TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEHÇET HASTALARINDA VİTAMİN D RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMLERİ VE VİTAMİN D RESEPTÖR DÜZEYİ

Nazlı Ecem DAL

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Göksal KESKİN

Bu araştırma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 16H0230003 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

2016

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Behçet Hastalarında Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri ve Vitamin D Reseptör Düzeyi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Nazlı Ecem DAL

Kasım, 2016

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda

Nazlı Ecem DAL tarafından hazırlanan

"Behçet Hastalarında Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri ve

Vitamin D Reseptör Düzeyi" adlı tez çalışması

aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 14.12.2016

Prof. Dr. Ümit ÖLMEZ

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Göksal KESKİN

Ankara Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Mukaddes GÜRLER

Hacettepe Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. K. Zafer KARAER

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan ii
Kabul ve Onay iii
İçindekiler iv
Önsöz vi
Simgeler ve Kısaltmalar viii
Şekiller x
Çizelgeler xi

1.GİRİŞ 1
1.1. Behçet Hastalığı 1
1.1.1. Behçet Epidemiyolojisi 1
1.1.2. Behçet Etiyolojisi 2
1.1.3. Behçet Patogenezi 3
1.1.4. Behçet İmmünogenetiği 6
1.1.4.1. HLA Genleri 7
1.1.4.1.1. HLA-B*51 7
1.1.4.1.2. Diğer MHC Sınıf I Genleri 8
1.1.4.1.3. HLA B'nin Aminoasit Varyasyonları ile BH İlişkisi 9
1.1.4.2. HLA Dışı Genler 10
1.1.4.2.1. IL10 10
1.1.4.2.2. IL23R-IL12RB2 10
1.1.4.2.3. STAT4 11
1.1.4.2.4. TNFAIP3 12
1.1.4.2.5. CCR1 – CCR3 13
1.1.4.2.6. KLRC4 13
1.1.4.2.7. ERAP1 14
1.1.4.2.8. FUT2 15
1.1.4.2.9. IL12A 16
1.1.5. Behçet Hastalığının Klinik Bulguları 17
1.1.5.1. Mukokutanöz Bulgular 17
1.1.5.2. Deri Bulguları 17
1.1.5.3. Oküler Bulgular 18
1.1.5.4. Kardiyak Tutulum 18
1.1.5.5. Eklem Bulguları 18
1.1.5.6. Nörolojik Bulgular 19
1.1.5.7. Gastrointestinal Tutulum 19
1.1.5.8. Vasküler Tutulum 19
1.1.5.9. Pulmoner Bulgular 20
1.1.5.10. Ürogenital Bulgular 20
1.1.6. Behçet Hastalığının Tanısı 20
1.2. Vitamin D Metabolizması ve Sinyalizasyonu 22
1.2.1. Vitamin D Sentezi 22
1.2.2. Vitamin D Sinyalizasyonu 23
1.2.2.1. Vitamin D Reseptörünün Moleküler Yapısı ve Fonksiyonu 24

1.2.2.1.1. VDR ile Gen Ekspresyonunun Aktivasyonu 25
1.2.2.1.2. VDR ile Gen Ekspresyonunun Baskılanması 26
1.2.2.2. Vitamin D Reseptör Geni 27
1.2.2.2.1. Promotor ve Enhancer Bölgeler 28
1.2.2.2.2. Sekans Polimorfizmleri 30
1.2.3. Vitamin D ve İmmünolojik Regülasyon 32
1.2.3.1. Vitamin D ve Doğal İmmünite 33
1.2.3.1.1. Vitamin D ve Cathelicidin 33
1.2.3.2. Vitamin D ve Adaptif İmmünite 34
1.2.3.3. Vitamin D ve İnflamasyon 35

2.GEREÇ ve YÖNTEM 37
2.1. Kan Örneklerinin Toplanması 37
2.2. DNA İzolasyonu 38
2.3. PCR (Polymerase Chain Reaction) 39
2.4. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) 41
2.5. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) 42
2.6. İstatistiksel Analiz 44

3.BULGULAR 45
3.1. Hasta Analizi 45
3.2. Alel ve Genotip Analizi 46
3.2.1. Rs1544410 Polimorfizmi 46
3.2.2. Rs2228570 Polimorfizmi 49
3.2.3. Rs7975232 Polimorfizmi 52
3.2.4. Rs731236 Polimorfizmi 54
3.3. VDR Gen Polimorfizmlerinin Birbiri ile İlişkisi 56
3.4. Vitamin D Reseptör Düzeyleri 57

4.TARTIŞMA 59
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 64
ÖZET 65
SUMMARY 66
KAYNAKLAR 67
EKLER 81
EK-1: Etik Kurul Raporu 81
EK-2: Behçet Hastalığı Hasta Takip Formu 83
ÖZGEÇMİŞ 84

ÖNSÖZ

Türk dermatolog Hulusi BEHÇET tarafından 1937 yılında tanımlanan Behçet hastalığının patogenezinde, genetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol aldığı düşünülse de, bugüne kadar hastalığın mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Hastalığın ailesel kalıtımı ile birlikte özel coğrafi dağılımı, patogenezde genetiğin önemli bir rolü olduğunu bir kez daha vurgularken; hastalığın temelinde otoinflamatuvar ve otoimmün mekanizmaların bulunduğu hipotezi, son yıllarda HLA genleri dışında immün yanıtta görev alan birçok genin Behçet hastalığı ile ilişkisinin araştırılmasını sağlamıştır. Bu çalışmada, Vitamin D'nin immün sistemin regülasyonundaki önemi göz önünde bulundurularak; Vitamin D sinyalizasyonunda kritik bir rolü olan, Vitamin D'nin yüksek affinite ile bağlandığı Vitamin D Reseptörü'nün ekspresyonundan sorumlu olan VDR geninde tanımlanmış dört polimorfizm ve Vitamin D Reseptör düzeyleri ile Behçet hastalığının ilişkisi Türk popülasyonunda araştırılmış, bu çalışmanın hastalığın patogenezinin aydınlatılmasına, geliştirilecek diyagnoz ve tedavi yöntemlerine ışık tutması amaçlanmıştır.

Bu çalışma, "Behçet Hastalarında Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri ve Vitamin D Reseptör Düzeyi" proje adı ve 16H0230003 proje numarası ile Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Akademik hayatımın başlangıcı olan yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgisi ve deneyiminin yanısıra, iyimserliği ve pozitif enerjisi ile her türlü aksilikte yüzümü güldüren ve düştüğüm yerden kalkmamı sağlayan canım danışmanım Prof. Dr. Göksal KESKİN'e, bilginin bir derya deniz olduğunu öğreten bilim dalı başkanımız, sevgili hocam Prof. Dr. Ümit ÖLMEZ'e ve istatistiksel analizlerde yardım elini uzatan, kendisinden çok şey öğrendiğim saygıdeğer hocam Prof. Dr. Atilla ELHAN'a teşekkürü borç bilirim.

Bu çalışmanın tamamlanmasında desteği olan ve yardımlarından bir an bile mahrum kalmadığım Uzm. Dr. Zihni KARAEREN'e, klinik analizlerdeki yardımı ve griliklere renk katan manevi desteği için Uzm. Dr. Pamir ÇERÇİ'ye, yardımseverlikleri, sıcak ortamları ve sevecen tavırları için başta Bio. Aykut ÜNAL ve Fatma Gül ERESEN olmak üzere tüm Ankara Üniversitesi, İbn-i Sina Hastanesi Merkez Laboratuvarı ailesine teşekkür ederim.

Ders döneminden tez çalışmalarıma kadar tüm yüksek lisans eğitimim boyunca teknik desteklerini ve güler yüzlerini hiç esirgemeyen Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi yüksek lisans birimi sorumlusu Sn. Zübeyde ÜNSAL'a ve bilgi işlem departmanı sorumlusu Sn. Onur KOYUNCU'ya teşekkürler.

Çalışmanın şekillenmeye başladığı ilk andan, planlanması, projeleştirilmesi ve yürütülmesine kadar, sürecin en sıkıntılı noktalarında her türlü teknik ve manevi desteği veren, hayatımın her anında akıl hocalığına ihtiyaç duyacağım canım dostum Bio. Ali BİRDOĞAN'a, bir an olsun esirgemediği manevi desteği için canımın içi Bio. Selin IŞILDAK'a ve güzel arkadaşlıklarıyla motivasyon kaynağı oldukları için Bio. Derya ONAT'a, Bio. Volkan SERİN'e, Bio. Burcu SIRMATEL'e, Bora BAKRIYANIK'a ve Eren SELVİ'ye teşekkürler…

Son olarak, beni ben yapan karakterimi ve bugün geldiğim noktayı borçlu olduğum annem Neriman RAHAT, babam Ferruh DAL, en güzel iki gerçeğim, sevgili abilerim Fikri ve Ferdi DAL, ablam, en yakınım Lale DAL, ailemizin yeni üyesi İdil DAL ve en büyük şansım olan bütün geniş ailem; en içten teşekkürlerim sizlere!

Bio. Nazlı Ecem DAL
Ankara, 2016

SİMGELER ve KISALTMALAR

$1,25(OH)_2D_3$	1,25 Dihidroksi Vitamin D3
$25(OH)D_3$	25 Hidroksi Vitamin D3
3'UTR	3' Untranslated Region
α	Alfa
Aa	Aminoasit
Arg	Arjinin
AS	Ankilozan Spondilit
β	Beta
Bç	Baz çifti
BH	Behçet Hastalığı
CAMP	Cathelidin antimikrobiyal peptid
CD	Clusters of Differentiation
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
eQTL	Expression Quantitative Trait Loci
γ	Gamma
Gln	Glutamin
HLA	Human Leukocyte Antigen
IFN	İnterferon
IgG	İmmünglobulin G
IgM	İmmünglobulin M
IL	İnterlökin
LD	Linkage Disequilibrium
µl	Mikrolitre
Ml	Mililitre
$MgCl_2$	Magnezyum klorür
MHC	Major Histocompatibility Complex
MICA	MHC class I polypeptide-related sequence A

mRNA	Messenger Ribonükleik Asit
Mv	Milivolt
NF-KB	Nükleer faktör kappa beta
Ng/ml	Nanogram/Mililitre
NK	Natural Killer
Nmol	Nanomol
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	Ribonükleik Asit
Rpm	Rotation per minute
RXR	Retinoid X Reseptörü
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
Th	T helper
TLR	Toll-like reseptör
TNF	Tümör Nekroz Faktör
Treg	T regülatör
UV	Ultraviyole
VDR	Vitamin D Reseptörü
VDRE	Vitamin D Response Element

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Vitamin D'nin regülasyonu 23
Şekil 1.2. VDR proteininin fonksiyonel domainleri 25
Şekil 1.3. VDR aracılı gen ekspresyonunun aktivasyonu 26
Şekil 1.4. VDR aracılı gen ekspresyonunun baskılanması 27
Şekil 1.5. VDR geninde bulunan regülatör bölgeler 30
Şekil 1.6. Vitamin D'nin T hücre alt tiplerine etkisi 35
Şekil 2.1. PCR ürünlerinin UV altında görünümü 40
Şekil 2.2. Kesim ürünlerinin UV altında görünümü 42
Şekil 3.1. ELISA kit standartlarının absorbans-konsantrasyon değerleri ile elde edilen standart grafik 57

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Ülkelere göre BH prevalansı 2
Çizelge 1.2. BH ile ilişkili bulunan HLA dışı genler 16
Çizelge 1.3. Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu tarafından BH tanısı için belirlenen güncel kriterler 21
Çizelge 2.1. İlgili bölgelerin PCR ile çoğaltılması için kullanılan primer çiftleri 39
Çizelge 2.2. Optimal PCR reaksiyon koşulları 39
Çizelge 2.3. PCR reaksiyonunda bulunan bileşenlerin hacmi 40
Çizelge 3.1. Behçet hastaları ve kontrol grubunun cinsiyet dağılımı 45
Çizelge 3.2. Behçet hastalığının aktivite dağılımı 45
Çizelge 3.3. Klinik bulguların dağılımı 46
Çizelge 3.4. Rs1544410 polimorfizmi için hasta-kontrol genotip analizi 46
Çizelge 3.5. Rs1544410 polimorfizmi alel analizi 47
Çizelge 3.6. Rs1544410 polimorfizmi için alellerin risk analizi 47
Çizelge 3.7. Rs1544410 polimorfizmi genotiplerinin hastalık aktivitesine göre dağılımı 47
Çizelge 3.8. Rs1544410 polimorfizmi genotiplerinin klinik bulgulara göre analizi 48
Çizelge 3.9. Rs2228570 polimorfizmi genotip analizi 49
Çizelge 3.10. Rs2228570 polimorfizmi alel analizi 49
Çizelge 3.11. Rs2228570 polimorfizmi için alellerin risk analizi 49
Çizelge 3.12. Rs2228570 polimorfizmi genotipleri ile aktivite karşılaştırması 50
Çizelge 3.13. Rs2228570 polimorfizmi için klinik bulgulara göre genotip dağılımı 51
Çizelge 3.14. Rs7975232 polimorfizmi genotip analizi 52
Çizelge 3.15. Rs7975232 polimorfizmi alel analizi 52
Çizelge 3.16. Rs7975232 polimorfizmi için klinik bulgulara göre genotip dağılımı 53
Çizelge 3.17. Rs731236 polimorfizmi genotip analizi 54
Çizelge 3.18. Rs731236 polimorfizmi alel analizi 54
Çizelge 3.19. Rs731236 polimorfizmi için alellerin risk analizi 54
Çizelge 3.20. Rs731236 polimorfizmi için klinik bulgulara göre genotip dağılımı 56

1. GİRİŞ

1.1. Behçet Hastalığı

Behçet Hastalığı, sistemik vaskülit, tekrarlayan oral aft, genital ülser ve oküler tutulum ile karakterize olan, sistemik bir hastalıktır. Hastalığın aşamasına bağlı olarak diğer organ sistemleri de etkilenebilmektedir.

1931 yılında Yunan optalmolojist Benediktos Adamantiades tarafından, 20 yaşında bir erkek hastada, genital ülser, artrit ve oküler semptomlar tanımlanmış olmakla birlikte; oral ülser, genital lezyonlar ve tekrarlayan oküler inflamasyonun klinik olarak ilişkisi esas olarak 1937 yılında Türk dermatolog Hulusi Behçet tarafından gösterilmiştir (Adamantiades, 1931; Behçet, 1937). Bu nedenle, Behçet Hastalığı adı kullanılmaktadır.

1.1.1. Behçet Epidemiyolojisi

Behçet hastalığı, genel olarak, Uzak Doğu'da Japonya ve Çin'den, Akdeniz'de Türkiye ve İran'a kadar uzanan İpek Yolu rotasında yaşayan popülasyonlarda görülmektedir. Bu nedenle BH, İpek Yolu Hastalığı olarak da bilinmektedir.

Hastalığın en sık görüldüğü ülke; ortalama 100.000‘de 421 kişilik prevalans ile Türkiye iken, Türkiye'yi sırası ile İran, Suudi Arabistan ve Irak‘ın takip ettiği bildirilmiştir (Mohammad ve ark., 2013) (Çizelge 1.1.).

Çizelge 1.1. Ülkelere göre BH prevalansı

Ülke	BH Prevalansı (100.000'de)
Türkiye	421
İran	80
Suudi Arabistan	20
Irak	17
İsrail	15,2
Japonya	13,5
Fransa	7,1
ABD	5,2
İsveç	4,9
Almanya	2,26
Portekiz	1,53
İngiltere	0,64

Behçet hastalığının ilk bulguları 20-40 yaş aralığında gözlemlenmektedir. Bununla birlikte çocuklarda ve 55 yaş üzeri bireylerde nadiren rastlanmaktadır. BH, Akdeniz bölgesinde yaygın olarak erkeklerde görülürken, Uzak Doğu'da kadınların tutulumu daha fazladır. Hastalık öngörülemeyen ataklar ve atakların hafiflediği remisyon dönemleri ile karakterizedir.

1.1.2. Behçet Etiyolojisi

Behçet hastalığının temel nedeni bilinmemekle birlikte, hastalığın mekanizmasında genetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol aldığı düşünülmektedir. Hastalığın, belirli hastalıklara yatkınlık ile ilişkilendirilen genlere sahip bireylerde, virüs, bakteri veya kirlilik gibi çevresel bir faktör tarafından tetiklendiği yaygın görüşler arasındadır. Hastalığın özel coğrafi dağılımı, ailesel kalıtımı, sınıf-I HLA antijenleri ile korelasyonu ve immünolojik yanıtı etkileyen genlerdeki polimorfizm çalışmaları, hastalığa yatkınlığa genetik etkinin kanıtı olarak gösterilmektedir. Almanya'daki Türk göçmenlerin hastalık prevalansının Türkiye'den yüksek olması ise, hastalığa yatkınlığa çevresel katkıyı düşündürmektedir (Yazıcı ve ark., 1977).

1.1.3. Behçet Patogenezi

BH etiyolojisini aydınlatmak amacıyla doğal ve kazanılmış immün sistem ile çevresel faktörleri de içine alan birçok hipotez kurulmuştur. Hastalığın epidemiyolojisi genetik ve çevresel faktörlerin BH gelişiminde birlikte rol aldığını desteklemektedir. Hastalık, genetik olarak yatkın olan bireylerde başlatıcı enfeksiyöz ajanlar ile oluşan otoimmün olay seyrinde, hücresel ve humoral bozukluklardan oluşmaktadır.

MHC lokusunda yapılan çalışmalar ile, HLA-B51 ve HLA-B5701 gibi sınıf I HLA antijenlerinin özellikle İpek Yolu rotasında yaşayan popülasyonlarda hastalığın patogenezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yazıcı ve arkadaşları (1977) tarafından, HLA-B5 aleli ile BH gelişimi arasında yakın bir ilişki olduğu bildirilirken, Ombrello ve arkadaşları (2014), MHC-sınıf I lokusları ile Behçet hastalığının ilişkili olduğunu ve T lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerde bulunan Killer Immunoglobulin-Like reseptörler aracılığı ile MHC-sınıf I antijenlerinin peptid bağlama spesifitesinin otoimmünitede önemli bir rolü olduğunu rapor etmiştir. İran azerileri ile yapılan çalışmalarda ise; HLA-B35 frekansının Behçet hastalarında kontrol grubuna göre yüksek olduğu ve HLA-B51, HLA-B52 ve HLA-BW4 alellerinin hastalarda anlamlı ölçüde yüksek bulunduğu bildirilmiştir (Gül ve Ohno, 2012).

MHC lokusu dışında, MHC-sınıf I ilişkili gen (MICA) ve bazı TNF genleri de araştırılmış, ancak hastalık ile ilişkileri ve HLA-B51 tarafından başlatılan inflamatuvar kaskadlarda olası rolleri tam olarak belirlenememiştir. Bununla birlikte, IL-1, Koagülatif Faktör V, İntracellular Adhezyon Molekülü-I ve Endoteliyal Nitrik Oksit Sentaz genleri de incelenmiş, bazı ilişkiler saptanmış olmasına rağmen genlerin hastalığın patogenezindeki ayrıntılı rolleri ile açıklayıcı sonuçlar ortaya konulamamıştır. Ayrıca IL10, IL23R, CCRI, STAT4, KLRC4, GIMAP2/GIMAP4 ve UBAC2 genleri ile BH arasında ilişki olduğu, farklı etnik gruplarda tanımlanmıştır.

Bakteriler ve virüsler gibi enfeksiyöz ajanlar da, Behçet hastalarında inflamatuvar cevabın değişmesi için olası başlatıcı faktörlerdir. Bununla birlikte,

Behçet hastalarının atak dönemi ve remisyon dönemlerinde, *Streptococcus sanguis*, *Herpes simplex,* Epstein-Bar virüsü, Sitomegalovirüs gibi mikroorganizma taramalarının negatif olması; viral, fungal, bakteriyel ve parazitik etmenlerin hastalığın başlatıcı faktörü olmadığını düşündürmektedir.

Güncel bulgular, Behçet hastalığında bağırsak mikroflorası dengesinin bozulduğu ve hastalarda bütirat üretiminde önemli ölçüde azalma olduğunu göstermektedir. Bütirat, immün cevabın düzenlenmesinde görev alan regülatör T hücrelerinin farklılaşma sürecinde önemli rol oynamaktadır ve bu nedenle bütirat üretimindeki aksaklık, regülatör T hücre cevabının azalması ve buna bağlı olarak immüno-patolojik efektör T hücre cevabının artması ile sonuçlanmaktadır.

Matzinger‘e göre (2002); hasar görmüş konak hücrelerden oluşan sinyallerin sonucu olarak meydana gelen otoimmün kaskad BH gelişimine neden olur. Bu Tehlikeli Model'de; genetik olarak bir yatkınlık olması durumunda T hücrelerinin ve antijen sunan hücrelerin de katılımıyla dış uyaranlara karşı oluşan yanıtın aşırı olduğu önerilmektedir. Patern Tanıma Teorisi'nde ise; sürekli devam eden bir dış stimülasyona karşı non-self bir yanıt ve kontrol edilemeyen adaptif immün cevap ile hasarın oluştuğu savunulmakta, ısı şok proteinleri ile patojenik proteinlerin yapısal benzerliği bu teoriyi desteklemektedir. Medzhitov ise (2002), BH gibi otoimmün hastalıkların, otoantijen aracılı otoinflamatuvar hastalıklar olduğunu önermektedir. Otoantijenlere yanıt veren self-reaktif T ve B lenfositlerin varlığı durumunda, dış uyaranlara karşı oluşan adaptif immün yanıt sürdürülmektedir. Bu tanım, otoimmün hastalıkların ve özellikle Behçet hastalığının tedavisinde antimikrobiyal ajanlar ile immünosüpresif terapinin birlikte etkili olmasını açıklamaktadır.

Toll-like reseptörler, doğal immün cevapta görevli, enfeksiyöz ajanların bazı spesifik proteinlerini tanıyan moleküllerdir. Toll-like reseptörlerin kaybı ya da self proteinlerin bu reseptörler tarafından hatalı tanınması ile Toll-like reseptörlerin de BH gelişiminde rol alabileceği düşünülmektedir. Cohen'e göre (2014), hiperaktivasyonun sürekli olduğu ve inflamatuvar doku hasarının gözlemlendiği

durumlarda, IL-1, IL-18, IL-33 reseptörleri ve Toll-like reseptörler önemli rol oynamaktadır.

Bazı spesifik sitokinlerin de BH patogenezine katkı sağladığı bildirilmiştir. Behçet hastalarının periferik kanları CD4+ T lenfositlerin alt grubu olan Th1 hücrelerinin aktivasyonuna bağlı olarak yüksek miktarda IFN-gamma ve IL-12 içermektedir. Hastalarda, artmış IL-1, IL-6, IL-18, TNF-alfa ve kemokin seviyeleri doğal ve adaptif immün yanıtın katkısını göstermektedir. Behçet hastalarının nötrofillerinde artmış fagositoz yeteneği, aşırı süperoksit ve lizozomal enzim üretimi ile birlikte daha fazla kemotaksi görülmektedir. Ayrıca ısı şok protein peptidlerini spesifik olarak tanıyan otoreaktif T lenfositlerin klonal genişlemesi ile anormal lenfosit fonksiyonu gözlemlenmektedir. Behçet hastalarının kanında ve mukozal lezyonlarında yoğun olarak gama-delta T hücresi bulunmaktadır. Sonuç olarak, T lenfositler, nötrofiller ve antijen sunan hücreler arasındaki etkileşimler de BH patogenezinde rol oynamaktadır.

Pineton de Chambrun ve arkadaşları (2012), BH patogenezinde IL-21 sitokininin önemli bir rolü olduğunu bildirmektedir. Birbirinden bağımsız yürütülmüş olan her iki çalışmada da, aktif Behçet hastalarının serumunda, sağlıklı kontrol grubu ve Behçet hastalığının remisyon dönemindeki bireylerle karşılaştırıldığında IL-21 seviyesinin anlamlı ölçüde arttığı bildirilmiştir. Serum değerlerine ek olarak, Th17 ve Th1 hücrelerinde artış ve CD4+ T hücrelerin FoxP3 ekspresyonunda azalma görülmektedir. Atak dönemindeki hastalarda, durağan dönemdeki hastalar ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, periferik kanda IL-21 üreten CD4+ T hücreleri önemli ölçüde artmaktadır ve bu durum Th17 hücrelerinin aktivasyonu ile pozitif korelasyon gösterirken, Treg hücrelerinin aktivasyonu ile negatif korelasyon göstermektedir. Treg hücre yoğunluğu aktif ve inaktif Behçet hastalarında anlamlı ölçüde azalmaktadır ve bu bulgu merkezi sinir sistemi tutulumu olan hastalarda da görülmektedir (Saadoun ve ark., 2011). Bu sonuçlar, Behçet hastalarında, IL-21 salınımının Th17 hücre grubu oluşumunu ve IL-17 ile polimorfonüklear lökosit kemoatraktanlarının üretimini arttırdığını göstermektedir. IL-21'in Th17 ve Treg hücreleri arasındaki dengeyi bozarak BH

patogenezinde rol aldığı düşünülmektedir. Nurieva ve arkadaşları (2007) tarafından fareler ile yapılan çalışmada, Th17 hücrelerinde IL-21 ekspresyonu ve IL-21'in otokrin etkisi ile Foxp3 ekspresyonu azalırken, Th17 hücre grubunun artışı, Behçet hastalarındaki bulgular ile uyum göstermektedir. Diğer efektör hücreler ile karşılaştırıldığında, IL-17 ve IL-21 mRNA ekspresyonu, Th17 hücrelerinde önemli ölçüde yüksektir. (Laurence ve ark., 2007).

1.1.4. Behçet İmmünogenetiği

Behçet hastalığında, antijen spesifik T lenfositler, hastalığın majör histokompabilite kompleksi (MHC) sınıf I moleküleriyle güçlü ilişkisini kanıtlarken; azathioprine ve siklosporin gibi immünsüpresif ajanların tedavi edici etkisi ve ısı şok proteini 60 (HSP60) gibi otoantijenlerin hastalığın patogenezinde etkili olduğunun belirtilmesi Behçet hastalığının otoimmün ve otoinflamatuvar bir hastalık olabileceğini düşündürmektedir. Enfeksiyöz ajanlara veya bazı toksin ve spesifik immünojenlere maruz kalmanın genetik olarak yatkınlığı bulunan bireylerde BH gelişimine sebebiyet verdiği bilinmektedir.

Ailesel kalıtım, kardeşlerde ve ebeveynlerde gözlemlenen yüksek prevalans; BH patogenezinin genetik faktörlerle ilişkili olduğunu göstermektedir. Ailesel kalıtım, en yüksek oranda %18,2 yüzdeyle Türkiye'de görülürken, Türkiye'yi sırasıyla %15,4 ile Koreliler ve %13,2 ile Yahudiler takip etmektedir. Ailesel kalıtım en az oranda; %2,6 ile Çin ve %2,2 ile Japonya'da görülmektedir. (Fietta, 2005).

