

FİLİZ ÇAVUŞ

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

**YÜKSEK LİSANS
TEZİ**

İSTANBUL-2019

**T.C.
İSTANBUL**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

“BEHÇET HASTALIĞI-GENOM ANALİZ ÇALIŞMASINDA
BELİRLENEN IL23R-IL12RB2 BÖLGESİNDEKİ VARYANTIN
(RS924080), IL23R VE IL12RB2 GENLERİNİN
EKSPRESYONLARI İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI”

FİLİZ ÇAVUŞ

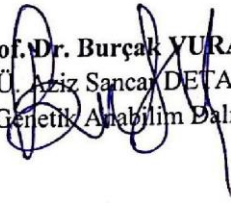
**DANIŞMAN
PROF. DR. BURÇAK
VURAL**

**GENETİK ANABİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI**

**İSTANBUL-
2019**

TEZ ONAYI**YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı, Genetik Programında Yüksek Lisans öğrencisi Filiz ÇAVUŞ tarafından Prof. Dr. Burçak VURAL'ın danışmanlığında hazırlanan "Behçet Hastalığı-Genom Analizi Çalışmasında Belirlenen IL23R-IL12RB2 Bölgesindeki Varyantın (rs924080), IL23R ve IL12RB2 Genlerinin Ekspresyonları İle İlişkisinin Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 21.06.2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Burçak VURAL
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Genetik Anabilim Dalı

Prof. Dr. Erdem TÜZÜN
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Sinirbilim Anabilim Dalı



Doç. Dr. Fahri AKBAŞ
Bezmialem V. Üni. Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı



BEYAN

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

Filiz ÇAVUŞ

İTHAF

Bu tez çalışmamı, her zaman yanımda olan ve asla desteklerini esirgemeyen **Canım Aileme** ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Bu çalışmam süresince her zaman yanımda olan ve emeklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Burçak Vural, Prof. Dr. Erdem Tüzün ve Prof. Dr. Uğur Özbek'e, hasta materyalleri ve bilgilerinin sağlanmasındaki emeklerinden dolayı Prof. Dr. Ahmet Gül'e, tüm çalışmalardaki yardımlarından dolayı Elif Uğurel, Elçin Şehitoğlu, Ece Erdağ, Canan Ulusoy'a ve desteklerinden dolayı Emrah Yücesan, Yücel Erbilgin, Didem Altındirek, Özkan Özdemir, Özden Hatırnaz Ng, Suzin Çatal Tatonyan, Feyza Tuncer ve Sibel Uğur İşeri'ye teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 18969

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar LİSTESİ	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	X
ÖZET	Xİ
ABSTRACT	Xİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Behçet Hastalığı.....	4
2.1.1. Tanımı ve Epidemiyolojisi.....	4
2.1.2. Behçet Hastalığı'nın Genetik Yatkınlığı.....	5
2.1.3. Behçet Hastalığında Mikrobiyal Ajanların Rolü.....	8
2.1.4. Behçet Hastalığı'nda İmmünolojik Anormallikler.....	9
2.2. Sitokinler.....	12
2.2.1. Sitokinlerin Ortak Özellikleri.....	14
2.2.2 .IL12 Geni ve Reseptörü.....	14
2.2.3. IL23 Geni ve Reseptörü.....	15
2.3. IL12 Yapısı	16
2.3.1. IL12 Reseptörü ve Sinyalizasyon Mekanizması.....	16
2.3.2. IL12RB2'nin İmmün Sistemdeki ve Hücrel Ağlardaki Rolü.....	17
2.4. IL23 Yapısı.....	17
2.4.1. IL23 Reseptörü ve Sinyalizasyon Mekanizması.....	19
2.4.2. IL23R'nin İmmün Sistemdeki ve Hücrel Ağlardaki Rolü.....	20
2.5. IL12RB2 ve IL23R ile İlişkilendirilmiş Hastalıklar.....	20
2.6. IL12RB2 - IL23R Intergenik Bölgesindeki rs924080 Varyantın Farklı Toplumlardaki İlişkilendirme Çalışmaları.....	23

2.7. IL12RB2 - IL23R Intergenik Bölgesindeki Farklı Varyantların İlişkilendirme Çalışmaları.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. GEREÇ.....	25
3.1.1. Çalışma Grubu.....	25
3.1.2. Kimyasallar.....	26
3.1.3. PZR Materyali.....	26
3.1.4. cDNA Sentez Materyali.....	26
3.1.5. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler.....	26
3.1.6. Kullanılan Cihazlar.....	27
3.2. YÖNTEMLER.....	28
3.2.1. Lökosit İzolasyonu.....	28
3.2.2. Hücre Kültürü.....	29
3.2.3. RNA Eldesi.....	29
3.2.4. cDNA Sentezi.....	30
3.2.5. Eş Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	31
3.2.5.1. Referans Genlerin Belirlenmesi.....	36
4. BULGULAR.....	38
4.1. Olguların Genel Özellikleri.....	38
4.2. IL12RB2 anlatımının alleller açısından incelenmesi.....	40
4.3. IL23R anlatımının alleller açısından incelenmesi.....	40
5. TARTIŞMA.....	43
KAYNAKLAR.....	45
FORMLAR.....	57
ETİK KURUL KARARI.....	72
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	75
ÖZGEÇMİŞ.....	76

TABLÖLAR LİSTESİ**Tablo 2-1: Doğal bağışıklığın sitokinleri****Tablo 2-2: Behçet Hastalığı'nda risk allelleri****Tablo 3-1: cDNA sentezinde kullanılan reaksiyon karışımının kondüsyonu****Tablo 3-2: IL12RB2 genine uygun tekrar dizayn edilen reverse primer****Tablo 3-3: IL23R genine uygun primerler****Tablo 4-1: Olguların yaş ve cinsiyet dağılımları**

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1. Major histocompatibility complex (MHC)'in genetik haritası. Kromozom 6'nın kısa kolu Klass 1 bölgesinde Behçet Hastalığı ilişkili lokusu göstermektedir.

Şekil 2-2: GWAS sonuçlarına göre Behçet Hastalığı'na patojenik etkileri olan moleküller

Şekil 2-3: Behçet Hastalığının immünopatogenezi (Pay S ve arkadaşları, 2007)

Şekil 2-4: IL12RB yapısı ve altüniteleri

Şekil 2-5: IL12RB2'nin İmmün Sistemde ve Hücresel Ağlardaki Rolü

Şekil 2-6: IL23R yapısı ve altüniteleri

Şekil 2-7: IL 23 sinyalizasyon yolağı

Şekil 3-1: Fikol yöntemi kullanılarak tam kandan mononükleer hücre izolasyonu

Şekil 3-2: Hidroliz probunun çalışma prensibi

Şekil 3-3: *IL12RB2* genine uygun primer ve prob çifti (Uluslararası prob kütüphanesi)

Şekil 3-4: IL23R geni transkriptleri (ensembl.org)

Şekil 3-5: Tasarlanan primer çiftlerinin IL12RB2 geni üzerindeki yerleşimi

Şekil 3-6: Tasarlanan primer çiftlerinin IL23R geni üzerindeki yerleşimi

Şekil 3-7: IL12RB2 ve IL23R için PZR amplifikasyon eğrilerini gösteren Light Cycler 480 yazılımı görüntüsü.

Şekil 4-1: LPS uyarısına göre, AA+AG ve AG+GG genotipindeki örneklerin alleller açısından IL12RB2 gen ekspresyonları ($p=0,0093$ ve $p=0,0073$)

Şekil 4-2: LPS uyarısına göre, AA+AG ve AG+GG genotipindeki örneklerin alleller açısından IL23R gen ekspresyonları ($p=0,0952$; $p=0,2894$)

Şekil 4-3: rs924080 AA, AG and GG genotiplerine sahip sağlıklı bireylerden alınmış MN hücrelerin göreceli IL-12RB2 ve IL-23R subunit ekspresyon seviyeleri

Şekil 4-4: rs924080 AA, AG and GG genotiplerine sahip sağlıklı bireylerden alınmış MN hücrelerin serum ve supernatant sitokin seviyeleri

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

TCR : T Hücre reseptörü

BCR: B hücre reseptörü

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

MN: Mononükleer hücre

MHC: Major Histokompatibility Kompleks

HLA: İnsan Lökosit Antijeni

GAPDH: Gliseraldehid-3-fosfat dehidrojenaz

IFN: Interferon

IL: Interlökin

SNP: Tek nükleotid polimorfizmi

GWAS: Genom boyu bağlantı çalışması

NK: Doğal Öldürücü

TNF: Tümör Nekroz Faktör

ÖZET

Çavuş, F. (2019). Behçet Hastalığı-genom analiz çalışmasında belirlenen IL23R-IL12RB2 bölgesindeki varyantın (rs924080), IL23R ve IL12RB2 genlerinin ekspresyonları ile ilişkisinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik A.D. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Behçet hastalığı (BH), etiyolojisi bilinmeyen, tekrarlayan inflamatuvar ataklar ile seyreden, artmış sitokin cevabına neden olan inflamatuvar bir hastalıktır.

2010 yılında Remmers ve arkadaşlarının Türk toplumundaki Behçet hastalarında yürüttüğü GWAS çalışmasının sonuçlarına göre; IL23R-IL12RB2 lokusunda rs924080 SNP'leri BH ile ilişkili varyantlar olarak tespit edilmiştir ($P < 0.0001$) ve Xavier ve arkadaşları tarafından 2012'de bir diğer çalışma ile konfirme edilmiştir.

Bu tez projesinde Behçet Hastalığı-genom analiz çalışmasında belirlenen A risk alleli için Heterozigot (AG) ($n=6$) ve homozigot (AA) ($n=4$) taşıyan ve bu varyanta sahip olmayan sağlıklı kişilerin (GG) ($n=4$), IL23R-IL12RB2'nin intergenik bölgesinde yer alan varyantın (rs924080) artmış proinflamatuvar cevaplarla ilgisi araştırılmıştır.

Bu kişilerin periferik kanlarından elde edilen mononükleer hücrelerden hem hücre kültürü öncesi hem de hücre kültüründe IL23R ve IL12RB2 ekspresyonları için uyarıldıktan sonra RNA'ları elde edilmiş ve cDNA'ya çevrilmiştir. Real Time PZR ile IL-12RB2 ve IL-23R genlerin rölatif ekspresyonları araştırılmıştır. Her örnek Gliseraldehid-3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH) referans geni ile karşılaştırılmıştır. Data analizi $\Delta\Delta C_t$ metodu ile yapılmış olup, rölatif mRNA seviyeleri, az sayıdaki örnek grupları nedeniyle non-parametrik Kruskal-Wallis testi kullanılarak hesaplanmıştır.

Bu çalışmada ilk kez BH ile ilişkili varyant olarak tespit edilen IL23R-IL12RB2 lokusundaki rs924080 tek nükleotid polimorfizminin, IL23R ve IL12RB2 genlerine etkisi incelenmiştir.

Bu yanıtlarda önemli olmasından dolayı, hastalık risk allelini taşıyan kişilerin (A), AA ve AG gruplarının IL-23R stimülasyon endeksleri GG grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.042$).

Bu sonuçlara dayanarak, Risk A alleli, LPS ile uyarı sonucunda IL-12RB2, IL-23R, IFN- γ and TNF- α 'nın bazal ekspresyonunu etkilemiyor fakat IL-23R and TNF- α 'nın ekspresyon kapasitesini arttırarak yanıtı neden oluyor ve baseline IL-6 üretimini arttırıyor.

LPS stimülasyon sonuçlarına dayanarak, rs924080 A alleline sahip bireylerin bakteriyel patojenlere aşırı ve abartı inflamatuvar yanıtlar veriyor olmaları da BH gelişimine destek oluyor diyebiliriz. Sonuçlarımız rs924080 lokusunun Th 17 ve IL-6 cevaplarında modulator bir yeri olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Behçet Hastalığı, IL12RB2, IL23R, sitokin, SNP

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 18969

ABSTRACT

Cavus, F. (2012). Analyzing the relation between the variation (rs924080) of IL23R-IL12RB2 region and the expressions of IL23R and IL12RB2 genes identified in a Behçet's Disease-GWAS study, Istanbul University, Institute of Health Science, Institute of Experimental Medicine Research, Msc thesis. Istanbul.

