmamızda otoreaktif T hücrelerin eliminasyonunu yapan otoimmün regülatör proteini kodlayan AIRE geninin unmetile olması, BH'nın patogenezinde otoimmün mekanizmaların ve epigenetik faktörlerin etkili olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızın diğer bir sonucu, daha önceki çalışmalarda önemli inflamatuvar süreçlerde yer aldığı gösterilen IL-16 geninin ekspresyonunu etkileyebilecek promotör bölgesinin hem sağlıklı bireylerde hem Behçet hastalarında metile olarak saptanmasıdır. Diğer romatizmal hastalıkların aksine, IL-16'nın BH'nın patogenezinde önemli bir rol almadığını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Feigenbaum A. Description of Behçet's syndrome in the Hippocratic third book of endemic diseases. *Br J Ophthalmol.* 1956;40(6):355-7.
2. Yurdakul S, Hamuryudan V, Yazici H. Behçet syndrome. *Curr Opin Rheumatol.* 2004;16(1):38-42.
3. Becatti M, Emmi G, Bettiol A, Silvestri E, Di Scala G, Taddei N, et al. Behçet's syndrome as a tool to dissect the mechanisms of thrombo-inflammation: clinical and pathogenetic aspects. *Clin Exp Immunol.* 2019;195(3):322-33.
4. Mattioli I, Bettiol A, Saruhan-Direskeneli G, Direskeneli H, Emmi G. Pathogenesis of Behçet's Syndrome: Genetic, Environmental and Immunological Factors. *Front Med (Lausanne).* 2021;8:713052.
5. Bettiol A, Hatemi G, Vannozzi L, Barilaro A, Prisco D, Emmi G. Treating the Different Phenotypes of Behçet's Syndrome. *Front Immunol.* 2019;10:2830.
6. Glant TT, Mikecz K, Rauch TA. Epigenetics in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *BMC medicine.* 2014;12:1-5.
7. Berger SL, Kouzarides T, Shiekhata R, Shilatifard A. An operational definition of epigenetics. *Genes & development.* 2009;23(7):781-3.
8. Golbabapour S, Abdulla MA, Hajrezaei M. A concise review on epigenetic regulation: insight into molecular mechanisms. *International journal of molecular sciences.* 2011;12(12):8661-94.
9. Costello JF, Plass C. Methylation matters. *J Med Genet.* 2001;38(5):285-303.
10. Tirado-Magallanes R, Rebbani K, Lim R, Pradhan S, Benoukraf T. Whole genome DNA methylation: beyond genes silencing. *Oncotarget.* 2017;8(3):5629-37.
11. Campos K, Gomes CC, Farias LC, Silva RM, Letra A, Gomez RS. DNA Methylation of MMP9 Is Associated with High Levels of MMP-9 Messenger RNA in Periapical Inflammatory Lesions. *J Endod.* 2016;42(1):127-30.
12. Karouzakis E, Gay RE, Gay S, Neidhart M. Epigenetic control in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Nat Rev Rheumatol.* 2009;5(5):266-72.
13. Wang X, Lei D, Ding J, Liu S, Tao L, Zhang F, et al. A DNA-methylated sight on autoimmune inflammation network across RA, pSS, and SLE. *Journal of Immunology Research.* 2018;2018.
14. Frommer M, McDonald LE, Millar DS, Collis CM, Watt F, Grigg GW, et al. A genomic sequencing protocol that yields a positive display of 5-methylcytosine residues in individual DNA strands. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1992;89(5):1827-31.
15. Rakyan VK, Down TA, Balding DJ, Beck S. Epigenome-wide association studies for common human diseases. *Nature Reviews Genetics.* 2011;12(8):529-41.
16. Anderson MS, Su MA. AIRE expands: new roles in immune tolerance and beyond. *Nat Rev Immunol.* 2016;16(4):247-58.

17. An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. *Nat Genet.* 1997;17(4):399-403.
18. Boehm T, Scheu S, Pfeffer K, Bleul CC. Thymic medullary epithelial cell differentiation, thymocyte emigration, and the control of autoimmunity require lympho-epithelial cross talk via LTbetaR. *J Exp Med.* 2003;198(5):757-69.
19. Fierabracci A. Recent insights into the role and molecular mechanisms of the autoimmune regulator (AIRE) gene in autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2011;10(3):137-43.
20. Mathis D, Benoist C. Aire. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:287-312.
21. Jäger A, Kuchroo VK. Effector and regulatory T-cell subsets in autoimmunity and tissue inflammation. *Scandinavian journal of immunology.* 2010;72(3):173-84.
22. Anderson MS, Venanzi ES, Chen Z, Berzins SP, Benoist C, Mathis D. The cellular mechanism of Aire control of T cell tolerance. *Immunity.* 2005;23(2):227-39.
23. Center DM, Cruikshank W. Modulation of lymphocyte migration by human lymphokines. I. Identification and characterization of chemoattractant activity for lymphocytes from mitogen-stimulated mononuclear cells. *The Journal of Immunology.* 1982;128(6):2563-8.
24. Laberge S, Cruikshank WW, Beer DJ, Center DM. Secretion of IL-16 (lymphocyte chemoattractant factor) from serotonin-stimulated CD8+ T cells in vitro. *Journal of immunology (Baltimore, Md: 1950).* 1996;156(1):310-5.
25. Cruikshank W, Kornfeld H, Center Dm. Interleukin-16. 2000:757-66.
26. Laberge S, Cruikshank WW, Kornfeld H, Center DM. Histamine-induced secretion of lymphocyte chemoattractant factor from CD8+ T cells is independent of transcription and translation. Evidence for constitutive protein synthesis and storage. *Journal of immunology (Baltimore, Md: 1950).* 1995;155(6):2902-10.
27. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *New England Journal of Medicine.* 2011;365(23):2205-19.
28. Roth S, Agthe M, Eickhoff S, Möller S, Karsten C, Borregaard N, et al. Secondary necrotic neutrophils release interleukin-16C and macrophage migration inhibitory factor from stores in the cytosol. *Cell death discovery.* 2015;1(1):1-9.
29. Blaschke V, Reich K, Letschert M, Sachse F, Harwix S, Neumann C, et al. Expression of the CD4+ cell-specific chemoattractant interleukin-16 in mycosis fungoides. *Journal of investigative dermatology.* 1999;113(4):658-63.
30. Klimiuk PA, Goronzy JrJ, Weyand CM. IL-16 as an anti-inflammatory cytokine in rheumatoid synovitis. *The Journal of Immunology.* 1999;162(7):4293-9.
31. Laberge S, Ernst P, Ghaffar O, Cruikshank WW, Kornfeld H, Center DM, et al. Increased expression of interleukin-16 in bronchial mucosa of subjects with