Erken yaşlarda BH belirtileri gösteren hastalarda yetişkin hastalar ile karşılaştırıldığında daha güçlü bir ailesel kalıtım ilişkisi görülmektedir. Pediatrik Behçet hastaları ile yapılan çalışmalarda, otozomal resesif kalıtım gösterilmiş ancak hiçbir yaş grubunda BH için Mendel kalıtımı gözlemlenmemiştir (Molinari ve ark., 2003).

Behçet etiyolojisi hala belirsiz olmakla birlikte, immünogenetik alanındaki güncel bulgular, hastalığın patogenezinin aydınlatılmasına katkı sağlamaktadır.

1.1.4.1. HLA Genleri

BH ile HLA-B*51 arasındaki pozitif korelasyon farklı popülasyonlarda gösterilmiştir ve MHC sınıf I antijenleri ile BH arasında saptanan güçlü ilişkiler mevcuttur.

1.1.4.1.1. HLA-B*51

Altıncı kromozomda, 6p21 lokasyonunda bulunan MHC bölgesi, insan lökosit antijenleri (HLA) ve immün cevapta önemli rolü olan proteinleri kodlayan birçok geni içermektedir. 1973 yılında Ohno ve ark., Japon popülasyonunda HLA-A5 antijeni ile BH arasında bir ilişki olduğunu bildirdiler. Daha sonra HLA-B5 olarak adlandırılan bu antijen, nihai olarak HLA-B*51 antijeni olarak tanımlandı. Ohno ve ark. tarafından yürütülmüş olan bu çalışma, Behçet hastalığında genetik faktörlerin rol aldığının ilk kanıtıdır.

HLA-B*5 lokusu; HLA-B*51 ve HLA-B*52'den meydana gelmektedir ve HLA-B*52 ile HLA-B*51 arasında yalnızca iki aminoasit farklı olmasına rağmen, HLA-B*52 ile BH arasında herhangi bir ilişki saptanamamıştır. HLA-B*51'in 250'den fazla alt tipi bulunmaktadır ve HLA-B*51:01, birçok popülasyonda BH ile ilişkili bulunan majör alt tiptir. Doğu Asya, Orta Doğu-Kuzey Afrika, Güney Avrupa ve Kuzey-Doğu Avrupa popülasyonlarında, toplamda 4800 Behçet hastası ve 16.289 sağlıklı kontrol içeren birbirinden bağımsız 80 çalışmada; HLA-B*5/B*51 hastalarda %55-63 oranında görülürken, sağlıklı kontrollerde bu oran %16,8-21,7 oranında bulunmuştur (De Menthon ve ark., 2009).

Hughes ve arkadaşları tarafından (2013), Türk popülasyonundan 503 Behçet hastası ve 504 sağlıklı kontrol, İtalya'dan ise 144 Behçet hastası ve 1270 sağlıklı

kontrol ile MHC bölgesindeki polimorfizmleri saptamak amacıyla yürütülen güncel bir çalışmada, HLA-B geninin yaklaşık olarak 24 kb, MICA geninin ise 18kb üzerindeki rs116799036 SNP'i ile BH arasında güçlü bir ilişki tespit edilmiştir. Rs116799036 polimorfizminin genetik etkisi HLA-B*51:01 ile açıklanabilecekken, Hughes ve ark. kondisyonel analiz yöntemini tercih ederek, HLA-B*51:01 alelinin bulunmaması durumunda dahi rs116799036 polimorfizminin hastalık ile anlamlı düzeyde ilişkisinin devam ettiğini; rs116799036 polimorfizminin olmaması durumunda HLA-B*51:01 ile BH arasındaki anlamlı ilişkinin ortadan kalktığını göstermişlerdir. Bu bulgular; sadece HLA-B*51'in hastalığın temelini oluşturmadığı ihtimalini ortaya koymaktadır. Bu çalışmadan farklı olarak, Ombrello ve ark. (2014) tarafından, Türk popülasyonunda 1190 Behçet hastası ve 1257 sağlıklı kontrol ile gerçekleştirilen kondisyonel analizde Hughes ve ark. (2013) tarafından tanımlanan rs116799036 ile BH arasında daha zayıf olmakla birlikte ilişki saptanmış ancak rs116799036 polimorfizminin etkisinin ortadan kaldırıldığı durumda da HLA-B*51 ile hastalık ilişkisinin devam ettiği gösterilmiştir. Hughes ve ark çalışmasından farklı olarak bu çalışma; sadece HLA-B*51'in BH patogenezi ile ilişkili olduğunu desteklemektedir.

1.1.4.1.2. Diğer MHC Sınıf I Genleri

Gül ve arkadaşları (2002) tarafından HLA-B*27 aleli ile BH arasında güçlü olmamakla birlikte, bir ilişki olduğu bildirilirken, Ahmad ve ark. (2003) tarafından İngiltere'de yaşayan Kafkasya kökenli Behçet hastalarında HLA-B*57 aleli yüksek frekansta bulunmuştur. Choukri ve ark. (2001) ise Fas popülasyonunda, HLA-B*15'in erkek hastalarda risk aleli olduğunu bildirmiştir. Ombrello ve ark. (2014), Türk popülasyonu ile yürüttükleri kapsamlı analiz çalışmasında, HLA-B*51, HLA-B*15, HLA-B*27 ve HLA-B*57'yi BH için risk faktörü, HLA-A*03 ve HLA-B*49'u ise koruyucu alel olarak bildirmiştir. Ombrello ve ark. tarafından Türk popülasyonunda BH ile ilişkili bulunan HLA-A*26; Meguro ve ark. (2010) tarafından Japonlar ile yapılan çalışmada da benzer sonuç bulunması ile risk aleli olarak belirlenmiştir.

1.1.4.1.3. HLA B'nin Aminoasit Varyasyonları ile BH İlişkisi

Ombrello ve ark. (2014), matür HLA-B proteininde bulunan 69 aminoasit pozisyonundan 16'sında BH ile ilişki saptamıştır. Hastalık ile ilişkili bulunan bu aminoasitler, genel olarak HLA-B molekülünün antijen bağlama oluğunda lokalize olmaktadır. HLA-B grubu için risk aleli olarak tanımlanan HLA-B*51, HLA-B*15 ve HLA-B*57 proteinleri; hastalık için risk olarak belirlenen 16 aminoasit pozisyonunun sırasıyla 16,7 ve 8 tanesini bulundururken; HLA-B*27 sadece ikisini bulundurmaktadır. Bu durum HLA-B*27'nin yapısal olarak farklı peptidlere bağlandığını düşündürmektedir.

HLA-B*51 molekülünde; 97. pozisyondaki threonin, 152. pozisyondaki glutamik asit ve 67. pozisyondaki fenilalanin hastalık için risk faktörü olarak değerlendirilirken, HLA-B*49 proteininde, 116. pozisyondaki lösin aminoasidi BH için koruyucu faktör olarak belirlenmiştir.

Hastalık ile ilişkili bulunan aminoasit rezidülerinin bir çoğu, peptid bağlayan, ayrıca; sitotoksik T lenfositler ve NK hücrelerinde bulunan reseptörler ile MHC sınıf I molekülleri arasındaki etkileşimden sorumlu olan antijen bağlama oluğunda bulunmaktadır (Ombrello ve ark., 2014). 67., 116. ve daha az etkili olmakla birlikte 97. Pozisyonda bulunan aminoasitler HLA-B molekülü ile NK hücreleri ve sitotoksik T lenfositleri aktive eden KIR3DL1/KIR3DS1 reseptörü arasındaki etkileşimi önemli ölçüde etkilemektedir (Sanjanwala ve ark., 2008). Bununla birlikte HLA-B sinyal peptidleri HLA-E'ye bağlanarak ve C tipi lektin heterodimerik reseptör olan CD94/NKG2 ile etkileşerek sitotoksik T lenfositler ve NK hücrelerinin aktivasyonunu regüle etmektedir (Merino ve ark., 2013). Sonuç olarak; MHC bölgesinin peptid ve MHC sınıf I moleküllerinin bağlanma mekanizması ile birlikte, BH patogenezinde de rol alan sitotoksik T lenfositler ve NK hücrelerinin aktivasyonunu da etkilediği belirtilmektedir.

1.1.4.2. HLA Dışı Genler

1.1.4.2.1. IL-10

IL-10 geni; IL-1, IL-6, IL-12, TNF, IFN-gamma gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını baskılayan IL-10 sitokinini kodlamaktadır. Anti-inflamatuvar bir sitokin olan IL-10 ayrıca, makrofajların T hücrelerine antijen sunma mekanizmasında rol alan kostimülatör aktivitesini ve NK hücre aktivasyonunu inhibe etmektedir.

Remmers ve ark. (2010), Türk popülasyonu ile yaptıkları bir çalışmada, intronik bir değişim olan rs1518111 ile BH arasında ilişki saptarken, Mizuki ve ark. (2010); IL-10 geninin promotor bölgesindeki rs1800871 ve rs1800872 polimorfizmleri ile hastalık arasında ilişki olduğunu bildirmiştir. Bu polimorfizmlerden rs1518111 Orta Doğu Arapları, Yunan, İngiliz ve Koreliler ile yapılan çalışmalarla, rs1800872 ise Türk ve Kore popülasyonları ile tekrarlanmıştır. Rs1518111 polimorfizminde risk aleli olarak kabul edilen A alelini taşıyan hastalarda, G alelini taşıyanlar ile karşılaştırıldığında monositlerinde IL-10 ekspresyonunun %35 azaldığı gösterilmiş ve risk aleli olan A alelini homozigot olarak taşıyan sağlıklı kontrollerin lipopolisakkarid (LPS), lipoprotein pam3cys veya muramil dipeptid (MDP) gibi toll-like reseptör ligandları ile stimüle edilen monositlerinde IL-10 sitokini düşük miktarda bulunmuştur.

1.1.4.2.2. IL23R – IL12RB2

IL23R; Th17 hücreleri ve makrofajların yüzeyinde eksprese olan IL-23 reseptörünün bir alt birimini kodlamaktadır. IL23; p19 ve p40 olmak üzere iki alt birimden meydana gelen heterodimerik proinflamatuvar bir sitokindir ve Th17 hücre gelişimi ile IL-1, IL-6, IL-17, TNF gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini indüklemektedir. Th17 hücreleri nötrofil infiltrasyonu ve otoimmün hastalıklarda IL17 üretimine neden olarak inflamasyonda anahtar rol oynamaktadır. Hastalıkla

ilişkili aleleri bulunduran bireylerde, koruyucu aleli taşıyan bireyler ile karşılaştırıldığında IL-23 reseptör ekspresyonu veya sinyalizasyonunun artabileceği düşünülmektedir.

IL12RB2; IL-12 reseptörünün beta-2 alt birimini kodlamaktadır. IL-12, Th1 hücre cevabı, T lenfosit ve NK hücresi sitotoksisitesi ve T hücreleri ile NK hücrelerinden IFN-gamma üretiminde önemli bir role sahiptir. IL12RB2 geninin IL-12'nin reseptörüne yüksek affinite ile bağlanabilmesinde önemli olduğu ve IL-12 sinyalizasyonunun Th1 hücre farklılaşmasında kritik olduğu bildirilmiştir (Chang ve ark., 1999).

Japon popülasyonunda IL23R ve IL12RB2 genleri arasındaki intergenik bölgede bulunan rs1495965 polimorfizmi ile BH arasında ilişki bulunmuştur. Remmers ve ark. (2010) tarafından Türk popülasyonu ile yürütülen bir çalışmada ise benzer şekilde IL23R ve IL12RB2 genleri arasındaki intergenik bölgede bulunan rs924080 polimorfizmi ile BH arasında ilişki saptanmıştır. Ancak bu kodlanmayan değişimler için, IL12RB2 veya IL23R ekspresyonunda eQTL verisi bildirilmemiştir. Bu durumun reseptörlerin etkilerinin sadece spesifik hücre tiplerinde ve belirli koşullar altında sergilenmesi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

1.1.4.2.3. STAT4

STAT4; IL-12 ve IL-23 gibi proinflamatuvar sitokinlerin sinyalizasyon yolağı ile aktive olan sinyal transducerı ve transkripsiyon aktivatörü olup; naif T hücrelerinin Th1 ve Th17'ye farklılaşması ile ilişkilidir.

Hou ve arkadaşları (2012a), Çin Han ulusunda, 149 Behçet hastası ve 951 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmada; STAT4 geninde intergenik bölgedeki rs897200 polimorfizmi ile BH'nın ilişkili olduğunu göstermiştir. Daha sonra 544 Behçet hastası ve 1159 sağlıklı kontrol ile aynı polimorfizm incelenmiş ve uyumlu sonuçlar bulunmuştur. Türkiye'de yapılan bir çalışmada ise, STAT4 geninde intronik

bölgede bulunan rs7574070 polimorfizmi ile BH arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Bu polimorfizmin rs897200 ile güçlü Linkage Disequilibrium gösterdiği bilinmektedir. Rs7574070 SNP'inde risk aleli olan A alelinin bulunması STAT4 gen ekspresyonunun artması ile ilişkilidir. Rs897200 polimorfizminde risk aleli olan A alelinin bulunması ise, STAT4 geninde artan transkripsiyon ve artan IL-17 ekspresyonu ile birlikte Behçet hastalarında klinik semptomlarla ilişkilidir. Bu bulgulara dayanarak, risk alelinin Th1 yolağı yerine Th17 yolağında artan regülasyona neden olarak BH gelişimine katkı sağladığı düşünülmektedir.

1.1.4.2.4. TNFAIP3

TNFAIP3 geni; TNF, toll like reseptörler, interlökin 1 reseptörü ve nükleotid oligomerizasyon domain içeren reseptör 2 (NOD2) sinyalizasyonu ile indüklenen ve NF-KB sinyalizasyon yolağında önemli rol oynayan ubiquitin modifiye edici enzim A20'yi kodlamaktadır. Li ve arkadaşları (2013), Han Çin popülasyonunda 722 Behçet hastası ve 1415 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmada TNFAIP3 geninde 5 farklı kodlanmayan SNP belirlemiş, bunlardan rs9494885 polimorfizminin hastalığa yatkınlıkta rol aldığını bildirmiştir. Li ve arkadaşları (2013), 16 sağlıklı bireyin periferik kan mononükleer hücreleri ile yaptıkları çalışmada; rs9494885 genotipleri ile TNFAIP3 ekspresyonu açısından bir fark gözlemlememişlerdir. Bununla birlikte, TNFAIP3 polimorfizmleri ile romatoid artrit (Okada ve ark., 2014), multiple sklerozis (Beecham ve ark., 2013), sistemik lupus eritamatozus (Gateva ve ark., 2009), psöriazis (Tsoi ve ark., 2012), BH (Li ve ark., 2013) gibi hastalıklar arasında ilişki bulunduğu bildirilmiştir. TNFAIP3 geni knock-out edilmiş, A20 enzimini bulundurmayan farelerin, lenfosit bağımlı kolit, ds-DNA antikorları, nefrit, antifosfolipid sendrom, lenfosplenomegali (SLE), poliartrit (RA) gibi insan immün hastalıklarına benzer fenotiplere sahip olduğu gösterilmiştir (Hammer ve ark., 2011; Kool ve ark.;2011, Matmati ve ark., 2011).

1.1.4.2.5. CCR1 - CCR3

CCR1 ve CCR3 genleri, C-C motifi içeren kemokin reseptörleri (CCR) ailesinin üyeleri olan CCR1 ve CCR3 reseptörlerinin ekspresyonundan sorumludur. Bu kemokin reseptörleri, hücreler arasında sinyal transdüksiyonunu sağlayan ve lökosit trafiğinin düzenlenmesi ile immün homeostaziste önemli regülatörler olan 7-transmembran yapısı ve G proteini çiftinden meydana gelmektedir.

Kirino ve arkadaşları (2013), CCR1 geninin 3‘ ucunda bulunan rs7616215 polimorfizmi için Türk popülasyonunda yaptıkları incelemede alel frekansını Behçet hastalarında 0.27, kontrol grubunda 0.34 olarak tespit etmiştir. Aynı SNP Japon popülasyonunda da hastalarda 0.13 ve kontrol grubunda 0.16 olmak üzere benzer alel frekansı vermiştir. Hou ve arkadaşları (2012b), CCR1-CCR3 lokusunda rs13084057, rs13092160 ve rs13075270 polimorfizmlerinin birbiri ile ilişkisini tanımlamış, bu üç polimorfizmin birbiriyle ve ayrıca rs7616215 polimorfizmi ile güçlü LD gösterdiğini bildirmiştir. Bu polimorfizmlerden rs13092160 ve rs13075270 CCR1 ve CCR3 genlerinin 5‘ uçlarının arasında bulunurken, rs13084057 ve rs7616215 polimorfizmlerinin lokasyonu CCR1 geninin 3‘ ucundadır. Her dört SNP için de majör aleller BH için risk faktörü olarak tanımlanmıştır.

Sağlıklı bireylerden elde edilen insan primer monosit hücre serisi ile yapılan bir çalışmada CCR1 gen bölgesinde rs7616215 polimorfizminde risk aleli olarak belirlenen T alelini taşımanın CCR1 reseptörünün düşük ekspresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiş, bu sonuç eQTL veri tabanı ile desteklenmiştir (Kirino ve ark., 2013). Hou ve arkadaşları (2012b), lokasyonu CCR1 ve CCR3 genleri arasında bulunan rs13092160 polimorfizmi için risk aleli olarak belirlenen T alelini bulundurmanın sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinde CCR1 ve CCR3 ekspresyonunu azalttığını bildirmiştir.

1.1.4.2.6. KLRC4

KLRC4 geni, NK hücre gen kompleksinde, 12p13.2-p12.3 lokasyonunda

bulunmaktadır. Bu bölge CD94/NKG2 reseptör ailesi ve killer hücre lektin benzeri reseptör ailesi genlerini içermektedir. Türk popülasyonunda 28 aileden 83 Behçet hastası ile yapılan çalışmada bu bölgenin yüksek linkage piki verdiği bildirilmiştir (Karasneh ve ark., 2005). KLRC4 geninin fonksiyonu tam olarak açıklanamamıştır, ancak NK hücrelerinde eksprese olan killer hücre lektin benzeri reseptör alt ailesi üyelerinden C-4'ü kodladığı bilinmektedir. Kirino ve ark. (2013), Türkiye ve Japonya popülasyonundan elde edilen veriler ile yaptığı meta-analizde KLRC4 geninde p.Asn104Ser missense değişimi ile BH arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Rs2617170 polimorfizminde ise; risk aleli olan C alelini bulundurmanın periferal kan hücrelerinde yüksek doğal sitotoksik aktivite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu durumun BH patogenezinde MHC sınıf I ilişkili sitotoksisite ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir.

1.1.4.2.7. ERAP1

ERAP1 geni; endoplazmik retikulum aminopeptidaz bir enziminin ekspresyonundan sorumludur. Endoplazmik retikulum aminopeptidaz 1 enzimi; proteozomlarda düzenlenmiş peptidlerin MHC sınıf I moleküllerinin antijen bağlama bölgesine bağlanma mekanizmasında optimal uzunluğa ulaşması amacıyla N terminal ucunu düzenlemektedir.

Kirino ve arkadaşları (2013), Türk popülasyonunda ERAP1 geninde rs17482079 polimorfizmi ve Behçet hastalığının ilişkili olduğunu bildirmiştir. Rs17482079 p.Arg725Gln değişikliği ile ifade edilen non-sinonim bir polimorfizmdir. Japon popülasyonu ile yapılan çalışmada ise aynı polimorfizm yeterince anlamlı bulunamamıştır. Bu durum; ERAP1 genindeki polimorfizmlerin etkisinin HLA-B*51 antijeni taşıyan bireylerde görülmesi; iki gen (ERAP-1 ve HLA-B*51) arasında güçlü bir epistatik ilişki bulunması ile açıklanmıştır. Psöriazis için HLA-C*06 (Strange ve ark., 2010) ve AS için HLA-B*27 (Evans ve ark., 2011). antijenini taşıyan bireylerde ERAP1 genindeki p.Arg725Gln değişiminde, ERAP1 geni ile MHC sınıf I molekülleri arasında epistatik interaksiyon gösterilmiştir. İlginç olarak, rs17482078 polimorfizminin psöriazis ve AS için koruyucu, ancak BH için

risk faktörü olduğu bildirilmiştir (Ombrello ve ark., 2015). BH ile ilişkili ERAP1 geni p.Arg725Gln değişimi, bir kaç farklı protein kodlama varyasyonu ile birlikte bulunmaktadır ve bu haplotipin peptid düzenleme aktivasyonunda azalmaya, sonuç olarak peptidlerin MHC sınıf I antijenlerine bağlanmasında değişikliğe neden olduğu bilinmektedir. P.Arg725Gln haplotipinin psöriazis ve AS için koruyucu, BH için ise risk faktörü olarak bildirilmesi, farklı MHC sınıf I molekülleri için ERAP1 tarafından düzenlenen peptidlerin farklı bağlanma affiniteleri ile açıklanabilir. Bununla birlikte bu üç hastalık arasındaki farklılık her MHC sınıf I molekülü için düzenlenen hastalık ilişkili peptid antijenlerinin farklı olduğunu göstermektedir. Rs17482078 polimorfizmi ile BH ilişkisinin yalnızca HLA-B*51 antijenini taşıyan bireylerde gözlemlenmesi, HLA-B*51'in BH patogenezi ile doğrudan ilişkisini göstermektedir.

1.1.4.2.8. FUT2

FUT2 geni, intestinal mukoza ve vücut sıvılarında ABO kan grubu antijenlerinden H antijeninin sentezinde önemli bir rolü olan fukozil transferaz-2 enzimini kodlamaktadır. FUT2 geninin yetersiz ekspresyonuna veya inaktivasyonuna sebep olan değişimler intestinal mukoza veya vücut sıvılarında ABO kan grubu antijeninin ekspresyonunu engellediği için non-sekretuvar aleller olarak adlandırılmaktadır. Xavier ve arkadaşları (2015), İran'da 292 Behçet hastası ve 294 kontrol ile yürüttükleri çalışmada, FUT2 geninde rs681343 polimorfizmi ile BH arasında ilişki olduğunu bildirmiş, benzer sonuçlar yine aynı çalışmada Türk popülasyonunun meta-analizinde de gösterilmiştir. Rs601338 polimorfizmi ise; FUT2 proteininin 143. Pozisyondaki dur kodonunu kodlamaktadır ve Avrupa ırkında homozigot değişim ile birlikte 0.43 alel frekansının gözlemlenmesi bu ırkın non-sekretuvar durumu için yapılan en yaygın açıklamadır. Bu non-sekretuvar alel BH ilişkili SNP rs681343 ile bağlantılıdır ve BH için risk faktörüdür. Sekretuvar durum, immün cevabın gelişmesine katkı sağlamaktadır ve bağırsaktaki mikro flora kompozisyonuyla ilişkilidir (Wacklin ve ark., 2011). Mukozil glikozilasyon ve bağırsak mikrobiyotasında FUT2 geninde saptanan non-sekretuvar durum ile ilişkili

değişimler, non-sekretuvar durumun yaşamın erken evrelerinde daha sınırlı antijenik stimülasyona sebebiyet vermesi ile BH yatkınlığında artışa neden olabilmektedir.

1.1.4.2.9. IL12A

IL12A geni heterodimerik bir sitokin olan IL12'nin IL-12p35 alt biriminin ekspresyonundan sorumludur. IL12, olgunlaşmamış CD4+ T hücrelerinin Th1 hücre alt grubuna farklılaşmasında önemli rolü olan bir sitokindir.

Kirino ve arkadaşları (2013), Türk popülasyonunda yaptıkları analizde, IL12A geninin yakınında bulunan intergenik bölgedeki rs1780546 polimorfizmi ile BH arasında anlamlı olmamakla birlikte ilişki saptamış ancak Japon popülasyonunda bu polimorfizm ile BH arasında herhangi bir bağlantı saptanamamıştır. Kappen ve arkadaşları (2015), yakın zamanda etnik olarak farklı kökene sahip 336 Behçet hastası ve 5843 sağlıklı kontrol ile yaptıkları analizde rs1780546 polimorfizmi ile Behçet hastalığına yatkınlık arasında ilişki saptamıştır.

Çizelge 1.2. BH ile ilişkili bulunan HLA dışı genler

Gen	SNP	Lokasyon	Risk Aleli
IL10	rs1518111	İntron	A
IL10	rs1800871	Promotor	T
IL23R,IL12RB2	rs1435965	İntergenik	G
IL23R, IL12RB2	rs924080	İntergenik	A
STAT4	rs7574070	İntron	A
STAT4	rs897200	İntergenik	A
TNFA3	rs9494885	İntergenik	C
CCR1	rs7616215	İntergenik	T
CCR1, CCR3	rs13092160	İntergenik	T
KLRC4	rs2617170	Missense	C
ERAP1	rs17482078	Missense	TT*
FUT2	rs681343	Sinonim	T
IL12A	rs1780546	İntergenik	A/G**

*Üveiti olan Behçet hastalarında homozigot TT genotipi riskli bulunmuştur.
**Risk aleli çalışmalar arasında farklılık göstermektedir.

1.1.5. Behçet Hastalığının Klinik Bulguları

1.1.5.1. Mukokutanöz Bulgular

BH tanısı için temel bulgular olmakla birlikte oral aft, hastaların %97'sinde görülen en yaygın semptomdur. Oral aftlar sınırları belirli ve sarımtrak merkezi pseudomembrana sahip, ağrılı ve tekrarlayan lezyonlardır. Her atakta sayıları ve çapları (1-30mm) değişmekle birlikte, 3 hafta içerisinde iz bırakmadan ve kendiliğinden iyileşmektedir. Kadınlarda vulva veya vajinada, erkeklerde ise skrotum veya peniste oluşan ülserler ağız lezyonları ile benzerdir. Genital ülserler, vakaların %60-%89'unda görülmektedir (Davatchi ve ark., 2010).

1.1.5.2. Deri Bulguları

Deri bulguları, Behçet hastalarında %48-%88 oranında görülmektedir. En sık görülen deri bulguları; akneiform ve follikülit benzeri lezyonlar, yüzeyel gezici tromboflebit ve eritema nodozum benzeri lezyonlardır.

Paterji testi, BH tanısı için bir kriter olmakla birlikte hastalığın aktivitesi için de bir belirteçtir. Paterji testi; derinin artmış duyarlılığının göstergesidir. 25 g'luk steril iğnenin 5mm derinlikte batırılmasından 24-48 saat sonra enjeksiyon yerinde eritem, papül ve püstül gelişmesidir. Türkiye ve Japonya başta olmak üzere, İpek Yolu rotasında bulunan ülkelerde Behçet hastalarının %50'den fazlasında paterji testi pozitif olarak saptanmaktadır.

1.1.5.3. Oküler Bulgular

Üveit, Behçet hastalarının yaklaşık olarak üçte ikisinde görülmektedir. Sıklıkla her iki gözde de meydana gelir ancak nadiren ilk bulgu olarak tanımlanmaktadır. Genellikle oral aftın ilk bulgu olarak tanımlanmasından yıllar sonra oluşmaktadır.