Behçet's disease (BD) is an inflammatory disorder of unknown etiology characterized with recurrent inflammatory attacks and increased production of proinflammatory cytokines. A genome-wide association study (GWAS) identified an association between a polymorphism in the IL23R-IL12RB2 locus (rs924080) and Turkish BD patients by Remmers et al in 2010 ($P < 0.0001$), which was confirmed by Xavier et al in 2012.

To delineate whether this particular polymorphism is associated with enhanced proinflammatory responses, IL-12 receptor $\beta 2$ subunit (IL-12RB2), IL-23 receptor (IL-23R) expression and proinflammatory cytokine production were investigated in healthy individuals homozygous (AA) (n=4) or heterozygous for the risk A allele (AG) (n=6) or homozygous for the common G allele (GG) (n=4).

Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated and total RNA from PBMC was obtained and reverse-transcribed into cDNA. IL-12RB2 and IL-23R expression was assessed by real-time quantitative RT-PCR. Data analysis was performed using the $\Delta\Delta C_t$ method, mRNA expression levels were compared by non-parametric Kruskal-Wallis test.

IL-12RB2 and IL-23R expression levels and IL-12RB2 stimulation indices were comparable among different genotype groups. By contrast, IL-23R stimulation indices of AA and AG groups were significantly higher than the GG group ($p=0.042$). The AA genotype group's average stimulation index for IL-23R was greater than those of AG and GG groups.

These results suggest that the rs924080 risk A allele does not affect the baseline expression levels of IL-12RB2, IL-23R, IFN- γ and TNF- α but enhances the IL-23R and TNF- α expression capacity in response to LPS stimulation. But also appears to enhance baseline IL-6 production.

Based on the LPS stimulation results, it is tempting to speculate that individuals with the rs924080 A allele give exaggerated inflammatory responses to bacterial pathogens ultimately leading to BD development.

Key Words: Behçet's Disease, IL12RB2, IL23R, cytokine, SNP

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 18969

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Behçet hastalığı (BH), ağızda ve genital bölgelerde tekrarlayan aftöz ülserlere, gözde retinal vaskülit ve üveite, follikülit ve eritema nodozum gibi çeşitli deri lezyonlarına, artrit, tromboflebit ve arter anevrizmaları gibi damar lezyonlarına, gastrointestinal sistem, merkezi sinir sistemi ve akciğerde lezyonlara neden olabilen inflamatuvar bir hastalıktır (1-4)

BH'nin patogenezi henüz tanımlanmamıştır. Fakat genetik yatkınlığı olan bireylerde virüs, bakteri gibi birçok mikroorganizma yanında, çevresel faktörlerin de inflamatuvar atakları tetiklediği kabul edilmektedir (5-6).

BH'de, doğal bağışıklıkta artmış inflamasyon yanıtı ile birlikte özellikle hücrel immüniteyi etkileyen edinsel bağışıklıkta uyarılma bulguları gözlenmiştir. Patogenezinde fagositoz, artmış kemotaksis, mieloperoksidaz seviye artışı, superoksit oluşumu ve endotelial sitotoksinite gibi nötrofil hiperaktivitesi bulgularının önemli yeri olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, CD4+ T hücrelerinde oligoklonal artışlar, lezyon alanlarında perivasküler infiltrasyon ve artmış proinflamatuvar sitokinlerin yüksek ekspresyonu, yüksek serbest oksijen radikali üretimi ve salınımı, patogeneizde adaptif immün sistemin katkılarını doğrulamaktadır (7-8). Hem doğal hem de edinsel bağışıklıkta önemli rolleri olan gama delta T hücrelerinin de hastalık patogenezinde rolleri düşünülmektedir (9-11).

Moleküler genetik düzeyde yapılan araştırmalarda polimorfizmlerin ya da diğer genetik değişikliklerin araştırılması sonucunda elde edilen genetik bilgiler incelenen hastalığın etiopatogenezinin aydınlatılması için kullanılmaktadır. İnsan genomu, populasyonlar arasında görülen genetik farklılıklar, hastalıklara yatkınlık, duyarlılık ve dirençten sorumlu, fenotipte değişikliklere neden olan milyonlarca tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ve kopya sayı değişiklikleri (CNV) içermektedir. Epidemiyolojik ve biyomedikal araştırmalar, farklı populasyonlarda hasta bireyler ve sağlıklı kontroller arasındaki SNP farklılıklarını ortaya koymaktadır.

2010 yılında Mizuki ve arkadaşlarının Japon toplumunda; Remmers ve arkadaşlarının ise Türk toplumundaki Behçet hastaları ile aynı anda yürüttüğü iki GWAS çalışmasının sonuçlarına göre; Japon BH grubundaki çalışmada kromozom 1p31.3' te, IL23R ve IL12RB2 lokuslarının intergenik bölgesinde yer alan rs12119179 ve 1q32.1'de IL10 lokusunun 3. intronunda lokalize olan rs1554286 tek nükleotid

polimorfizmleri BH ile ilişkili olarak tespit edilmiştir. Bu bölgelerdeki ekstra SNP'lerin haritalandırılması sonucunda ise IL23R-IL12RB2 lokuslarının intergenik bölgesinde yer alan rs1495965 ile BH arasında en anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu çalışmada, güçlü ilişkili olarak bulunan SNP'lerin IL23R-IL12RB2 intergenik bölgede bulundukları ve birbirleriyle güçlü bağlantı dengesizliğinde (LD) oldukları gösterilmiştir. Çalışmanın replikasyon aşamasında, Remmers ve arkadaşlarının Türk toplumunda çalıştığı örnekler ve Koreli Behçet hastasının örnekleri, anlamlılık değerine ulaşan 3 SNP (IL23R-IL12RB2'de rs1495965; IL10'da rs1800872 ve rs1800871) için taranmış ve IL23R-IL12RB2 bölgesindeki rs1495965, Türk toplumunda BH ile ilişkili bulunmuş fakat Korelilerde anlamlılığa ulaşamamıştır. Bu çalışmada, rs1495965'in hastalıkla ilişkili allelinin her 3 popülasyonda da BH için artmış risk alleli olduğu gösterilmiştir. IL10 bölgesindeki her 2 SNP ise; hem Türk ve Korelilerde yapılan replikasyon çalışmasında hem de meta analiz sonucunda en anlamlı ilişkiyi göstermişlerdir (12).

Türk toplumundaki GWAS çalışmasında; Japon toplumunda yürütülen çalışmada tanımlanmış olan IL10 ve IL23R-IL12RB2 bölgeleri tekrar haritalanmış, IL10 lokusunda rs1518111 ve IL23R-IL12RB2 lokusunda rs924080 SNP'leri BH ile ilişkili varyantlar olarak tespit edilmiştir ($P < 0.0001$). Bu çalışmada ek olarak, IL10 geninde bulunan rs1518111 haplotipini heterozigot taşıyan 8 sağlıklı kişinin monositlerinden izole edilen pre-mRNA larda, her iki allelin (hastalık ile ilişkili kopya ve normal allel kopyası) rölatif ekspresyon farklılığı ölçülerek allelik dengesizliği test edilmiştir. Tüm 8 kişide rs1518111 A* allelinin pre-mRNA transkripti, G allelini taşıyan transkriptler ile karşılaştırıldığında, A* alleli düşük seviyelerde bulunmuştur (A: hastalıkla ilişkili allel, G: normal allel). Özellikle anti-inflamatuar bir sitokin olan IL10'un düşük doz üretimine neden olan genetik varyasyonların BH patogeneğinde gelişen inflamasyon ile ilişkili olduğu ve hastalığa yatkınlık riskini arttırdığı gösterilmiştir (13).

Genlerin ekspresyon paternlerinin bilinmesi, bize gen fonksiyonları hakkında önemli bilgiler vermektedir. Genler ve gen ürünleri arasındaki etkileşimi anlamak, genlerin ekspresyon değişimlerini analiz etmek, hastalık patofizyolojilerinin anlaşılmasında fayda sağlayacaktır. BH patofizyolojisini anlamak için de genom boyu ilişkilendirme çalışmaları, polimorfizm çalışmaları, ekspresyon çalışmaları gibi birçok tekniğin kullanıldığı farklı çalışmalar yapılmaktadır.

IL23, p19 ve p40 alt ünitelerden oluşan heterodimerik proinflamatuvar bir sitokindir ve bu alt ünitelerden p40'ı IL12 ile ortak. Bu ortak alt ünite yanısıra; oluşturdukları

reseptör kompleksinde IL12RB1 alt ünitesini de paylaşmaktadırlar. IL23'ün p19 ünitesinin salınımı IL12p40 ile oluşan disülfid bağlarına ve her iki alt ünitenin eş zamanlı ekspresyonu bir hücreden biyolojik olarak aktif IL23'ün oluşmasına aracılık etmektedir. IL23R geni 1p31'de lokalizedir ve reseptör kompleksinin ekspresyonu, aktive ve hafıza T hücrelerinde en yüksek seviyelerdedir. IL23'ün T helper 17 hücre proliferasyonunu uyardığı ve IL1, IL6, IL17 ve TNF alfa gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırdığı gösterilmiştir (14-15).

IL 12, aktive monosit ve dendritik hücreleri tarafından üretilen, heterodimerik bir sitokindir, T ve NK hücreleri tarafından üretilen Th1 cevabında, T ve NK hücre sitotoksitesinde ve interferon- γ (IFN γ) cevabında önemli rol oynamaktadır. IL12R, T hücreleri, NK ve dendritik hücrelerde eksprese olmaktadır. Bununla beraber naif CD4 T hücreleri inaktif dönemde, düşük seviyede IL12RB2 eksprese ederler ve IL12'ye cevabı arttırmaları için TCR, CD28, IL27 ya da IFN γ uyarısına ihtiyaç duymaktadırlar (16-18).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, BH ile ilişkili SNP'ler tanımlanmış fakat bu varyantların gen ürünlerinin ekspresyon değişiklikleri araştırılmamıştır. Remmers ve arkadaşlarının BH genom boyu analiz çalışmasında, IL10 bölgesindeki varyasyonların ve hastalıkla ilişkili haplotipe sahip allel kopyasının IL10'u çok düşük seviyelerde eksprese ettiği bulunmuş ve IL10'un düşük doz üretimine neden olan genetik varyasyonların BH patogeneğinde gelişen inflamasyon ile ilişkili olduğu ve hastalığa yatkınlık riskini arttırdığı gösterilmiştir. Behçet Hastalarının kullandığı ilaçlar, çalışılan bölgedeki genlerin ekspresyonları üzerinde değişikliklere neden olabileceğinden dolayı, Behçet Hastalarında tespit edilen hastalığa yatkınlık bölgelerindeki varyasyonların ekspresyon çalışmaları için bu varyasyonlara sahip olan ve olmayan sağlıklı gönüllüler tercih edilmiştir (13).

Bu tez projesinde, Behçet Hastalığı-genom analiz çalışmasında belirlenen IL23R-IL12RB2'nin intergenik bölgesinde yer alan varyantı (rs924080) heterozigot ve homozigot taşıyan ve bu varyanta sahip olmayan sağlıklı kişilerde, IL23R ve IL12RB2'nin ekspresyon farklılığının ve bu varyantın fonksiyonel bölgeye olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Behçet Hastalığı

2.1.1. Tanımı ve Epidemiyolojisi:

Behçet hastalığı (BH) heterojen, tekrarlayan, patogenezi ve etiyolojisi tam olarak bilinmeyen bir multisistem inflamatuvar hastalıktır (19). BH oral aftoz ülserler, oküler lezyonlar, deri lezyonları ve genital ülserasyonlar olmak üzere dört ana semptom ile karakterize, tekrarlayan sistemik inflamatuvar bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Sık olarak eklem, böbrekler, akciğerler, gastrointestinal yol, santral sinir sistemi ve vasküler sistemin dahil olduğu bütün vücuttaki organ ve dokularda meydana gelen inflamasyon ile karakterizedir (5, 20). Behçet hastalığının tanısı için en sık kullanılan kriterler “Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu” tarafından 1990 yılında yapılan çalışmayla Lancet dergisinde yayınlanmıştır. (International Study Group For Behcet’s Disease, 1990) Bu çalışma 7 ülkedeki 12 merkezde Behçet hastalığı bulunan 914 hasta ile kontrol grubu olarak Behçet hastalığı ile karışabilecek semptomları bulunan 348 hasta alınarak yapılmış ve duyarlılığı (sensitivity) % 91, özgüllüğü (specificity) % 96 olan kriterler elde edilmiştir (21). Bu kriterler tekrarlayan oral aftlar, genital ülserler, göz lezyonları, deri lezyonları, paterji testi pozitifliği olarak belirlenmiştir. Bu kriterlerin geçerliliğini saptamaya çalışan bir başka araştırmada ise Uluslararası Çalışma Grubunun kriterlerinin duyarlılık ve özgüllüğü yeniden test edilmiş ve 302 Behçet hastasının yalnızca % 2’sinin kriterleri karşılamadığı ve kontrol grubunun ise % 1’inin kriterlerle örtüştüğü belirlenmiştir (22). Bu kriterlere göre, tekrarlayan oral aftlara ek olarak genital ülserler, göz lezyonları, deri lezyonları ve paterji testi pozitifliği bulgularından ikisinin bulunması ile tanı konmaktadır (23). Ancak yine de tanı kriterlerinin belirlendiği 1990 yılından sonra tıbbi görüntüleme yöntemlerindeki gelişmeler ile Behçet hastalığının sistemik tutulumları konusunda daha geniş bilgiler elde edilmiş ve tanı kriterlerinden Paterji testinin çıkarılması ve yerine organ tutulumunun konulmasının uygun olacağı ileri sürülmüştür (24). Behçet hastalığı belirli bir epidemiyolojik özellik gösterir ve BH prevalansı İpek Yolu boyunca uzanan ülkelerde, Akdeniz havzasından başlayıp, Japonya (10-15:100000) ve Türkiye’yi (4:1000) de içine alan bölgelerde, Avrupa ve Amerika’ya göre oldukça yüksektir (25).