- atopic asthma. American journal of respiratory cell and molecular biology. 1997;17(2):193-202.
32. Skundric DS, Cai J, Cruikshank WW, Gveric D. Production of IL-16 correlates with CD4⁺ Th1 inflammation and phosphorylation of axonal cytoskeleton in multiple sclerosis lesions. *Journal of Neuroinflammation*. 2006;3(1):1-13.
 33. Mutlu S, Scully C. The person behind the eponym: Hulûsi Behçet (1889-1948). *J Oral Pathol Med*. 1994;23(7):289-90.
 34. Saylan T. Life story of Dr. Hulusi Behçet. *Yonsei Med J*. 1997;38(6):327-32.
 35. Dilsen N. History and development of Behçet's disease. *Revue du Rhumatisme (English Ed)*. 1996;63(7-8):512-9.
 36. Verity D, Marr J, Ohno S, Wallace G, Stanford M. Behçet's disease, the Silk Road and HLA-B51: historical and geographical perspectives. *Tissue antigens*. 1999;54(3):213-20.
 37. Karıncaoglu Y, Borlu M, Toker SC, Akman A, Onder M, Gunasti S, et al. Demographic and clinical properties of juvenile-onset Behçet's disease: A controlled multicenter study. *J Am Acad Dermatol*. 2008;58(4):579-84.
 38. Akpolat T, Koç Y, Yeniay I, Akpek G, Güllü I, Kansu E, et al. Familial Behçet's disease. *Eur J Med*. 1992;1(7):391-5.
 39. Direskeneli H. Behçet's disease: infectious aetiology, new autoantigens, and HLA-B51. *Ann Rheum Dis*. 2001;60(11):996-1002.
 40. Takeno M. The association of Behçet's syndrome with HLA-B51 as understood in 2021. *Curr Opin Rheumatol*. 2022;34(1):4-9.
 41. 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):1287-96.
 42. 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):239-40.
 43. Ahmad T, Wallace GR, James T, Neville M, Bunce M, Mulcahy-Hawes K, et al. Mapping the HLA association in Behçet's disease: a role for tumor necrosis factor polymorphisms? *Arthritis Rheum*. 2003;48(3):807-13.
 44. Ota M, Mizuki N, Katsuyama Y, Tamiya G, Shiina T, Oka A, et al. The critical region for Behçet disease in the human major histocompatibility complex is reduced to a 46-kb segment centromeric of HLA-B, by association analysis using refined microsatellite mapping. *Am J Hum Genet*. 1999;64(5):1406-10.
 45. Hughes EH, Collins RW, Kondeatis E, Wallace GR, Graham EM, Vaughan RW, et al. Associations of major histocompatibility complex class I chain-related molecule polymorphisms with Behçet's disease in Caucasian patients. *Tissue Antigens*. 2005;66(3):195-9.
 46. Kirino Y, Bertsias G, Ishigatsubo Y, Mizuki N, Tugal-Tutkun I, Seyahi E, et al. Genome-wide association analysis identifies new susceptibility loci for Behçet's

- disease and epistasis between HLA-B*51 and ERAP1. *Nat Genet.* 2013;45(2):202-7.
47. Riahi P, Kazemnejad A, Mostafaei S, Meguro A, Mizuki N, Ashraf-Ganjouei A, et al. ERAP1 polymorphisms interactions and their association with Behçet's disease susceptibility: Application of Model-Based Multifactor Dimension Reduction Algorithm (MB-MDR). *PLoS One.* 2020;15(2):e0227997.
 48. Mizuki N, Ota M, Kimura M, Ohno S, Ando H, Katsuyama Y, et al. Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene: a strong association of six GCT repetitions with Behçet disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(4):1298-303.
 49. Karasneh J, Gül A, Ollier WE, Silman AJ, Worthington J. Whole-genome screening for susceptibility genes in multicase families with Behçet's disease. *Arthritis Rheum.* 2005;52(6):1836-42.
 50. Nakao K, Isashiki Y, Sonoda S, Uchino E, Shimonagano Y, Sakamoto T. Nitric oxide synthase and superoxide dismutase gene polymorphisms in Behçet disease. *Arch Ophthalmol.* 2007;125(2):246-51.
 51. Touma Z, Farra C, Hamdan A, Shamseddeen W, Uthman I, Hourani H, et al. TNF polymorphisms in patients with Behçet disease: a meta-analysis. *Arch Med Res.* 2010;41(2):142-6.
 52. Gunesacar R, Erken E, Bozkurt B, Ozer HT, Dinkci S, Erken EG, et al. Analysis of CD28 and CTLA-4 gene polymorphisms in Turkish patients with Behcet's disease. *Int J Immunogenet.* 2007;34(1):45-9.
 53. 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):581-7.
 54. Tursen U, Tamer L, Api H, Yildirim H, Baz K, Ikizoglu G, et al. Cytochrome P450 polymorphisms in patients with Behcet's disease. *Int J Dermatol.* 2007;46(2):153-6.
 55. Alayli G, Aydin F, Coban AY, Süllü Y, Cantürk F, Bek Y, et al. T helper 1 type cytokines polymorphisms: association with susceptibility to Behçet's disease. *Clin Rheumatol.* 2007;26(8):1299-305.
 56. Lee YJ, Kang SW, Park JJ, Bae YD, Lee EY, Lee EB, et al. Interleukin-18 promoter polymorphisms in patients with Behçet's disease. *Hum Immunol.* 2006;67(10):812-8.
 57. Horie Y, Meguro A, Ota M, Kitaichi N, Katsuyama Y, Takemoto Y, et al. Association of TLR4 polymorphisms with Behcet's disease in a Korean population. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48(6):638-42.
 58. Sousa I, Shahram F, Francisco D, Davatchi F, Abdollahi BS, Ghaderibarmi F, et al. Brief report: association of CCR1, KLRC4, IL12A-AS1, STAT4, and ERAP1 With Behçet's disease in Iranians. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67(10):2742-8.
 59. Hu J, Hou S, Zhu X, Fang J, Zhou Y, Liu Y, et al. Interleukin-10 gene polymorphisms are associated with Behcet's disease but not with Vogt-