Oküler lezyonlar, sadece anterior segmenti, posterior segmenti veya her iki segmenti de tutan, tekrarlayan üveit ile karakterizedir. Üveit; ağrılı, ışık hassasiyetine ve görüş bulanıklığına neden olan inflamatuvar bir lezyondur. Oklüzif retinal vaskülit de görülmekle birlikte, tedaviye geç kalınması durumunda görme kaybı ile sonuçlanabilmektedir.

1.1.5.4. Kardiyak Tutulum

İlk kez 1958 yılında Mirone ve arkadaşları tarafından bir Behçet hastasında paroksimal fibrilasyon ve kalp bloğu vakası olarak tanımlanmıştır. Daha sonra 1963 yılında Oshima ve arkadaşları bir Behçet hastasında miyokard enfarktüsü vakasını bildirmiştir. Birçok çalışmada Behçet hastalarının QT aralığının kontrol grubundan anlamlı ölçüde yüksek olduğu gösterilmiştir (Eryol ve ark., 2002; Gürgün ve ark., 2002). Ayrıca; perikarditis, atriyal tromboz, miyokard enfarktüsü, ventriküler aritmi, kalp bloğu ve ani ölüm gibi birçok kardiyovasküler lezyon BH ile ilişkilendirilmiştir.

1.1.5.5. Eklem Bulguları

Eklem hastalıkları; yaygın, Behçet hastalarının yaklaşık olarak yarısında görülen ve diğer bulgulardan uzun zaman önce ortaya çıkan rahatsızlıklardır. Genellikle diz, kol ve ayak bileği tutulumu görülmekle birlikte, nadiren kalça kemiği tutulumu ve dejeneratif artrit bildirilmiş ve miyopati rapor edilmiştir (Düzgün ve Ateş, 2003).

1.1.5.6. Nörolojik Bulgular

Nörolojik tutulum, hastalığın başlangıcından sonraki on yıl içerisinde meydana gelebilen, vakaların yaklaşık %20-%40'ında oluşan ve genelde erkeklerde görülen BH bulgusudur. En yaygın nörolojik bulgular; baş ağrısı, kraniyal sinir tutulumu, ataksi ve duyu eksikliğidir. Parankimal hastalık da nisbeten yaygın olmakla birlikte, hemisfer lezyonları özellikle felç benzeri sendromlar ve nöbetlere neden olmaktadır.

Nörolojik tutulumun gidişatı hakkında hüküm vermek genellikle zordur ancak zamanında yapılan immünsüpresif müdahele ile aşama kaydetmek mümkündür.

1.1.5.7. Gastrointestinal Tutulum

Gastrointestinal sistem boyunca oluşan ülserler ile karakterize olmakla birlikte, hastaların yalnızca %7-%29'unda, yaygın olarak ileoçekal bölgede görülmektedir. İnstestinal sistem bulguları ve diğer bazı semptomlar açısından değerlendirildiğinde BH ile İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı'nı ayırt etmek zordur ancak granülom bulgusu BH olmadığını göstermektedir.

1.1.5.8. Vasküler Tutulum

Vaskülit, BH için spesifik bir bulgudur. Venöz tutulum daha sık görülmekle birlikte, venler, arterler ve kılcal damarlar da etkilenmektedir.

Venöz trombozlar, herhangi bir bölgede meydana gelebilmekte ve vena kava inferior, vena kava süperior ve pulmoner arter gibi büyük damarları da tutabilmektedir.

Tromboflebit, sıklıkla tekrar eder ve genellikle hastalığın başlangıcından sonraki bir yıl içerisinde meydana gelir.

Arter tutulumu, vakaların yalnızca %3-%5'inde görülmekle birlikte, anevrizma en yaygın bulgudur.

1.1.5.9. Pulmoner Bulgular

Akciğer bulgularına nadir rastlanır ve bu bulgulara vasküler tutulum hakimdir. En sık görülen pulmoner bulgu; hemoptizidir ve pulmoner arter anevrizmasına bağlıdır. Hemoptizi, ölümcül olabilmektedir.

1.1.5.10. Ürogenital Bulgular

Aftöz ülserden farklı olan ürogenital tutuluma nadir olarak rastlanmakla birlikte, tekrarlayan epididimit ve nefropati oluşabilmektedir.

1.1.6. Behçet Hastalığının Tanısı

Behçet hastalığının ortak bir tanımını oluşturmak amacıyla 1990 yılında bir grup bilim insanı tarafından Behçet Hastalığı Uluslararası Çalışma Grubu oluşturulmuştur (International Study Group for Behçet's Disease, 1990). BH Uluslararası Çalışma Grubu, hastalığın tanısı için 5 kriter belirlemiştir. Bunlardan ikisi; oral aft ve genital ülserleri içeren mukozal membran bulguları, üçüncüsü; papülopüstüler lezyonlar, psödofolikülit ve eritema nodozumu içeren deri lezyonları, dördüncüsü; anterior üveit, posterior üveit ve retinal vasküliti kapsayan oküler bulgular ve beşincisi pozitif paterji testidir. BH tanısı için; bir yıl içerisinde en az üç kere tekrar eden oral aft ile birlikte tekrarlayan genital ülser, göz lezyonları, cilt lezyonları ve paterji testi pozitifliğinden en az ikisini bulundurmak yeterli bulunmuştur. BH tanısı koyabilmek için oral aftın kesinlikle bulunması gereken bir kriter olarak belirlenmesi ile çalışma grubunun kriterleri sorgulanmış ve hastalığın tanı kriterlerinin coğrafi vasyasyona da uygun olması amacıyla 27 ülkeden bilim insanı içeren uluslararası bir toplantı yapılmıştır (Davatchi ve ark, 2014). Bu son değerlendirmeye göre; majör semptomlar olarak belirlenen oral aft, genital ülser ve oküler lezyonlar ikişer puan; deri bulguları, vasküler tutulum ve paterji testi pozitifliği birer puan olarak belirlenmiş ve hastanın dört veya daha fazla puan alması BH tanısı için yeterli bulunmuştur (Çizelge 1.3.). Paterji testi pozitifliğinin; Orta

Doğu'da %60'tan fazla, Korelilerde %15, Kafkasyalılarda ise %5 oranında görülmesi ve testin sensitivite ve spesifitesindeki değişkenlik göz önünde bulundurularak, güncel kriterlerde bu test opsiyonel bir kriter olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 1.3. Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu tarafından BH tanısı için belirlenen güncel kriterler

Klinik Bulgular	Puan
Oral Aft	2
Genital Ülser	2
Oküler Lezyonlar	2
Deri Lezyonları	1
Nörolojik Bulgular	1
Vasküler Bulgular	1
Pozitif Paterji Testi	1*

*Paterji testi, coğrafi varyasyona göre değişiklik gösterdiği için opsiyonel olarak belirlenmiştir.

Behçet hastalığının tanısında kullanılan spesifik bir laboratuvar testi bulunmamaktadır. Hastalarda eritrosit sedimentasyon hızında artış, C reaktif protein yüksekliği, periferal lökosit ve platelet sayısında artış ile birlikte; TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-6 ve IL-8 gibi serum sitokinlerinde yükselme görülebilmektedir ancak; bu bulgular hastalık için spesifik değildir. Anti nükleer antikor (ANA), romatoid faktör, anti nötrofil sitoplazmik antikor (ANCA) gibi otoantikorlar Behçet hastalarında saptanamamıştır. Bununla birlikte; damar duvarlarında IgG ve IgM gibi antikorların birikimi immünfloresans mikroskopisi ile gösterilmiştir.

1.2. Vitamin D Metabolizması ve Sinyalizasyonu

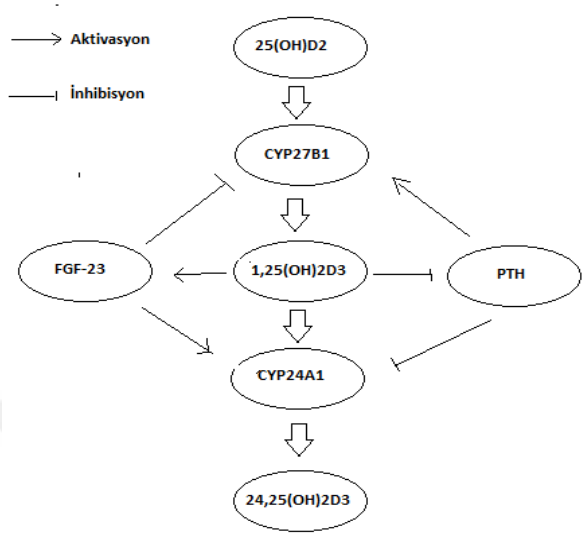
1.2.1. Vitamin D Sentezi

Vitamin D'nin başlıca kaynağı; güçlendirilmiş yiyecek ve vitamin kaynaklarından kazanılan ergokalsiferol (Vitamin D_2) ve deride ultraviyole ışınları

ile 7-dehidrokolesterolün fotolizi sonucu meydana gelen kolekalsiferoldür (Vitamin D_3). Vitamin D bağlayıcı protein ile karaciğere taşınan ergokalsiferol ve kolekalsiferolün, ekspresyonu CYP27A1 geni tarafından kontrol edilen Vitamin D – 25 Hidroksilaz enzimi ile hidroksillenmesi, vitamin D'nin metabolik aktivasyonunun ilk basamağıdır. Hidroksillenme; yirmi beşinci karbon atomuna bir hidroksil grubu eklenmesiyle gerçekleşir ve reaksiyon ürünü olarak 25 – Hidroksi Vitamin D3 ($25(OH)D_3$) oluşur. $25(OH)D_3$, vitamin D bağlayıcı proteine bağlanarak dolaşıma katılır, böbrekte süzülür ve proksimal tübüllerde bulunan endositik reseptör Megalin aracılığıyla geri emilimi gerçekleşir (Christakos ve ark., 2010). $25(OH)D_3$ ve vitamin D bağlayıcı protein kompleksi proksimal tübüllerdeki lizozomlar tarafından ayrıldıktan sonra serbest $25(OH)D_3$ mitokondriye geçer, ekspresyonu CYP27B1 geni tarafından kontrol edilen $25(OH)D_3$ – 1 Alfa Hidroksilaz enzimi ile birinci pozisyondaki karbon atomuna bir hidroksil grubu daha eklenir ve aktif vitamin D metaboliti olan 1,25 Dihidroksi Vitamin D_3'e dönüşür (Henry, 2011). 1,25 Dihidroksi Vitamin D_3 temel olarak böbrek proksimal tübül hücrelerinde üretilir ancak; mitokondriyal CYP27B1 eksprese eden; kemik, deri epitelyal hücreleri, akciğer, kolon hücreleri ve özellikle aktive olmuş makrofajlar olmak üzere bazı immün sistem hücrelerinde de sentezlenebilir. Makrofajların TLR ligandları veya IFN-gamma ile aktivasyonu, CYP27B1 geninin ekspresyonu ve hücre içinde kullanılabilir $25(OH)D_3$ bulunan makrofajlarda $1,25(OH)_2D_3$'ün üretimi ile sonuçlanır.

Vitamin D'nin aktif metaboliti olan $1,25(OH)_2D_3$'ün sentezini kontrol eden inhibisyon ve aktivasyon mekanizmaları bulunmaktadır. Fibroblast Büyüme Faktörü-23; $1,25(OH)_2D_3$'ün böbrekteki üretimini inhibe eder. Bu inhibisyonu, $25(OH)D_3$-1 Alfa Hidroksilaz enziminin ekspresyonunu kontrol eden CYP27B1 geninin böbrek proksimal tübül hücrelerindeki mRNA ekspresyonunu baskılayarak gerçekleştirir. Bununla birlikte $1,25(OH)_2D_3$; CYP24A1 geninin ekspresyonunu arttırarak 24-Hidroksilaz enziminin üretilmesini sağlar. 24-Hidroksilaz enzimi; $1,25(OH)_2D_3$'ten inaktif bir metabolit olan 24,25 Dihidroksi Vitamin D_3'ün oluştuğu reaksiyonu katalizleyerek $1,25(OH)_2D_3$'ün katabolik sürecini başlatır. Paratiroid hormon ise CYP27B1 geninin ekspresyonunu arttırarak $1,25(OH)_2D_3$ üretiminin de artmasını

sağlar. Yüksek titredeki $1,25(OH)_2D_3$ ise negatif geri bildirim yoluyla PTH salınımını inhibe eder (Şekil 1.1.).



Şekil 1.1. Vitamin D'nin Regülasyonu

1.2.2. Vitamin D Sinyalizasyonu

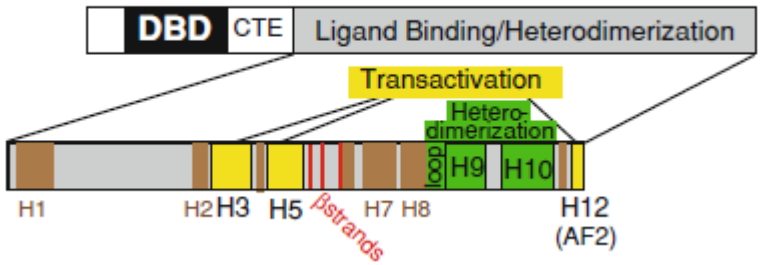
Aktif vitamin D'nin biyolojik işlevi, genomik ve non-genomik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Non-genomik mekanizmada; vitamin D, rapid-response steroid-binding protein reseptörü (1,25D3-MARRS) gibi membran ilişkili reseptörlere bağlanarak, fosfoinositidaz, Ca^{2+}, siklik GMP ve MAP kinaz aracılığıyla çeşitli sinyalizasyon yolaklarını doğrudan etkilemektedir. Genomik işlev ise; vitamin D'nin Vitamin D reseptörüne bağlanması ve gen transkripsiyonunun regüle edilmesiyle sağlanmaktadır.

1.2.2.1. Vitamin D Reseptörünün Moleküler Yapısı ve Fonksiyonu

Nükleer reseptör ailesi üyesi olan VDR, vitamin D'nin metabolik olarak aktif son formu olan $1,25(OH)_2D_3$'e yüksek affinite ve spesifite ile bağlanmaktadır. Vitamin D'nin aktif formu ile bağ oluşturan VDR, retinoid X reseptörü ile etkileşmekte ve heterodimerik bir yapı meydana gelmektedir. VDR-RXR'den oluşan

bu heterodimerik yapı, DNA dizisinde vitamin D tarafından regüle edilen gen bölgelerinde bulunan Vitamin D Response Elementleri ile etkileşmektedir (Haussler ve ark., 2011). Bilinen vitamin D response elementler; DR3 ve ER6 olmakla birlikte, daha iyi bilinen element DR3'tür. DR3; vitamin D reseptörüne 3' ucundan, retinoid X reseptörüne ise 5' ucundan bağlanmaktadır. VDR-RXR heterodimerik yapısına bağlanan nükleotidler deneysel olarak araştırılmış, optimal VDRE; 3'; VDR'nin bağlanacağı bölgede PGTTCA; 5'; RXR'nin bağlanacağı bölgede PGGTCA motifi içeren diziler olarak belirlenmiştir (Colnot ve ark., 1995). Bu dizilerde P, herhangi bir pürin bazını temsil etmektedir. Deneysel olmayan DR3 elementleri ise deneysel olarak belirlenen optimal VDRE'ler ile genellikle 1-3 baz arasında eşleşmeyen dizi içermektedir. VDR-RXR heterodimerinin farklı affinite ile bağlanmasını sağlamak amacıyla deneysel olmayan VDRE'lerin farklı sekans varyasyonları gösterdiği düşünülmekle birlikte; bir diğer olasılık, farklı VDRE sekanslarının özgün bir VDR-RXR kompleksine bağlanarak, ilgili gen bölgelerini regüle etmek suretiyle çeşitli dokularda farklı metabolik yolakların kontrol edilmesine olanak sağlamasıdır. VDRE'lerin bulunduğu genler göz önüne alındığında, vitamin D-VDR etkileşiminin; kemik ve mineral metabolizması, detoksifikasyon, hücre döngüsü, immün sistem ve karbonhidrat, lipid, protein metabolizması gibi temel süreçlerle ilişkili olduğu görülmektedir.

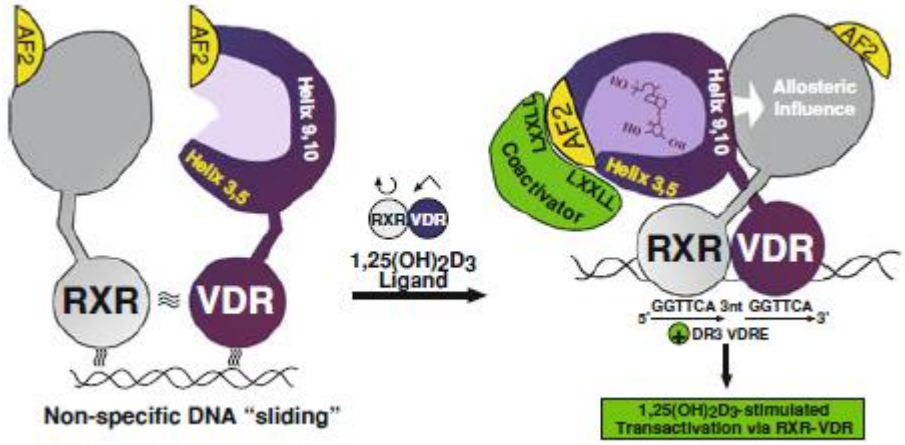
427 aminoasit içeren VDR; N-terminal bölgesinde DNA Binding Domain (DBD) ve C-terminal bölgesinde Ligand Binding (LBD)/Heterodimerizasyon Domaini olmak üzere başlıca iki fonksiyonel birim içermektedir. DBD; reseptörün ilgili DNA sekanslarında bulunan VDRE'ler ile etkileştiği bölgedir. LBD domaini ise; RXR ile heterodimerizasyonu sağlamaktadır. Heterodimerizasyonda başlıca; H9 ve H10 heliksleri ile birlikte, H8 ve H9 heliksleri arasında yer alan loop bölgesi görev almaktadır. Koaktivatörler ile etkileşim ise; H3, H5 ve H12 heliksleri ile birlikte activation-function 2 (AF-2) domaini aracılığıyla sağlanmaktadır. (Şekil 1.2.)



Şekil 1.2. VDR proteininin fonksiyonel domainleri, (Haussler ve ark., 2013).

1.2.2.1.1. VDR ile Gen Ekspresyonunun Aktivasyonu

1,25$(OH)_2D_3$, vitamin D reseptöründeki ligandına bağlandığında VDR'nin C-terminal bölgesinde bulunan H12 heliksinin pozisyonunda konformasyonel bir değişim meydana gelmekte ve bu değişim VDR'yi yeni bir bağlantı için kapalı pozisyona getirmektedir. Bu basamağı; AF-2 domaini tarafından koaktivatörlerin bağlanması için bir platform oluşturulması takip etmektedir. H3,H5 ve H12 heliksleri ile etkileşim içerisinde bulunan koaktivatörlerün de yapıya katılmasıyla VDR-RXR heterodimerik yapısının VDRE'ler üzerinde stabilize olduğu ve güçlü heterodimerizasyonun sağlanması amacıyla, VDR'nin H9 ve H10 heliksleri ile RXR'deki eşleşen helikslerin arasındaki iyonik ve hidrofobik etkileşimlerin itici gücünün; VDR'ye ait LBD domaininin, RXR'ye ait LBD domaininin 5' ucuna migrasyonunu sağladığı ve RXR LBD domaininin 180^o rotasyonuna yardımcı olduğu düşünülmektedir (Haussler ve ark., 2013). Böylece; stabilize olan heterodimerik yapı, ilgili gen bölgesindeki VDRE'lere kenetlenmekte ve koaktivatörlerin de yapıya katılmasıyla fonksiyonel olarak sıkı bağlantılar içeren bir kompleks meydana gelmektedir. Bu basamaklar ile 1,25$(OH)_2D_3$ ilişkili gen transkripsiyonu aktive edilmektedir (Şekil 1.3.).

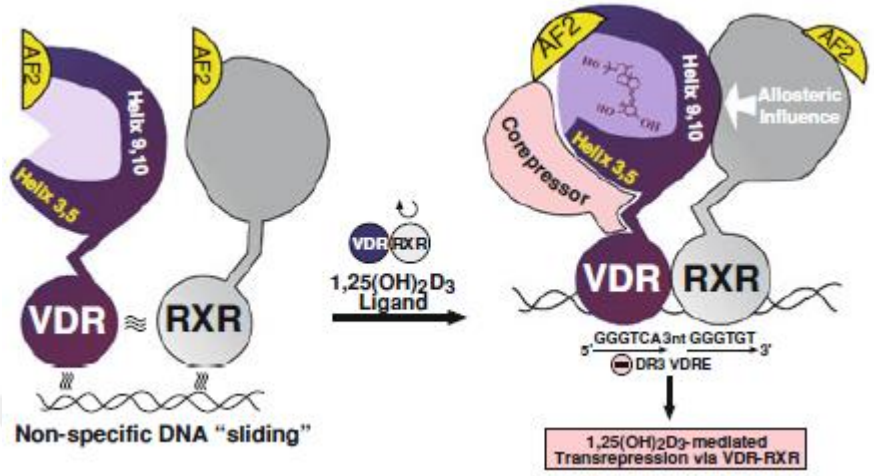


Şekil 1.3. VDR aracılı gen ekspresyonunun aktivasyonu, (Haussler ve ark., 2013).

1.2.2.1.2. VDR ile Gen Ekspresyonunun Baskılanması

Vitamin D'nin VDR'ye bağlanması ve VDR-RXR heterodimerinin oluşması ile gen transkripsiyonunun baskılanması, gen transkripsiyonunun aktivasyonu ile benzer moleküler özellikler bulundurmasına karşın bir kaç yönden farklılık göstermektedir. Gen baskılanmasında, aktivasyondan farklı olarak; nükleer reseptör korepressörlerin yardımıyla hedef gendeki kromatin yapısal olarak değiştirilmektedir. Kromatin yapısının yeniden düzenlenmesi, reseptöre bağlı bulunan korepressörler ile etkileşen histon deasetilaz ve histon demetilaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyon ile gerçekleşmektedir. VDR aracılı gen süpresyonunun başlangıç basamağında, VDR-RXR heterodimeri negatif VDRE'lere kenetlenmekte ve böylece VDR koaktivatörler yerine korepressörlere bağlanmak için konformasyonel bir değişim geçirmektedir. VDR'de meydana gelen bu konformasyonel değişimin, negatif VDRE'lerde eşleşmeyen nükleotidlerin bulunması nedeniyle negatif VDRE'lere özgü olduğu düşünülmektedir. VDR ile gen baskılanması mekanizmasında RXR sessiz partner olarak değerlendirilmekte ve 5' bölgesindeki negatif nükleotidler yardımıyla VDR'ye allosterik bir etkisinin olduğu, böylece; VDR'nin korepressörler ile bağlanmak için uygun konformasyonel değişimine katkı sağladığı hipotezi öne sürülmektedir (Zhang ve ark., 2011). Sonuç olarak; VDR aracılı gen ekspresyonunun baskılanması epigenetik mekanizmalarla ilişkilidir. CYP27B1 geninin $1,25(OH)_2D_3$

tarafından represyonunun epigenetik bir mekanizma olan DNA metilasyonu aracılığıyla gerçekleşmesi ise bu hipotezi desteklemektedir (Kim ve ark., 2009).



Şekil 1.4. VDR aracılı gen ekspresyonunun baskılanması, (Haussler ve ark., 2013)

1.2.2.2. Vitamin D Reseptör Geni

VDR-RXR heterodimeri transkripsiyon faktörü olarak rol almakta ve ilgili genin promotor enhancer ve süpressör bölgelerinde bulunan pozitif veya negatif VDRE'ler aracılığıyla hedef genlerin aktivasyonunu ya da baskılanmasını sağlamaktadır. VDR'nin regülasyonunu etkilediği genler başlıca; metabolizma (%43), hücre ve doku morfolojisi (%19), hücre bağlantıları ve adhezyon (%10), hücre farklılaşması ve gelişimi (%10), angiogenesis (%9) ve epiteliyal mezenkimal geçiş (%5) ile ilişkilidir (Ding ve ark., 2013). Tip I diyabet, multiple skleroz, romatoid artrit ve SLE gibi otoimmün hastalıklar vitamin D ve VDR ile ilişkili bulunmuştur (Holick ve ark., 2004). VDR'nin fizyolojik rolü ve birçok hastalık ile ilişkili bulunmuş olması, hastalıkların mekanizmasının anlaşılması ve önlenmesi için VDR'yi ve VDR'nin ekspresyonundan sorumlu olan VDR genini odak noktası haline getirmektedir.

1.2.2.2.1. Promotor ve Enhancer Bölgeler

VDR'nin çeşitli işlevlerinden sorumlu kodlanmayan ve kodlanan ekzonları başlıca 4 promotor bölge tarafından kontrol edilmektedir. VDR geninin yapısal olarak aydınlatılması, primer promotordaki transkripsiyon faktörü bağlanma bölgelerinin ve bu promotor tarafından kontrol edilen temel ekspresyonların belirlenmesi ile mümkün olmuştur (Miyamoto ve ark., 1997). Primer promotora ilaveten, kodlanmayan ekzonlardan 1c ve 1f'te ve 3'UTR bölgesinde non-coding RNA ekspresyonundan sorumlu ekzon 9'da olmak üzere 3 promotor bölge daha tanımlanmıştır.

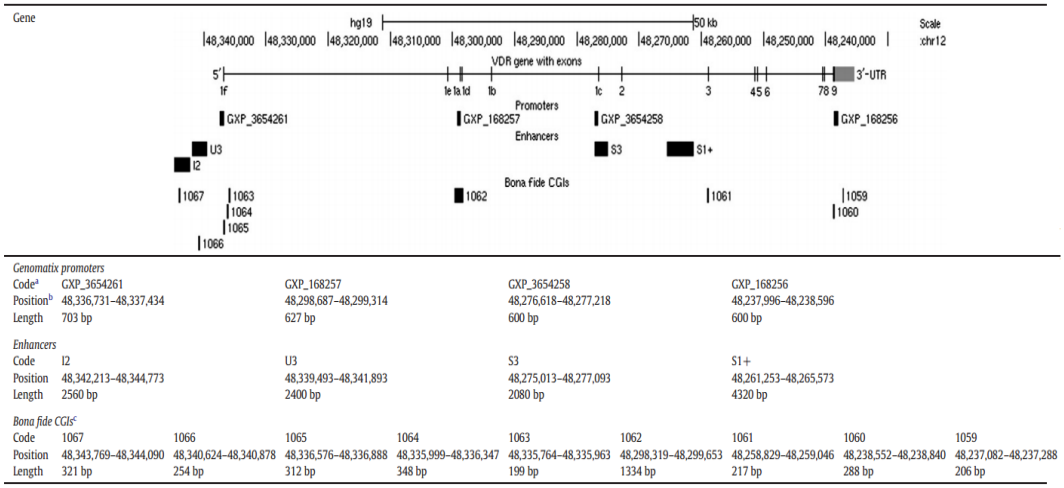
İlk olarak 1998 yılında Crofts ve ark., primer promotor ve ekzon 1f'te bulunan promotordan köken alan 14 farklı VDR transkripti tanımlamış ancak 2014 yılındaki son bulgulara göre; deneysel olarak doğrulanan 10 transkript ve henüz onaylanmayan 2 transkript Genomatrix veri tabanında kayda geçmiştir. Doğrulanan 10 transkriptten 8'i primer promotordan köken almaktadır ve tüm transkriptler çeşitli dokularda eksprese olmaktadır. Primer promotordan köken alan transkriptlerin spliced versiyonlarında 6-11 ekzon bulunurken, 5' ucunda ekzon 1f'te bulunan promotordan köken alan transkript, ekzon 1f ve ekzon 9'u içermektedir. Genin 3' ucunda ekzon 9'da yer alan promotor ise sadece ekzon 9'u içeren bir transkript eksprese etmekte ve bu transkriptin potansiyel bir long non-coding RNA (lncRNA) olduğu düşünülmektedir. Ekzon 1c'de bulunan promotor ise onaylanmamış, 4 ekzon içeren bir transkript üretmekte ve bu transkript, kanserli dokuda, germinal merkezdeki B hücrelerinde ve pankreas adacık hücrelerinde eksprese olmaktadır. Bütün transkript varyantları 4 farklı promotor tarafından üretilmekte ve çeşitli dokularda farklı görevler için eksprese olmaktadır.