2.1.2. Behçet Hastalığının Genetik Yatkınlığı:

Behçet Hastalığı bilinmeyen etiyolojisi ile kronik inflamatuvar bir bozukluktur. Genetik olarak yatkın bireylerde mikrobiyal patojenlerin tetiklediği immunolojik anormalliklerin, hastalığın patogenizinde önemli olduğu uzun zamandır öne sürülmektedir. Son bulgular, Behçet hastalığındaki inflamasyonun doğasını daha iyi tanımlamakta ve genetik faktörlerin önemini desteklemektedir.

BH’de ailevi birikim görülebilmektedir. Kardeşlerde yineme risk oranı (*sibling recurrence risk ratio, λ_s*) endeks olgunun kardeşlerinin hastalıktan etkilenme olasılığının, toplum genelinin etkilenme olasılığına oranı olarak açıklanabilir. Yüksek λ_s değerleri ailesel yığılmanın göstergesidir (26). Gül ve meslektaşları Türkiye’de Behçet hastaları için kardeşlerde yineme oranını %4.2, λ_s değerini de 11.4 – 52.5 aralığında hesaplamışlardır (27).

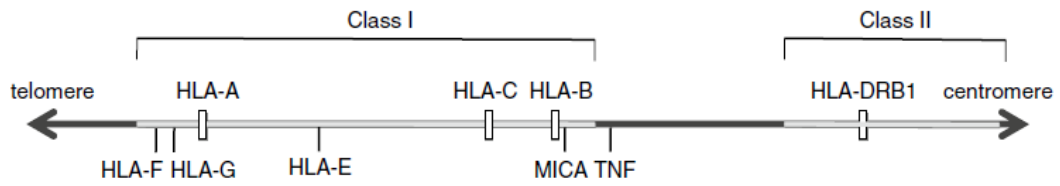
İngiltere de yapılan benzer bir araştırmada Kone-Paut ve meslektaşları kardeşlerde yineme oranını yetişkinler için %2.2, pediatrik olgular için %12.3 bulmuşlardır (28). İngiltere genelini kapsayan bir başka çalışmada kardeşlerde yineme oranı %2.1 bulunmuştur (29).

Kardeşlerde yineme oranlarındaki ülkeler arası fark, hastalığın ailesel kümelenme eğiliminin de bölgesel değişiklik gösteriyor olabileceğine işaret etmektedir. Çoklu aile çalışmalarında herhangi bir Mendelian kalıtım belirlenememesine rağmen, klasik segregasyon analizi yöntemiyle juvenil başlangıçlı hastalarda otozomal resesif kalıtımı destekleyen sonuçlar elde edilmiştir (30) ve genetik antisipasyon belirlenmiştir (31).

Gül ve arkadaşları HLA-B bölgesi ile BH arasındaki ilişkiyi göstermişler, ancak bu bölgenin hastalığa olan genetik yatkınlıktaki rolünün %12-19 civarında olduğunu hesaplamışlardır (32). HLA-B51 pozitif bireylerde hastalığın görülme riski, hastalığın klinik prezentasyonu ve epidemiyolojik özellikleri, coğrafi farklılık göstermektedir. Uzak Doğulu Behçet hastalarında HLA-B51 yaygınlığı %81’e kadar çıkarken, Batı ülkelerinde bu oran %13’e gerilemektedir (33-34). Bu veriler ışığında HLA-B51’in etyopatogenezden sorumlu tek gen olmadığı ve kendisi veya yakınındaki gen veya genlerle (özellikle “HLA-Class I” bölgesiyle) dengesiz bağlantı (“Linkage disequilibrium”=LD) ilişkisi içinde BH gelişiminden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. HLA-B’nin sentromerinde yerleşik Tümör Nekroz Faktör (TNF) ve lenfotoksin genleri ilk olası aday genler olarak araştırılmışlardır. TNF ve HLA-B

lokusları arasındaki genomik segmentin analizi sonucunda ise HLA-B'nin 46-kb sentromerinde yerleşik MICA (major histocompatibility complex class I chain-related gene A) geninin, BH ile güçlü bir ilişki gösterdiği bulunmuştur (şekil 2-1) (35).

MICA hücrelerde strese cevaben eksprese olur. Isı şoku sırasında MICA moleküllerinin ekspresyonunda artış saptanmış ve MICA moleküllerinin bakteriyel peptidleri gama delta T hücrelerine sunabilme özelliklerine sahip oldukları gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda MICA 6 ve MICA 9 allellerinin BH ile ilişkisi gösterilmiştir(36).



Şekil 2-1: Major histocompatibility kompleks (MHC)'in genetik haritası. Kromozom 6'nın kısa kolu Klass 1 bölgesinde Behçet Hastalığı ilişkili lokusu göstermektedir.

Moleküler tiplendirme analizleri sonucunda HLA-B*51 molekülünün, BH ilişkili peptidlerin sunulmasında patojenik mekanizma olabileceği öne sürülmüştür. Fakat Behçet hastalığına spesifik olduğu düşünülen peptidler kullanılarak yapılan çalışmalarda şimdiye kadar sadece (MICA)-derive nonamer peptidin (AAAAAIFVI) aktif HLA-B*51 pozitif Behçet hastalarının 1/3'ünden azında T hücrelerini indüklediği gösterilmiştir (37). Farklı etnik gruplarda uygulanan, allelik bağlantı, genotipik değişim, stratifikasyon analizi yöntemleri ile HLA-B*51'in TNF ve MICA genleri arasında BH ile en güçlü ilişkiyi gösterdiği saptanmıştır (38, 39).

Diğer yandan da Hughes ve arkadaşları Türk (503 hasta ve 504 kontrol) ve İtalyan (144 hasta ve 1270 kontrol) kökenli 2 ayrı bağımsız kohortta yürüttükleri ve ImmunoChip platform ile HLA bölgesindeki 8572 SNP'nin incelendiği çalışmaların genotiplendirme sonuçlarını sunmuşlardır. 1000 Genom Projesindeki verileri kullanmışlar ve rs116799036 (OR ¼ 3.88) tek nükleotid polimorfizmi için genom boyu anlamlılığa ulaşmışlardır. Bu polimorfizm HLA-B bölgesine 24 kb ve MICA genlerine 18 kb uzaklıktadır (40-41).

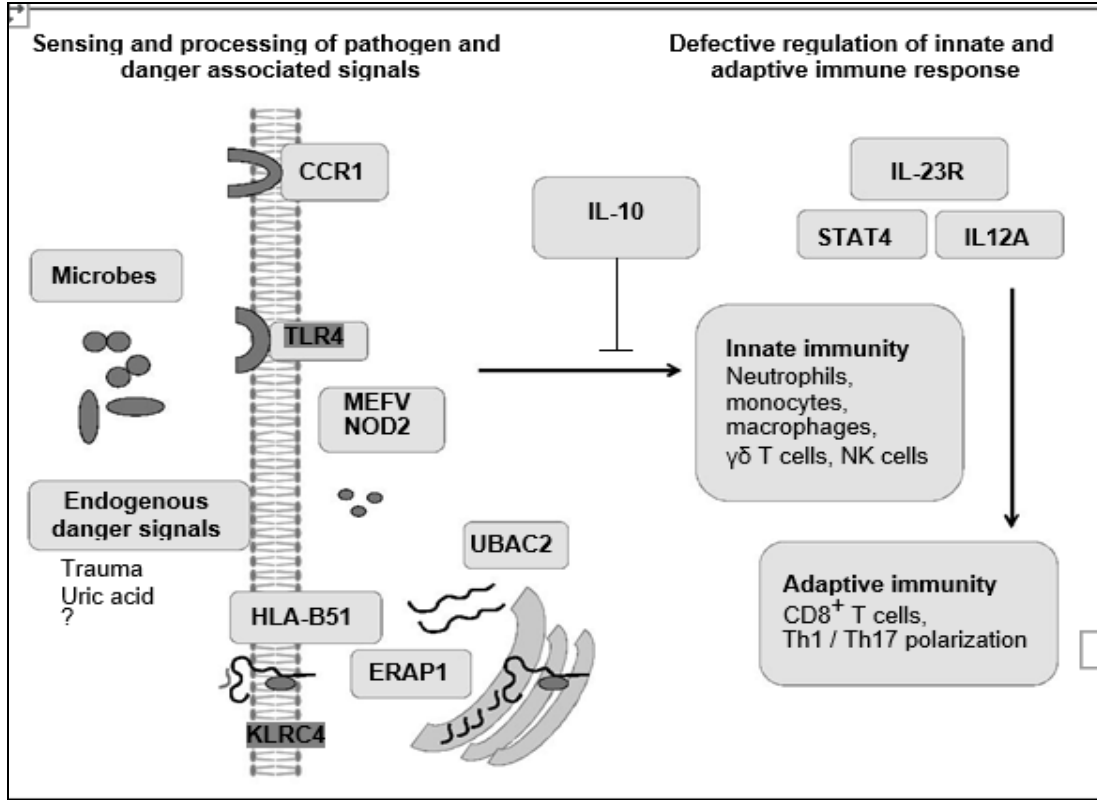
2013'te yapılan bir diğer çalışmada ise, Türk GWAS çalışmalarında elde edilen otozomal SNP'lerin genotip sonuçları tekrar değerlendirildi. HLA-B*51 pozitif Behçet Hastalarında ERAP1 geninde p.Arg725Gln'i kodlayan rs17482078 varyantın homozigot olarak bulundukları tespit edildi (OR 3.78). ERAP1 geni, proteozomlardaki MHC sınıf

1 'e bağlanacak peptitleri amino terminallerinden kesen bir endoplazmik retikulum amino peptidazı kodlamaktadır. Fonksiyonel ERAP 1 ile bağlantının sadece HLA-B51 pozitif Behçet hastalarında tanımlanması, HLAB-51'lerin BH patogenezinde direk etkili olduğunun bir diğer kanıtı olarak kabul edilebilir (Tablo 2-2) (42).

HLA bölgesinin dışında kalan genlerden ise, koagülasyon faktör 5, intraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) , endotelyal NOS ya da IL1 geni polimorfizmlerinin altta yatan inflamatuvar değişikliklere neden olarak hastalıkla ilişkili mekanizmada yer alabilecekleri gösterilmiştir (25, 43-46).

2005 yılında Karasneh ve arkadaşlarının, ailevi vakalarda uyguladıkları ilk tüm genom bağlantı analizi çalışmasında ise, 12p12-13 ve 6p22-24 lokuslarını hastalığa yakınlıkta en güçlü aday bölgeler olarak göstermişlerdir ve bu çalışmada ilk kez BH için 14 potansiyel yeni lokus belirlenmiştir (47).