- Koyanagi-Harada syndrome in the Chinese Han population. *Mol Vis*. 2015;21:589-603.
60. Ortiz Fernández L, Coit P, Yilmaz V, Yentür SP, Alibaz-Oner F, Aksu K, et al. Genetic Association of a Gain-of-Function IFNGR1 Polymorphism and the Intergenic Region LNCAROD/DKK1 With Behçet's Disease. *Arthritis Rheumatol*. 2021;73(7):1244-52.
 61. Livneh A, Aksentijevich I, Langevitz P, Torosyan Y, N GS, Shinar Y, et al. A single mutated MEFV allele in Israeli patients suffering from familial Mediterranean fever and Behçet's disease (FMF-BD). *Eur J Hum Genet*. 2001;9(3):191-6.
 62. Zhu Y, Qiu Y, Yu H, Yi S, Su W, Kijlstra A, et al. Aberrant DNA methylation of GATA binding protein 3 (GATA3), interleukin-4 (IL-4), and transforming growth factor- β (TGF- β) promoters in Behcet's disease. *Oncotarget*. 2017;8(38):64263-72.
 63. Consolandi C, Turrone S, Emmi G, Severgnini M, Fiori J, Peano C, et al. Behçet's syndrome patients exhibit specific microbiome signature. *Autoimmun Rev*. 2015;14(4):269-76.
 64. van der Houwen TB, van Laar JAM, Kappen JH, van Hagen PM, de Zoete MR, van Muijlwijk GH, et al. Behçet's Disease Under Microbiotic Surveillance? A Combined Analysis of Two Cohorts of Behçet's Disease Patients. *Front Immunol*. 2020;11:1192.
 65. Apan TZ, Gürsel R, Dolgun A. Increased seropositivity of *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated gene-A in Behçet's disease. *Clin Rheumatol*. 2007;26(6):885-9.
 66. Yu Y, Yao X, Liang J, Lu C, Yan T, Lin J. Is *Helicobacter pylori* associated with Behçet's syndrome? A meta-analysis. *Helicobacter*. 2019;24(6):e12663.
 67. Baskan EB, Yilmaz E, Saricaoglu H, Alkan G, Ercan I, Mistik R, et al. Detection of parvovirus B19 DNA in the lesional skin of patients with Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol*. 2007;32(2):186-90.
 68. Evereklioglu C. Current concepts in the etiology and treatment of Behçet disease. *Surv Ophthalmol*. 2005;50(4):297-350.
 69. Borlu M. Behçet hastalığında etyopatogenez. *Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2007;16(1):63-72.
 70. Kayıkçioğlu M, Aksu K, Hasdemir C, Keser G, Turgan N, Kültürsay H, et al. Endothelial functions in Behçet's disease. *Rheumatol Int*. 2006;26(4):304-8.
 71. Kansu E, Sahin G, Sahin F, Sivri B, Sayek I, Batman F. Impaired prostacyclin synthesis by vessel walls in Behçet's disease. *Lancet*. 1986;2(8516):1154.
 72. Duygulu F, Evereklioglu C, Calis M, Borlu M, Cekmen M, Ascioğlu O. Synovial nitric oxide concentrations are increased and correlated with serum levels in patients with active Behçet's disease: a pilot study. *Clin Rheumatol*. 2005;24(4):324-30.

73. La Regina M, Orlandini F, Prisco D, Dentali F. Homocysteine in vascular Behcet disease: a meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(10):2067-74.
74. Cekmen M, Evereklioglu C, Er H, Inalöz HS, Doganay S, Türköz Y, et al. Vascular endothelial growth factor levels are increased and associated with disease activity in patients with Behçet's syndrome. *Int J Dermatol.* 2003;42(11):870-5.
75. Probst K, Fijnheer R, Rothova A. Endothelial cell activation and hypercoagulability in ocular Behçet's disease. *Am J Ophthalmol.* 2004;137(5):850-7.
76. Akar S, Ozcan MA, Ateş H, Gürler O, Alacacioglu I, Ozsan GH, et al. Circulated activated platelets and increased platelet reactivity in patients with Behçet's disease. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2006;12(4):451-7.
77. Tatlican S, Duran FS, Eren C, Eskioglu F, Dikmenoglu N, Oktay B, et al. Reduced erythrocyte deformability in active and untreated Behçet's disease patients. *Int J Dermatol.* 2010;49(2):167-71.
78. Ricart JM, Ramón LA, Vayá A, España F, Santaolalia ML, Todolí J, et al. Fibrinolytic inhibitor levels and polymorphisms in Behçet disease and their association with thrombosis. *Br J Haematol.* 2008;141(5):716-9.
79. Toledo-Samaniego N, Oblitas CM, Peñaloza-Martínez E, Del-Toro-Cervera J, Alvarez-Sala-Walther LA, Demelo-Rodríguez P, et al. Arterial and venous involvement in Behçet's syndrome: a narrative review. *J Thromb Thrombolysis.* 2022;54(1):162-71.
80. Zouboulis CC, Vaiopoulos G, Marcomichelakis N, Palimeris G, Markidou I, Thouas B, et al. Onset signs, clinical course, prognosis, treatment and outcome of adult patients with Adamantiades-Behçet's disease in Greece. *Clin Exp Rheumatol.* 2003;21(4 Suppl 30):S19-26.
81. Smith EL, Yazici Y. Clinical manifestations and diagnosis of Behçet's syndrome. UpToDate [updated on 2311. 2020].
82. Soy M, Erken E, Konca K, Ozbek S. Smoking and Behçet's disease. *Clinical rheumatology.* 2000;19(6):508-9.
83. Soy M, Erken E, Konca K, Ozbek S. Smoking and Behçet's disease. *Clin Rheumatol.* 2000;19(6):508-9.
84. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. International Study Group for Behçet's Disease. *Lancet.* 1990;335(8697):1078-80.
85. Kaklamani VG, Vaiopoulos G, Markomichelakis N, Kaklamanis P. Recurrent epididymo-orchitis in patients with Behçet's disease. *The Journal of urology.* 2000;163(2):487-9.
86. Cho Y-H, Jung J, Lee K-H, Bang D, Lee E-S, Lee S. Clinical features of patients with Behçet's disease and epididymitis. *The Journal of urology.* 2003;170(4 Part 1):1231-3.
87. Wechsler F, Davatchi F. Criteria for diagnosis of Behcet's disease. *The Lancet.* 1990;335(8697):1078-80.