VDRB1; ekzon 1d içerisinde başlatıcı bir kodondan köken alan ve ekzon 1d'nin bir kısmı ile ekzon 1c'nin tamamını içeren bir VDR izoformudur. VDRB1 izoformu, VDR'den farklı olarak N-terminal bölgesinde fazladan 50 aminoasit bulundurmaktadır ve VDRB1 izoformu, insan böbrek dokusunda, osteoblastik, intestinal, ve böbrek epitel hücre hatlarında tespit edilmiştir (Sunn ve ark., 2001). Bu

izoform COS-1 hücre serisi ile yapılan in vitro bir çalışmada transaktivasyon açısından orjinal VDR'den daha aktif bulunmuştur (Gardiner ve ark., 2004). VDRB1'in farklı aktivasyon potansiyeline sahip olması, belirli dokularda spesifik mekanizmaları düzenlediğini düşündürmektedir. VDR mRNA'sının alternatif splicingi ve doku spesifik transkripsiyonel aktivitesi; idiopatik skolyozu bulunan bireylerde, kemik, kıkırdak ve paravertebral kas dokusunda gösterilmiş ve VDRB1 mRNA'sı idiopatik skolyozu bulunan jüvenil ve adölesanların paravertebral kas dokusunda anlamlı oranda farklı bulunmuştur (Nowak ve ark., 2012).

Primer VDR transkripti için ana başlatıcı ekzon olan ekzon 1a, insan, fare ve sıçanlarda yüksek oranda korunarak aktarılmakta ve güçlü bir CpG adası içinde bulunmaktadır (Halsall ve ark., 2007). CpG adalarının korunarak aktarılması, bu bölgenin VDR regülasyonunda önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Primer promotor olan ekzon 1a'da bulunan bazı temel transkripsiyon faktörü bağlanma bölgeleri ile birlikte düşünüldüğünde, VDR gen regülasyonunun, transkripsiyon faktörlerinin bağlanması ve CpG adalarının metilasyonu arasındaki sinerjik etkileşim ile kontrol edildiği önerilmektedir. Alternatif VDR'leri kodlayan ekzon 1d ve ekzon 1c'nin de insan, fare ve sıçanda korunarak aktarıldığı gösterilmiştir (Halsall ve ark., 2007).

VDR geninde, ekzon 1f'te iki tane (U3 ve I2), ekzon 1c'de bir tane (S3) ve ekzon 3'te bir tane (S1+) olmak üzere 4 enhancer bölge tanımlanmaktadır. Bu enhancer bölgeler; in silico analiz ve ChIP dizileme metodu ile, $1,25(OH)_2D_3$ ile muameleden sonra bazal seviyede VDR bağlanmasına göre tespit edilmiştir (Zella ve ark., 2010). Vitamin D'nin bağlandığı VDR'nin, S1 enhancerında bulunan VDRE'lere bağlanmasıyla VDR transkripsiyonunda meydana gelen değişiklikler lusiferaz aktivitesi deneyi ile farelerle yapılan bir çalışmada gösterilmiş ve $1,25(OH)_2D_3$ seviyesiyle uyumlu olarak, VDR transkripsiyonunun otoregülasyonunda gendeki enhancer bölgelerin etkili olabileceği belirtilmiştir (Zella ve ark., 2006).



Genomatix promoters

Code[a]	GXP_3654261	GXP_168257	GXP_3654258	GXP_168256
Position[b]	48,336,731–48,337,434	48,298,687–48,299,314	48,276,618–48,277,218	48,237,996–48,238,596
Length	703 bp	627 bp	600 bp	600 bp

Enhancers

Code	I2	U3	S3	S1+
Position	48,342,213–48,344,773	48,339,493–48,341,893	48,275,013–48,277,093	48,261,253–48,265,573
Length	2560 bp	2400 bp	2080 bp	4320 bp

Bona fide CGIs[c]

Code	1067	1066	1065	1064	1063	1062	1061	1060	1059
Position	48,343,769–48,344,090	48,340,624–48,340,878	48,336,576–48,336,888	48,335,999–48,336,347	48,335,764–48,335,963	48,298,319–48,299,653	48,258,829–48,259,046	48,238,552–48,238,840	48,237,082–48,237,288
Length	321 bp	254 bp	312 bp	348 bp	199 bp	1334 bp	217 bp	288 bp	206 bp

Şekil 1.5.VDR geninde bulunan regülatör bölgeler, (Saccone ve ark., 2015).

1.2.2.2.2. Sekans Polimorfizmleri

VDR geninin primer promotor bölgesinde, cdx-2 (rs11568820) (Arai ve ark., 2001) ve GATA (rs4516035) (Fang ve ark., 2005) transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasında değişikliğe yol açan polimorfizmler saptanmış ancak bu transkripsiyon faktörlerinin doku spesifik olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle bu polimorfizmlerin, sadece spesifik hücrelerde ve belirli çevresel uyarılar ile VDR ekspresyonunu regüle ettiği düşünülmektedir.

VDR için translasyon başlatıcı kodonda bulunan rs2228570 polimorfizmi, T>C değişikliği ile ifade edilmektedir ve C alelinin bulunması durumunda 3 aminoasit kesilmiş 424 aminoasit içeren VDR üretilmektedir. 424 aminoasit içeren bu VDR'nin, 427 aminoasit içeren orjinal VDR'den anlamlı oranda yüksek transaktivasyonel kapasiteye sahip olduğu ve VDR geninin otoregülasyonunda işlevsel olabileceği düşünülmektedir (Arai ve ark, 1997).

Birçok hastalığa yatkınlık sebeplerini daha iyi anlamak amacıyla, son 15 yılda VDR geninde, gen ekspresyonunun regülasyonu ve protein üretimi ile ilişkili olabilecek polimorfizmlerin incelendiği çalışmalar artmıştır. Farklı popülasyonlarda, enfeksiyöz hastalıklarda (Selvaraj ve ark., 2009), osteoporoz (Arai ve ark., 1997), ve tip II diyabet hastalarında (Ogunkolade ve ark., 2002) yapılan rs2228570 ve

promotor bölgede bulunan rs11568820 ile rs4516035 polimorfizm çalışmaları ile bu polimorfizmlerin VDR ekspresyonunu etkilediği gösterilmiştir.

VDR geninin 3‘ UTR bölgesinde, rs1544410, rs7975232 ve rs731236 polimorfizmleri çalışılmış; bu polimorfizmlerin fonksiyonel etkisi hala tam olarak açıklanamamıştır. Bu üç polimorfizmin 3‘ UTR bölgesinde bulunduğu göz önüne alındığında, polimorfizmlerin VDR mRNA stabilitesinden sorumlu olabileceği belirtilmektedir (Fang ve ark.,2005). Kodlanmayan veya sessiz SNP’ler olmalarına rağmen, henüz tanımlanmamış fonksiyonel değişimlerle LD içinde olabilecekleri düşünülmektedir. VDR geninin 3‘ UTR bölgesinde tekli A tekrarlarının artmasının genin transkripsiyonel aktivitesini etkilediği bildirilmiştir (Whitfield ve ark., 2001; Fang ve ark., 2005). Fang ve ark. (2005), 5 farklı hücre hattı ile yürüttükleri çalışmada; 3‘ UTR bölgesinde tekli A tekrarlarının artmasına neden olan L (long) alelini ve tekrarın artmasına neden olmayan S (short) alelini hücrelere transfekte etmiş, L alelini taşıyan hücrelerde VDR mRNA seviyesinin S alelini taşıyan hücrelere göre %15 azaldığını kantitatif PCR yöntemi ile saptamıştır. Tekrarların uzunluğunun mRNA stabilitesini değiştirdiğini, L alelini taşıyan hücrelerde mRNA bozunma oranının, S alelini taşıyan hücrelere göre %30 daha fazla olduğunu göstererek belirtmiştir. Rs1544410, rs7975232 ve rs731236 polimorfizmlerinde A-T-C nükleotidlerini bulundurmanın VDR ekspresyonunu nasıl etkilediği bu bulgular ile açıklanabilmektedir.

Hindistan’da sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücreleri ile yapılan bir çalışmada; rs1544410 polimorfizmi için homozigot AA genotipini ve rs731236 polimorfizmi için homozigot CC genotipini bulunduran bireylerin daha düşük VDR protein seviyesine sahip olduğu bildirilmiştir (Selvaraj ve ark., 2009). Rs7975232 polimorfizmi için farklı genotiplerin VDR protein seviyesine herhangi bir etkisi gözlemlenemezken; rs731236 polimorfizmi için homozigot TT genotipini taşıyan bireylerin daha yüksek seviyede VDR proteinine sahip olduğu bildirilmiştir. 3‘ UTR bölgedeki polimorfizmlere bakıldığında; rs1544410 polimorfizmi için G, rs7975232 polimorfizmi için G ve rs731236 polimorfizmi için T alelini taşımanın, sırasıyla, A,T

ve C alelini bulunduran bireylere göre daha yüksek VDR düzeyine sahip olduğu bildirilmiştir (Selvaraj ve ark., 2009).

1.2.3. Vitamin D ve İmmünolojik Regülasyon

Vitamin D'nin etkileri kalsiyum ve fosfor homeostazisi ile sınırlı olmamakla birlikte; hücre farklılaşmasını indüklemesi, hücre büyümesini inhibe etmesi, immün sistemin düzenlenmesi ve diğer hormonal sistemlerin regülasyonu vitamin D'nin bilinen görevleri arasındadır.

T lenfosit, nötrofil, makrofaj ve dendritik hücreler gibi birçok immün sistem hücresinin Vitamin D Reseptörü (VDR) bulundurması ve aktive olmuş inflamatuvar hücrelerin VDR eksprese etmesiyle birlikte; $1,25(OH)_2D_3$ ile T hücre proliferasyonu inhibe edilirken, aktive olmuş makrofajların $1,25(OH)_2D_3$ üretmesi, vitamin D'nin immün sistemin regülasyonundaki önemini göstermektedir.

Monositlerde $1,25(OH)_2D_3$ ile meydana gelen morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler, VDR'nin normal lökosit farklılaşmasında görevi olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, Lemire ve ark. (1985) tarafından $1,25(OH)_2D_3$ titresi arttıkça IgG ve IgM antikorlarının inhibe olduğu gösterilmiş, bu çalışma ile $1,25(OH)_2D_3$'ün antikor üreten B hücrelerine antiproliferatif etki yaptığı kanıtlanmıştır.

CYP27B1 enziminin substratı olan $25(OH)D_3$'ün ise immün sistemi düzenleyici bir görevi olmadığı düşünülmektedir. Ancak; CD16 markerı taşımalarıyla tanımlanan proinflamatuvar monositler $25(OH)D_3$'ten kısmen etkilenmektedir. Kronik böbrek hastası olan 7 birey ile yapılan bir çalışmada; kolekalsiferol tedavisinden sonra $25(OH)D_3$ seviyesinin 4 kat artış göstermesi ile birlikte, monositlerde VDR ekspresyonu ve CYP24A1 geninin ekspresyonunda artış, CYP27B1 geninin ekspresyonunda ise azalma gözlemlenmiştir (Stubbs ve ark., 2010).

$25(OH)D_3$'e göre, $1,25(OH)_2D_3$'ün VDR'ye daha yüksek affinite ile bağlandığı düşünüldüğünde, genel regülasyonun $1,25(OH)_2D_3$ tarafından yürütüldüğü tahmin edilmektedir. VDR üzerine ne kadar etkisi olduğu bilinmemekle birlikte, $1,25(OH)_2D_3$'ün adaptif immüniteyi baskılayarak ve doğal immüniteyi uyararak immün regülasyonda rol oynadığı bilinmektedir.

1.2.3.1. Vitamin D ve Doğal İmmünite

Enfeksiyonların tedavisinde Vitamin D kullanımının 150 yılı aşkın bir tarihçesi bulunmaktadır. 1849 yılında kolekalsiferol açısından zengin bir kaynak olan balık yağının kullanımı ile tüberküloz tedavisinin başarıya ulaştığı bildirilmiştir (Williams, 1849). Bu çalışma; *Mycobacterium tuberculosis* ile enfekte edilen monosit hücre serileri ile gerçekleştirilen, vitamin D'nin doğal immüniteyi düzenlemedeki rolünü ve $25(OH)D_3$ ve $1,25(OH)_2D_3$ arasındaki direkt ilişkiyi gösteren başka bir çalışma ile desteklenmiştir (Rook ve ark., 1986).

Monosit ve makrofajlar gibi polimorfonükleer hücreler ve bazı epitelial hücreler Toll-Like Reseptör eksprese etmektedir ve doğal immünite cevabı TLR aracılıdır. $25(OH)D_3$'ün $1,25(OH)_2D_3$'e dönüşmesini katalizleyen enzimin ekspresyonundan sorumlu gen olan CYP27B1'in aktivasyonu keratinositlerde öncelikle Tümör Nekroz Faktör (TNF) gibi TLR patern tanıma reseptörlerine bağlanan moleküllerle regüle edilir. İnsan keratinositlerinin TNF ve IFN-gamma maruziyeti; $1,25(OH)_2D_3$ üretimini stimüle etmekte ve TLR 2/1 heterodimerinin *M. tuberculosis* ile aktivasyonu CYP27B1 ekspresyonunu ve monosit-makrofajlardaki VDR gen ekspresyonunu arttırmaktadır. Benzer şekilde; TLR-4 ve CD14 kompleksinin de lipopolisakkarid ile uyarımı CYP27B1 ekspresyonunu arttırmaktadır. Sonuç olarak Vitamin D; TLR'ler aracılığıyla makrofaj farklılaşmasını ve mikrosidal etkiyi arttırarak doğal immün yanıtı da arttırmaktadır.

1.2.3.1.1. Vitamin D ve Cathelicidin

Cathelicidinler; lizozom, makrofaj ve polimorfonükleer lökositlerde bulunan, invaziv enfeksiyonlara karşı memelilerin doğal savunmasında görevli antimikrobiyal bir peptid ailesidir. $1,25(OH)_2D_3$ VDR'ye bağlandığında, bu ligand-reseptör kompleksi transkripsiyon faktörü olarak davranır ve antimikrobiyal peptid olan cathelicidinlerin üretimini indükler (Andress ve ark., 2007).

Afro-Amerikanların monosit kültürleri ile yapılan çalışmalarda, monosit kültürünün $25(OH)D_3$ seviyesi beyaz ırka göre düşük bulunmuştur. Monositlerin *M. tuberculosis* lipopeptidleri ile aktive edilmesinin cathelicidinlerin mRNA indüksiyonunda etkisiz olduğu gözlemlenmiştir. Kültürün 1nmol/L-100nmol/L arasında değişen konsantrasyonlarda $1,25(OH)_2D_3$ ile desteklenmesi sonucunda cathelicidin mRNA'sının indüksiyonunda artış görülmüş, bu çalışma ile memelilerin doğal immünitesinde önemli bir rolü olan cathelicidinlerin sentezlenmesinde Vitamin D'nin etkisi kanıtlanmıştır (Liu ve ark., 2006).

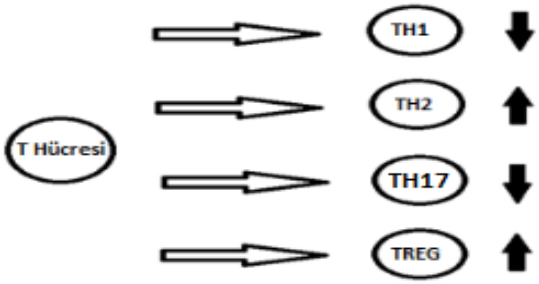
Cathelicidin Antimikrobiyal Peptid olarak bilinen CAMP; serin proteaz enzimi ile 37 aminoasit içeren antimikrobiyal peptide (LL-37) dönüştürülmektedir (Gordon ve ark., 2005). Wang ve ark. (2004), $1,25(OH)_2D_3$ ile CAMP seviyesinin arttığını göstermiştir ve son çalışmalar ile monosit, keratinosit, nötrofil ve bronşiyal epitel hücreler gibi birçok hücre tipinde $1,25(OH)_2D_3$'ün CAMP seviyesini arttırdığı kanıtlanmıştır.

1.2.3.2. Vitamin D ve Adaptif İmmünite

Adaptif immün yanıt, dendritik hücreler ve makrofajlar gibi antijen sunan hücrelerin, antijeni spesifik olarak tanıyan T ve B lenfositlere sunumu ile başlamaktadır. $1,25(OH)_2D_3$'ün; antijen sunan hücrelerin T lenfosit aktivasyonu, proliferasyonu ve sitokin salınımını indükleme yeteneğini değiştirerek adaptif immüniteyi inhibe ettiği bilinmektedir (Bikle, 2009). Ayrıca, $1,25(OH)_2D_3$; antijen sunumu ve T hücre aktivasyonu için gerekli olan dendritik hücrelerin

maturasyonunu, HLA-DR, CD40, CD80, CD86 gibi ko-stimülatör moleküllerin ekspresyonunu azaltmaktadır (Van Etten ve ark., 2005). Bununla birlikte, Vitamin D'nin aktif metaboliti olan $1,25(OH)_2D_3$; Th1 hücrelerinin farklılaşmasından sorumlu olan IL-12 sitokininin salınımını inhibe ederek, IL-2, IFN-gamma ve TNF gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini de azaltmaktadır.

Sonuç olarak, Şekil 1.6'da gösterildiği gibi; $1,25(OH)_2D_3$, Th1 ve Th17 hücre gruplarının gelişimini inhibe ederken, Th2 hücre grubu ve CD4+ ve CD25+ markerları taşıyan ve immün tolerans için kritik olan Treg hücrelerinin farklılaşmasını indüklemektedir (Gregori ve ark., 2001).



Şekil 1.6. Vitamin D'nin T hücre alt tiplerine etkisi

Aktif vitamin D metabolitinin B hücreleri üzerine etkisi ise daha karanlık olmakla birlikte, $1,25(OH)_2D_3$ etkisi ile B hücrelerinin proliferasyon ve plazma hücrelerine dönüşümünde, dolayısıyla immünoglobulin üretiminde azalma olduğu bilinmektedir (Chen ve ark., 2007).

1.2.3.3. Vitamin D ve İnflamasyon

Endoteliyal hücreler, enfeksiyonlarda, sepsiste ve organ rejeksiyonunda immün sistemin aktifleşmesinde görev almaktadır. Kılcal damarların endotel hücreleri ile yapılan bir çalışmada; endoteliyal hücrelerin $1,25(OH)_2D_3$ ile muamelesinin; gram negatif bakteri polisakkaridi ile aktive edilmiş NF-KB transkripsiyon faktörünü,

TNF, IL-6, IL-8 ve C-C motifi taşıyan kemokinlerin salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (Equils ve ark., 2006).

$1,25(OH)_2D_3$ vazodilatasyonu inhibe etmektedir. Bununla birlikte $1,25(OH)_2D_3$ bir diğer önemli rolü; geri-bildirim kontrol mekanizmalarını regüle ederek, immün yanıtın aşırılığından doğacak olan inflamatuvar hasarı sınırlamasıdır. $1,25(OH)_2D_3$ immün regülasyonu; inflamatuvar cevabı başlatacak olan, monositlerde eksprese olan TLR-4 ve TLR-6 reseptörlerinin ekspresyonunu azaltarak gerçekleştirmektedir. Aktif vitamin D metaboliti tarafından TLR ekspresyonunun baskılanması doğal immün cevabın aşırı olmasını ve inflamatuvar T lenfosit artışını sınırlarken, Th1 aracılı otoimmün cevabın azaltılmasını sağlamaktadır (Sadeghi ve ark., 2006).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı tarafından, Şubat 2016 – Eylül 2016 tarihleri arasında, İbn-i Sina Hastanesi İmmünoloji ve Doku Tiplendirme Laboratuvarı'nda yürütüldü. Çalışma protokolü, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nca 02-46-16 karar no ile onaylandı. Bu araştırma, 16H0230003 proje numarası ile Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklendi.

Bu çalışmaya Behçet Hastalığı Multidisipliner Tanı ve Tedavi Ünitesi'ne başvuran, "Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu" tarafından belirlenen tanı kriterleri ile BH tanısı koyulmuş olan, 18-64 yaş aralığında 150 Behçet hastası ve kontrol grubu olarak Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesi'ne çeşitli şikayetlerle başvuran ancak otoimmün ve kronik herhangi bir hastalık tanısı bulunmayan aynı yaş aralığında 150 sağlıklı birey dahil edildi. Çalışma için oluşturulan örneklem; iki serbestlik derecesinde 0.05 yanılma düzeyinde Ki-Kare testiyle 0.18 birimlik etki büyüklüğünü %80 güç ile belirlemek için 150 hasta ve 150 sağlıklı kontrolden oluşmak üzere 300 birey olarak belirlendi.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan detaylı öykü alındı ve Behçet Hastalığı Uluslararası Çalışma Grubu tarafından belirlenen kriterler doğrultusunda hazırlanan BH Hasta Takip Formu her hasta için ayrıntılı olarak dolduruldu (Ek 2: BH Hasta Takip Formu).

Son dört hafta içerisinde; oküler lezyon, genital ülser, oral aft gibi klinik bulgulardan en az birinin bulunması durumunda hastalık aktif olarak kabul edildi. Dört hafta süreyle bu klinik bulguların olmaması durumunda hastalık inaktif kabul edildi (Bhakta ve ark, 1999).

2.1. Kan Örneklerinin Toplanması

Hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubundan rutin kan alımları sırasında bu çalışma için ayrıca biyokimya tüpüne ve %10'luk Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA) içeren hemogram tüpüne olmak üzere 10cc miktarında kan alındı. Biyokimya tüplerine alınan kanlar santrifüj edildi ve ayrılan serumlar 2 ml'lik eppendorf tüplerine aktarılarak -20 ^{o}C'de saklandı.

2.2. DNA İzolasyonu

%10'luk EDTA içeren tüplere alınan kanlar DNA izolasyonu yapılana dek +4 ^{o}C'de muhafaza edildi. DNA izolasyonu GeneMatrix Quick Blood DNA izolasyon kiti (EURX, Kanada) kullanılarak spin kolon tekniği ile yapıldı.

İzolasyon protokolü aşağıdaki basamakları içermektedir:

- Spin kolon içeren tüplere, spin kolonu aktive etmek amacıyla 40 µl Buffer QB pipetlendi.
- 200 µl kan örneği her hasta için hazırlanan 1,5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarıldı.
- Kan örneğine 10 µl Proteinase K ve 200 µl Sol QB Buffer pipetlendi ve karışım vortekslendikten sonra 70 ^{o}C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında örneklere 200 µl %96'lık etil alkol eklendi ve vortekslenen karışım 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Santrifükasyon sonrası örnekler spin kolon içeren eppendorf tüplerine aktarıldı ve bu tüpler 12000 rpm'de 2 dakika santrifüje tabi tutuldu.
- Santrifüj sonrası eppendorf tüplerinde toplanan lizat döküldü ve spin kolonlar tekrar tüplere yerleştirildi.
- 500 µl Wash QBX Buffer 1 pipetlendi ve 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası eppendorf tüplerine toplanan lizatlar döküldü, spin kolonlar yeniden eppendorf tüplerine yerleştirildi ve 500 µl Wash QBX Buffer 2 eklenerek 12000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
- Lizatın toplandığı eppendorf tüpleri atılarak spin kolonlar yeni 1,5 ml'lik eppendorf tüplerine alındı.

- Önceden 70 ºC'de ısıtılmış Elution Buffer'dan 100 µl pipetlendi ve örnekler 3 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldıktan sonra 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası spin kolonlar atıldı, eppendorf tüplerinde toplanan DNA genetik analizlere hazır bir şekilde -20 ºC'ye kaldırıldı.

2.3. PCR (Polymerase Chain Reaction)

Polimeraz zincir reaksiyonu; DNA'da dizisi bilinen iki segment arasındaki spesifik bir bölgeyi enzimatik olarak çoğaltmak için uygulanan bir tekniktir. Çoğaltılmak istenilen bölgenin, forward ve reverse olmak üzere bir primer çifti ile özgün olarak işaretlenmesi ve *Thermophilus aquaticus* bakterisinden elde edilen Taq DNA polimeraz enziminin katalizlediği reaksiyon ile sentetik oligonükleotidler kullanılarak her döngüde çoğaltılmak istenen bölgenin sentezlenmesi esasına dayanır.

Bu çalışmada Vitamin D Reseptör geninde rs1544410, rs2228570, rs7975232 ve rs731236 polimorfizmleri çalışıldı ve genin ilgili bölgeleri üç ayrı primer çifti kullanılarak çoğaltıldı (Çizelge 2.1.).

Çizelge 2.1. İlgili bölgelerin PCR ile çoğaltılması için kullanılan primer çiftleri

SNPs	Forward Primer	Reverse Primer	Ürün
rs1544410	5' TGT GGT GTG TGG ACG CTG AGG T 3'	5' CCC TGC CCG CAA GAA ACC TCA A 3'	207 bç
rs2228570	5' CCC TGG CAC TGA CTC TGG CTC T 3'	5' TTT CCA CTG GGG AGA GCC TGG G 3'	232 bç
rs7975232	5' GGC AGT GGT ATC ACC GGT CAG C 3'	5' CGC AGG TCG GCT ACC TTC TGG A 3'	297 bç
rs731236	5' GGC AGT GGT ATC ACC GGT CAG C 3'	5' CGC AGG TCG GCT ACC TTC TGG A 3'	297 bç

İlgili üç bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primer çiftleri Benchling (San Francisco, ABD) yazılımı kullanılarak dizayn edildi ve her primer çifti için optimal annealing sıcaklık değeri Mutation Surveyor (Pensilvanya, ABD) programı ile belirlendi. PCR reaksiyonu belirlenen sıcaklık koşullarında 35 döngüde gerçekleştirildi (Çizelge 2.2.).