Wildner ve arkadaşları HLA-B27, HLA-B51 ve diğer HLA-B allellerinde ortak olan polimorfik HLA-B dizisi belirlemişlerdir. Bu dizi, retinal çözünebilen antijen (S-Ag) kaynaklı peptid ile amino asit homolojisi gösterir. Bu peptid sıçanlarda anterior üveitisi uyaramıştır ve üveitli hastalarda B27PD kullanılmasının oral toleransa sebep olduğu bildirilmiştir. Kurhan-Yavuz ve arkadaşları, posterior üveitisli Behçet hastalarında B27PD peptidi, retinal S-Ag kaynaklı peptid ve retinal S-Ag'ye karşı artmış T hücre yanıtını göstermişlerdir (48,49)



Şekil 2-2: GWAS sonuçlarına göre Behçet Hastalığı'na patojenik etkileri olan moleküller

2.1.3. Behçet Hastalığında Mikrobiyal Ajanların Rolü:

Behçet hastalığında mikrobiyal patojenlerin hastalık ajanı ya da tetikleyici faktör olduğu düşünülür. Profesör Behçet, hastalığın viral etiolojisinin olduğunu önermiştir (48). Bu hipotezde dört prensip öne sürülmüştür: viral, streptokokal, ısı şoku proteinleri ve çapraz reaksiyona girebilen veya moleküler taklit proteinleri (5). Herpes Simplex virüs (HSV) Tip I genomu, immün kompleksleri ve antikorları, Behçet hastalığında kontrol grubuna göre yüksek oranda saptanmıştır. 1982 yılında Behçet Hastalarının periferik kan mononükleer hücrelerinde in situ DNA-RNA hibridizasyon yöntemi ile HSV Tip I genomu gösterilmiştir. Fakat Behçet hastalığı etiolojisinde HSV 1'nin doğrudan bir rolü olduğu desteklenememiştir (28,50,51). HSV tip 1 DNA'sı BH'nın tükürük örneklerinde, intestinal ülserlerde ve genital ülserlerde PZR ile tespit edilmiş olmasına rağmen, sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında bir anlamlılık saptanmamıştır (52). Yapılan çalışmalar; Hepatit C, Parvovirüs B19, Sitomegalovirüs, Epstein-Barr virüsü ve varisella zoster virüsü gibi daha birçok viral ajanın da BH'da rolü olabileceğini düşündürmektedir (53-57).

Bakteriyel etkenler olarak ise; streptokokal antijenler, *Helicobacter pylori*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Borrelia burgdorferi*, mikobakteriler, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* çalışılmıştır (58-61).

Fakat BH etyopatogenezinde özellikle streptokokal enfeksiyonlar üzerinde durulmaktadır. Behçet hastalarında streptokok antijenlerine karşı gelişmiş güçlü bir cilt hassasiyeti saptanmıştır. Özellikle de oral kavitenin bakteriyel florasında bulunan *Streptococcus salvarius*'a karşı spesifik bir hipersensitivite gösterilmiştir. Ayrıca Behçet hastalarının oral florasında *Streptococcus sanguis* kolonilerinin sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek seviyelerde olduğu bulunmuştur. Şu an *S. oralis* olarak tanımlanan *S. sanguis* serotiplerine karşı oluşan antikor yanıtı Behçet hasta serumunda tespit edilmiş ve sağlıklı kontroller ile romatoid artrit hastalarında bulunamamıştır (58, 62-64). Kaneko ve arkadaşları Bes-1 geninin ve *S. Sanguinis* (uncommon KTH-1 serotipi)'in 65 kDa'lık ısı şoku proteininin BH patogenezinde önemli olabilecek dış faktörler olduğunu ifade etmişlerdir (65).

Isı şok proteinleri (HSP), enfeksiyon, anoksi ya da toksik ajanlarla temas sonucu hücrelerden salgılanan proteinlerdir. Değişen çevre koşulları ile patojenlerden hsp salgılanması patojenin yaşamı için gereklidir. İnsan hsp'leri, bazı mikrobiyal hsp'ler ile ileri derecede sekans homolojisi gösterir. Bu proteinlere karşı oluşan hücresel ve humoral bağışıklık cevabının Behçet hastalığı patogenezinde yer alabileceği düşünülmektedir (66-67).

2.1.4. Behçet Hastalığında İmmunolojik Anormallikler

Hücresel immünite

Hastalığın immüno patogenezinde hem doğal hem de kazanılmış immünitinin varlığını göstermek açısından paterji reaksiyonu önemli bir bulgudur. Erken paterji reaksiyonu ilk 4 saat içinde oluşur ve iğnenin neden olduğu travma bölgesinde vaskülit olmaksızın hızlı nötrofil birikimi gözlenir, 48 saat sonra ise dermiste yoğun T hücre ve monosit/ makrofaj infiltrasyonu meydana gelir. Bu, artmış nötrofil kemotaksisinin reaksiyonun başlamasına neden olduğunu gösterir. Reaksiyonun devamında ise aktif T lenfositler yer alırlar (68).

T hücreleri

Behçet hastalarında hem doku örneklerinde hem periferik kanda T hücre aktivasyonu gözlenir. Oral aftlar ve paterji reaksiyonları immünopatolojik açıdan incelendiklerinde inflamatuvar bölgede yoğun T hücre infiltrasyonu gözlenmektedir. Bu Th1 polarizasyonu hastalık aktivitesi ile artmakta ve siklosporin gibi T hücre fonksiyonlarını baskılayan ajanlar hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca lenfosit çoğalması, olgunlaşması ve farklılaşmasında biyolojik aktivitesi artmış olan adenoazin deaminazın BH'nin aktif döneminde de artmış olduğu gösterilmiştir. Bu da T hücrelerinin (özellikle Th1) hastalık patogeneğinde önemli olduğunu düşündürmektedir (69).

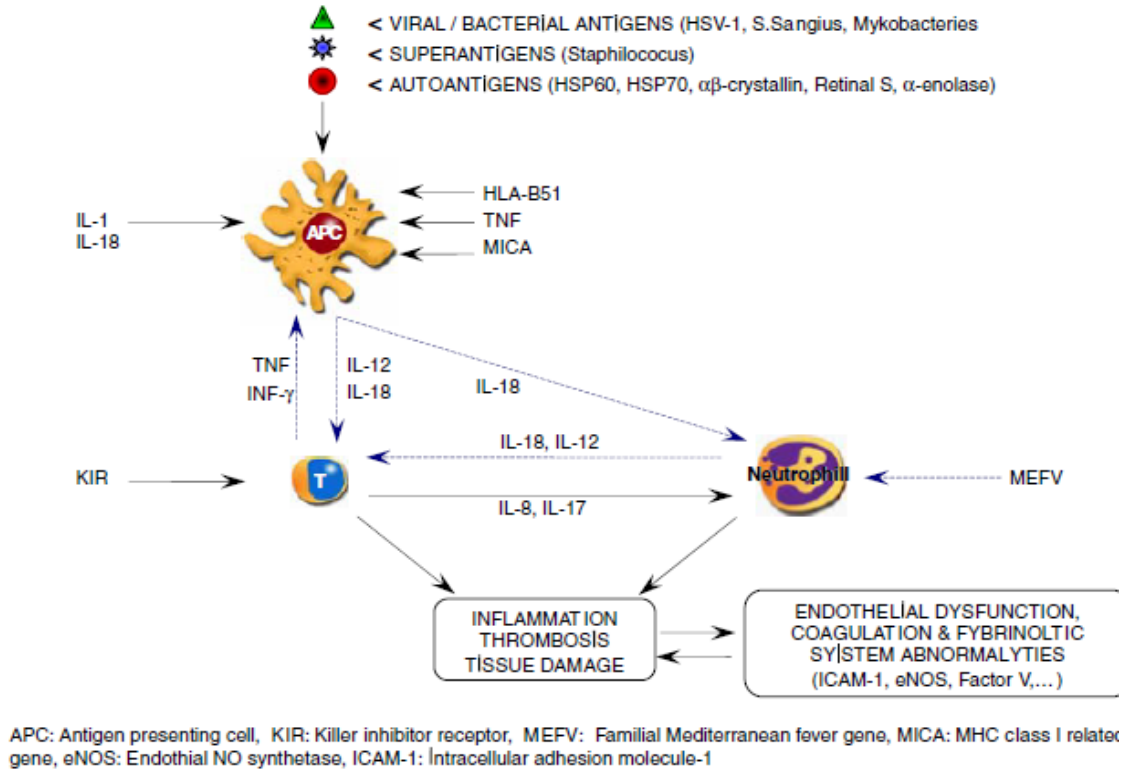
$\gamma\delta$ T hücreleri

T hücreleri taşıdıkları reseptörlere göre $\alpha\beta$ ve $\gamma\delta$ olarak ayrılır. $\gamma\delta$ T hücrelerinin $\alpha\beta$ T hücrelerinden farkı, HLA bağımlı olmamaları ve MICA moleküllerinin de peptidleri $\gamma\delta$ T hücrelerine sunabilmesidir. Bu hücreler asıl olarak bakteriyel kökenli antijenler tarafından aktive edilirler. Buna ek olarak antijen sunumu da yapabildikleri gösterilmiştir. Bu hücreler stres altında hasarlı hücrelerin tespit edilmesi amacı ile aktive edilir. $\gamma\delta$ T hücreleri normalde periferik T hücrelerinin sadece %2-5' ini oluştururken Behçet hastalarında bu oranın arttığı, CD25, CD69, ve CD29 gibi aktivasyon proteinlerini eksprese ettikleri ve IFN- γ , TNF- α ve IL-8 gibi çeşitli inflamatuvar sitokinleri salgıladıkları gösterilmiştir. Bu sitokinler aracılığıyla nötrofil infiltrasyonuna ve aktivasyonuna neden olarak, akut inflamatuvar doku hasarına neden olabilecekleri ileri sürülmüştür (10,70).

Nötrofiller

BH'nda gösterilen immunolojik bozukluklardan biri de nötrofil hiperaktivasyonudur. Nötrofil hiperaktivitesi ile serbest oksijen radikali yapımı, kemotaksis, fagositoz ve miyeloperoksidaz üretimi ve hücre yüzeylerinde CD10, CD11a ve CD14 anlatımları artar (5). TNF- α , granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) ve IL-8 gibi sitokinler nötrofillerin çeşitli sitokinlere karşı daha duyarlı hale gelmelerine neden olurlar (71). Behçet hastalarında Th1 kaynaklı IL-17, IFN- γ , IL-8 ve TNF- α gibi sitokin ve kemokinlerin de nötrofil hiperaktivasyonundan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Örneğin; başlıca aktif CD4+ ve CD8+ T hücrelerden salgılanan IL-

17'nin nötrofillerin inflamasyon bölgesinde toplanmasında rol oynadığı gösterilmiştir (72). Ayrıca son yıllarda başlıca APC'lerden salgılanan IL-18'in, IL-12 ile birlikte Th1 polarizasyonuna yol açtığı (Şekil 2-2) diğer taraftan da nötrofil fonksiyonlarını arttırdığı tespit edilmiştir (73).



Şekil 2-3: Behçet Hastalığının immünopatogenezi (Pay S ve arkadaşları, 2007)

Uyarılmış nötrofiller sitokinler tarafından daha kolay aktiflenmektedir. Uyarılmış ve sitokin ile aktive edilmiş nötrofillerin yarı ömrü uzamakta, dentritik hücre yüzey belirteçlerinden CD40 ve CD83 eksprese etmekte, IL-1, IL-1Ra ve migrasyon inhibe edici faktör (MIF) gibi sitokinleri salgılamaktadır (74,75).

Humoral immünite

Behçet hastalarında total B hücre sayısı normal olmasına rağmen, B hücre aktivasyon belirleyicilerinden CD33, CD13, CD80 ve hafıza belirleyicisi CD45RO ekspresyonunda artış tespit edilmiştir. B hücrelerinin sayısında değişiklik olmadan görülen fonksiyon artışının, bilinmeyen dışardan bir antijenle herhangi bir uyarı sonrası geliştiği düşünülmektedir (76). Behçet hastalarında immünglobülin (Ig) düzeylerinde

poliklonal olarak artış saptanmaktadır. Hastaların %44-60'ında IgA, IgM ve IgG tipi immunkompleksler bulunmaktadır. Ancak bu immunkompleksler genel olarak belli bir antijene özgü olmayıp heterojen yapıdadırlar. Bazı olgularda lezyonlarda perivasküler immunglobulin ve kompleman depolanması saptanmaktadır. Aktif Behçet hastalarında saptanan bu bulgular poliklonal B hücre aktivasyonu ile açıklanmaktadır. Ancak hastalarda saptanan poliklonal B hücre aktivasyonu sonucunda oluşan immunkomplekslerin nötrofillerde artmış fonksiyonel aktiviteye neden olarak doku hasarını oluşturabileceği öne sürülmüştür (77,78).