88. Zouboulis CC. Epidemiology of Adamantiades-Behçet's disease. *Ann Med Interne (Paris)*. 1999;150(6):488-98.
89. Demirkesen C, Tüzüner N, Mat C, Senocak M, Büyükbabani N, Tüzün Y, et al. Clinicopathologic evaluation of nodular cutaneous lesions of Behçet syndrome. *Am J Clin Pathol*. 2001;116(3):341-6.
90. Diri E, Mat C, Hamuryudan V, Yurdakul S, Hızlı N. Papulopustular skin lesions are seen more frequently in patients with Behçet's syndrome who have arthritis: a controlled and masked study. *Annals of the rheumatic diseases*. 2001;60(11):1074-6.
91. Tunc R, Keyman E, Melikoglu M, Fresko I, Yazici H. Target organ associations in Turkish patients with Behçet's disease: a cross sectional study by exploratory factor analysis. *The Journal of rheumatology*. 2002;29(11):2393-6.
92. Alpsoy E, Zouboulis CC, Ehrlich GE. Mucocutaneous lesions of Behcet's disease. *Yonsei medical journal*. 2007;48(4):573-85.
93. Assar S, Sadeghi B, Davatchi F, Ghodsi SZ, Nadji A, Shahram F, et al. The association of pathergy reaction and active clinical presentations of Behçet's disease. *Reumatologia*. 2017;55(2):79-83.
94. Tugal-Tutkun I, Onal S, Altan-Yaycioglu R, Huseyin Altunbas H, Urgancioglu M. Uveitis in Behçet disease: an analysis of 880 patients. *Am J Ophthalmol*. 2004;138(3):373-80.
95. Al-Araji A, Kidd DP. Neuro-Behçet's disease: epidemiology, clinical characteristics, and management. *The Lancet Neurology*. 2009;8(2):192-204.
96. Alpsoy E, Aktekin M, Er H, Durusoy C, Yilmaz E. A randomized, controlled and blinded study of papulopustular lesions in Turkish Behçet's patients. *International journal of dermatology*. 1998;37(11):839-42.
97. Noel N, Bernard R, Wechsler B, Resche-Rigon M, Depaz R, Le Thi Huong Boutin D, et al. Long-Term Outcome of Neuro-Behçet's Disease. *Arthritis & Rheumatology*. 2014;66(5):1306-14.
98. Hadfield M, Aydin F, Lippman H, Sanders K. Neuro-Behçet's disease. *Clinical neuropathology*. 1997;16(2):55-60.
99. Hamuryudan V, Er T, Seyahi E, Akman C, Tüzün H, Fresko I, et al. Pulmonary artery aneurysms in Behçet syndrome. *Am J Med*. 2004;117(11):867-70.
100. Sarica-Kucukoglu R, Akdag-Kose A, Kayabal IM, Yazganoglu KD, Disci R, Erzen D, et al. Vascular involvement in Behçet's disease: a retrospective analysis of 2319 cases. *Int J Dermatol*. 2006;45(8):919-21.
101. Kim HA, Choi KW, Song YW. Arthropathy in Behçet's disease. *Scand J Rheumatol*. 1997;26(2):125-9.
102. Davatchi F. Behçet's disease. *Int J Rheum Dis*. 2018;21(12):2057-8.
103. Altıparmak MR, Tanverdi M, Pamuk ON, Tunç R, Hamuryudan V. Glomerulonephritis in Behçet's disease: report of seven cases and review of the literature. *Clin Rheumatol*. 2002;21(1):14-8.