Çizelge 2.2. Optimal PCR reaksiyon koşulları

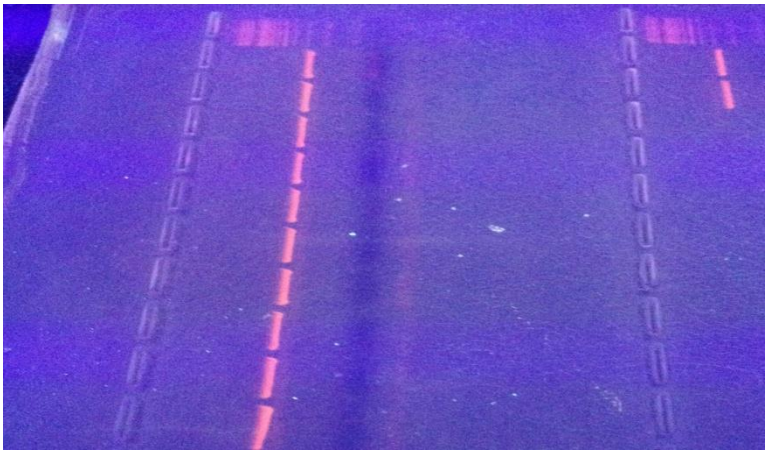
SNPs	Predenatürasyon	Denatürasyon	Annealing	Extension	Final Extension
rs1544410	94 C°	94 C°	63 C°	72 C°	72 C°
rs2228570	94 C°	94 C°	65 C°	72 C°	72 C°
rs7975232	94 C°	94 C°	65 C°	72 C°	72 C°
rs731236	94 C°	94 C°	65 C°	72 C°	72 C°

Bu çalışmada optimize edilen PCR reaksiyon karışımı 25 µl toplam hacimde Çizelge 2.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. PCR reaksiyonunda bulunan bileşenlerin hacmi

PCR Reaksiyon Bileşenleri	Bileşenlerin Hacmi
dH_2O	13,3 µl
10X Reaksiyon Buffer	2,5 µl
dNTP mix	2,5 µl
Forward Primer	1 µl
Reverse Primer	1 µl
$MgCl_2$	2,5 µl
Taq Polimeraz	0,2 µl
DNA	2 µl
Toplam Hacim	25 µl

Optimal hacim-konsantrasyon ve döngü sıcaklık değerleri ile 35 döngü sonucunda çoğaltılan bölgeler, 1x konsantrasyonda 100 ml Tris Borat Edta (New Bioscience, ABD) içerisine 2 gram agaroz (Bioshop, Kanada) ve 4 µl Ethidium Bromide (Bioshop, Kanada) eklenerek hazırlanan %2'lik agaroz jele yüklenerek 150 mv güç ile 25 dk yürütüldü ve sonuçlar UV altında değerlendirildi.



Şekil 2.1. PCR ürünlerinin UV altında görünümü, (rs797532 ve rs731236 SNPleri için çoğaltılan 297 bç'lik bölge)

2.4. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Kesim parçacıkları uzunluk polimorfizmi yöntemi; polimorfizm çalışmaları ve nokta mutasyonların analizinde tercih edilen, restriksiyon enzimleri ile DNA'nın farklı büyüklükte fragmentlere ayrılması esasına dayanan bir tekniktir.

Bu çalışmada rs1544410 polimorfizmi için BSMI (New England Biolabs, İngiltere), rs2228570 polimorfizmi için FOKI (New England Biolabs, İngiltere), rs7975232 polimorfizmi için APAI (New England Biolabs, İngiltere) ve rs731236 polimorfizmi için TAQI (New England Biolabs, İngiltere) restriksiyon enzimleri kullanıldı.

Vitamin D Reseptör geninde bulunan rs1544410 polimorfizmi için PCR ile çoğaltılan 207 bç'lik bölge, G allelinin bulunması durumunda BSMI enzimi ile 129 bç ve 78 bç olmak üzere iki fragmente ayrılırken, G>A değişimi durumunda kesim gözlemlenmedi.

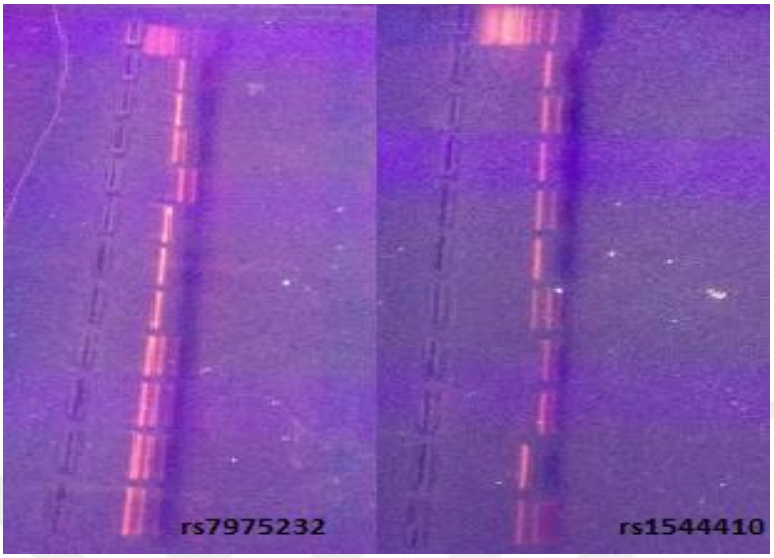
Rs2228570 polimorfizmi için PCR ile çoğaltılan 232 bç'lik bölge T allelinin bulunması durumunda FOKI enzimi ile 168 bç ve 64 bç olmak üzere iki fragmente ayrılırken, T>C değişimi durumunda kesim gözlemlenmedi.

Rs7975232 polimorfizmi için PCR ile çoğaltılan 297 bç'lik bölge G allelinin bulunması durumunda APAI enzimi ile 193 bç ve 104 bç olmak üzere iki fragmente ayrılırken, G>T değişimi durumunda kesim gözlemlenmedi.

Rs731236 polimorfizmi için PCR ile çoğaltılan 297 bç'lik bölge T allelinin bulunması durumunda TAQI enzimi ile kesilmezken, T>C değişimi durumunda 180 bç ve 117 bç olmak üzere iki fragmente ayrıldı.

Kesim sonrası; 1x konsantrasyonda, 100 ml Tris Borat Edta içerisine 2,5 gram agaroz ve 4 µl ethidium bromide eklenerek hazırlanan %2,5'lik agaroz jele yüklenen örneklerin 120 mv güç ile 20 dk. yürütülmesi ile genotip analizi yapıldı. Genotip

analizi için 100bç ve 3000bç aralığında 12 bant içeren DNA markerı (Solis Bio Dyne, Estonya) kullanıldı.



Şekil 2.2. Kesim ürünlerinin UV altında görünümü

2.5. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

ELISA, bir antijene spesifik olarak bağlanan bir antikorun veya; bir antikora spesifik olarak bağlanan bir antijenin varlığını saptamak amacıyla kullanılan kantitatif bir yöntemdir. Bu çalışmada Behçet hastalarının ve sağlıklı kontrol grubunun serumlarında çözünür halde bulunan Vitamin D reseptörünü kantitatif olarak tespit etmek amacıyla, Vitamin D reseptörünün özgün olarak bağlanacağı Vitamin D reseptör antikoru ile kaplı plaklar içeren ve Sandviç tekniği ile çalışan ELISA kitleri (YH Biosearch Laboratory, Çin) kullanıldı. Çalışmaya 57 Behçet hastası ve 59 sağlıklı birey olmak üzere toplam 116 birey dahil edildi.

Test protokolü aşağıdaki basamakları içermektedir:

- 64 ng/ml konsantrasyondaki orjinal standart solüsyonun dilüsyonu için 5 adet eppendorf tüpü 1-5 aralığında numaralandırıldı.
- Her bir eppendorf tüpüne 120 µl standart dilüsyondan pipetlendi.

- Orjinal standart solüsyonundan 120 µl alındı ve 5 numaralı eppendorf tüpüne eklenip pipetaj ile yeterince karışması sağlandıktan sonra 120 µl çekilerek 4 numaralı eppendorf tüpüne aktarıldı ve aynı işlemler tüm eppendorf tüpleri için tekrar edilerek 64 ng/ml konsantrasyondaki orjinal standart solüsyonun 1/2 oranında seri dilüsyonu gerçekleştirildi.

- Standartın seri dilüsyonu ile 64 ng/ml, 32 ng/ml, 16 ng/ml, 8 ng/ml, 4 ng/ml ve 2 ng/ml konsantrasyonlarda olmak üzere 6 adet standart hazırlandı.

- Bir kuyucuk boş bırakılmak kaydıyla, her konsantrasyondaki standart solüsyon için iki kuyucuk olmak üzere 50 µl standart ve kalan kuyucuklara 40 µl hasta serumu pipetlendi.

- Standart solüsyonlar önceden VDR antikoru ile kaplanmış olduğu için, sadece hasta serumlarının olduğu kuyucuklara 10 µl VDR antikoru eklendi.

- Tüm kuyucuklara 50 µl Streptavidin-HRP pipetlendikten sonra plate nazikçe karıştırıldı ve 37 ºC'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.

- Dereceli silindir kullanılarak hazırlanan 580 ml distile suya 20 ml hacimdeki yıkama solüsyonu eklendi ve solüsyonun 1/30 dilüsyonu sağlandı.

- İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı ve çoklu pipet yardımıyla total hacim 300 µl olmak üzere, her kuyuya yıkama solüsyonu pipetlendi. 30 saniye bekledikten sonra plate emici kağıt üzerinde ters çevrilerek kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı. Yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı.

- Yıkama işleminden sonra her kuyuya 50 µl Chromogen A ve ardından 50 µl Chromogen B eklenerek yavaşça karıştırıldıktan sonra, plate 37 ºC'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.

- İnkübasyondan sonra her kuyuya 50 µl stop solüsyonu eklendi ve bu aşamada kuyucuklardaki reaksiyonun yoğunluğuna göre farklı tonlarda oluşan mavi renk sarıya dönüştü.

- Stop solüsyonu eklenen plate'in; birinci dalga boyu 450 nm ve ikinci dalga boyu 630 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede absorbans ölçümü yapıldı.

- Konsantrasyonu bilinen standart solüsyonların verdiği absorbans değerleri kullanılarak, absorbansa karşı konsantrasyon olmak üzere standart grafik çizildi.

- Standart grafiğin verdiği formül kullanılarak; konsantrasyonu bilinmeyen örneklerin absorbans değerlerinden konsantrasyonları hesaplandı.

2.6. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmanın sonucunda elde edilen verilerde; hasta ve kontrol grubu arasında VDR genindeki bir polimorfizmin sıklığı ve anlamlılık düzeyi Ki-Kare testi ile VDR genindeki polimorfizmler ve klinik semptomlar arasındaki ilişki Ki-Kare ve Fischer's Exact testi ile saptandı. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda kantitatif olarak ölçülen serum VDR düzeyleri, Shapiro-Wilk analizi ile normal dağılım sınaması yapıldıktan sonra, Mann Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Serum VDR düzeyleri ile klinik semptomlar arasındaki ilişki, Levene's testi ile varyansların eşitliği sınandıktan sonra, Student's t testi ile analiz edildi. Serum VDR düzeyleri ile genotip arasındaki ilişki Tek Yönlü Varyans Analizi ile değerlendirildi. Tüm istatistiksel analizler için SPSS v.24 yazılımı kullanıldı ve anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Hasta Analizi

Bu çalışma 150 Behçet hastası ve 150 sağlıklı birey olmak üzere 300 bireyden oluşan bir örneklem ile gerçekleştirildi. Behçet hastaları 106 kadın (%70,7) ve 44 erkek hastadan (%29,3) oluşurken, sağlıklı kontrol grubunda 101 kadın (%67,3) ve 49 erkek birey (%32,7) mevcuttu (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Behçet hastaları ve kontrol grubunun cinsiyet dağılımı

	Behçet Hastaları (n=150)	**Kontrol Grubu (n=150)**
Kadın	106 (%70,7)	101 (%67,3)
Erkek	44 (%29,3)	49 (%32,7)

Behçet hastaları, Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu tarafından belirlenen ve 2014 yılında güncellenmiş olan, Çizelge 1.3'te belirtilen puanlama sistemine göre belirlendi (Davatchi ve ark, 2014).

Oküler lezyon, genital ülser ve oral aft gibi klinik bulgulardan en az birinin son dört hafta içerisinde bulunması durumunda hastalık aktif; dört hafta süreyle bu klinik bulguların olmaması durumunda hastalık inaktif kabul edildi (Bhakta ve ark, 1999). Bu değerlendirmeye göre, 150 Behçet hastasından 107'si inaktif (%71,3), 43'ü aktif (%28,7) olarak belirlendi (Çizelge 3.2.).

Çizelge 3.2. Behçet hastalığının aktivite dağılımı

Aktivite	**Hasta Sayısı**
Aktif	43 (%28,7)
İnaktif	107 (%71,3)

Hasta takip formunda mevcut olan klinik semptomlardan (EK 2) ; oral aftı bulunan 67, genital ülseri bulunan 31, göz tutulumu mevcut olan 12, papülopüstüler lezyona sahip 30, eritema nodozumu bulunan 21, paterji testi pozitifliği gösteren 16,

artriti bulunan 9, damar tutulumu bulunan 7, nörolojik tutuluma sahip olan 3 hasta belirlendi (Çizelge 3.3.).

Çizelge 3.3. Klinik bulguların dağılımı

Klinik Bulgular	Toplam hasta grubu	Aktif Behçet hastaları
Oral Aft	67 (%44,7)	43 (%100)
Genital Ülser	31 (%20,7)	31 (%72,1)
Göz Tutulumu	12 (%8)	9 (%20,9)
Papülopüstüler Lezyon	30 (%20)	22 (%51,2)
Eritema nodozum	21 (%14)	14 (%32,6)
Paterji Testi Pozitifliği	16 (%10,7)	12 (%27,9)
Artrit	9 (%6)	9 (%20,9)
Damar Tutulumu	7 (%4,7)	4 (%9,3)
Nörolojik Tutulum	3 (%2)	3 (%7,0)

3.2. Alel ve Genotip Analizi

Bu çalışmada 150 Behçet hastası ve 150 sağlıklı bireyden oluşan toplam 300 bireylik örneklemde VDR genindeki rs1544410, rs2228570, rs7975232 ve rs731236 polimorfizmleri çalışıldı.

3.2.1. rs1544410 Polimorfizmi

VDR geninin 58,980. bazında G>A değişimi olarak tanımlanan rs1544410 polimorfizmi, Behçet hastalarından oluşan grupta 30 bireyde homozigot, 89 bireyde ise heterozigot olarak belirlendi. Sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda ise bu polimorfizm, 20 bireyde homozigot, 81 bireyde heterozigot olarak bulundu. Atasal alel G, homozigot olarak (GG) 31 hastada mevcutken, sağlıklı bireylerden oluşan grupta bu sayı 49 olarak saptandı. İki grup arasındaki genotip farkı Ki-kare testi ile sınandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,04) (Çizelge 3.4.).

Çizelge 3.4. Rs1544410 polimorfizmi için hasta-kontrol genotip analizi

Polimorfizm	Genotip	Hasta (n=150)	Kontrol (n=150)	P değeri
Rs1544410 (G>A)	GG	31	49	P=0,04
	GA	89	81	
	AA	30	20	

Bu polimorfizmin alel analizinde, Behçet hastalarında G aleli 151, sağlıklı bireylerde 179, A aleli ise hasta grubunda 149, kontrol grubunda 121 olarak saptandı. İki grup arasındaki alel farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,022) (Çizelge 3.5.).

Çizelge 3.5. Rs1544410 polimorfizmi alel analizi

Polimorfizm	Alel	Hasta	Kontrol	P değeri
Rs1544410 (G>A)	G	151	179	P=0,02
	A	149	121	

Behçet hastalığı için; A alelini bulundurmanın G alelini bulundurmaya göre 1,46 kat riskli olduğu tespit edildi (Çizelge 3.6.).

Çizelge 3.6. Rs1544410 polimorfizmi için alellerin risk analizi

Polimorfizm	Alel	Value	Odds Ratio
Rs1544410 (G>A)	G	0,844	1,46
	A	1,231	

Rs1544410 polimorfizmi genotipleri ile hastalığın aktivitesi veya incelenen klinik semptomlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamadı. Aktif Behçet hastalarının %27,9'unun homozigot (AA), %53,5'inin ise heterozigot (GA) olarak bu polimorfizmi taşıdığı saptandı (Çizelge 3.7.).

Çizelge 3.7. Rs1544410 polimorfizmi genotiplerinin hastalık aktivitesine göre dağılımı

	GENOTİPLER						
	GG		GA		AA		P değeri
Aktivite	Aktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	P=0,31
Hasta Sayısı	8(%18,6)	21(%19,6)	23(%53,5)	70(%65,4)	12(%27,9)	16(%15)	

Klinik semptomlar incelendiğinde; göz tutulumuna sahip hastaların %50'sinin rs1544410 polimorfizmini homozigot olarak (AA), diğer %50'sinin ise bu polimorfizmi heterozigot olarak (GA) bulundurduğu belirlendi. Göz tutulumu bulunmayan hastalarda ise; homozigot AA genotipi %15,3 olarak saptandı. Diğer klinik semptomlar incelendiğinde; oral aftı bulunan hastaların %19,4'ü homozigot AA, %61,2'si ise heterozigot GA genotipine sahipken; genital ülseri bulunan hastaların %19,4'ünün AA, %61,2'sinin GA; papülopüstüler lezyona sahip hastaların %20'sinin AA, %66,7'sinin GA; eritema nodozumu olan hastaların %19'unun AA, %52,4'ünün GA; paterji pozitifliği gösteren hastaların %25'inin AA, %50'sinin GA genotipine sahip oldukları saptandı (Çizelge 3.8.).

Çizelge 3.8. Rs1544410 polimorfizmi genotiplerinin klinik bulgulara göre analizi

	GENOTİPLER						
	GG		GA		AA		P değeri
Klinik Semptomlar	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
Oral Aft	13(%19,4)	17(%20,5)	41(%61,2)	52(%62,7)	13(%19,4)	14(%16,8)	P=0,95
Genital Ülser	6(%19,4)	24(%20,2)	19(%61,2)	74(%62,2)	6(%19,4)	21(%17,6)	P=0,98
Göz Tutulumu	0(%0)	30(%21,7)	6(%50)	87(%63)	6(%50)	21(%15,3)	P=0,06
Papülopüstüler Lezyon	4(%13,3)	25(%20,8)	20(%66,7)	74(%61,7)	6(%20)	21(%17,5)	P=0,78
Eritema Nodozum	6(%28,6)	24(%18,6)	11(%52,4)	81(%62,8)	4(%19)	24(%18,6)	P=0,73
Paterji Testi	4(%25)	25(%18,7)	8(%50)	86(%64,2)	4(%25)	23(%17,1)	P=0,47
Artrit	3(%33,3)	27(%19,2)	4(%44,5)	89(%63,1)	2(%22,2)	25(%17,7)	P=0,69
Damar Tutulumu	0(%0)	30(%21)	7(%100)	86(60,1)	0(%0)	27(%18,9)	P=0,20
Nörolojik Tutulum	0(%0)	30(%20,4)	3(%100)	90(%61,2)	0(%0)	27(%18,4)	P=0,54

Rs1544410 polimorfizmi ile klinik semptomlar arasındaki ilişki alel bazında incelendiğinde; göz tutulumuna sahip olan hastaların 6 G, 18 A aleline sahip olduğu, göz tutulumu bulunmayan hastaların ise 147 G,129 A aleli taşıdığı saptandı ve göz tutulumuna sahip olan hastaların göz tutulumu bulunmayan hastalara göre daha yüksek yüzde ile A aleli taşıdığı belirlendi. İki grup arasındaki alel farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,013). Ancak hastalığın aktivitesi ve diğer klinik semptomlar ile G veya A alelini taşıma durumu açısından anlamlı bir bulgu elde edilemedi.

3.2.2. rs2228570 Polimorfizmi

VDR geninin 25,920. bazında T>C değişimi olarak tanımlanan rs2228570 polimorfizmi, Behçet hastalarından oluşan grupta 24 bireyde homozigot, 100 bireyde heterozigot olarak belirlendi. Sağlıklı bireylerden oluşan grupta ise bu polimorfizm, 14 bireyde homozigot, 88 bireyde heterozigot olarak bulundu. Atasal alel T, homozigot olarak (TT) 26 hastada mevcutken, sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda bu sayı 48 olarak saptandı. İki grup arasındaki genotip farkı Ki-kare testi ile sınandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,007) (Çizelge 3.9.).

Çizelge 3.9. Rs2228570 polimorfizmi genotip analizi

Polimorfizm	Genotip	Hasta (n=150)	Kontrol (n=150)	P değeri
Rs2228570 (T>C)	TT	26	48	P=0,007
	TC	100	88	
	CC	24	14	

Bu polimorfizmin alel analizinde, Behçet hastalarında T aleli 152, kontrol grubunda 184, C aleli ise, hasta grubunda 148, kontrol grubunda 116 olarak saptandı. İki grup arasındaki alel farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,008) (Çizelge 3.10.).

Çizelge 3.10. Rs2228570 polimorfizmi alel analizi

Polimorfizm	Alel	Hasta	Kontrol	P değeri
Rs2228570 (T>C)	T	152	184	P=0,008
	C	148	116	

Rs2228570 polimorfizmi alel analizine göre; Behçet hastalığı için, C alelini taşımanın T alelini taşımaya göre 1,55 kat riskli olduğu belirlendi (Çizelge 3.11.).

Çizelge 3.11. Rs2228570 polimorfizmi için alellerin risk analizi

Polimorfizm	Alel	Value	Odds ratio
Rs2228570 (T>C)	T	0,826	1,55
	C	1,276	

Hastalar kendi içinde analiz edildiğinde, aktif ve inaktif hastaların rs2228570 polimorfizmi genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi (p=0,015). Aktif hastaların %34,9'u homozigot CC genotipine sahipken; inaktif hastaların homozigot CC genotipini %10,3 oranında bulundurduğu saptandı. Bununla birlikte; inaktif hastalar atasal T aleline homozigot olarak (TT) %19,6 oranında sahipken; aktif hastaların TT genotipine %9,3 oranında sahip olduğu belirlendi (Çizelge 3.12.).

Çizelge 3.12. Rs2228570 polimorfizmi genotipleri ile aktivite karşılaştırması

	GENOTİPLER						
	TT		**TC**		**CC**		**P değeri**
Aktivite	Aktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	P=0,015
Hasta Sayısı	4(%9,3)	21(%19,6)	24(%55,8)	75(%70,1)	15(%34,9)	11(%10,3)	

İncelenen klinik semptomlar ile rs2228570 polimorfizmi genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ancak; oral afta sahip hastaların %25,4'ü homozigot CC genotipine sahipken; oral aftı olmayan hastaların homozigot CC genotipini %10,8 oranında bulundurduğu; ayrıca, oral aftı bulunan hastaların %6,4'ü homozigot TT genotipine sahipken; oral aftı olmayan hastaların %21,7'sinin homozigot TT genotipine sahip olduğu saptandı (Çizelge 3.13.). Diğer klinik semptomlar ile rs2228570 polimorfizmi incelendiğinde; homozigot CC genotipi; genital ülsere sahip hastalarda %22,6, genital ülseri olmayan hastalarda %15,9; göz tutulumu bulunan hastalarda %25, göz tutulumu bulunmayan hastalarda %18,9; papülopüstüler lezyona sahip hastalarda %20, papülopüstüler lezyonu bulunmayan hastalarda %15; eritema nodozumu bulunan hastalarda %23,8, eritema nodozumu bulunmayan hastalarda %16,3; paterji testi pozitif olan hastalarda %37,5, paterji testi negatif olan hastalarda %14,9; artriti olan hastalarda %55,6, artriti bulunmayan hastalarda ise %15,6 oranında saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte damar tutulumu ve nörolojik tutulum dışındaki klinik semptomlara sahip hastaların, aynı semptomu bulundurmayan hasta grubuna göre, rs2228570 polimorfizmini daha yüksek yüzde ile homozigot olarak bulundurduğu belirlendi (Çizelge 3.13.).

Çizelge 3.13. Rs2228570 polimorfizmi için klinik bulgulara göre genotip dağılımı

	GENOTİPLER						
	TT		**TC**		**CC**		**P değeri**
Klinik semptomlar	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
Oral Aft	7(%6,4)	18(%21,7)	43(%64,2)	56(%67,5)	17(%25,4)	9(%10,8)	P=0,06
Genital Ülser	4(%12,9)	21(%17,7)	20(%64,5)	79(%66,4)	7(%22,6)	19(%15,9)	P=0,69
Göz Tutulumu	1(%8,3)	24(%17,4)	8(%66,7)	92(%66,7)	3(%25)	22(%18,9)	P=0,80
Papülopüstüler Lezyon	6(%20)	20(%16,7)	18(%60)	82(%68,3)	6(%20)	18(%15)	P=0,58
Eritema Nodozum	1(%4,8)	24(%18,6)	15(%71,4)	84(%65,1)	5(%23,8)	21(%16,3)	P=0,51
Paterji Testi	0(%0)	25(%18,7)	10(%62,5)	89(%66,4)	6(%37,5)	20(%14,9)	P=0,09
Artrit	0(%0)	25(%17,7)	4(%44,4)	94(%66,7)	5(%55,6)	22(%15,6)	P=0,07
Damar Tutulumu	4(%57,1)	21(%14,7)	3(%42,9)	96(%67,1)	0(%0)	26(%18,2)	P=0,08
Nörolojik Tutulum	0(%0)	25(%17)	3(%100)	96(65,3)	0(%0)	26(%17,7)	P=0,59

Aktif ve inaktif hastaların taşıdığı aleller incelendiğinde, aktif hastaların 32 T, 54 C aleli mevcutken, inaktif hastaların 117 T, 97 C aleli taşıdığı saptandı ve aktif hastaların daha yüksek yüzde ile C aleline sahip olduğu belirlendi. Alel farkı aktif ve inaktif hastalar arasında anlamlı bulundu (p=0,015). Oral aftı bulunan hastalarda 57 T, 77 C aleli bulunurken, oral aftı olmayan hastaların 92 T, 74 C aleli taşıdığı belirlendi ve oral aftı bulunan hastaların daha yüksek yüzde ile C aleline sahip olduğu saptandı. Oral aftı bulunan hastalar ile oral aftı bulunmayan hastalar arasındaki alel farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,027). Paterji testi pozitifliği gösteren hastalar, 10 T, 22 C aleli taşırken, paterji testi pozitifliği bulunmayan hastalarda 139 T, 129 C aleli saptandı ve paterji testi pozitifliği bulunan hastaların daha yüksek yüzde ile C aleli taşıdığı belirlendi. Alel farkı iki grup arasında anlamlı bulundu (p=0,037). Artriti olan hastalarda ise 4 T 14 C aleli mevcutken, artriti bulunmayan hastalarda 144 T, 138 C aleli saptandı ve alel farkı iki grup arasında anlamlı bulundu (p=0,02). Diğer klinik semptomlardan farklı olarak; damar tutulumu bulunmayan hastaların C alelini daha yüksek yüzde ile taşıdığı belirlendi. Damar tutulumuna sahip hastalarda 11 T, 3 C aleli mevcutken, damar tutulumu bulunmayan hastalarda 138 T, 148 C aleli saptandı ve alel farkı iki grup arasında anlamlı bulundu (p=0,029). Rs2228570 polimorfizmi için yapılan alel analizinde, diğer klinik semptomlar açısından anlamlı bir sonuç bulunamadı.