2.2. Sitokinler ve Ortak Özellikleri

Sitokinler ve İmmün Sistem

Daha önceden de anlatıldığı gibi immün sistem doğal ve edinsel immünite olmak üzere iki grupta incelenir. Doğal immünite immünojen uyarılara karşı anında bir yanıt oluştururken edinsel immünite ise uyarının antijenik kısımlarını tanıyarak daha yavaş fakat çok daha etkili “uyarana spesifik” bir yanıt oluşturur. Endojen ya da ekzojen uyarılarla karşılaşan immün sistem hücreleri ve diğer hücreler sitokinler olarak tanımlanan ve doğal direnç kapsamında gerçekleşen hücresel reaksiyonları yönlendiren proteinleri salgırlar. Lökositlerin kendi aralarında ve diğer hücrelerle iletişimde rol oynayan sitokinler, immün yanıt ile enflamasyonu düzenleyen çözünmüş proteinlerdir. Geleneksel olarak lökositler tarafından sentezlenmeleri ve lökositlere etki ettikleri için sitokinlerin büyük bölümüne interlökinler denilmiştir. Fakat günümüzdeki bilgiler sitokinlerin daha çok lökositler dışındaki hücreler tarafından salgılandığını ortaya çıkarmıştır (79). Tüm sitokinler immünojen bir uyarı sonucu az miktarda üretilir ve hedef hücrelerin yüksek afiniteli reseptörlerine bağlanarak etki gösterirler. Birçok sitokin sentezlendikleri hücrelerde bir etki gösterirken (otokrin etki) bazı sitokinler salgılandıkları hücre yakınlarındaki hücrelere etki gösterirler (parakrin etki). Örnek olarak doğal direnç sitokinlerinden olan TNF ve interlökin-1 (IL-1) enfeksiyon bölgesine nötrofil ve makrofajları çekmekle yükümlüdür. Aşağıdaki tabloda doğal immün sistem sitokinleri ve bunların etkileri özetlenmiştir (79).

Tablo 2-1 Doğal Bağışıklığın Sitokinleri (79)

Sitokin	Ana kaynak hücre/hücreler	Ana hücresel hedefler ve biyolojik etkiler
Tümör nekroz faktör (TNF)	Makrofajlar, T hücreleri	Endotelyal hücreler: aktivasyon (enflamasyon, koagülasyon) Nötrofiller: aktivasyon Hipotalamus: ateş Karaciğer: akut faz proteinleri sentezi Kas, yağ: katabolizma Pekçok hücre tipi: apoptoz
İnterlökin-1 (IL-1)	Makrofajlar, endotelyal hücreler, bazı epitelyal hücreler	Endotelyal hücreler: aktivasyon (enflamasyon, koagülasyon) Hipotalamus: ateş Karaciğer: akut faz proteinleri sentezi
Kemokinler	Makrofajlar, endotelyal hücreler, T lenfositler, fibroblastlar, trombositler	Lökositler: kemotaksi, aktivasyon
İnterlökin-12 (IL-12)	Makrofajlar, dendritik hücreler	Doğal öldürücü hücreler ve t hücreleri: IFN- γ sentezi, artmış sitolitik aktivite T hücreleri: T _H 1 farklılaşması
İnterferon-γ (IFN-γ)	Doğal öldürücü hücreler, T lenfositleri	Makrofajların aktivasyonu, bazı antikor yanıtlarının uyarılması
Tip 1 interferonlar (IFN-α, IFN-β)	IFN- α : makrofajlar IFN- β : fibroblastlar	Tüm hücreler: antiviral korunma, artmış sınıf I MHC ekspresyonu Doğal öldürücü hücreler: aktivasyon
İnterlökin-10 (IL-10)	Makrofajlar, T hücreleri (T _H 2)	Makrofajlar: IL-12 yapımının inhibisyonu, eş-uyaran ve sınıf II MHC moleküllerinin ekspresyonlarında azalma
İnterlökin-6 (IL-6)	Makrofajlar, endotelyal hücreler, T hücreleri	Karaciğer: akut faz proteinleri sentezi, B hücreleri: antikor yapıcı hücrelerin çoğalması

Interlökin-15 (IL-15)	Makrofajlar ve diğerleri	Karaciğer: akut faz proteinlerinin sentezi B hücreleri: antikor yapıcı hücrelerin çoğalması
Interlökin-17 (IL-17)	TH17 hücreleri, CD8+ T hücreleri, Doğal öldürücü hücreler, NKT hücreleri, $\gamma\delta$ T hücreleri, nötrofiller	Epitelyal endotelyal hücreler, fibroblastlar, osteoblastlar, monositler, makrofajlar. Proinflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin ve Metalloproteinazların indüksiyonu, nötrofillerin toplanması
Interlökin 18 (IL-18)	Makrofajlar	Doğal öldürücü hücreler ve T hücreleri: IFN- γ sentezi

Doğal direnç, B ve T lenfositlerinin aktive olabilmesi için gereken “ikincil uyarı” moleküllerini de sağlar. Örneğin mikroorganizmalara yanıt olarak doğal öldürücü hücreler tarafında üretilen IFN-g, bir antijen sunan hücre olan dendritik hücreleri ve yine antijen sunabilme yeteneğinde olan makrofajları uyarak T lenfositlerini aktive eden ikincil tip sinyal oluştururlar. Birincisi her iki hücre grubunun yüzeyinde eksprese olan yüzey molekülleridir; eş-uyaranlar adı verilen bu yapılar naif T hücrelerinin yüzeylerindeki reseptörlere bağlanarak, T lenfositlerinin uyarılmasında antijene eşlik ederler. İkinci olarak yine dendritik hücreler ve makrofajlar salgıladıkları IL-12 ile naif T hücrelerini efektör T hücrelerine dönüştürürler. Bunların dışında yine doğal immün sistemin elemanlarından biri olan kompleman sistemi de benzer mekanizmalarla humoral yanıt için ikincil sinyali oluşturur. Sonuçta doğal direnç, savunmanın ilk aşamasını oluşturmasının yanı sıra, B ve T lenfositlerinin aktivasyonunda ikincil uyarıları sağlayarak edinsel immüitenin savunmaya katılmasını sağlarlar (79).

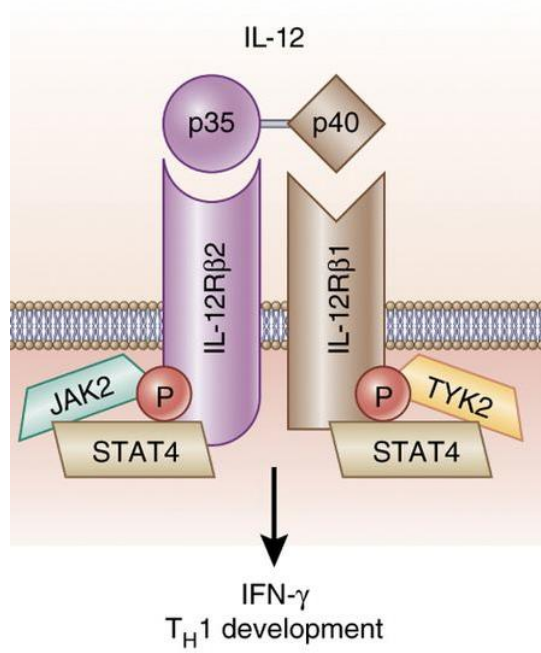
2.2.1. Behçet Hastalığı’nda Sitokinler

BH akut ataklar sırasında çok miktarda sitokin salınmasının izlendiği kronik bir hastalıktır. Çok sayıda kemokin, proinflamatuvar sitokin ve özellikle yardımcı T tipindeki sitokinlerin hastalık aktivitesi ile ilgili olduğu gösterilmiştir. Behçet hastalarında T hücrelerinden salınan Th1 tipi proinflamatuvar sitokinler Th2’lere göre daha yüksektir. Hastalığın özellikle aktif döneminde IL-2 ve interferon-Y (IFN-Y) gibi

Th1 tipi proinflatuar sitokinlerin artmış miktarda üretildiği görülmektedir. Behçet hastalarında serumda, BOS'da ve deri lezyonlarında IL-12 ve IFN- γ düzeylerinde artış gösterilmiştir. IL-12 plazma düzeyleri ile hastalık aktivitesi arasında korelasyon olması da aktif hastalıkta Th1 tipi immun yanıtın patogenezdaki önemini göstermektedir (80). BH'de monosit aktivasyonunun önemini ortaya koyan bulgular da vardır. Hastalarda monositlerden hastalık aktivasyonu ile ilişkili olarak spontan proinflatuar sitokinler olan TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-8 üretiminde artış gözlenmektedir (81,82). TNF- α 'nın Behçet hastalığında yüksek olarak saptanması pratikte anti- TNF- α tedavilerinin kullanımını getirmiştir. Literatürde TNF- α blokajı ile diğer immun baskılayıcı ilaçlara dirençli Behçet hastalarında başarılı sonuçlar alındığını gösteren yayınlar bulunmaktadır (83-85).

2.3 IL12 Yapısı

Heterodimerik sitokin 35 kD'luk bir hafif zincir (p35 ya da IL12a) ve 40 kD'luk bir ağır zincirden (p40 ya da IL12b) oluşmaktadır (86). İnsanlarda p35 alt ünitesi 3. Kromozomda kodlanır. P35 proteini 197 aminoasitten oluşur ve diğer tek zincirli sitokinlerle (ör: IL6 ve G-CSF) homoloji gösterir. IL12 p40 geni ise IL3, IL5 ve GM-CSF gibi 5. Kromozomda kodlanmaktadır. p40, hematopoetik sitokin reseptör ailesi (ör: IL6Ra) üyelerinin ekstraselüler domaini ile homoloji göstermektedir (87). Farklı kromozomlarda yerleştikleri için 2 altünitenin protein ekspresyonu birbirinden bağımsız düzenlenmektedir ve aynı hücrede eş zamanlı eksprese oldukları zaman biyolojik olarak aktif IL12p70 heterodimerini oluştururlar (88). İki alt ünitenin p35 ve p40'ı bir disülfid bağı ile kovalent olarak bağlanır ve aktif IL12p70 heterodimeri oluşur (Şekil 2.3). IL12p40 serbest monomer ya da homodimer olarak in vitro ya da in vivo olarak üretilir. P35'in ise monomerik formda salınımı yoktur. p40 homodimerinin IL12p70 sinyalini farelerde antagonize ettiği öne sürülmüş fakat insanlarda böyle bir durum gösterilmemiştir. IL12p40'ın makrofaj kemoatraktan faktör olarak davrandığı da öne sürülmüştür (89).



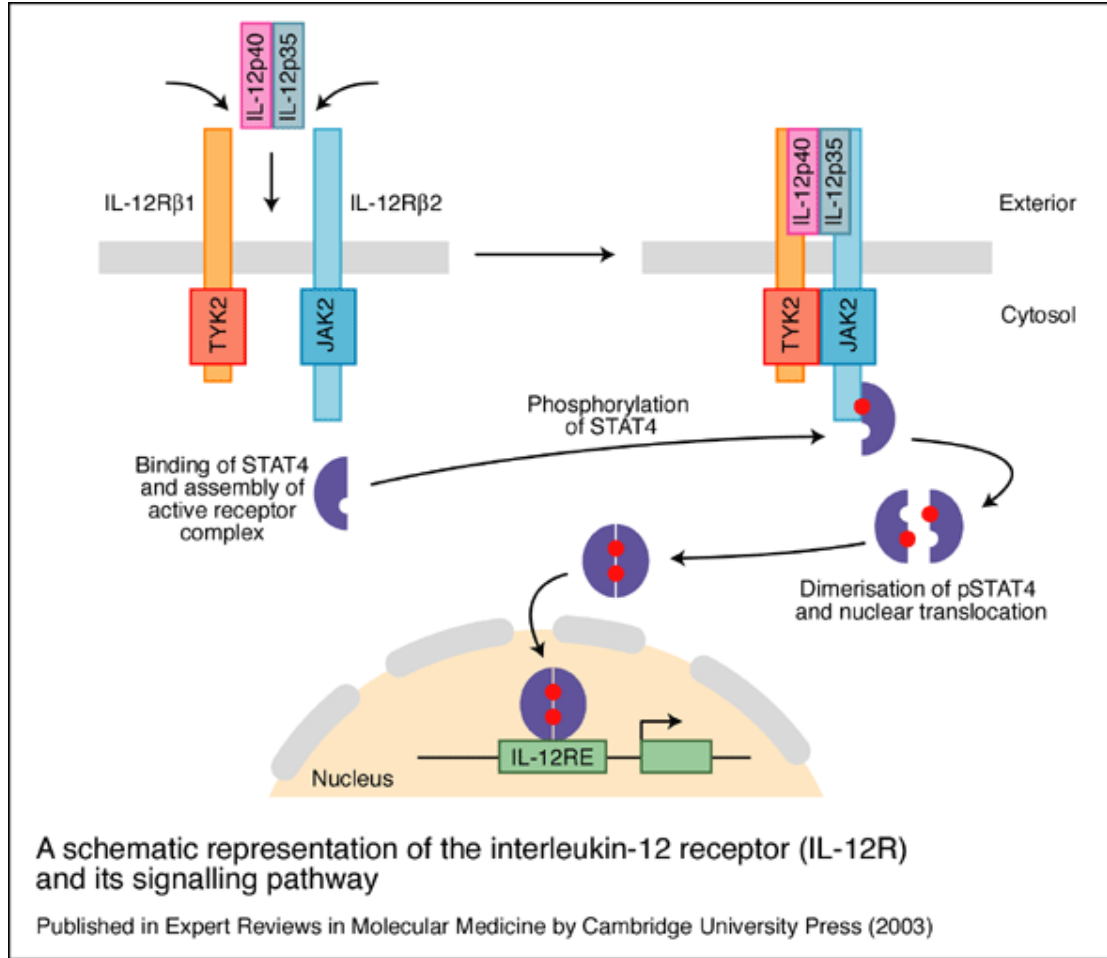
Şekil 2.4. IL12RB yapısı ve alt üniteleri