104. Geri G, Wechsler B, Thi Huong DL, Isnard R, Piette JC, Amoura Z, et al. Spectrum of cardiac lesions in Behçet disease: a series of 52 patients and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2012;91(1):25-34.
105. Wang H, Guo X, Tian Z, Liu Y, Wang Q, Li M, et al. Intracardiac thrombus in patients with Behcet's disease: clinical correlates, imaging features, and outcome: a retrospective, single-center experience. *Clin Rheumatol*. 2016;35(10):2501-7.
106. Cheon JH, Kim WH. An update on the diagnosis, treatment, and prognosis of intestinal Behçet's disease. *Curr Opin Rheumatol*. 2015;27(1):24-31.
107. Valenti S, Gallizzi R, De Vivo D, Romano C. Intestinal Behçet and Crohn's disease: two sides of the same coin. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2017;15(1):33.
108. Watanabe K, Tanida S, Inoue N, Kunisaki R, Kobayashi K, Nagahori M, et al. Evidence-based diagnosis and clinical practice guidelines for intestinal Behçet's disease 2020 edited by Intractable Diseases, the Health and Labour Sciences Research Grants. *J Gastroenterol*. 2020;55(7):679-700.
109. Guven DC, Bolek EC, Altintop SE, Celikten B, Aktas BY, Kiraz S, et al. Cancer incidence in Behçet's disease. *Ir J Med Sci*. 2020;189(4):1209-14.
110. Na SJ, Kang MJ, Yu DS, Han KD, Lee JH, Park YG, et al. Cancer risk in patients with Behçet disease: A nationwide population-based dynamic cohort study from Korea. *J Am Acad Dermatol*. 2018;78(3):464-70.e2.
111. Alpsoy E. Behçet's disease: treatment of mucocutaneous lesions. *Clin Exp Rheumatol*. 2005;23(4):532-9.
112. Tanacan E, Dincer D, Erdogan FG, Gurler A. A cutoff value for the Systemic Immune-Inflammation Index in determining activity of Behçet disease. *Clin Exp Dermatol*. 2021;46(2):286-91.
113. Dalvi SR, Yildirim R, Yazici Y. Behcet's syndrome. *Drugs*. 2012;72(17):2223-41.
114. Disease ITftRotICfBs, Davatchi F, Assaad-Khalil S, Calamia K, Crook J, Sadeghi-Abdollahi B, et al. The International Criteria for Behçet's Disease (ICBD): a collaborative study of 27 countries on the sensitivity and specificity of the new criteria. *Journal of the european Academy of Dermatology and Venereology*. 2014;28(3):338-47.
115. Alpsoy E, Er H, Durusoy C, Yilmaz E. The use of sucralfate suspension in the treatment of oral and genital ulceration of Behçet disease: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Arch Dermatol*. 1999;135(5):529-32.
116. Chams-Davatchi C, Barikbin B, Shahram F, Nadji A, Moghaddassi M, Yousefi M, et al. Pimecrolimus versus placebo in genital aphthous ulcers of Behcet's disease: a randomized double-blind controlled trial. *Int J Rheum Dis*. 2010;13(3):253-8.
117. Davatchi F, Sadeghi Abdollahi B, Tehrani Banihashemi A, Shahram F, Nadji A, Shams H, et al. Colchicine versus placebo in Behçet's disease: randomized, double-blind, controlled crossover trial. *Mod Rheumatol*. 2009;19(5):542-9.

118. Hatemi G, Mahr A, Takeno M, Kim DY, Saadoun D, Direskeneli H, et al. Apremilast for oral ulcers associated with active Behçet's syndrome over 68 weeks: long-term results from a phase 3 randomised clinical trial. *Clin Exp Rheumatol*. 2021;39 Suppl 132(5):80-7.
119. Takeno M, Dobashi H, Tanaka Y, Kono H, Sugii S, Kishimoto M, et al. Apremilast in a Japanese subgroup with Behçet's syndrome: Results from a Phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Mod Rheumatol*. 2022;32(2):413-21.
120. Femiano F, Buonaiuto C, Gombos F, Lanza A, Cirillo N. Pilot study on recurrent aphthous stomatitis (RAS): a randomized placebo-controlled trial for the comparative therapeutic effects of systemic prednisone and systemic montelukast in subjects unresponsive to topical therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010;109(3):402-7.
121. Yazici H, Pazarli H, Barnes CG, Tüzün Y, Ozyazgan Y, Silman A, et al. A controlled trial of azathioprine in Behçet's syndrome. *N Engl J Med*. 1990;322(5):281-5.
122. Vallet H, Riviere S, Sanna A, Deroux A, Moulis G, Addimanda O, et al. Efficacy of anti-TNF alpha in severe and/or refractory Behçet's disease: Multicenter study of 124 patients. *J Autoimmun*. 2015;62:67-74.
123. Masuda K, Nakajima A, Urayama A, Nakae K, Kogure M, Inaba G. Double-masked trial of cyclosporin versus colchicine and long-term open study of cyclosporin in Behçet's disease. *Lancet*. 1989;1(8647):1093-6.
124. Alpsoy E, Durusoy C, Yilmaz E, Ozgurel Y, Ermis O, Yazar S, et al. Interferon alfa-2a in the treatment of Behçet disease: a randomized placebo-controlled and double-blind study. *Arch Dermatol*. 2002;138(4):467-71.
125. Yurdakul S, Mat C, Tüzün Y, Ozyazgan Y, Hamuryudan V, Uysal O, et al. A double-blind trial of colchicine in Behçet's syndrome. *Arthritis Rheum*. 2001;44(11):2686-92.
126. Vieira M, Buffier S, Vautier M, Le Joncour A, Jamilloux Y, Gerfaud-Valentin M, et al. Apremilast in Refractory Behçet's Syndrome: A Multicenter Observational Study. *Front Immunol*. 2020;11:626792.
127. Hamuryudan V, Ozyazgan Y, Hizli N, Mat C, Yurdakul S, Tüzün Y, et al. Azathioprine in Behcet's syndrome: effects on long-term prognosis. *Arthritis Rheum*. 1997;40(4):769-74.
128. Fabiani C, Vitale A, Emmi G, Bitossi A, Lopalco G, Sota J, et al. Long-term retention rates of adalimumab and infliximab in non-infectious intermediate, posterior, and panuveitis. *Clin Rheumatol*. 2019;38(1):63-70.
129. Vallet H, Seve P, Biard L, Baptiste Fraison J, Bielefeld P, Perard L, et al. Infliximab Versus Adalimumab in the Treatment of Refractory Inflammatory Uveitis: A Multicenter Study From the French Uveitis Network. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(6):1522-30.