3.2.3. Rs7975232 Polimorfizmi

VDR geninin 59,978. bazında G>T değişimi olarak tanımlanan rs7975232 polimorfizmi, Behçet hastalarından oluşan grupta 38 bireyde homozigot, 105 bireyde heterozigot olarak belirlendi. Sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda ise bu polimorfizm, 36 bireyde homozigot, 105 bireyde heterozigot olarak bulundu. GG genotipi hasta grubunda 7 bireyde mevcutken; kontrol grubunda 10 bireyin GG genotipine sahip olduğu saptandı. Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir genotip farkı bulunamadı (p=0,74) (Çizelge 3.14.).

Çizelge 3.14. Rs7975232 polimorfizmi genotip analizi

Polimorfizm	Genotip	Hasta (n=150)	Kontrol (n=150)	P Değeri
Rs7975232 (G>T)	GG	7	10	P=0,74
	GT	105	104	
	TT	38	36	

Bu polimorfizmin alel analizinde, Behçet hastalarında G aleli 119, kontrol grubunda 124, T aleli ise hasta grubunda 181, kontrol grubunda 176 olarak saptandı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir alel farkı bulunamadı (p=0,67) (Çizelge 3.15.).

Çizelge 3.15. Rs7975232 polimorfizmi alel analizi

Polimorfizm	Alel	Hasta	Kontrol	P değeri
Rs7975232 (G>T)	G	119	124	P=0,67
	T	181	176	

Hastalığın aktivitesi ile rs7975232 polimorfizmi genotipleri birlikte incelendiğinde; aktif hastaların %34,9'u bu polimorfizmi homozigot olarak taşırken, inaktif hastaların %17,8'inin polimorfizmi homozigot olarak bulundurduğu saptandı. Ancak hastalığın aktivitesi veya incelenen klinik semptomlarla rs7975232 polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi. Klinik semptomlar ile rs7975232 polimorfizmi genotipleri incelendiğinde; homozigot TT genotipi; oral aftı bulunan hastalarda %26,9, oral aftı olmayan hastalarda %18,1; genital ülseri olan hastalarda %29,1, genital ülseri bulunmayan hastalarda %21; göz

tutulumuna sahip hastalarda %41,7, göz tutulumu bulunmayan hastalarda %21,1; papülopüstüler lezyonu olan hastalarda %33,4, papülopüstüler lezyonu bulunmayan hastalarda %20; eritema nodozumu olan hastalarda %23,8, eritema nodozumu bulunmayan hastalarda %22,6; artriti olan hastalarda %33,3, artriti bulunmayan hastalarda %22; damar tutulumu olan hastalarda %42,8; damar tutulumu bulunmayan hastalarda %21,6; nörolojik tutulumu olan hastalarda %66,7; nörolojik tutulumu bulunmayan hastalarda ise %21,8 oranında saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte; paterji testi pozitifliği dışındaki klinik semptomları bulunduran hastaların, aynı klinik semptomu bulundurmayan hastalara göre, rs7975232 polimorfizmini daha yüksek yüzde ile homozigot olarak taşıdığı saptandı (Çizelge 3.16.).

Çizelge 3.16. Rs7975232 polimorfizmi için klinik bulgulara göre genotip dağılımı

	GENOTİPLER						
	GG		**GT**		**TT**		**P değeri**
Klinik Bulgular	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
Aktivite	1(%2,3)	9(%8,4)	27(%62,8)	79(%73,8)	15(%34,9)	19(%17,8)	P=0,21
Oral Aft	3(4,5)	7(%8,4)	46(%68,6)	61(%73,5)	18(%26,9)	15(%18,1)	P=0,42
Genital Ülser	1(%3,2)	9(%7,6)	21(%67,7)	85(%71,4)	9(%29,1)	25(%21)	P=0,79
Göz Tutulumu	0(%0)	10(%7,2)	7(%58,3)	99(%71,7)	5(%41,7)	29(%21,1)	P=0,47
Papülopüstüler Lezyon	1(%3,3)	9(%7,5)	19(%63,3)	87(%72,5)	10(33,4)	24(%20)	P=0,42
Eritema Nodozum	1(%4,8)	9(%6,9)	15(%71,4)	91(%70,5)	5(%23,8)	29(%22,6)	P=0,96
Paterji Testi	0(%0)	10(%7,5)	13(%81,3)	93(%69,4)	3(%18,7)	31(%23,1)	P=0,57
Artrit	0(%0)	10(%7,1)	6(%66,7)	100(%70,9)	3(%33,3)	31(%22)	P=0,68
Damar Tutulumu	0(%0)	10(%7)	4(%57,2)	102(%71,4)	3(%42,8)	31(%21,6)	P=0,57
Nörolojik Tutulum	0(%0)	10(%6,8)	1(%33,3)	105(%71,4)	2(%66,7)	32(%21,8)	P=0,63

Rs7975232 polimorfizmi ile hastalığın aktivitesi veya klinik semptomları bulundurma durumu açısından, alel bazında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir fark saptanamadı.

3.2.4. Rs731236 Polimorfizmi

VDR geninde 60,058. bazda T>C değişimi olarak tanımlanan rs731236 polimorfizmi Behçet hastalarının 15'inde homozigot, 84'ünde ise heterozigot olarak belirlendi. Kontrol grubunda ise bu polimorfizm, 3 bireyde homozigot, 86 bireyde heterozigot olarak bulundu. Atasal alel T, homozigot olarak (TT) 51 hastada mevcutken, kontrol grubunda 61 bireyin homozigot TT genotipine sahip olduğu saptandı. Behçet hastaları ve kontrol grubu arasındaki genotip farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,012) (Çizelge 3.17.).

Çizelge 3.17. Rs731236 polimorfizmi genotip analizi

Polimorfizm	Genotip	Hasta (n=150)	Kontrol (n=150)	P değeri
Rs731236 (T>C)	TT	51	61	P=0,012
	TC	84	86	
	CC	15	3	

Bu polimorfizmin alel analizinde; Behçet hastalarında T aleli 186, kontrol grubunda 208, C aleli ise hasta grubunda 114, kontrol grubunda 92 olarak saptandı. İki grup arasındaki alel farkı istatistiksel olarak sınırda anlamlı bulunamadı (p=0,059) (Çizelge 3.18.).

Çizelge 3.18. Rs731236 polimorfizmi alel analizi

Polimorfizm	Alel	Hasta	Kontrol	P değeri
Rs731236 (T>C)	T	186	208	P=0,059
	C	114	92	

Rs731236 polimorfizmi alel analizine göre, Behçet hastalığı için C alelini taşımanın T alelini taşımaya göre 1,39 kat riskli olduğu saptandı (Çizelge 3.19.).

Çizelge 3.19. Rs731236 polimorfizmi için alellerin risk analizi

Polimorfizm	Alel	Value	Odds ratio
Rs731236 (T>C)	T	0,894	1,39
	C	1,239	

Hastalığın aktivitesi ile rs731236 polimorfizmi genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamadı ancak; aktif hastaların %14'ünün rs731236 polimorfizmini homozigot olarak, %60,4'ünün ise heterozigot olarak bulundurduğu, inaktif hastaların ise %6,6'sının homozigot, %55,1'inin heterozigot olarak polimorfizmi taşıdığı belirlendi. Klinik semptomların polimorfizm ile ilişkisi incelendiğinde; oral aftı bulunan hastaların %9'unun CC, %61,2'sinin TC, oral aftı olmayan hastaların ise %8,5'inin CC, %53'ünün TC genotipine sahip olduğu saptandı. Genital ülseri olan hastaların %13'ü CC genotipi taşırken, genital ülseri bulunmayan hastaların %6,8'inde CC genotipi bulunduğu belirlendi. Göz tutulumu olan hastaların %16,7'sinde CC, %58,3'ünde TC, göz tutulumu bulunmayan hastaların %8,7'sinde CC, %55,8'inde TC; papülopüstüler lezyonu bulunan hastaların %10'unda CC, %63,3'ünde TC, papülopüstüler lezyonu olmayan hastaların %8,3'ünde CC, %55'inde TC genotipi saptandı. Eritema nodozumu olan hastaların %14,3'ü CC genotipine sahipken, eritema nodozumu bulunmayan hastaların %7,8'inde homozigot CC genotipi bulunduğu belirlendi. Paterji pozitifliği gösteren hastaların %12,5'inde CC, %62,5'inde TC, paterji pozitifliği bulunmayan hastaların %8,3'ünde CC, %55,9'unda TC genotipi saptandı. Rs731236 polimorfizmi genotipleri ile klinik semptomlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamakla birlikte; oral aft, göz tutulumu, papülopüstüler lezyon ve paterji testi pozitifliği bulunan hastaların bu semptomlara sahip olmayan hastalara göre rs731236 polimorfizmini homozigot ve heterozigot olarak daha yüksek yüzde ile taşıdığı belirlendi. Genital ülser ve eritema nodozuma sahip olan hastaların ise, bu semptomları bulunmayan hastalara göre daha yüksek bir yüzde ile homozigot CC polimorfizmine sahip olduğu saptandı (Çizelge 3.20.).

Çizelge 3.20. Rs731236 polimorfizmi için klinik bulgulara göre genotip dağılımı

	GENOTİPLER						
	TT		**TC**		**CC**		**P değeri**
Klinik Bulgular	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
Aktivite	11(%25,6)	41(%38,3)	26(%60,4)	59(%55,1)	6(%14)	7(%6,6)	P=0,36
Oral Aft	20(%29,8)	32(%38,5)	41(%61,2)	44(%53)	6(%9)	7(%8,5)	P=0,60
Genital Ülser	10(%32,2)	43(%36,1)	17(%54,8)	68(%57,1)	4(%13)	8(%6,8)	P=0,62
Göz Tutulumu	3(%25)	49(%35,5)	7(%58,3)	77(%55,8)	2(%16,7)	12(%8,7)	P=0,79
Papülopüstüler Lezyon	8(%26,7)	44(%36,7)	19(%63,3)	66(%55)	3(%10)	10(%8,3)	P=0,79
Eritema Nodozum	8(%38,1)	44(%34,1)	10(%47,6)	75(%58,1)	3(%14,3)	10(%7,8)	P=0,63
Paterji Testi	4(%25)	48(%35,8)	10(%62,5)	75(%55,9)	2(%12,5)	11(%8,3)	P=0,85
Artrit	2(%22,2)	51(%36,2)	7(%77,8)	78(%55,3)	0(%0)	12(%8,5)	P=0,38
Damar Tutulumu	3(%42,8)	50(%34,9)	4(%57,2)	81(%56,6)	0(%0)	12(%8,5)	P=0,78
Nörolojik Tutulum	0(%0)	52(%35,4)	3(%100)	82(%55,8)	0(%0)	13(%8,8)	P=0,46

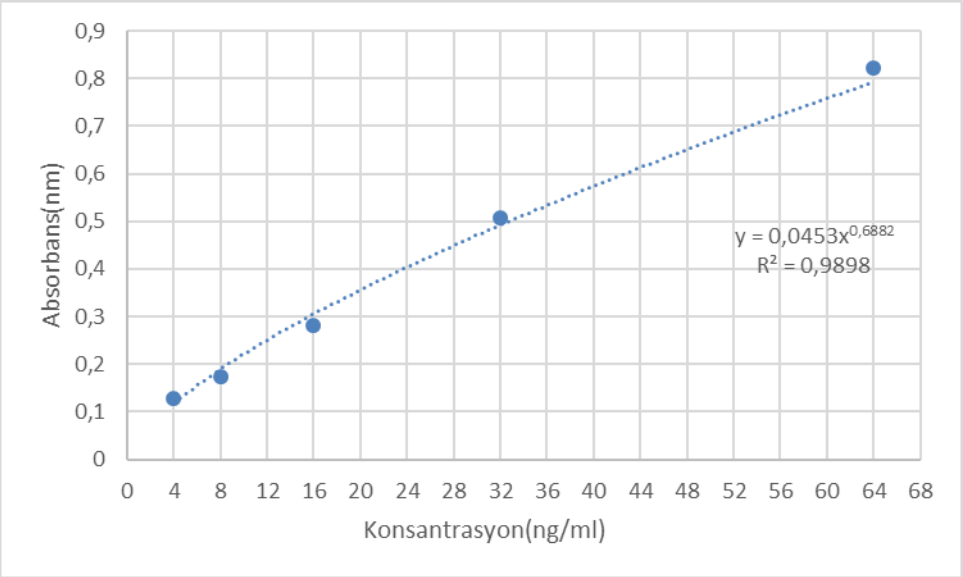
Rs731236 polimorfizmi ile hastalığın aktivitesi veya klinik semptomları bulundurma durumu açısından, alel bazında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir fark saptanamadı.

3.3. VDR Gen Polimorfizmlerinin Birbiri ile İlişkisi

150 Behçet hastasından 73'ünün VDR geninde incelenmiş olan dört polimorfizmden en az bir polimorfizmi homozigot olarak bulundurduğu tespit edildi. Bu hastalardan 12'sinin üç polimorfizmi homozigot olarak birlikte taşıdığı ve birlikte bulunan polimorfizmlerin 12 hasta için de; rs1544410, rs7975232 ve rs731236 polimorfizmleri olduğu saptandı. Ayrıca; rs731236 polimorfizmini (T>C) homozigot olarak (CC) taşıyan 15 hastanın; rs7975232 (G>T) polimorfizmini de homozigot olarak (TT) taşıdığı belirlendi. 11 hastada sadece rs1544410 ve rs7975232 polimorfizmleri homozigot olarak birlikte bulunurken; 3 hastanın rs2228570 ve rs7975232 polimorfizmlerini birlikte taşıdığı saptandı.

3.4. Vitamin D Reseptör Düzeyleri

57 Behçet hastası (23 aktif, 34 inaktif) ve 59 sağlıklı kontrolden oluşan toplam 116 bireylik çalışma grubunun VDR konsantrasyonları, standart solüsyonların verdiği absorbans ve bilinen konsantrasyon değerleri ile çizilen standart grafik üzerinden formül ile hesaplandı. (Şekil 3.1.). Aktif hasta grubunun VDR konsantrasyon ortalaması 15,2±9,8 ng/ml iken, inaktif hasta grubunun serum VDR konsantrasyon ortalaması 33,5±13,5 ng/ml olarak belirlendi ve iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu (p=0,0001). Kontrol grubunun serum VDR düzeyi ortalaması ise; 65,1±55,9 ng/ml olarak saptandı. Aktif hastalar ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı bulundu (p=0,001). Ancak inaktif hastalar ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark elde edilemedi (p=0,58). Hasta grubunun serum VDR ortalaması; 25,6±15,9 ng/ml olarak belirlendi. Hasta grubunun serum VDR düzeyi kontrol grubuna göre düşük seviyede tespit edilmiş olmak ile birlikte, anlamlı bir sonuç elde edilemedi (p=0,15).



Şekil 3.1. ELISA kit standartlarının absorbans-konsantrasyon değerleri ile elde edilen standart grafik

Hastalar klinik bulgulara, ve VDR geninde incelenen dört polimorfizm için taşıdıkları genotipe göre sınıflandırıldı ve serum VDR düzeyleri gruplar arasında analiz edildi. Klinik semptomlar ile serum VDR düzeyleri birlikte ele alındığında; oral aftı, genital ülseri, papülopüstüler lezyonları, paterji testi ve artriti pozitif olan

hastaların, aynı klinik semptomları taşımayan hasta grubuna göre daha düşük serum VDR düzeyi ortalamasına sahip olduğu belirlendi, ancak bu fark anlamlı bulunamadı ($p>0,05$). Serum VDR düzeyleri polimorfizmlerin genotiplerine göre incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamadı ancak; rs1544410 polimorfizmi için VDR konsantrasyon ortalaması; GG genotipi taşıyan hastalarda 53,6±12,5 ng/ml; GA genotipine sahip hastalarda 34,0±12,5 ng/ml; AA genotipini taşıyan hastalarda ise 27,7±12,4 ng/ml olarak belirlendi. Rs1544410 polimorfizmini heterozigot veya homozigot bulunduran hastalarda VDR seviyesi daha düşük değerlere sahipken; polimorfizmi homozigot olarak taşıyan hastaların en düşük VDR konsantrasyonuna sahip olduğu saptandı. Rs2228570 polimorfizmi genotipleri değerlendirildiğinde; VDR konsantrasyon ortalaması; TT genotipine sahip hastalarda 46,6±5,0 ng/ml; TC genotipine sahip hastalarda 29,8±14,1 ng/ml; CC genotipine sahip hastalarda ise 13,0±2,7 ng/ml olarak saptandı. Rs1544410 polimorfizmi ile benzer şekilde, rs2228570 polimorfizmini heterozigot veya homozigot bulunduran hastalarda VDR seviyesi daha düşük değerlere sahipken; polimorfizmi homozigot olarak taşıyan hastaların en düşük VDR konsantrasyon ortalamasına sahip olduğu belirlendi. Diğer iki polimorfizmin genotipleri arasında VDR düzeyi açısından bir fark elde edilemedi.

4. TARTIŞMA

Behçet hastalığı; tekrarlayan oral aft, genital ülser ve oküler tutulum; ataklar ve remisyon dönemleri ile karakterize olan sistemik vaskülitik bir hastalıktır. Hastalığın patogenezi hala tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte; immün regülasyon ile ilişkilendirilen birçok genin hastalık ile ilişkisi araştırılmış ve hastalığın temelinde yatan olası mekanizmalar için birçok hipotez kurulmuştur. Bu hipotezlerden en kabul görüleni; hastalığın, genetik yatkınlığı bulunan bireylerde başlatıcı bir çevresel veya enfeksiyöz ajan ile tetiklenen ve kontrol edilemeyen otoimmün bir yanıttan köken almış olabileceğidir.

Bu çalışmada Behçet hastalarında; doğal ve adaptif immün sistemin regülasyonunda önemli rolü olduğu güncel bulgular ile kanıtlanan Vitamin D'nin biyolojik işlevleri için kritik bir önemi bulunan Vitamin D Reseptörünün ekspresyonundan sorumlu VDR geninde tanımlanmış 4 polimorfizm (rs1544410, rs2228570, rs7975232 ve rs731236) ve hastaların serum Vitamin D reseptör düzeyi incelenmiştir.

VDR geninde tanımlanan rs2228570 polimorfizmi, genin VDR sentezi için translasyon başlatıcı kodonunda yer almakta ve T>C değişikliği ile tanımlanmaktadır. C alelini taşıyan bireylerin 427 aminoasit içeren normal VDR yerine, 3 aminoasiti kesilmiş, 424 aminoasite sahip VDR sentezlediği ve bu vitamin D reseptörünün 427 aa içeren normal VDR'den daha yüksek transaktivasyonel kapasiteye sahip olduğu daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Arai ve ark., 1997). Son yıllarda rs2228570 polimorfizminin birçok hastalık ile ilişkisi araştırılmıştır. Selvaraj ve ark. (2009) enfeksiyöz hastalıklarda, Arai ve ark. (1997) osteoporozda, Ogunkolade ve ark. (2002) tip II diyabet hastalarında, Mosaad ve ark. (2014) romatoid artrit ve romatoid ilişkili osteoporozda, Neela ve ark. (2015) lepra hastalığında rs2228570 polimorfizmini çalışmış, hastalıklar ile olası ilişkisini tanımlamaya çalışmıştır. Rs1544410, rs7975232 ve rs731236 polimorfizmleri ise genin 3'UTR bölgesinde bulunmakla birlikte, bu polimorfizmlerin fonksiyonel etkisi

hala tam olarak açıklanamamıştır. Ancak polimorfizmlerin gendeki lokasyonu göz önünde bulundurulduğunda; VDR mRNA stabilitesini etkileyebileceği Fang ve ark. (2005) tarafından belirtilmiştir. Ayrıca Uitterlinden ve arkadaşları tarafından (2004), rs7975232 ve rs731236 polimorfizmlerin genin 8. intron ve 9. ekzon lokasyonunda bulunması ve bu sekansın Vitamin D reseptörünün ligand bağlayan bölgesinin bir kısmını kodluyor olması nedeniyle, bu polimorfizmlerin Vitamin D reseptörünün ligand bağlama spesifitesini değiştirebileceği belirtilmiştir. Kodlanmayan veya sessiz SNP'ler olarak tanımlanmış olmalarına rağmen; rs1544410, rs7975232 ve rs731236 polimorfizmlerinin henüz tanımlanmamış fonksiyonel değişimlerle bağlantı dengesizliği (LD) içerisinde bulunabileceği de düşünülmektedir. Whitfield ve ark. (2001) ve Fang ve ark. (2005), VDR geninin 3'UTR bölgesinde tekli A tekrarlarının artmasının genin transkripsiyonel aktivitesini etkilediğini bildirmiştir. Fang ve ark. (2005); farklı hücre serileri ile yürüttükleri bir çalışmada 3'UTR bölgesinde tekli A tekrarlarının artmasına neden olan long (L) ve tekrarın artmasına neden olmayan short (S) alelini hücrelere transfekte etmiş ve L alelini taşıyan hücrelerde VDR mRNA seviyesinin, S alelini taşıyan hücrelere göre %15 oranında azaldığını kantitatif PCR yöntemi ile saptamıştır. Tekrarların mRNA stabilitesini etkilediği ve L alelini taşıyan hücrelerde S alelini taşıyan hücrelere göre mRNA bozunma oranının %30 fazla olduğunu göstermiştir. Fang ve ark. tarafından yürütülen bu çalışma; 3'UTR bölgesinde bulunan polimorfizmlerin tekli A tekrarlarının artmasına sebebiyet vererek VDR mRNA stabilitesini etkileyebileceğini ve sonuç olarak sentezlenen VDR miktarını dahi azaltabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada Behçet hastalarının, VDR geninde incelenen rs1544410 (G>A), rs2228570 (T>C) ve rs731236 (T>C) polimorfizmlerini kontrol grubuna göre yüksek oranda taşıdığı ve VDR gen polimorfizmlerinin Behçet hastalığı patogenezinde rolü olabileceği gösterilmiştir. Bu polimorfizmlerin birçok hastalık ile ilişkisi daha önce yapılan çalışmalarda incelenmiş olmasına rağmen Behçet hastalığı ile ilişkisi Karray ve arkadaşlarının (2012) Tunus popülasyonunda Behçet ve romatoid artrit hastaları ile yaptıkları çalışmada rs2228570 ve rs1544410 polimorfizmini incelediği ve Tizaoui ve arkadaşlarının (2014) Tunus popülasyonunda Behçet ve romatoid artrit hastalarında rs7975232 ve rs731236 polimorfizmlerini değerlendirdiği çalışmalar ile

sınırlıdır. Karray ve arkadaşları Behçet hastalığı ile rs2228570 polimorfizmi arasında; Tizaoui ve arkadaşları ise Behçet hastalığı ile rs7975232 polimorfizmi arasında ilişki saptamıştır. Bu çalışmada ise; Türk popülasyonunda rs1544410, rs2228570 ve rs731236 polimorfizmlerinin Behçet hastalığına yatkınlığı arttırabileceği belirlenmiştir. Ayrıca, VDR geninde bulunan dört polimorfizm birlikte değerlendirildiğinde; en az bir polimorfizmi homozigot olarak taşıyan 73 hastadan 12'sinin üç polimorfizmi birlikte homozigot olarak taşıdığının belirlenmesi ve birlikte bulunan üç polimorfizmin 12 hasta için de rs1544410, rs7975232 ve rs731236 olması, genin 3'UTR bölgesinde bulunan bu polimorfizmlerin birlikte taşınıyor olabileceğini düşündürmektedir.

VDR geninde incelenen dört polimorfizm, klinik bulgular ile birlikte değerlendirildiğinde; rs1544410 (G>A) polimorfizmi için, göz tutulumuna sahip olan hastaların bu klinik bulguya sahip olmayan hastalara göre daha yüksek yüzde ile A aleli taşıdığı; rs2228570 (T>C) polimorfizmi için ise; aktif hastaların inaktif hastalara göre ve oral aftı, paterji testi pozitifliği ve artriti bulunan hastaların bu klinik bulgulara sahip olmayan hastalara göre daha yüksek yüzde ile C aleli taşıdığı saptanmıştır. Rs7975232 (G>T) ve rs731236 (T>C) polimorfizmleri ve klinik bulgular arasında anlamlı bir sonuç saptanamamış olmakla birlikte; paterji testi pozitifliği dışında değerlendirilen tüm klinik bulgulara sahip hastaların, bu klinik bulguları göstermeyen hastalara göre daha yüksek yüzde ile rs7975232 polimorfizmini homozigot olarak (TT) taşıdığı gösterilmiştir. Ayrıca; oral aftı, göz tutulumu, papülopüstüler lezyonu ve paterji testi pozitifliği bulunan hastaların bu bulgulara sahip olmayan hastalara göre rs731236 polimorfizmini daha yüksek yüzde ile homozigot (CC) ve heterozigot (TC) olarak taşıdığı saptanmıştır. Genital ülser ve eritema nodozuma sahip olan hastaların ise bu bulguları bulunmayan hastalara göre rs731236 polimorfizmini daha yüksek yüzde ile homozigot olarak taşıdığı belirlenmiştir. Behçet hastalığının klinik bulguları ile VDR gen polimorfizmlerinin birlikte değerlendirildiği bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Ancak; Tizaoui ve arkadaşları (2014) Behçet hastalarında sadece deri bulguları ile rs7975232 ve rs731236 polimorfizmlerini değerlendirmiş; rs7975232 polimorfizmi ile eritema nodozum arasında bir ilişki saptamıştır. Bu çalışmada elde edilen veriler; VDR

geninde bulunan polimorfizmlerin klinik bulgular ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Serum VDR konsantrasyonları incelendiğinde; istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmamakla birlikte; Behçet hastalarının serum VDR düzeyinin, kontrol grubuna göre düşük olduğu saptanmıştır. Hastalar taşıdıkları genotipler yönünden değerlendirildiğinde; rs1544410 ve rs2228570 polimorfizmlerini heterozigot veya homozigot olarak taşıyan hastaların bu polimorfizmleri taşımayan hastalara göre daha düşük serum VDR düzeyine sahip olduğu tespit edilmiştir. Rs1544410 polimorfizmi genotipleri değerlendirildiğinde GG genotipine sahip hastaların VDR konsantrasyon ortalaması 53,6±12,5 ng/ml, GA genotipine sahip hastaların 34,0±12,5 ng/ml iken AA genotipine sahip hastaların 27,7±12,4 ng/ml ile en düşük ortalamaya sahip olduğu belirlenmiştir. Serum VDR düzeyi analizine dahil edilen hastalardan rs1544410 polimorfizmini homozigot olarak taşıyan (AA) 6 hastanın, rs7975232 polimorfizmini (TT) ve rs731236 polimorfizmini de (CC) homozigot olarak taşıdığı gösterilmiştir. Rs1544410 polimorfizmi için homozigot AA genotipi taşıyan ve GA, GG genotiplerine göre anlamlı oranda düşük seviyede serum VDR düzeyine sahip olan hastaların %40'ının rs7975232 (TT) ve rs731236 (CC) polimorfizmlerini de homozigot olarak taşıyor olmaları, bu üç polimorfizmin birlikte bulunabileceğini ve VDR mRNA stabilitesini bozarak, serum VDR düzeyinin de azalmasına neden olabileceğini düşündürmektedir. Selvaraj ve arkadaşları (2009), Hint popülasyonunda sağlıklı bireylerin periferal kan mononükleer hücreleri ile yaptıkları çalışmada; rs1544410 polimorfizmi için AA ve rs731236 polimorfizmi için CC genotipi taşıyan bireylerin daha düşük VDR protein seviyesine sahip olduğunu bildirmiştir ve bu bulgular Selvaraj ve arkadaşları tarafından yapılmış olan bu çalışmayı destekler niteliktedir.