2.3.1 IL-12 Reseptörü ve Sinyal Mekanizması

Heterodimerik IL12R, yapısal olarak tip 1 sitokin ailesine benzeyen IL12Rb1 ve gp130 altünitesine homoloji gösteren IL12Rb2'den oluşmaktadır. IL12Rb1 kromozom 19p13'de, IL12Rb2 ise 1p31.2'de lokalize olmuşlardır. IL12'nin b1 ve b2 ünitelerine ayrı ayrı afinitesi düşük olmakla beraber, b1 ve b2 alt ünitelerinin eş zamanlı ekspresyonu yüksek afiniteli IL12 bağlanma bölgelerinin oluşması için gereklidir (89-90). Reseptör benzeri alt ünite olan IL12p40 b1 alt ünitesi ile, IL12p35 ise b2 alt ünitesi ile etkileşir. IL12Rb2 alt ünitesi reseptörün sinyallere uyum sağlayan (transducing) zinciridir. IL12Rb1'in ise hücre içi tirozin rezidüleri olmadığından sinyal iletiminde rol almaz. IL-12Rb1 ligand bağlanmasında daha önemlidir (88). IL12R, T hücrelerinde, NK hücrelerinde ve dendritik hücrelerde eksprese olmaktadır. Naif CD4⁺ T hücreleri dinlenme döneminde düşük seviyelerde IL-12Rb2 eksprese ederler ve IL12'ye karşı cevaplarını arttırmaları için TCR, CD28, IL-27 ya da IFN-γ uyarısına ihtiyaç duyarlar (90).

Diğer birçok sitokin reseptörü gibi IL12R de intrinsik enzimatik aktiviteden yoksundur ve Jak'lar aracılığı ile sinyal iletir. Tyk2 ve Jak2, IL12 sinyal iletiminde yer alırlar. Tyk2, IL12Rb1 alt ünitesi ile, Jak2 ise IL12Rb2 alt ünitesi ile etkileşir (91-92). Ligand bağlanmasında reseptör ilişkili Jak'lar transfosforilasyon ve geç STAT4

aktivasyonundan sorumludur. STAT'ların fosforilasyonu ile nükleusa transfer gerçekleşir ve gen ekspresyonları düzenlenir (93) (Şekil 2.4).



Şekil 2-5. IL12RB2'nin İmmün Sistemde ve Hücresel Ağlardaki Rolü

2.3.2. IL12RB2'nin İmmün Sistemde ve Hücresel Ağlardaki Rolü

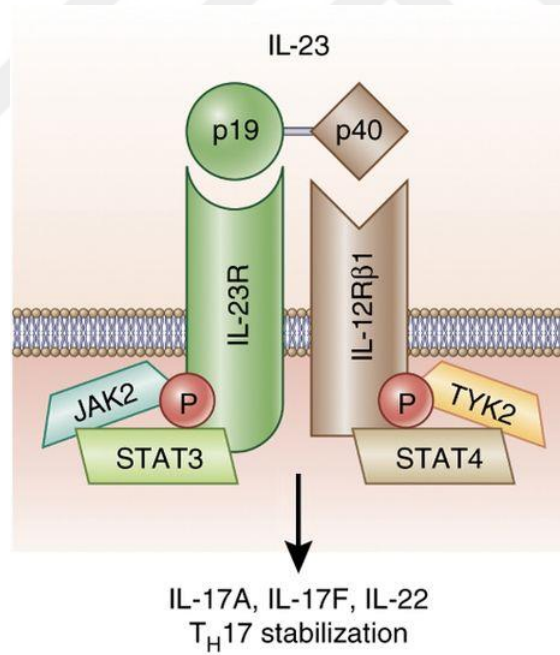
IL12 ile aktive olmuş hücreler konak savunmasında rol alan birçok genin (IFN-g, GRANZYME, TRAIL, FASL ve CCL5 gibi) transkript seviyelerinde ekspresyon artışına neden olurlar. Böylece IL-12/IFN-g yolağı mikropların ya da enfekte hücrelerin direkt olarak öldürülmesi için gerekli sitotoksik faktörleri indükler.

IL12, NK ve T hücrelerinden IFNg üretimini indükleyerek fagositik hücrelerin antimikrobiyal, antiparazitik ve antitümör etkinliğini, NK hücrelerinin ve lenfokin aktive öldürücü hücrelerin sitolitik aktivitelerini indirekt olarak uyarır (94-97).

IL-12RB1’de IL12 ve IL23’e tam yanıtızlığa neden olan birçok mutasyon tanımlanmıştır. Hastaların periferik kan lenfositlerinin antijenik uyarısı (ör: BCG ya da M.avium) belirgin derecede azalmış IFN-g üretimi ile sonuçlanmıştır. Bu hastalardan elde edilen T hüce hatlarının fosforile STAT4 proteinleri detekte edilmiş olmasına rağmen, bu hücrelerin IL12’ye cevap vermedikleri gösterilmiştir (98-100). Heterozigot IL-12Rb2 zincir mutasyonu taşıyan Atopik hastaların, IL12 uyarısı ile STAT4 fosforilasyonu ve IFNg üretimlerinin azaldığı gösterilmiştir (101).

2.4. IL-23 yapısı

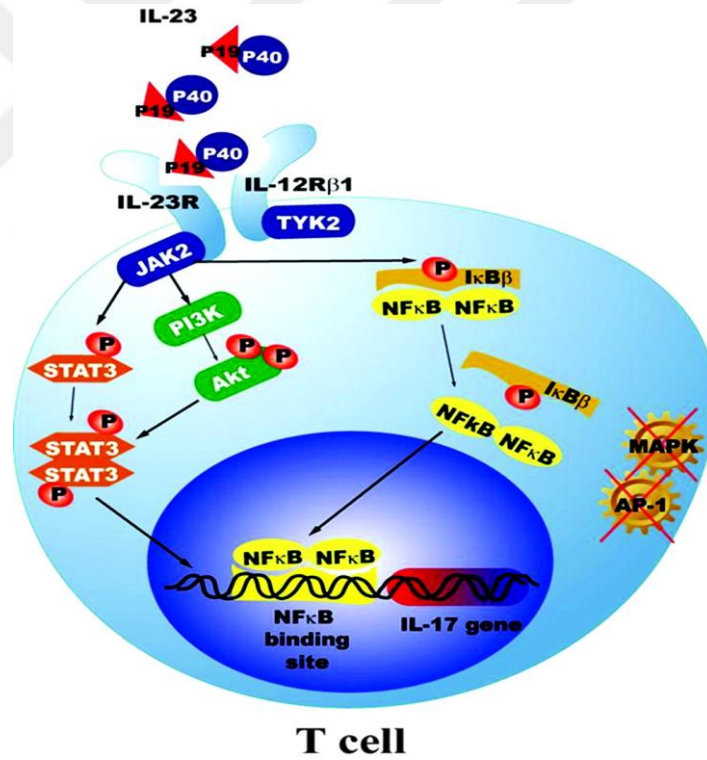
IL23, 19 Kd’luk helikal bir çekirdek yapısındaki A alt ünitesi (IL23p19) ve 40 kd’luk B alt ünitesinin (IL12p40) disülfid bağlarla bağlanması ile oluşan tip 1 heterodimerik bir sitokindir. Şekil B (102). IL23p19 alt ünitesi insanda 12.kromozomun uzun kolunda yerleşmiştir. IL23 proteini ise insan ve fareler arasında %70 homoloji göstermektedir (103).



Şekil 2.6: IL23R yapısı ve alt üniteleri

2.4.1 IL23 Reseptörü ve Sinyal mekanizması

Ortak p40 alt üniteleri nedeniyle, IL23 ve IL12'nin oluşturdukları reseptör kompleksinde IL12Rb1 alt ünitesi de ortaktır. İkinci bir alt ünite olan IL23R, p19'un tanınması ve reseptörlerin yüksek afiniteyle bağlanmasında önemli olan heterodimer yapının oluşumunda gereklidir. IL23R geni insanda 1. kromozomda yer alır ve IL6/IL12 reseptör ailesinin bir üyesidir. IL23R, IL-23p19'a bağlanan ekstraselüler bir N terminal immunoglobulin-benzeri domain ile 2 sitokin reseptör domaini içerir (103). IL12Rb1 altüniti, IL-12/23p40 ile etkileşen, 3 membran-proksimal fibronektin tip III ve 2 sitokin reseptör domaininden oluşur (104). Reseptör kompleksinin uyarısı ile Jak2 ve Tyk2 aktive olur, böylece reseptör kompleksi fosforilasyonu ve STAT (1, 3, 4 ve 5) ailesinin kenetlenme bölümleri oluşur. Bundan sonra STAT'ların dimerizasyonu, fosforilasyonu ve nükleusa translokasyonu gerçekleşir ve hedef genler aktive olurlar.



Şekil 2-7: IL 23 sinyalizasyon yolağı

2.4.2 IL23R'ün İmmün Sistemde ve Hücresel Ağlardaki Rolü

IL23, hafıza ve efektör T hücrelerine etki eden bir sitokindir. Aktive ve hafıza T hücrelerinde IL23R kompleksi daha yüksek seviyede eksprese olurken; NK hücreleri, eozinofiller, monositler, makrofajlar, DC'ler ve epitelyal hücreler gibi daha birçok farklı hücre popülasyonunda da reseptörün ekspresyonu söz konusudur (102-103). Sadece TCR uyarısı IL23R ekspresyonu için yeterli olmadığından, IL23 cevabını arttırmak için ek uyarılar da gereklidir. IL23 ile uyarı sonrasında IL-17A, IL-17F, IL-6, IL-22, TNF, CXCL1 ve $\alpha 3$ integrin gibi birçok inflamatuvar molekül üretildiği bilindiğinden, IL23 tanımlandığı dönemlerde TH17-hücre-promoting faktör olarak adlandırılmaktaydı (104-105). Son raporlar IL23'ün bu rolünü açıkça ortaya koymaktadır. Naif T hücrelerini IL23R pozitif IL17 üreten hücrelere dönüştürmek için TGF- β ve IL-6'nın gerektiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (106-108).

Th17 hücre gelişimindeki rolüne ek olarak, IL23'ün NK hücrelerini aktive ettiği, T hücre proliferasyonunu arttırdığı ve antikor üretimini düzenlediği gösterilmiştir (109). IL23/IL-17 yolağının terleme, ateş, ağrı ve artmış immün cevaplarla gelişen lokal doku inflamasyonu ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bundan dolayı IL23'ün patojenlere karşı erken immün cevapta ya da direk olarak IL17 üretimini indükleyip erken nötrofil toplanması nedenli hasarlarda rol oynayabileceği düşünülmüştür. IL-23/IL-17 yolağında oluşan düzensizlikler immünpatolojik ve otoimmün inflamasyonlarla ilişkilendirilmiştir (110).