130. Ozyazgan Y, Yurdakul S, Yazici H, Tüzün B, Işçimen A, Tüzün Y, et al. Low dose cyclosporin A versus pulsed cyclophosphamide in Behçet's syndrome: a single masked trial. *Br J Ophthalmol.* 1992;76(4):241-3.
131. Hamuryudan V, Ozyazgan Y, Fresko Y, Mat C, Yurdakul S, Yazici H. Interferon alfa combined with azathioprine for the uveitis of Behçet's disease: an open study. *Isr Med Assoc J.* 2002;4(11 Suppl):928-30.
132. Deuter CM, Kötter I, Günaydin I, Stübiger N, Doycheva DG, Zierhut M. Efficacy and tolerability of interferon alpha treatment in patients with chronic cystoid macular oedema due to non-infectious uveitis. *Br J Ophthalmol.* 2009;93(7):906-13.
133. Davatchi F, Shams H, Shahram F, Nadji A, Chams-Davatchi C, Sadeghi Abdollahi B, et al. Methotrexate in ocular manifestations of Behcet's disease: a longitudinal study up to 15 years. *Int J Rheum Dis.* 2013;16(5):568-77.
134. Hatemi I, Esatoglu SN, Hatemi G, Erzin Y, Yazici H, Celik AF. Characteristics, Treatment, and Long-Term Outcome of Gastrointestinal Involvement in Behcet's Syndrome: A Strobe-Compliant Observational Study From a Dedicated Multidisciplinary Center. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(16):e3348.
135. Hisamatsu T, Ueno F, Matsumoto T, Kobayashi K, Koganei K, Kunisaki R, et al. The 2nd edition of consensus statements for the diagnosis and management of intestinal Behçet's disease: indication of anti-TNF α monoclonal antibodies. *J Gastroenterol.* 2014;49(1):156-62.
136. Zhang Q, Ma C, Dong R, Xiang W, Li M, Ma Z, et al. Efficacy and Safety of Anti-Tumor Necrosis Factor-Alpha Agents for Patients with Intestinal Behcet's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Yonsei Med J.* 2022;63(2):148-57.
137. Kinoshita H, Nishioka H, Ikeda A, Ikoma K, Sameshima Y, Ohi H, et al. Remission induction, maintenance, and endoscopic outcome with oral 5-aminosalicylic acid in intestinal Behçet's disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2019;34(11):1929-39.
138. Calamia KT, Schirmer M, Melikoglu M. Major vessel involvement in Behçet disease. *Curr Opin Rheumatol.* 2005;17(1):1-8.
139. Zhong H, Liu T, Liu Y, Zhang X, Zhou Y, Su Y. Efficacy and safety of tocilizumab in Behçet's syndrome with refractory arterial lesions: a single-centre observational cohort study in China. *Rheumatology (Oxford).* 2022;61(7):2923-30.
140. Desbois AC, Wechsler B, Resche-Rigon M, Piette JC, Huong Dle T, Amoura Z, et al. Immunosuppressants reduce venous thrombosis relapse in Behçet's disease. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2753-60.
141. Kalra S, Silman A, Akman-Demir G, Bohlega S, Borhani-Haghighi A, Constantinescu CS, et al. Diagnosis and management of Neuro-Behçet's disease: international consensus recommendations. *J Neurol.* 2014;261(9):1662-76.

142. Yalcin Kehribar D, Gunaydin S, Ozgen M. Infliximab therapy in parenchymal neuro-Behçet's disease: A single-center experience. *Int J Rheum Dis.* 2021;24(10):1302-7.
143. Kötter I, Günaydin I, Batra M, Vonthein R, Stübiger N, Fierlbeck G, et al. CNS involvement occurs more frequently in patients with Behçet's disease under cyclosporin A (CSA) than under other medications--results of a retrospective analysis of 117 cases. *Clin Rheumatol.* 2006;25(4):482-6.
144. Adamson KA, Pearce SH, Lamb JR, Seckl JR, Howie SE. A comparative study of mRNA and protein expression of the autoimmune regulator gene (Aire) in embryonic and adult murine tissues. *J Pathol.* 2004;202(2):180-7.
145. Perniola R. Twenty years of AIRE. *Frontiers in immunology.* 2018;9:98.
146. Siggs OM, Makaroff LE, Liston A. The why and how of thymocyte negative selection. *Curr Opin Immunol.* 2006;18(2):175-83.
147. Kyewski B, Klein L. A central role for central tolerance. *Annu Rev Immunol.* 2006;24:571-606.
148. Anderson MS, Venanzi ES, Klein L, Chen Z, Berzins SP, Turley SJ, et al. Projection of an immunological self shadow within the thymus by the aire protein. *Science.* 2002;298(5597):1395-401.
149. Liston A, Lesage S, Wilson J, Peltonen L, Goodnow CC. Aire regulates negative selection of organ-specific T cells. *Nat Immunol.* 2003;4(4):350-4.
150. Kogawa K, Nagafuchi S, Katsuta H, Kudoh J, Tamiya S, Sakai Y, et al. Expression of AIRE gene in peripheral monocyte/dendritic cell lineage. *Immunol Lett.* 2002;80(3):195-8.
151. Lee JW, Epardaud M, Sun J, Becker JE, Cheng AC, Yonekura AR, et al. Peripheral antigen display by lymph node stroma promotes T cell tolerance to intestinal self. *Nat Immunol.* 2007;8(2):181-90.
152. Gül A, Hajeer AH, Worthington J, Ollier WE, Silman AJ. Linkage mapping of a novel susceptibility locus for Behçet's disease to chromosome 6p22-23. *Arthritis Rheum.* 2001;44(11):2693-6.
153. Betterle C, Greggio NA, Volpato M. Clinical review 93: Autoimmune polyglandular syndrome type 1. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(4):1049-55.
154. Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, Libman I, LaPorte R, Tuomilehto J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. *Diabetes Care.* 2000;23(10):1516-26.
155. Halonen M, Eskelin P, Myhre AG, Perheentupa J, Husebye ES, Kämpe O, et al. AIRE mutations and human leukocyte antigen genotypes as determinants of the autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy phenotype. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(6):2568-74.
156. Gavanescu I, Benoist C, Mathis D. B cells are required for Aire-deficient mice to develop multi-organ autoinflammation: A therapeutic approach for APECED patients. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(35):13009-14.