Serum VDR konsantrasyonları hastalığın periyoduna göre incelendiğinde, aktif dönemdeki hastaların serum VDR düzeyi ortalaması; 15,2±9,8 ng/ml iken, remisyon döneminde bulunan hastaların VDR konsantrasyon ortalamasının 33,5±13,5 ng/ml olarak saptanmıştır ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,0001). Ayrıca, anlamlı düzeyde olmamakla birlikte; oral aftı, genital ülseri, papülopüstüler

lezyonları, paterji testi pozitifliği ve artriti olan hastaların, aynı klinik semptomları taşımayan hasta grubuna göre daha düşük serum VDR düzeyi ortalamasına sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç; hastalığın atak döneminde bulunan ve klinik semptomları olan hastaların, düşük VDR seviyesine sahip olmasının; Vitamin D'nin Vitamin D reseptörüne bağlanması ile başlayan ve birçok genin regülasyonunu etkileyen yolakta bir aksaklığa neden olabileceğini ve immün yanıt ile ilişkili genleri de kapsayan bir mekanizma ile hastalığın aktivasyonuyla bağlantılı olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada; VDR geninde bulunan üç polimorfizmin (rs1544410, rs2228570 ve rs731236) Behçet hastalığına yatkınlığı arttırabileceği; bu polimorfizmlerin Behçet hastalığı patogenezi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Behçet hastalarında anlamlı düzeyde olmamakla birlikte, kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde saptanan serum VDR düzeyinin VDR geninde bulunan polimorfizmlerle ilişkili olabileceği; vitamin D'nin immün regülasyondaki işlevini etkileyerek doğal veya adaptif immün yanıtı değiştirebileceği ve nihai olarak Behçet hastalığının temelinde yatan mekanizmalar ile ilişkili olabileceği hipotezi öne sürülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada VDR geninde rs1544410, rs2228570 ve rs731236 SNP'lerinin Türk popülasyonu için Behçet hastalarında kontrol grubuna göre daha fazla görüldüğü saptanmış; aktif Behçet hastalarının, remisyon dönemindeki hastalara ve otoimmün ve kronik herhangi bir hastalık tanısı bulunmayan kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük serum VDR seviyesine sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma, Türk popülasyonunda daha geniş örneklemlerde ve farklı ırkları içeren çalışma gruplarında tekrar edilmeli; polimorfizmlerin fonksiyonel etkileri ve Vitamin D sinyalizasyon yolağında neden olabileceği aksaklıklar ile Behçet hastalığı arasındaki bağlantı daha kapsamlı çalışmalar ile aydınlatılmalıdır. İlk kez bu araştırma kapsamında Behçet hastalarında serum VDR düzeyleri ölçülmüştür. Farklı çalışmalar ile Behçet hastalarının otoimmün ve kronik herhangi bir hastalığı bulunmayan bireylere göre daha düşük serum VDR düzeylerine sahip olduğunun gösterilmesi ile, bu parametrenin BH diyagnozu için rutin bir laboratuvar tetkiki olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Aktif hastaların serum VDR düzeyleri remisyon dönemindeki hastalara göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Bu sonuç; farklı çalışmalar ile benzer bulguların elde edilmesiyle, serum VDR düzeyinin Behçet hastalığının aktivite belirteci olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

ÖZET

Behçet Hastalarında Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri ve Vitamin D Reseptör Düzeyi

Behçet hastalığının patogenezi hala tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, hastalığın mekanizmasında genetik ve çevresel faktörlerin önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Hastalığın temelinde otoinflamatuvar ve otoimmün mekanizmaların bulunduğu hipotezi, immün sistem ile ilişkili birçok genin hastalık ile ilişkisinin araştırılmasını sağlamıştır. Bu çalışmada VDR geninde bulunan dört polimorfizm ve serum VDR düzeyi ile Behçet hastalığının ilişkisinin Türk popülasyonunda araştırılması ve bu çalışmanın Behçet patogenezinin aydınlatılması için yapılan çalışmaları destekleyici nitelikte olması amaçlanmıştır.

Bu çalışmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Behçet Hastalığı Multidisipliner Tanı ve Tedavi Ünitesi'ne başvuran 18-64 yaş aralığında 150 Behçet hastası ve kontrol grubu olarak otoimmün ve kronik herhangi bir hastalık tanısı bulunmayan aynı yaş aralığında 150 sağlıklı birey dahil edildi. Kandan DNA izolasyonu yapıldıktan sonra VDR genindeki hedef bölgeler PCR ile çoğaltıldı ve bireylerin her polimorfizm için (rs1544410, rs2228570, rs7975232, rs731236) genotip analizi RFLP yöntemi ile yapıldı. Serum VDR düzeyi ELISA yöntemi ile kantitatif olarak ölçüldü. Tüm istatistiksel analizler için SPSS v.24 yazılımı kullanıldı.

Bu çalışmada, VDR geninde rs1544410 (G>A), rs2228570(T>C), rs7975232(G>T) ve rs731236 (T>C) polimorfizmleri çalışıldı. Behçet hastaları, sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldı ve hastalar kendi içerisinde klinik semptomlara ve hastalığın aktivitesine göre analiz edildi. Rs1544410, rs2228570 ve rs731236 polimorfizmleri Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı düzeyde farklı bulundu (Sırasıyla; p=0,04; p=0,007; p=0,01). Rs7975232 polimorfizmi analizinde hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanamadı. Rs1544410 polimorfizmi klinik semptomlar ile birlikte değerlendirildiğinde; oküler lezyonu olan hastaların, olmayanlara göre daha yüksek yüzde ile A aleli taşıdığı ve bu sonucun anlamlı olduğu saptandı (p=0,013). Rs2228570 polimorfizmi ile hastalığın aktivitesi incelendiğinde; aktif hastaların inaktif hastalara göre daha fazla C aleli taşıdığı belirlendi. Aktif ve inaktif hastalar arasındaki alel farkı anlamlı bulundu (p=0,015). Rs2228570 polimorfizmi klinik semptomlarla birlikte incelendiğinde; oral aftı, paterji testi pozitifliği ve artriti olan hastaların, olmayan hastalara göre daha fazla C aleli taşıdığı ve bu sonucun anlamlı olduğu saptandı (Sırasıyla; p=0,027; p=0,037; p=0,02). Rs7975232 ve rs731236 polimorfizmleri ile hastalığın aktivitesi ve klinik semptomlar arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Serum VDR düzeyi ortalamaları, aktif Behçet hastaları için; 15,2±9,8 ng/ml; inaktif hastalar için; 33,5±13,5 ng/ml, kontrol grubu için ise; 65,1±55,9 ng/ml olarak saptandı. Aktif hasta grubunun serum VDR düzeyi, remisyon dönemindeki hastalara ve kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu (Sırasıyla; p=0,0001; p=0,001).

Bu çalışmada, Vitamin D Reseptör (VDR) geninde bulunan polimorfizmlerin Behçet hastalığının patogenezinde rolü olabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Behçet hastalığı, Serum Vitamin D Reseptör Düzeyi, Türk Popülasyonu, Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri.

SUMMARY

Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and Vitamin D Receptor Levels in Patients with Behçet's Disease

Pathogenesis of BD is still unknown, however it is thought that; enviromental and genetic factors play important roles in mechanism of BD. An explanatory hypothesis that suggests autoinflammatory and autoimmune pathways are essential for BD, it has provided to investigate many genes associated with immune response. The main purpose of this study was to investigate to association four polymorphisms (rs1544410, rs2228570, rs7975232 and rs731236) in VDR gene and VDR levels with BD in Turkish population and also support studies about elucidation of BD pathogenesis.

150 patients with Behçet's disease, aged 18-64 admitted to Ankara University Faculty of Medicine, Behçet's Disease Multidisciplinary Diagnosis and Treatment Unit and in the same age range 150 healthy individiuals who have no autoimmune and chronic disease were included in this study. Genomic DNA was isolated from blood leukocytes, amplification of target DNA in Vitamin D Receptor (VDR) gene was carried out by PCR and genotyping of each polymorphism (rs1544410, rs2228570, rs7975232 and rs731236) was carried out by RFLP. VDR level was investigated quantitatively by ELISA. SPSS v.24 software was used for all statistical analysis.

Rs1544410(G>A), rs2228570(T>C), rs7975232(G>T), rs731236(T>C) polymorphisms of VDR gene were studied in this research. Patients with Behçet's disease were compared with healthy individuals and also patients were analyzed among themselves according to clinical features and the activity of BD. When patients and healthy individuals were compared, rs1544410, rs2228570 and rs731236 polymorphisms were found significantly different between two groups (Respectively; p=0,04; p=0,007; p=0,01). Analysis of rs7975232 polymorphism, no significant difference was observed between patients and controls. When rs1544410 polymorhism was evaluated with clinical features, it was observed that; patients with ocular lesion have higher percentage of A alel than the patients without this clinical feature and it was found significantly different between two groups (p=0,013). When rs2228570 polymorhism was examined in conjunction with disease activity; patients with BD in active period, have significantly more C alel than patients in remission period (p=0,015). Rs2228570 polymorhism was evaluated with clinical features and it was shown that; patients with oral aphthosis, positive pathergy test and arthritis, have more C alel than patients without this clinical features and this result was found significant (Respectively; p=0,027; p=0,037; p=0,02). No difference was found between rs7975232-rs731236 polymorhisms and clinical features or activity of BD. Analysis of serum VDR level; it was found that, mean VDR concentrations are; 15,2±9,8 ng/ml for patients in active period; 33,5±13,5 ng/ml for patients in remission period and 65,1±55,9 for healthy individuals. Patients in active period have significantly lower serum VDR level than patients in remission period and healthy individuals (Respectively; p=0,0001; p=0,001).

In this study, it was demonstrated that; Vitamin D Receptor (VDR) gene polymorphisms may have possible role in pathogenesis of Behcet's Disease.

Key Words: Behcet's Disease, Serum Vitamin D Receptor Levels, Turkish population, Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms.

KAYNAKLAR

ADAMANTIADES B. (1931). Sur un cas d'iritis à hypopion récidivant. *Ann Ocul*, **168,** 271-278.

AHMAD T, WALLACE GR, JAMES T, NEVILLE M, BUNCE M, MULCAHY-HAWES K, ARMUZZI A, CRAWSHAW J, FORTUNE F, WALTON R, STANFORD MR, WELSH KI, MARSHALL SE, JEWELL DP. (2003). Mapping the HLA association in Behçet's disease: a role for tumor necrosis factor polymorphisms? *Arthritis Rheum*, **48**(3), 807-813.

AKMAN-DEMIR G, SERDAROGLU P, TASCI B. (1999). Clinical patterns of neurological involvement in Behçet's disease: evaluation of 200 patients. The Neuro-Behçet Study Group. *Brain : a journal of neurology*, **122,** 2171–2182.

AL-OKAILY F, ARFIN M, AL-RASHIDI S, AL-BALAWI M, AL-ASMARI A. (2015). Inflammation-related cytokine gene polymorphisms in Behçet's disease. *Journal of Inflammation Research*, **2015**(8), 173–180.

ALTAC M, TUZUN Y, YURDAKUL S, BINYILDIZ P, YAZICI H. (1982). The validity of the pathergy test (non-specific skin hyperreactivity) in Behçet's disease: a double-blind study by independent observers. *Acta Derm Venereol*, **62**(2), 158-9.

ANDERSON MS, BLUESTONE JA. (2004). THE NOD MOUSE: A Model of Immune Dysregulation. *Annual Review of Immunology*, **23**(1), 447–485.

ANDRESS D. (2007). Nonclassical aspects of differential vitamin D receptor activation: implications for survival in patients with chronic kidney disease. *Drugs*, **67**(14), 1999-2012.

ARAI H, MIYAMOTO KI, YOSHIDA M, YAMAMOTO H, TAKETANI Y, MORITA K, KUBOTA M, YOSHIDA S, IKEDA M, WATABE F, KANEMASA Y, TAKEDA E. (2001). The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. *J Bone Miner Res*, **16**, 1256–1264.

ARAI H, MIYAMOTO K, TAKETANI Y, YAMAMOTO H, IEMORI Y, MORITA K, TAKEDA E. (1997). A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *J Bone Miner Res*, **12**(6), 915–921.

ARKIN CR, ROTHSCHILD BM, FLORENDO NT, POPOFF N. (1980). Behcet syndrome with myositis. A case report with pathologic findings. *Arthritis Rheum.*, **23,** 600–604.

BHAKTA BB, BRENNAN P, JAMES TE, CHAMBERLAIN MA, NOBLE BA, SILMAN AJ. (1999). Behçet's Disease: evaluation of a new instrument to measure clinical activity. *Rheumatology (Oxford)*, **38**(8), 728-733.

BEECHAM AH, PATSOPOULOS NA, XIFARA DK, DAVIS MF, KEMPPINEN A. (2013). Analysis of immune- related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis. *Nat Genet*, **45**, 1353-1360.

BEHCET H. (1937). Über rezidivierende, aphthöse, durch ein Virus verursachte Geschwüre im Mund, am Auge und an den Genitalien. *Dermatol Wochenschr,* **105,** 1152-1157.

BENAMOUR S, ZEROUAL B, ALAOUI FZ. (1998). Joint manifestations in Behcet's disease. A review of 340 cases. *Rev Rhum Engl Ed*, **65**(5), 299-307.

BENCHLING INC. (2016). Benchling, San Francisco, United States.

BERRIDGE M. (2015). Vitamin D cell signalling in health and disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **460**(1), 53–71.

BIKLE DD. (2009). Vitamin D and the immune function: understanding common pathways. *Curr Osteoporos Rep,* **7**(2), 58-63.

BUCHER C, KOCH L, VOGTENHUBER C, GOREN E, MUNGER M, PANOSKALTSIS-MORTARI A, BLAZAR BR. (2009). IL-21 blockade reduces graft-versus-host disease mortality by supporting inducible T regulatory cell generation. *Blood*, **114**(26), 5375–5384

CANTORNA MT, ZHU Y, FROICU M, WITTKE A. (2004). Vitamin D status, 1-25 dihydroxyvitamin D_3, and the immune system. *American Journal of Clinical Nutrition*, **80**, 1717–1720.

CASTEELS K, BOUILLON R, WAER M, MATHIEU C. (1995). Immunomodulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, **4**(4), 313-8.

CHANG JT, SHEVACH EM, SEGAL BM. (1999). Regulation of interleukin (IL)-12 receptor beta2 subunit expression by endogenous IL-12: a critical step in the differentiation of pathogenic autoreactive T cells. *J Exp Med*, **189**, 969-978.

CHEN S, SIMS GP, CHEN XX, GU YY, CHEN S, LIPSKY PE. (2007). Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol,* **179**(3), 1634-47.

CHO SB, CHO S, BANG D. (2012). New insights in the clinical understanding of Behçet's disease. *Yonsei Med J*, **53**(1), 35–42.

CHRISTAKOS S, AJIBADE DV, DHAWAN P, FECHNER AJ, MADY LJ. (2010). Vitamin D: Metabolism. *Endocrinol Metab Clin,* **39**(2), 243-253.

CHOUKRI F, CHAKIB A, HIMMICH H, HUE S, CAILLAT-ZUCMAN S. (2001). HLA-B*51 and B*15 alleles confer predisposition to Behçet's disease in Moroccan patients. *Hum Immunol,* **62**(2), 180-185.

COHEN P. (2014). The TLR and IL-1 signalling network at a glance. *J Cell Sci*, **127**, 2383–2390.

COLNOT S, LAMBERT M, BLIN C, THOMASSET M, PERRET C. (1995). Identification of DNA sequences that bind retinoid X receptor-1,25$(OH)_2D_3$-receptor heterodimers with high affinity. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **113**(1), 89-98.

CONSOLANDI C, TURRONI S, EMMI G, SEVERGNINI M, FIORI J, PEANO C, D'ELIOS MM. (2015). Behçet's syndrome patients exhibit specific microbiome signature. *Autoimmunity Reviews*, **14**(4), 269–276.

CROFTS LA, HANCOCK MS, MORRISON NA, EISMAN JA. (1998). Multiple promoters direct the tissue specific expression of novel N-terminal variant human vitamin D receptor gene transcripts. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**, 10529–10534.

DAVARI P, ROGERS RS, CHAN B, NAGLER TH, FAZEL N. (2015). Clinical features of Behcet's disease: A retrospective chart review of 26 patients. *J Dermatolog Treat*, **27**(1), 70–74.

DAVATCHI F, ASSAAD-KHALIL S, CALAMIA KT, CROOK JE, SADEGHI-ABDOLLAHI B, SCHIRMER M, ZIAEI N. (2014). 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*, **28**(3), 338–347.

DAVATCHI F, CHAMS-DAVATCHI C, GHODSI Z, SHAHRAM F, NADJI A, SHAMS H, SADEGHI-ABDOLAHI B. (2011). Diagnostic value of pathergy test in Behcet's disease according to the change of incidence over the time. *Clinical Rheumatology*, **30**(9), 1151–1155.

DAVATCHI F, SHAHRAM F, CHAMS-DAVATCHI C, SHAMS H, NADJI A, AKHLAGHI M, ABDOLLAHI BS. (2010). Behcet's disease: From east to west. *Clinical Rheumatology*, **29**(8), 823–833.

DELUCA HF, CANTORNA MT. (2001). Vitamin D: its role and uses in immunology. *The FASEB Journal*, **15,** 2579-2585.

DE MENTHON M, LAVALLEY MP, MALDINI C, GUILLEVIN L, MAHR A. (2009). HLA-B51/B5 and the risk of Behcet's disease: a systematic review and meta-analysis of case-control genetic association studies. *Arthritis Rheum*, **61,** 1287-1296.

DING N, YU RT, SUBRAMANIAM N, SHERMAN MH,WILSON C, RAO R, LEBLANC M, COULTER S, HE M, SCOTT C, LAU SL, ATKINS AR, BARISH GD, GUNTON JE, LIDDLE C, DOWNES M, EVANS RM. (2013). A vitamin D receptor/SMAD genomic circuit gates hepatic fi-brotic response. *Cell*, **153**, 601–613.

DUSSO AS, BROWN AJ, SLATOPOLSKY E. (2005). Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol*, **289**(1), 8-28.

DUZGUN N, ATES A. (2003). Erosive arthritis in a patient with Behçet's disease. *Rheumatology International*, **23**(5), 265–267.

EQUILS O, NAIKI Y, SHAPIRO AM, MICHELSEN K, LU D, ADAMS J, JORDAN S. (2006). 1,25-Dihydroxyvitamin D inhibits lipopolysaccharide-induced immune activation in human endothelial cells. *Clin Exp Immunol,* **143**(1), 58-64.

ERYOL NK, TOPSAKAL R, ABACI A, OGUZHAN A. (2002). A case of atrioventricular complete block due to Behçet's disease. *Japanese heart journal*, **43**, 697–701.

EVANS DM, SPENCER CC, POINTON JJ, SU Z, HARVEY D, KOCHAN G. (2011). Interaction between ERAP1 and HLA-B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA-B27 in disease susceptibility. *Nat Genet*, **43**, 761-767.

FANG Y, VAN MEURS JBJ, D'ALESIO A, JHAMAI M, ZHAO H, RIVADENEIRA F, UITTERLINDEN AG. (2005). Promoter and 3'-untranslated-region haplotypes in the vitamin d receptor gene predispose to osteoporotic fracture: the rotterdam study. *American journal of human genetics*, **77**(5), 807–823.

FIETTA P. (2005). Behcet's disease: familial clustering and immunogenetics. *Clin Exp Rheumatol,* **23**, 96-105.

FROICU M, WEAVER V, WYNN TA, MCDOWELL MA, WELSH JE, CANTORNA MT. (2003). A crucial role for the vitamin D receptor in experimental inflammatory bowel diseases. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, **17**(12), 2386–2392.

GARDINER EM, ESTEBAN LM, FONG C, ALLISON SJ, FLANAGAN JL, KOUZMENKO AP, EISMAN JA, (2004). Vitamin D receptor B1 and exon 1d: functional and evolutionary analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol*, **89–90**, 233–238.

GATEVA V, SANDLING JK, HOM G, TAYLOR KE, CHUNG SA, SUN X. (2009). A largescale replication study identifies TNIP1, PRDM1, JAZF1, UHRF1BP1 and IL10 as risk loci for systemic lupus erythematosus. *Nat Genet*, **41**,1228-1233.

GORDON YJ, HUANG LC, ROMANOWSKI EG, YATES KA, PROSKE RJ, MCDERMOTT AM. (2005). Human cathelicidin (LL-37), a multifunctional peptide, is expressed by ocular surface epithelia and has potent antibacterial and antiviral activity. *Curr Eye Res*, **30**(5), 385-94.

GREGORI S, CASORATI M, AMUCHASTEGUI S, SMIROLDO S, DAVALLI AM, ADORINI L. (2001). Regulatory T cells induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and mycophenolate mofetil treatment mediate transplantation tolerance. *J Immunol*, **167**(4), 1945-53.

GROUX H, GARRA A, BIGLER M, ROULEAU M, ANTONENKO S, VRIES JE, RONCAROLO MGG. (1997). A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature*, **389**, 737–742.

GUL A. (2015). Pathogenesis of behçet's disease: Autoinflammatory features and beyond. *Seminars in Immunopathology*, **37**(4), 413–418.

GUL A. (2014). Genetics of Behçet's disease: lessons learned from genomewide association studies. *Curr Opin Rheumatol,* **26**(1), 56-63.

GUL A. (2005). Behçet's disease as an autoinflammatory disorder. *Current drug targets. Inflammation and allergy*, **4**(1), 81–3.

GUL A. (2001). Behçet's disease: an update on the pathogenesis. *Clin Exp Rheumatol,* **19**(5), 6-12.

GUL A, OHNO S. (2012). HLA-B*51 and Behçet Disease. *Ocular immunology and inflammation*, **20**(1), 37–43.

GUL A, UYAR FA, INANC M, OCAL L, BARRETT JH, ARAL O, KONICE M, SARUHAN-DIRESKENELI G. (2002). A weak association of HLA-B*2702 with Behçet's disease. *Genes Immun,* **3**(6), 368-372.

GUL A, INANC M, OCAL L, ARAL O, KONICE M. (2000). Familial aggregation of Behcet's disease in Turkey. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **59**(8), 622–625.

GURGUN C, ERCAN E, CEYHAN C, CINAR CS, TURKOGLU C, YAVUZGIL O, ZOGHI M, AKSU K. (2002). Cardiovascular Involvement in Behçet's Disease. *Jpn Heart J.,* **43**(4), 389–398.

HADDAD S. (2014). Vitamin-D receptor (VDR) gene polymorphisms (Taq-I & Apa-I) in Syrian healthy population. *Meta Gene*, **2**, 646–650.

HALSALL JA, OSBORNE JE, HUTCHINSON PE, PRINGLE JH. (2007). In silico analysis of the 5′ region of the Vitamin D receptor gene: functional implications of evolutionary conservation. *J Steroid Biochem Mol Biol,* **103**, 352–356.

HAMMER GE, TURER EE, TAYLOR KE, FANG CJ, ADVINCULA R, OSHIMA S. (2011). Expression of A20 by dendritic cells preserves immune homeostasis and prevents colitis and spondyloarthritis. *Nat Immunol,* **12**, 1184-1193.

HAUSSLER MR, WHITFIELD GK, KANEKO I, HAUSSLER C A, HSIEH D, HSIEH JC, JURUTKA PW. (2013). Molecular mechanisms of vitamin D action. *Calcified Tissue International*, **92**(2), 77–98.

HAUSSLER MR, JURUTKA PW, MIZWICKI M, NORMAN AW. (2011). Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1α,25(OH)$_2$vitamin D$_3$: Genomic and non-genomic mechanisms. *Best Practice&Research Clinical: Endocrinology&Metabolism,* **25**(4), 543-559.

HENRY HL. (2011). Regulation of vitamin D metabolism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, **25**(4), 531-41.

HEWISON M. (2012). Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Rheum Dis Clin North Am*, **38**(1), 125-39.

HIROHATA S, OKA H, MIZUSHIMA Y. (1992). Streptococcal-related antigens stimulate production of IL6 and interferon-gamma by T cells from patients with Behcet's disease. *Cell Immunol*, **140**(2), 410-9.

HOLICK MF. (2004) Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am. J Clin Nutr*, **79**, 362–371.

HOU S, YANG Z, DU L, JIANG Z, SHU Q, CHEN Y. (2012a). Identification of a susceptibility locus in STAT4 for Behcet's disease in Han Chinese in a genome-wide association study. *Arthritis Rheum*, **64**, 4104-4113.

HOU S, XIAO X, LI F, JIANG Z, KIJLSTRA A, YANG P. (2012b). Two-stage association study in Chinese Han identifies two independent associations in CCR1/CCR3 locus as candidate for Behcet's disease susceptibility. *Hum Genet*, **131**, 1841-1850.

HUGHES T, COIT P, ADLER A, YILMAZ V, AKSU K, DUZGUN N, SAWALHA AH. (2013). Identification of multiple independent susceptibility loci in the HLA region in Behçet's disease. *Nature genetics*, **45**(3), 319–24.

INTERNATIONAL BUSINESS MACHINES CORPORATION. (2016). Statistical Package for The Social Sciences v.24, Armonk, New York, United States.

INTERNATIONAL STUDY GROUP FOR BEHÇET'S DISEASE. (1990). Criteria for diagnosis of Behçet's disease. International study group for Behçet's disease. *Lancet*, **335**(8697), 1078-80.

JOSEPH FG, SCOLDING NJ. (2007). Neuro-Behcet's disease in Caucasians: a study of 22 patients. *Eur J Neurol*, **14**(2), 174-180.