2.5. IL12RB2 ve IL23R genleri ile ilişkilendirilmiş hastalıklar

Son dönemlerde yapılan GWAS çalışmalarında IL23R veya IL12RB2 lokusları birçok inflamatuvar hastalıkta ve immün sistem aracılı hastalıklarda yatkınlık lokusu olarak belirlenmiştir. Örneğin, IL23 reseptörünün 9. Ekzonunda yer alan bir non sinonim SNP (rs11209026) inflamatuvar barsak hastalığı (İBH), psöriazis (PS), psöriyatik artrit (PSA), ankilozan spondilit ve anti topoizomeras 1 pozitif sistemik sklerozis ile birincil derecede ilişkili bulunmuştur. Duerr R.H ve arkadaşlarının 2006 yılında Crohn hastalığına neden olabilecek genetik faktörleri tanımlayabilmek için yaptıkları bir GWAS çalışmasında, kromozom 1p31'de yer alan ve IL23 reseptörünün bir subünitini kodlayan IL23R geni ve Crohn hastalığı arasında anlamlı bir ilişki belirlenmiştir. Böylece inflamatuvar barsak hastalıklarının tedavisinde terapötik bir hedef

olarak proinflamatuvar bir sitokin olan IL23'ün yer aldığı sinyal yollarının kullanılabileceğini belirtmişlerdir (111-113).

Liu Y ve arkadaşları PS ve PSA hastalarında yapmış oldukları ilk geniş skala genom boyu ilişkilendirme çalışmasında, MHC bölgesinin PS için en önemli risk faktörü olduğu, PSA'da ise majör bir rolünün olduğunu ortaya çıkarmışlar ve IL12RB2 lokusundan 4 kb uzaklıkta, IL23R bölgesindeki bir SNP (rs11209026) ile PS ve PSA hastalıklarının ilişkisini göstermişlerdir ($P = 0.001$) (114).

Hirschfield ve arkadaşlarının 2009'da HLA sınıf II bölgesinde; HLA-DQB1 lokuslarında primer biliyer siroz ile en güçlü assosiasyonu tespit ettikleri araştırmalarında, IL12A lokusunda iki, IL12RB2 lokusunda da (rs3790567) bir SNP'nin primer biliyer siroz ile ilişkisini göstermişlerdir. Böylece IL12'nin immünregülatuar sinyal aksisinin primer biliyer siroz patofizyolosinde gerekli olduğunu öne sürmüşlerdir (115-117).

Lacher M ve arkadaşlarının, IL23R lokusunda GWAS çalışması sonucunda belirlenen rs11209026 (p.Arg381Gln) ve rs7517847 (c.799-3588T>G) varyantlarının IBH ile ilişkisini TaqMan SNP genotipleme yöntemi kullanılarak incelemiş ve RT-PCR ile IL23R transkripsiyonel aktivitesini kolon dokularında analiz etmişlerdir. 2009 yılında yapılan bu çalışma sonucunda rs11209026 allelinin pediatrik Crohn Hastalığına karşı korunmada önemli olduğu, fakat IL23R ekspresyon seviyelerinin bireyler arasında çok değişken olması nedeniyle hastalıkla anlamlı bir ilişki göstermediği belirlenmiştir (118).

Jiang Z ve arkadaşları 2010 yılında Çin toplumunda IL23R SNP'lerinin BH'na yatkınlıkta rolünün olup olmadığının belirlenmesi için 4 SNP'yi BH ve kontrollerde genotiplemişler ve sonuçta ilk kez bu çalışma ile IL23R'deki rs17375018 SNP'si BH ile çok güçlü ilişkili gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca IL23R'nün rs11209032 AA ve rs17375018 GG genotiplerinin BH'na yatkın genotipler olduğu ve AGCG haplotipinin BH'ndan korunmada rol oynayabileceği öne sürülmüştür (119).

2010 yılında Mizuki ve arkadaşlarının Japon toplumunda ve Remmers ve arkadaşlarının ise Türk toplumundaki Behçet hastaları ile korele yürüttüğü iki GWAS çalışmasının sonuçlarına göre; Japon BH grubundaki çalışmada; kromozom 1p31.3' te, IL23R ve IL12RB2 lokuslarının intergenik bölgesinde yer alan rs12119179 ve 1q32.1'de IL10 lokusunun 3. intronunda lokalize olan rs1554286 tek nükleotid polimorfizmleri BH ile ilişkili olarak tespit edilmiştir. Bu bölgeler ekstra SNP'lerin

haritalandırılması sonucunda ise IL23R-IL12RB2 lokuslarının intergenik bölgesinde yer alan rs1495965 ile en anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu çalışmada, güçlü ilişkili olarak bulunan SNPlerin IL23R-IL12RB2 intergenik bölgede bulundukları ve birbirleriyle güçlü bağlantı dengesizliğinde (LD, Linkage disequilibrium) oldukları gösterilmiştir. Çalışmanın replikasyon aşamasında, Remmers ve arkadaşlarının Türk toplumunda çalıştığı örnekler ve Koreli Behçet hastasının örnekleri, anlamlılık değerine ulaşan 3 SNP (IL23R-IL12RB2’de rs1495965; IL10’da rs1800872 ve rs1800871) için taranmış, ve IL23R-IL12RB2 bölgesindeki rs1495965, Türk toplumunda BH ile ilişkili bulunmuş fakat Korelilerde anlamlılığa ulaşamamıştır. Bu çalışmada, rs1495965’in hastalıkla ilişkili allelinin her 3 popülasyonda da BH için artmış risk alleli olduğu gösterilmiştir. IL10 bölgesindeki her 2 SNP ise; hem Türk ve korelilerde yapılan replikasyon çalışmasında, hem de meta analiz sonucunda en anlamlı ilişkiyi göstermişlerdir (12,13).

Türk toplumundaki GWAS çalışmasında; Japon toplumunda yürütülen çalışmada tanımlanmış olan IL10 ve IL23R-IL12RB2 bölgeleri tekrar haritalanmış, IL10 lokusunda rs1518111 ve IL23R-IL12RB2 lokusunda rs924080 SNP’leri BH ile ilişkili varyantlar olarak tespit edilmiştir ($P < 0.0001$). Bu çalışmada ek olarak, IL10 geninde bulunan rs1518111 haplotipini heterozigot taşıyan 8 sağlıklı kişinin monositlerden izole edilen pre-mRNA larda, her iki allelin (hastalık ile ilişkili kopya ve normal allel kopyası) rölatif ekspresyon farklılığı ölçülerek allelik dengesizliği test edilmiştir. Tüm 8 kişide rs1518111 A* allelinin pre-mRNA transkripti, G allelini taşıyan transkriptler ile karşılaştırıldığında, A* alleli düşük seviyelerde bulunmuştur (A*: hastalıkla ilişkili allel, G: normal allel). Özellikle anti-inflamatuar bir sitokin olan IL10’un düşük doz üretimine neden olan genetik varyasyonların BH patogeneğinde gelişen inflamasyon ile ilişkili olduğu ve hastalığa yatkınlık riskini arttırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, ayrıca MHC bölgesinin içindeki HLA-B*51’in BH’ye yatkınlıkta primer rol oynadığı doğrulanmış ve HLA-B’ye telomerik olan bir diğer bağımsız MHC Sınıf 1’i ortaya çıkarmıştır (Tablo 2-2) (13).

Tablo2-2: Behcet Hastalığı'nda risk allelleri

Kategori	Gen	Varyant	Yerleşim	Referans
HLA ilişkili gen	ERAP	rs17482078 (Arg725Gln)	Exon	Kirino et. al,
IL ailesi	IL10	rs1518111	Intron	Remmers et. al
		rs1800871	Upstream	Remmers et. al
IL ailesi	IL10	rs1800872	Upstream	Remmers et. al
		rs1554286	Intron	Mizuki et. al,
	IL23R-IL12RB2	rs121191179	Intergenik	Mizuki et. al,
		rs924080	Intergenik	Remmers et. al, Mizuki et. al,
		rs11209032	Intergenik	Jiang et. al,
		rs17375018	Intron	Jiang et. al,
		rs1495965	Intergenik	Remmers et. al, Mizuki et. al,

2.6. IL12RB2-IL23R intergenik bölgesindeki rs924080 varyantının farklı toplumlardaki ilişkilendirme çalışmaları

Bu tez çalışması tamamlandıktan sonra IL12RB2-IL23R intergenik bölgesindeki rs924080 varyantının farklı toplumlarda Behcet Hastalığı ile ilişkisi araştırılmıştır. 2012 yılında Xavier ve arkadaşlarının İran toplumunda 973 BH ve 637 Sağlıklı gönüllüde yaptığı replikasyon çalışmasında ilgili varyantın BH'ye yatkınlığı gösterilmiştir (122). 2013 yılında Cezayirin Batısında 51 BH ve 96 sağlıklı gönüllünün dahil edildiği bir diğer çalışmada da rs924080 bölgesi, çalışılan 11 SNP'den biridir. Fakat bu çalışmada rs924080 ile BH arası ilişki Cezayir toplumunda anlamlılığa ulaşmamıştır (123). 2016 yılında Qin Xue ve arkadaşlarının 407 BH ve 421 Sağlıklıda yapmış olduğu ilişkilendirme çalışmasında rs11209032 ve rs924080 incelenmiş ve Kuzey Çin toplumunda bu tek nükleotid polimorfizmlerinin BH ile ilişkisi anlamlılığa ulaşmıştır (124). 2017 yılında yine Çin'den fakat bu kez güney bölgesinde daha fazla hasta ve sağlıklı gönüllü kullanılarak benzer çalışma tekrarlanmıştır. 1206 BH ve 2475

sağlıklıların kullanıldığı ilişkilendirme çalışmasında 26 BH'na yatkınlıkta önemli olabileceği düşünülen tek nükleotid polimorfizmi incelenmiştir. Bulgular IL10 genindeki rs1800871 ve IL23R-IL12RB2 intergenik bölgesindeki rs924080 ile BH arasındaki ilişkiyi desteklemiş ve ayrıca Güney Çin popülasyonunda IL10 and IL23R-IL12RB2 bölgesinde BH ile ilişkili 2 yeni SNP daha belirlemiştir (125).

2.7. IL12RB2-IL23R intergenik bölgesinde farklı varyantların ilişkilendirme çalışmaları

2017 yılında Kore popülasyonunda yapılan bir diğer ilişkilendirme çalışmasına 369 BH ve 2000 Sağlıklı kişi dahil edilmiş bu kez IL23R-IL12RB2 intergenik bölgesinde BH ile ilişkili üç farklı SNP rs1495965, rs1495966 ve rs4655535 belirlenmiştir (126).

Kramer ve arkadaşları 2018 yılında toplamda 89 İsrail ve Türk kökenli üveitli Behçet Hastası ve farklı kökenden sağlıklı kontrollerde intergenik bölgedeki rs1495965'ı incelemişler ve IL 10 genindeki rs1800871 polimorfizmindeki A risk allelinin Türk gruptaki Behcet üveiti ve sağlıklı kontrollerde hastalığa yatkınlıkta etkin olduğunu göstermişlerdir. IL23R-IL12RB2 geni rs1495965 G allelinin Behcet üveitli hastalarda ve Orta Doğu kökenli sağlıklı Türk ve İsrail grubunda diğer İsrailli control grubuna göre yüksek olduğunu göstermişlerdir (sırası ile 77.9%, 78.9%, 27.8% , $P < 0.001$) (127).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Çalışma Grubu

Çalışmamız, 507 sayılı 24.10.2002 tarihli etik kurul onayı alınmış projede çalışılan, Behçet Hastalığı-genom analiz çalışmasında belirlenen IL23R-IL12RB2 bölgesindeki varyant (rs924080) için heterozigot (n=6) ve homozigot (n=4) taşıyıcı olduğu bilinen sağlıklı gönüllülere ait örnekler ve iki allelinde de BH ile ilişkili bu varyantı içermeyen sağlıklı gönüllü (n=4) olmak üzere toplam 14 olguda gerçekleştirilmiştir.

Çalışma materyali olarak gönüllülerden, 2 adet 10ml'lik EDTA'lı tüplere alınan kanlar kullanılmıştır. Çalışma İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Genetik Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılmıştır. Çalışma öncesi İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurul'undan onay alınmış ve örnekleri alınan gönüllülere detaylı bir şekilde çalışma kapsamı anlatılmış ve gönüllü onam formu imzalatılmıştır.