157. Popler J, Alimohammadi M, Kämpe O, Dalin F, Dishop MK, Barker JM, et al. Autoimmune polyendocrine syndrome type 1: Utility of KCNRG autoantibodies as a marker of active pulmonary disease and successful treatment with rituximab. *Pediatr Pulmonol*. 2012;47(1):84-7.
158. Kurozumi A, Okada Y, Arao T, Narisawa M, Torimoto K, Yamamoto S, et al. Induction of thyroid remission using rituximab in a patient with type 3 autoimmune polyglandular syndrome including Graves' disease and type 1 diabetes mellitus: a case report. *Endocr J*. 2015;62(1):69-75.
159. Gwertzman R, Corey H, Roberti I. Autoimmune polyglandular syndrome type I can have significant kidney disease in children including recurrence in renal allograft - a report of two cases. *Clin Nephrol*. 2016;85(6):358-62.
160. Kluger N, Kataja J, Aho H, Rönn AM, Krohn K, Ranki A. Kidney involvement in autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy in a Finnish cohort. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(9):1750-7.
161. Puel A, Döffinger R, Natividad A, Chrabieh M, Barcenas-Morales G, Picard C, et al. Autoantibodies against IL-17A, IL-17F, and IL-22 in patients with chronic mucocutaneous candidiasis and autoimmune polyendocrine syndrome type I. *J Exp Med*. 2010;207(2):291-7.
162. Sarkadi AK, Taskó S, Csorba G, Tóth B, Erdős M, Maródi L. Autoantibodies to IL-17A may be correlated with the severity of mucocutaneous candidiasis in APECED patients. *J Clin Immunol*. 2014;34(2):181-93.
163. Ng WF, von Delwig A, Carmichael AJ, Arkwright PD, Abinun M, Cant AJ, et al. Impaired T(H)17 responses in patients with chronic mucocutaneous candidiasis with and without autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(5):1006-15, 15.e1-4.
164. Perheentupa J. Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(8):2843-50.
165. Capalbo D, Improda N, Esposito A, De Martino L, Barbieri F, Betterle C, et al. Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy from the pediatric perspective. *J Endocrinol Invest*. 2013;36(10):903-12.
166. Mazza C, Buzi F, Ortolani F, Vitali A, Notarangelo LD, Weber G, et al. Clinical heterogeneity and diagnostic delay of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy syndrome. *Clin Immunol*. 2011;139(1):6-11.
167. Richman RA, Rosenthal IM, Solomon LM, Karachorlu KV. Candidiasis and multiple endocrinopathy. With oral squamous cell carcinoma complications. *Arch Dermatol*. 1975;111(5):625-7.
168. Rosa DD, Pasqualotto AC, Denning DW. Chronic mucocutaneous candidiasis and oesophageal cancer. *Med Mycol*. 2008;46(1):85-91.
169. Merenmies L, Tarkkanen A. Chronic bilateral keratitis in autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED). A long-term follow-up and visual prognosis. *Acta Ophthalmol Scand*. 2000;78(5):532-5.
170. Ward L, Paquette J, Seidman E, Huot C, Alvarez F, Crock P, et al. Severe autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy in an

- adolescent girl with a novel AIRE mutation: response to immunosuppressive therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(3):844-52.
171. Ulinski T, Perrin L, Morris M, Houang M, Cabrol S, Grapin C, et al. Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy syndrome with renal failure: impact of posttransplant immunosuppression on disease activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(1):192-5.
 172. Al-Owain M, Kaya N, Al-Zaidan H, Bin Hussain I, Al-Manea H, Al-Hindi H, et al. Renal failure associated with APECED and terminal 4q deletion: evidence of autoimmune nephropathy. *Clin Dev Immunol.* 2010;2010:586342.
 173. Cho M-L, Jung YO, Kim K-W, Park M-K, Oh H-J, Ju J-H, et al. IL-17 induces the production of IL-16 in rheumatoid arthritis. *Experimental & molecular medicine.* 2008;40(2):237-45.
 174. Glass WG, Sarisky RT, Vecchio AMD. Not-so-sweet sixteen: the role of IL-16 in infectious and immune-mediated inflammatory diseases. *Journal of interferon & cytokine research.* 2006;26(8):511-20.
 175. Franz JK, Kolb SA, Hummel KM, Lahrtz F, Neidhart M, Aicher WK, et al. Interleukin-16, produced by synovial fibroblasts, mediates chemoattraction for CD4+ T lymphocytes in rheumatoid arthritis. *European journal of immunology.* 1998;28(9):2661-71.
 176. Lard LR, Roep BO, Toes RE, Huizinga TW. Enhanced concentrations of interleukin 16 are associated with joint destruction in patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology.* 2004;31(1):35-9.
 177. Blaschke S, Schulz H, Schwarz G, Blaschke V, Müller GA, Reuss-Borst M. Interleukin 16 expression in relation to disease activity in rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology.* 2001;28(1):12-21.
 178. Kouchaki E, Akbari H, Mahmoudi F, Salehi M, Naimi E, Nikoueinejad H. Correlation of Serum Levels of Interleukine-16, CCL27, Tumor Necrosis Factor-related Apoptosis-inducing Ligand, and B-cell Activating Factor with Multiple Sclerosis Severity. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2022;21(1):27-34.
 179. Xue H, Gao L, Wu Y, Fang W, Wang L, Li C, et al. The IL-16 gene polymorphisms and the risk of the systemic lupus erythematosus. *Clinica Chimica Acta.* 2009;403(1-2):223-5.
 180. Lard L, Roep B, Verburgh C, Zwinderman A, Huizinga T. Elevated IL-16 levels in patients with systemic lupus erythematosus are associated with disease severity but not with genetic susceptibility to lupus. *Lupus.* 2002;11(3):181-5.
 181. Lovewell TR, McDonagh AJ, Messenger AG, Azzouz M, Tazi-Ahnini R. The AIRE-230Y polymorphism affects AIRE transcriptional activity: potential influence on AIRE function in the thymus. *PLoS One.* 2015;10(5):e0127476.
 182. Attia DH, Dorgham DA, El Maghraby AA, Alkaffas M, Abdel Kawy MA, Sherif MM, et al. Autoimmune Regulator Gene Polymorphisms in Egyptian Systemic Lupus Erythematosus Patients: Preliminary Results. *Int J Rheumatol.* 2021;2021:5546639.