KALETA B, BOGACZEWICZ J, ROBAK E, SYSA-JĘDRZEJOWSKA A, WRZOSEK M, SZUBIERAJSKA W, WOŹNIACKA A. (2013). Vitamin D Receptor Gene BsmI Polymorphism in Polish Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *ISRN Endocrinology*, **2013**, 1–5.

KAPPEN JH, MEDINA-GOMEZ C, VAN HAGEN PM, STOLK L, ESTRADA K, RIVADENEIRA F. (2015). Genome-wide association study in an admixed case series reveals IL12A as a new candidate in Behcet disease. *PLoS One*, **10,** 1-20.

KARASNEH J, GUL A, OLLIER WE, SILMAN AJ, WORTHINGTON J. (2005). Whole-genome screening for susceptibility genes in multicase families with Behcet's disease. *Arthritis Rheum*, **52**, 1836-1842.

KARRAY EF, BEN DHIFALLAH I, BEN ABDELGHANI K, BEN GHORBEL I, KHANFIR M, HOUMAN H, ZAKRAOUI L. (2012). Associations of vitamin D receptor gene polymorphisms FokI and BsmI with susceptibility to rheumatoid arthritis and Behçet's disease in Tunisians. *Joint Bone Spine*, **79**(2), 144–148.

KAYA EB, YORGUN H, AKDOGAN A, ATES AH, CANPOLAT U, SUNMAN H, OTO A. (2009). Heart-rate recovery index is impaired in Behçet's disease. *Texas Heart Institute journal / from the Texas Heart Institute of St. Luke's Episcopal Hospital, Texas Children's Hospital*, **36**(4), 282–6.

KIM MS, KONDO T, TAKADA I, YOUN MY, YAMAMOTO Y, TAKAHASHI S, MATSUMOTO T, FUJIYAMA S, SHIRODE Y, YAMAOKA I, KITAGAWA H, TAKEYAMA K, SHIBUYA H, OHTAKE F, KATO S. (2009). DNA demethylation in hormone-induced transcriptional derepression. *Nature*, **461**, 1007–1012.

KIRINO Y, BERTSIAS G, ISHIGATSUBO Y, MIZUKI N, TUGAL-TUTKUN I, SEYAHI E, KASTNER DL. (2013). Genome-wide association analysis identifies new susceptibility loci for Behçet's disease and epistasis between HLA-B*51 and ERAP1. *Nature genetics*, **45**(2), 202–7.

KITAICHI N, MIYAZAKI A, IWATA D, OHNO S, STANFORD MR, CHAMS H. (2007). Ocular features of Behcet's disease: an international collaborative study. *The British journal of ophthalmology*, **91**(12), 1579–1582.

KOBAYASHI M, ITO M, NAKAGAWA A, MATSUSHITA M, NISHIKIMI N, SAKURAI T, NIMURA Y. (2000). Neutrophil and endothelial cell activation in the vasa vasorum in vasculo-Behçet disease, *Histopathology*, **(36),** 362–371.

KOOL M, VAN LOO G, WAELPUT W, DE PRIJCK S, MUSKENS F, SZE M. (2011). The ubiquitin-editing protein A20 prevents dendritic cell activation, recognition of apoptotic cells, and systemic autoimmunity. *Immunity*, **35**, 82-96.

LAURENCE A, TATO CM, DAVIDSON TS, KANNO Y, CHEN Z, YAO Z, O'SHEA JJ. (2007). Interleukin-2 Signaling via STAT5 Constrains T Helper 17 Cell Generation. *Immunity*, **26**(3), 371–381.

LEE KH, CHUNG HS, KIM HS, OH SH, HA MK, BAIK JH, BANG D. (2003). Human alfa-enolase from endothelial cells as a target antigen of anti-endothelial cell antibody in Behçet's disease. *Arthritis and Rheumatism*, **48**(7), 2025–2035.

LEHNER T. (1997). The role of heat shock protein, microbial and autoimmune agents in the aetiology of Behcet's disease. *International reviews of immunology*, **14**(1), 21–32.

LEMIRE JM, ADAMS JS, KERMANI-ARAB V, BAKKE AC, SAKAI R, JORDAN SC. (1985). 1,25 dihydroxyvitamin D3 suppresses human T helper/inducer lymphocyte activity in vitro. *J Immunol*, **134**(5), 3032-5.

LEONARDO NM, MCNEIL J. (2015). Behcet's disease: Is there geographical variation? A review far from the silk road. *International Journal of Rheumatology*, **2015**, 1–7.

LI H, LIU Q, HOU S, DU L, ZHOU Q, ZHOU Y. (2013). TNFAIP3 gene polymorphisms confer risk for Behcet's disease in a Chinese Han population. *Hum Genet*, **132,** 293-300.

LIU PT, STENGER S, LI H, WENZEL L, TAN BH, KRUTZIK SR, OCHOA MT, SCHAUBER J, WU K, MEINKEN C, KAMEN DL, WAGNER M, BALS R, STEINMEYER A, ZUGEL U, GALLO RL, EISENBERG D, HEWISON M, HOLLIS BW, ADAMS JS, BLOOM BR, MODLIN RL. (2006). Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, **311**(5768), 1770-3.

LOPALCO G, LUCHERINI OM, VITALE A, TALARICO R, LOPALCO A, GALEAZZI M, IANNONE F. (2015). Putative Role of Serum Amyloid-A and Proinflammatory Cytokines as Biomarkers for Behcet's Disease. *Medicine*, **94**(42), e1858.

MANGHRAOUI AE, TABACHE F, BEZZA A, ABOUZAHIR A, GHAFIR D, OHAYON V, ARCHANE MI. (2001). A controlled study of sacroiliitis in Behçet's disease. *Clin Rheumatol*, **20**(3), 189-91.

MATHIEU C, JAFARI M. (2006). Immunomodulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: therapeutic implications in hemodialysis and renal transplantation. *Clin Nephrol*, **66**(4), 275-83.

MATMATI M, JACQUES P, MAELFAIT J, VERHEUGEN E, KOOL M, SZE M. (2011) A20 (TNFAIP3) deficiency in myeloid cells triggers erosive polyarthritis resembling rheumatoid arthritis. *Nat Genet*, **43,** 908-912.

MATZINGER P. (2002). The danger model: a renewed sense of self. *Science*, **296**, 301–305.

MEDZHITOV R, JANEWAY CA. (2002). Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science*, **296**(5566), 298–300.

MEGE JL, DILSEN N, SANGUEDOLCE V, GUL A, BONGRAND P, ROUX H, OCAL L, INANC M, CAPO C. (1993). Overproduction of monocyte derived tumor necrosis factor alpha, interleukin (IL) 6, IL-8 and increased neutrophil superoxide generation in Behçet's disease. A comparative study with familial Mediterranean fever and healthy subjects. *J Rheumatol*, **20**(9), 1544-9.

MEGURO A, INOKO H, OTA M, KATSUYAMA Y, OKA A, OKADA E. (2010). Genetics of Behcet disease inside and outside the MHC. *Ann Rheum Dis*, **69**, 747-754.

MENDES D, CORREIA M, BARBEDO M, VAIO T, MOTA M, GONCALVES O, VALENTE J. (2009). Behçet's disease - a contemporary review. *Journal of Autoimmunity*, **32**(2009), 178–188.

MENTHON M, LAVALLEY M, MALDINI C, GUILLEVIN L, MAHR A. (2009). HLA-B51/B5 and the risk of Behcet's disease: a systematic review and meta-analysis of case-control genetic association studies. *Arthritis rheum,* **61**(10), 1-19.

MERINO AM, SABBAJ S, EASLICK J, GOEPFERT P, KASLOW RA, TANG J. (2013). Dimorphic HLA-B signal peptides differentially influence HLA-E- and natural killer cell mediated cytolysis of HIV-1-infected target cells. *Clin Exp Immunol*, **174**, 414-423.

MESQUIDA M, MOLINS B, LORENC V, HERNÁNDEZ MV, ESPINOSA G, DICK AD, ADÁN A. (2014). Current and future treatments for Behçet's uveitis: Road to remission. *International Ophthalmology*, **34**(2), 365–381.

MIDGETT RJ, SPIELVOGEL AM, COBURN JW, NORMAN AW. (1973). Studies on calciferol metabolism. VII. The renal production of the biologically active form of vitamin D, 1,25-dihydroxycholecalciferol; species, tissue and subcellular distribution. *J Clin Endocrinol Metab,* **36**(6), 1153-61.

MIRONE L, ALTOMONTE L, FERLISI EM, ZOLI A, MAGARO M. (1997). Behcet's disease and cardiac arrhythmia. *Clin Rheumatol,* **16**(1), 99-100.

MIYAMOTO K, KESTERSON RA, YAMAMOTO H, TAKETANI Y, NISHIWAKI E, TATSUMI S, INOUE Y,MORITA K, TAKEDA E, PIKE JW. (1997). Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol,* **11**, 1165–1179.

MIZUKI N, MEGURO A, OTA M, OHNO S, SHIOTA T, KAWAGOE T. (2010). Genomewide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behcet's disease susceptibility loci. *Nat Genet*, **42**, 703-706.

MOHAMMAD A, MANDL T, STURFELT G, SEGELMARK M. (2013). Incidence, prevalence and clinical characteristics of Behçet's disease in southern Sweden. *Rheumatology (Oxford, England)*, **52**(2), 304–310.

MOLINARI M, KONE PAUT I, MANNA R, DEMAILLE J, DAURES JP, TOUITOU I. (2003). Identification of an autosomal recessive mode of inheritance in paediatric Behçet's families by segregation analysis. *Am J Med Genet A,* **122**(2), 115-8.

MORTON LT, SITUNAYAKE D, WALLACE GR. (2016). Genetics of Behçet's disease. *Current Opinion in Rheumatology*, **28**(1), 39–44.

MOSAAD YM, HAMMAD EM, FAWZY Z, ABDAL-AAL IA, YOUSSEF HM, ELSAID TO, MONIR R, EL-DEEK BS. (2014). Vitamin D receptor gene polymorphism as possible risk factor in rheumatoid arthritis and rheumatoid related osteoporosis. *Human Immunology*, **75**(5), 452–461.

NEELA V, SURYADEVARA N, SHINDE V, PYDI S, JAIN S, JONNALAGADA S, SINGH S, VALLURI V, ANANDARAJ MPJS. (2015). Association of Taq I, Fok I

and Apa I polymorphisms in Vitamin D Receptor (VDR) gene with leprosy. *Human Immunology*, **76**(6), 402–405.

NOWAK R, SZOTA J, MAZUREK U. (2012). Vitamin D receptor gene (VDR) transcripts in bone, cartilage, muscles and blood and microarray analysis of vitamin D responsive genes expression in paravertebral muscles of juvenile and adolescent idiopathic scoliosis patients. *BMC Musculoskelet Disord*, **13**, 259.

NURIEVA R, YANG XO, MARTINEZ G, ZHANG Y, PANOPOULOS AD, MA L, SCHLUNS K, TIAN Q, WATOWICH SS, JETTEN AM, DONG C. (2007) Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells. *Nature*, **448**(7152), 480–483.

OGUNKOLADE BW, BOUCHER BJ, PRAHL JM, BUSTIN SA, BURRIN JM, NOONAN K, HITMAN GA. (2002). Vitamin D receptor (VDR) mRNA and VDR protein levels in relation to vitamin D status, insulin secretory capacity, and VDR genotype in Bangladeshi Asians. *Diabetes*, **51**(7), 2294–300.

OHNO S, OHGUCHI M, HIROSE S, MATSUDA H, WAKISAKA A, AIZAWA M. (1982). Close association of HLA-Bw51 with Behçet's disease. *Arch Ophthalmol,* **100**(9), 1455-8.

OHNO S, AOKI K, SUGIURA S, NAKAYAMA E, ITAKURA K. (1973). Letter: HL-A5 and Behcet's disease. *Lancet*, **2**(7842), 1383-1384.

OKADA Y, WU D, TRYNKA G, RAJ T, TERAO C, IKARI K. (2014). Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature,* **506**, 376-381.

OKUZAKI D, YOSHIZAKI K, TANAKA T, HIRANO T, FUKUSHIMA K, WASHIO T, NOJIMA H. (2016). Microarray and whole-exome sequencing analysis of familial Behcet's disease patients. *Scientific Reports*, **6,** 1–8.

OMBRELLO MJ, KASTNER DL, REMMERS EF. (2015). Endoplasmic reticulum-associated amino-peptidase 1 and rheumatic disease: genetics. *Curr Opin Rheumatol*, **27**, 349-356.

OMBRELLO MJ, KIRINO Y, DE BAKKER PIW, GUL A, KASTNER DL, REMMERS EF. (2014). Behcet disease-associated MHC class I residues implicate antigen binding and regulation of cell-mediated cytotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **111**(24), 8867-8872.

OSMAN E, AL ANOUTI F, EL GHAZALI G, HAQ A, MIRGANI R, AL SAFAR H. (2015). Frequency of rs731236 (Taql), rs2228570 (Fok1) of Vitamin-D Receptor (VDR) gene in Emirati healthy population. *Meta Gene*, **6**(2015), 49–52.

OZTURK C, BALTA S, BALTA I, CELIK T. (2015). Neutrophil – Lymphocyte Ratio in Behçet's Disease. *Angiology,* **66**(7), 695.

PINETON DE CHAMBRUN M, WECHSLER B, GERI G, CACOUB P, SAADOUN D (2012) New insights into the pathogenesis of Behcet's disease. *Autoimmun Rev*, **11**(10), 687–698.

PROVVEDINI DM, TSOUKAS CD, DEFTOS LJ, MANOLAGAS SC. (1983). 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes. *Science*, **221**(4616), 1181-3.

REMMERS EF, COSAN F, KIRINO Y, OMBRELLO MJ, ABACI N, SATORIUS C. (2010) Genome-wide association study identifies variants in the MHC class I, IL10 and IL23R-IL12RB2 regions associated with Behcet's disease. *Nat Genet*, **42**, 698-702.

ROOK G. (1986). Vitamin D and tuberculosis. *Tubercle*, **67**(2), 155-156.

SAADOUN D, WECHSLER B. (2012). Behçet's disease. *Orphanet journal of rare diseases*, **7**(20), 1-6.

SAADOUN D, ROSENZWAJG M, JOLY F, SIX A, CARRAT F, THIBAULT V. (2011) Regulatory T-cell responses to low-dose interleukin-2 in HCV-induced vasculitis. *N Engl J Med*, **365**, 2067–2077.

SACCONE D, ASANI F, BORNMAN L. (2015). Regulation of the vitamin D receptor gene by environment, genetics and epigenetics. *Gene*, **561**(2), 171–180.

SADEGHI K, WESSNER B, LAGGNER U, PLODER M, TAMANDL D, FRIEDL J, ZUGEL U, STEINMEYER A, POLLAK A, ROTH E, BOLTZ-NITULESCU G, SPITTLER A. (2006). Vitamin D3 down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns. *Eur J Immunol*, **36**(2), 361-70.

SAKANE T, TAKENO M, SUZUKI N, INABA G. (1999). Behçet's Disease. *The New England Journal of Medicine*, **341**(17), 1284-1291.

SANJANWALA B, DRAGHI M, NORMAN PJ, GUETHLEIN LA, PARHAM P. (2008) Polymorphic sites away from the Bw4 epitope that affect interaction of Bw4 HLA-B with KIR3DL1. *J Immunol*, **181**, 6293-6300.

SELVARAJ P, ANAND SP, HARISHANKAR M, ALAGARASU K. (2009). Plasma 1,25-dihydroxy vitamin D3 level and expression of vitamin D receptor and cathelicidin in pulmonary tuberculosis. *J Clin Immunol*, **29**, 470–478.

SHAHNEH FZ, HAMZAVI F, BAYAZI B, BANDEHAGH A, BARADARAN B. (2013). New insights into HLA class I association to Behçet's syndrome in Iranian Azari patients. *Autoimmunity Highlights*, **4**(3), 101–102.

ŚLEBIODA Z, SZPONAR E, DOROCKA-BOBKOWSKA B. (2016). Vitamin D and Its Relevance in the Etiopathogenesis of Oral Cavity Diseases. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 1–13.

SOFTGENETICS LLC. (2011). Mutation Surveyor, Pennsylvania, United States.

STERLING KA, RAJ DS, EFTEKHARI P, GIRNDT M, KIMMEL PL. (2012). The immunoregulatory function of vitamin D: implications in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*, **8**(7), 403–412.

STRANGE A, CAPON F, SPENCER CC, KNIGHT J, WEALE ME, ALLEN MH. (2010). A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. *Nat Genet*, **42**, 985-990.

STUBBS JR, IDICULLA A, SLUSSER J, MENARD R, QUARLES LD. (2010). Cholecalciferol supplementation alters calcitriol-responsive monocyte proteins and decreases inflammatory cytokines in ESRD. *J Am Soc Nephrol*, **21**(2), 353-61.

SUNN KL, COCK TA, CROFTS LA, EISMAN JA, GARDINER EM. (2001). Novel N-terminal variant of human VDR. *Mol Endocrinol*, **15**, 1599–1609.

TAKAHASHI K, OHARASEKI T, YOKOUCHI Y, KATSUZAKI J, ENOMOTO Y. (2014). Overview of the 2012 revised international chapel hill consensus conference nomenclature of vasculitides. *Nihon Jinzo Gakkai Shi*, **56**(2), 70-9.

TAKEUCHI M, KASTNER DL, REMMERS EF. (2015). The immunogenetics of Behçet's disease: A comprehensive review. *Journal of Autoimmunity*, **64**(2015), 137–148.

TIZAOUI K, KAABACHI W, OULED SALAH M, BEN AMOR A, HAMZAOUI A, HAMZAOUI K. (2014). Vitamin D receptor TaqI and ApaI polymorphisms: A comparative study in patients with Behçet's disease and Rheumatoid arthritis in Tunisian population. *Cellular Immunology*, **290**(1), 66–71.

TSOI LC, SPAIN SL, KNIGHT J, ELLINGHAUS E, STUART PE, CAPON F. (2012). Identification of 15 new psoriasis susceptibility loci highlights the role of innate immunity. *Nat Genet*, **44**, 1341-1348.

TURSEN U. (2009). Behçet Hastalığında Aktivite Belirteçleri. *Türkderm,* **43**(2), 74–86.

UITTERLINDEN AG, FANG Y, VAN MEURS JBJ, POLS HAP, VAN LEEUWEN JPTM. (2004). Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*, **338**(2), 143–156.

UZKESER H, HALILOGLU S, CAYIR Y, BILEN N, KARAASLAN Y, KOSAR A, CARLIOGLU A. (2015). Is mean platelet volume a new activity criteria in Behçet's disease? *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, **26**(7), 836-839.

VAN ETTEN E, MATHIEU C. (2005). Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol*, **97**(1-2), 93-101.

VAROL A, SEIFERT O, ANDERSON CD. (2010). The skin pathergy test: Innately useful? *Archives of Dermatological Research*, **302**(3), 155–168.

VERITY DH, MARR JE, OHNO S, WALLACE GR, STANFORD MR. (1999). Behcet's disease, the Silk Road and HLA-B51: historical and geographical perspectives. *Tissue Antigens*, **54**(3), 213–220.

VERITY DH, WALLACE GR, VAUGHAN RW, STANFORD MR. (2003). Behçet's disease: from Hippocrates to the third millennium. *The British journal of ophthalmology*, **87**(9), 1175–1183.

WACKLIN P, MAKIVUOKKO H, ALAKULPPI N, NIKKILA J, TENKANEN H, RABINA J. (2011). Secretor genotype (FUT2 gene) is strongly associated with the composition of Bifidobacteria in the human intestine. *PLoS One*, **6**, 201-13.

WANG TT, NESTEL FP, BOURDEAU V, NAGAI Y, WANG Q, LIAO J, TAVERA-MENDOZA L, LIN R, HANRAHAN JW, MADER S, WHITE JH. (2004). Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol*, **173**(5), 2909-12.

WEAVER CT, HATTON RD, MANGAN PR, HARRINGTON LE. (2007). IL-17 Family Cytokines and the Expanding Diversity of Effector T Cell Lineages Key Words. *Annu. Rev. Immunol*, **25**, 821–52.

WEINBERG RS. (2003). Behçet's Disease. *Society*, **42**, 2–4.

WHITFIELD GK, REMUS LS, JURUTKA PW, ZITZER H, OZA AK, DANG HT, HAUSSLER CA,GALLIGAN MA, THATCHER ML, ENCINAS DOMINGUEZ C, HAUSSLER MR. (2001). Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. *Mol Cell Endocrinol*, **177**, 145–159.

WILLIAMS J. (1849). On the use and administration of cod-liver oil in pulmonary consumption. *Lond J Med*, **1,** 1-18.

XAVIER JM, SHAHRAM F, SOUSA I, DAVATCHI F, MATOS M, ABDOLLAHI BS. (2015). FUT2: filling the gap between genes and environment in Behcet's disease. *Ann Rheum Dis*, **74**, 618-624.

XU Y, ZHOU K, YANG Z, LI F, WANG Z, XU F, HE C. (2016). Association of cytokine gene polymorphisms (IL-6, IL-12B, IL-18) with Behcet's disease. *Zeitschrift für Rheumatologie*, **2016,** 1-7.

YAZICI H, AKOKAN G, YALCIN B, MUFTUOGLU A. (1977). The high prevalence of HLA-B5 in Behçet's disease. *Clinical and experimental immunology*, **30**(2), 259–61.

ZEIDAN MJ, SAADOUN D, GARRIDO M, KLATZMANN D, SIX A, CACOUB P. (2016). Behçet's disease physiopathology: a contemporary review. *Autoimmunity Highlights*, **7**(1), 1–12.

ZELLA LA, MEYER MB, NERENZ RD, LEE SM, MARTOWICZ ML, PIKE JW. (2010). Multifunctional enhancers regulate mouse and human vitamin D receptor gene transcription. *Mol Endocrinol*, **24**, 128–147.

ZELLA LA, KIM S, SHEVDE NK, PIKE JW. (2006). Enhancers located within two introns of the vitamin D receptor gene mediate transcriptional autoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Mol Endocrinol*, **20**, 1231–1247.

ZERR P, VOLLATH S, PALUMBO-ZERR K, TOMCIK M, HUANG J, DISTLER A, DISTLER JHW. (2014). Vitamin D receptor regulates TGF-β signalling in systemic sclerosis. *Annals of the rheumatic diseases*, **74,** 1–8.

ZHANG J, CHALMERS MJ, STAYROOK KR, BURRIS LL, WANG Y, BUSBY SA, PASCAL BD, GARCIA-ORDONEZ RD, BRUNING JB, ISTRATE MA, KOJETIN DJ, DODGE JA, BURRIS TP, GRIFFIN PR. (2011). DNA binding alters coactivator interaction surfaces of the intact VDR-RXR complex. *Nat Struct Mol Biol*, **18**, 556–563.

EKLER

EK-1 : Etik Kurul Raporu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Behçet Hastalarında Soluble Vitamin D Reseptör Düzeyi ve Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:02-46-16**	**Tarih: 25 Ocak 2016**	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.		

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Mehmet MELLİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ü.Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.İrfan SOYKAN	Gastroenteroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Serdar ÖZTÜRK	Tıbbi Biyokimya	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Seher DEMİRER	Genel Cerrahi	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Şule ŞENGÜL	Nefroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.İnci İLHAN	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Serap SİVRİ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Zarife ŞENOCAK	Hukuk	A.Ü.Hukuk Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Banu ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Süha YAĞCIOĞLU	Biyofizik	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Derya ÖZTUNA	Biyoistatistik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Selami Koçak TOPRAK	Hematoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd.Doç.Dr.Nüket KUTLAY	Tıbbi Genetik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Uz.Dr.Önder İLGİLİ	Tıp Tarihi ve Etik	A.Ü.Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Mühübe SUTAY	İşletme	-	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.Mehmet MELLİ
İmza:

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Behçet Hastalarında Soluble Vitamin D Reseptör Düzeyi ve Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 06100 Sıhhıye/ANKARA
	TELEFON	0312 595 82 27
	FAKS	0312 310 63 70
	E-POSTA	etik@medicine.ankara.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Göksal KESKİN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZI VE TÜRÜ	FAZ 1			
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☐		
		Diğer ise belirtiniz. Vaka-Kontrol Araştırması			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.Mehmet MELLİ
İmza:

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

*Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı **her sayfaya imza atmalıdır.***

EK-2 : Behçet Hastalığı Hasta Takip Formu

BEHÇET HASTALARINDA VİTAMİN D RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMLE ve VİTAMİN D RESEPTÖR DÜZEYİ

Araştırmacılar: Prof. Dr. Göksal KESKİN, Bio. Nazlı Ecem DAL

DOSYA NO VEYA TC NO:

AD-SOYAD:

YAŞ:

CİNS:

HASTALIK SÜRESİ (YIL):

AKTİVİTE:

AFT:

ESKİ:

YENİ;

G.ÜLSER:

ESKİ:

YENİ:

GÖZ TUTULUMU:

ESKİ:

YENİ:

CİLT TUTULUMU:

PAPULOPUSTÜLER LEZYONLAR:

PATERJİ TESTİ:

ERİTEMA NODOZUM:

ARTRİT:

ESKİ:

YENİ:

DAMAR TUTULUMU (DVT VEYA PULMONER ANEVRİZMA):

ESKİ:

YENİ:

SANTRAL SİNİR SİSTEMİ TUTULUMU (NÖROLOJİK TUTULUM):

ESKİ:

YENİ:

CRP: SEDİM:

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Nazlı Ecem
Soyadı: DAL
Doğum Yeri ve Tarihi: Denizli, 26.10.1992
Uyruğu: TC
Medeni Durumu: Bekar
Yabancı Dili: İngilizce

II- Eğitimi

Yüksek Lisans - Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç Hastalıkları Ana Dalı, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Diagnostik İmmünoloji, Ankara, 2014-2016.
Lisans – Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, 2010-2014.
Lise – Beşiktaş Anadolu Lisesi, İstanbul, 2006-2010.

III- Bilimsel ilgi alanları

Poster Sunumu
Antinükleer Antikor (ANA) Pozitif ve Negatif Olgularda Sıklıkla Rastlanan Otoantikorlar, 23. Ulusal İmmünoloji Kongresi, Titanic Hotel, Antalya, **2015.**

IV- Bilimsel Etkinlikleri

Ödüller
Lisans mezuniyeti, yüksek onur derecesi; Biyoloji bölüm ikincisi, Fen Fakültesi dördüncüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, **2014**.
En iyi poster bildirisi üçüncülük ödülü, 23. Ulusal İmmünoloji Kongresi, Titanic Hotel, Antalya, **2015**.

Projeler
Yardımcı Araştırıcı (2016) – "Behçet Hastalarında Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleri ve Vitamin D Reseptör Düzeyi."

- Destekleyen kuruluş: Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü

V- Diğer Eğitimler

Transplantasyon İmmünolojisinde Güncel Gelişmeler, 5. Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kongresi, Papillon Ayscha Hotel, Antalya, **2015.**
Proje Yönetimi, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu, Akdeniz Üniversitesi Avrupa Gençlik Merkezi, Antalya, **2014.**