183. Montufar-Robles I, Robles-Garnica JC, Cadena-Sandoval D, Barbosa-Cobos RE, González-Castillo DD, Romero-Díaz J, et al. The AIRE Ser196Ser synonymous variant is a risk factor for systemic lupus erythematosus. *Cellular Immunology*. 2019;346:103986.
184. Shao S, Li X-R, Cen H, Yin Z-S. Association of AIRE polymorphisms with genetic susceptibility to rheumatoid arthritis in a Chinese population. *Inflammation*. 2014;37:495-9.
185. Feng Z-J, Zhang S-L, Wen H-F, Liang Y. Association of rs2075876 polymorphism of AIRE gene with rheumatoid arthritis risk. *Human immunology*. 2015;76(4):281-5.
186. Xu Y-S, Jiang X-J, Chen J-M. A single nucleotide polymorphism of AIRE gene located in the 21q22. 3 increases the risk of rheumatoid arthritis. *Oncotarget*. 2017;8(42):71556.
187. Lim J, Kim K. Genetic variants differentially associated with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus reveal the disease-specific biology. *Scientific reports*. 2019;9(1):2739.
188. Stahl EA, Raychaudhuri S, Remmers EF, Xie G, Eyre S, Thomson BP, et al. Genome-wide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci. *Nature genetics*. 2010;42(6):508-14.
189. Murota A, Suzuki K, Kassai Y, Miyazaki T, Morita R, Kondo Y, et al. Serum proteomic analysis identifies interleukin 16 as a biomarker for clinical response during early treatment of rheumatoid arthritis. *Cytokine*. 2016;78:87-93.
190. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F, Bessioud M, Hamza M, Ayed K. Cytokine profile in Behçet's disease patients. Relationship with disease activity. *Scand J Rheumatol*. 2002;31(4):205-10.
191. Raziuddin S, al-Dalaan A, Bahabri S, Siraj AK, al-Sedairy S. Divergent cytokine production profile in Behçet's disease. Altered Th1/Th2 cell cytokine pattern. *J Rheumatol*. 1998;25(2):329-33.
192. Dalghous AM, Freysdottir J, Fortune F. Expression of cytokines, chemokines, and chemokine receptors in oral ulcers of patients with Behcet's disease (BD) and recurrent aphthous stomatitis is Th1-associated, although Th2-association is also observed in patients with BD. *Scand J Rheumatol*. 2006;35(6):472-5.
193. Sugi-Ikai N, Nakazawa M, Nakamura S, Ohno S, Minami M. Increased frequencies of interleukin-2- and interferon-gamma-producing T cells in patients with active Behçet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39(6):996-1004.
194. Frassanito MA, Dammacco R, Cafforio P, Dammacco F. Th1 polarization of the immune response in Behçet's disease: a putative pathogenetic role of interleukin-12. *Arthritis Rheum*. 1999;42(9):1967-74.
195. ElAtta AA, Ali Y, Bassyouni I, Talaat R. Correlation of myomir-206 and proinflammatory cytokines (IL-16 and IL-17) in patients with rheumatoid arthritis. *Reumatologia*. 2019;57(2):72-7.

196. Fava A, Rao DA, Mohan C, Zhang T, Rosenberg A, Fenaroli P, et al. Urine Proteomics and Renal Single-Cell Transcriptomics Implicate Interleukin-16 in Lupus Nephritis. *Arthritis Rheumatol.* 2022;74(5):829-39.
197. Kawabata K, Makino T, Makino K, Kajihara I, Fukushima S, Ihn H. IL-16 expression is increased in the skin and sera of patients with systemic sclerosis. *Rheumatology.* 2020;59(3):519-23.
198. Duan H, Fleming J, Pritchard DK, Amon LM, Xue J, Arnett HA, et al. Combined analysis of monocyte and lymphocyte messenger RNA expression with serum protein profiles in patients with scleroderma. *Arthritis & Rheumatism.* 2008;58(5):1465-74.
199. Yoon T, Pyo JY, Ahn SS, Song JJ, Park YB, Lee SW. Serum interleukin-16 significantly correlates with the Vasculitis Damage Index in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Res Ther.* 2020;22(1):73.



EKLER

EK-1: Etik Kurul Onay



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/859

31.12.2021

Sayın Doç. Dr. Demet Yalçın KEHRİBAR

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz **Behçet Hastalığında İnterlökin-16 (IL-16) ve AIRE (otoimmün regülatör Gen) Genlerinin Promotör Metilasyon Durumunun Araştırılması** başlıklı OMÜ KAİK 2021/634 Karar nolu Genetik çalışma nitelikli araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, Klinik Araştırmalar Etik kurulu yönergesine göre 29.12.2021 tarihli Etik Kurulumuzda incelenmiş etik açıdan uygun bulunmuştur. Ancak araştırma bütçesinin maddi desteği henüz sağlanamadığından projeye bütçe desteği sağlanıp, tarafımıza bildirilmesinden sonra başlanmasına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.



EK-2: Orijinallik Analizi

ORIGINALITY REPORT

7%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet	274 words — 3%
2	dergipark.org.tr Internet	41 words — < 1%
3	acikerisim.ybu.edu.tr:8080 Internet	30 words — < 1%
4	romatoloji365.org Internet	23 words — < 1%
5	www.researchgate.net Internet	22 words — < 1%
6	ihslc.mehmetakif.edu.tr Internet	21 words — < 1%
7	Özdemir, Zeliha Kübra. "Behçet Hastalarında Demografik, Klinik ve Paraklinik Özelliklerin Retrospektif Değerlendirilmesi", Bursa Uludag University (Turkey), 2022 ProQuest	18 words — < 1%
8	www.selcukmedj.org Internet	15 words — < 1%
9	nek.istanbul.edu.tr:4444 Internet	