3.1.2. Kimyasallar

- | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|
| • Fikol | Histopaque 1077 Sigma Aldrich |
| • B-Merkaptoethanol | Sigma, Almanya |
| • RLT | Qiagen |
| • Etil Alkol | Merck, Almanya |
| • Etidyum Bromür | Sigma, Almanya |
| • PBS | Biochrom |
| • Eritrosit parçalama solusyonu (EL) | Qiagen |

- RPMI-L glutamin Gibco
- Penisilin Streptomisin Gibco
- HEPES Biochrom,
- Fetal Bovine Serum-Isı ile inaktive edilmiş Thermo Scientific
- Lipopolisakkarid(*E.coli*, Serotype O55:B5) Sigma Aldrich

3.1.3. PZR Materyali

- Primer (5 uM) Invitrogen,
- Master mix (2X) Roche,
- UPL prob (10 uM) Roche

3.1.4. cDNA Sentez Materyali

5X RT Buffer	MBI Fermentas, Litvanya
10 mM dNTP miks	Applied Biosystems, UK
DTT (0,1 M)	MBI Fermentas, Litvanya
RNaz inhibitör (20 U/μl)	MBI Fermentas, Litvanya
Revers Transkriptaz (200 U/μl)	MBI Fermentas, Litvanya
Random Primer	MBI Fermentas, Litvanya

3.1.5. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

Solüsyon D

10 ml EL (eritrosit lizis) çözeltisi içine 100 μl β-Mercaptoetanol eklendi.

Hücre Kültürü Medyumu

100 ml hücre kültürü medyumu için; %10 Isı ile inaktive edilmiş FBS (Thermo Scientific), streptomisin (100mg/mL), penisilin (100U/mL) (Invitrogen Life Sciences, USA), %2 HEPES solusyonu (Biochrom, USA) ve 0,2 ug/ml β -ME (Biomatik, USA) içeren 2 mM l-glutaminli RPMI 1640 hazırlandı.

100 ml için;10 ml FBS-HI, 2 ml HEPES Buffer, 1ml Penisilin (10000 U/ml) Streptomisin (10000ug/ml) miksinden 86 ml RPMI –L Glutamin (konsantrasyon) içerisine eklendi. Bu çözeltiye 200 ul β -ME + 9,8 RPMI dan 100 ul alınıp 9,9 ml RPMI içinde çözülüp, bu karışımdan da 1 ml kültür mediumuna eklendi.

3.1.6. Kullanılan Cihazlar

Hassas terazi (Shimadzu)

Otomatik pipetler (Glison, Eppendorf)

Çeker ocak (Kermanlar)

Otoklav (Kermanlar)

Distile su cihazı (Millipore)

Buzdolabı ve derin dondurucu (+4°C, -20°C, -80°C) (Arçelik, Sanyo, Bosch,

Heraeus Sepatech)

Soğutmalı santrifüj (Eppendorf)

Masa üstü mini santrifüj (Hettich, Eppendorf)

CCD kamera- bilgisayar donanımı (BIO-RAD)

Işık mikroskobu (Olympus CX41)

PZR cihazı (Techne)

Vorteks (Kermanlar)

Flow kabin (Thermo Scientific)

Spektrofotometre (Nanodrop)

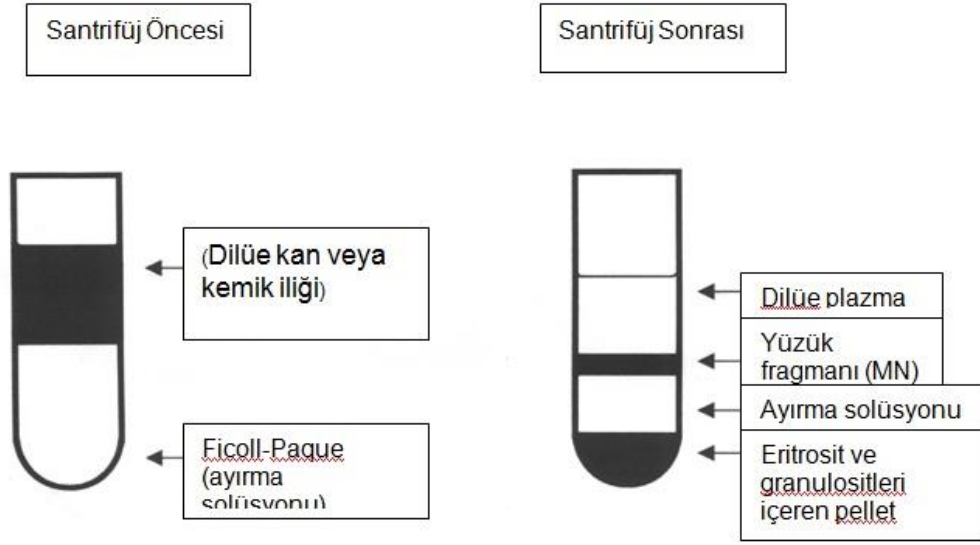
Eş zamanlı PZR cihazı (Roche)

VI-CELL cell viability analyzers (Beckman Coulter)

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Lökosit İzolasyonu

Alınan kan örneklerinden Fikol (Ficoll-hypaque) yöntemi kullanılarak periferik kan mononükleer hücrelerin izolasyonu yapılmıştır. Fikol ile ayırıştırma yöntemi yoğunluk gradientine dayanmaktadır. Pıhtılaşmamış kan örneğindeki beyaz hücre konsantrasyonu, Thoma kamerası/ hücre sayım cihazı kullanılarak ölçüldü. Thoma kamerası ile sayım yapılırken Olympus CX41 ışık mikroskobu kullanılır. Elde edilen değere göre ml. başına $20 \cdot 10^6$ hücre gelecek şekilde PBS ile sulandırma yapıldı ve elde edilen total volüme göre cam tüp hazırlandı. Hücre sayısına göre belirlenen cam tüpe pastör pipeti yardımıyla 4 ml. Fikol konuldu ve fikolün üzerine PBS ile karıştırmış olduğumuz örnekten ortalama 8 ml pasteur pipeti yardımıyla sızdırıldı. Örnekler 2060 rpm'de 15 dk. santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında tüpte 3 faz gözlemlendi. Örnekler; en altta sedimentasyona uğrayarak dibe çöken eritrositler ve yoğunlukları nedeniyle ayırıştırma solüsyonu olan fikolu geçebilen granülositler, orta fazda "buffy coat" adı verilen ve ayırıştırma fazının üstünde toplanan mononükleer hücreler (lenfosit, monosit, trombositler) en üst fazda ise plazma olacak şekilde ayrılırlar (şekil 3-1). Pasteur pipeti ile yeni tübe toplanan mononükleer hücreler trombositlerden uzaklaştırılmak için MN hücreleri içeren tübe yaklaşık 3 kat volum oranında soğuk PBS yıkama solüsyonu eklendi ve 2 ml PBS ile bir kez yıkandı. 1850 Rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra üstte kalan sıvı atıldı. Tüpe 2 ml. PBS daha eklenerek hücreleri vortekslendi ve süspansiyon hale getirildi. 1500 Rpm'de 5 dakika santrifüj edilip, üst faz atıldı. Hücreler hücre fazının büyüklüğüne göre, 1ml PBS içinde dilüe edilip hücre sayma cihazı / Thoma kamerasında tekrar WBC (beyaz hücre) konsantrasyonunu ölçüldü. 0. Zaman gen ekspresyon değerlendirmesinde kullanılmak üzere $2,5 \cdot 10^6$ hücre ayrıldı ve PBS'i uzaklaştırmak için 1500 Rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra 350 ul Sol D'ye alındı. Geriye kalan hücre sayısına göre, $2,5 \cdot 10^6$ hücre/ml olacak şekilde 2 kopya daha ayrıldı. PBS'i uzaklaştırmak için 1500 Rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra tüplerine 1'er ml hücre kültürü medyumunu eklendi. Beyaz kan hücrelerimiz çalışmaya dek -80°C 'de saklandı.



Şekil 3–1: Fikol yöntemi kullanılarak tam kandan mononükleer hücre izolasyonu

3.2.2. Hücre Kültürü

Hücreler ($2,5 \cdot 10^6$ hc/ml) %10 Isı ile inaktive edilmiş FBS (Thermo Scientific), 2 mM l-glutamine, streptomisin (100mg/mL), penisilin (100U/mL) (Invitrogen Life Sciences, USA), %2 HEPES solüsyonu (Biochrom, USA) ve 0,2 ug/ml β -ME (Biomatik, USA) içeren RPMI 1640 (Invitrogen Life Technologies, USA) besi yerinde %5 CO₂ içeren ortamda 37°C de 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. Hücrelerin bir kopyası, optimizasyon çalışmaları sonucunda kararlaştırılan konsantrasyon olan $2,5 \cdot 10^6$ ml/kuyu hücre için 250 ng/ml LPS (E.Coli serotip O55 B5, Sigma Aldrich, USA) ile uyarıldı, diğer kuyudaki hücrelere LPS uyararı verilmedi.

24 saatlik inkübasyon sonrası, her kuyu 200 μ l RPMI 1640 ile yıkandı ve Vİ-CELL hücre sayım cihazı (Beckman Coulter) ile hücre sayıları ve canlılıkları ölçüldü. Hücreler 1500 Rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek medyumdan uzaklaştırıldı ve 350 μ l solüsyon D içine alındı. Hücrelerimiz RNA eldesine dek -80°C’de saklandı.

3.2.3. RNA Eldesi

350 μ l solüsyon D (guanidyum tiosiyanat ve beta merkaptotanol içeren kuvvetli denatüran madde) içindeki lökosit örneklerinden, standart kit protokolüne uygun bir şekilde RNA izole edildi (Qiagen, Almanya). RNA miktarı ve kalitesinin ölçümü için spektrofotometre (ND-1000, NanoDrop Technologies, Inc. USA) kullanıldı.

3.2.4. cDNA Sentezi

Spektrofotometre kullanılarak RNA örneklerinin kalitesi ve miktarları ölçüldü. 1 µg RNA ile cDNA sentezine başlandı. 20 µM random primer eklenerek 65°C’de 10 dakika bekletildi. Daha sonra reaksiyon karışımı ilave edilmek üzere buza alındı (Tablo 3-2).

Tablo 3-1: cDNA sentezinde kullanılan reaksiyon karışımının kondüsyonu

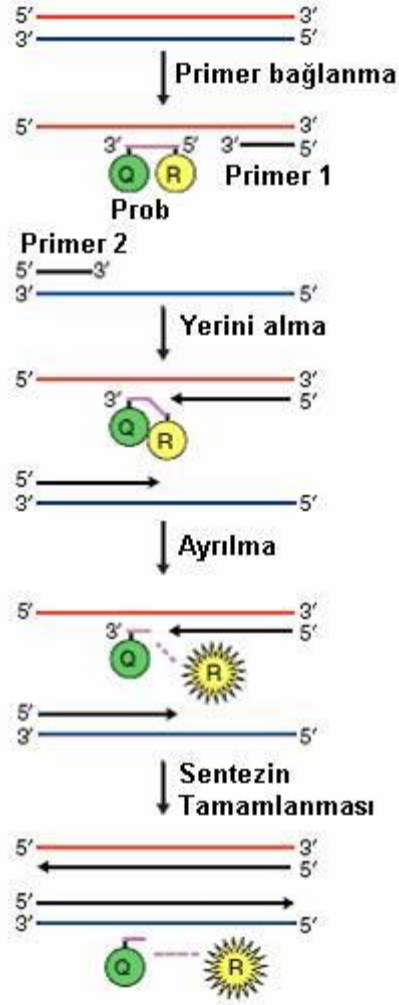
Karışım	Miktar
5x RT Tampon	4µl
10 mM dNTP miks	2µl
DTT (0,1M)	1µl
RNaz inhibitör (20 U/µl)	1µl
Revers Transkriptaz (200 U/µl)	1µl
Toplam	9µl

Hazırlanan karışım, örneklerin üzerine eklendikten sonra örnekler, 25°C’de 10 dk, 42°C’de 1 saat ardından da 70°C’de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra cDNA örnekleri -20°C’de saklandı.

3.2.5. Eş Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Eş zamanlı kantitatif PZR, amplifikasyon gerçekleşirken izlenebilen, floresan işaretleyicilerin kullanıldığı ve alınan floresan yoğunluğunun, amplifikasyon ürünü ile doğru orantılı olarak arttığı bir yöntemdir. Özgün (işaretli prob) ya da özgün olmayan işaretleyiciler (SYBR green vb) kullanılmaktadır. İşaretli problardan en sık kullanılanları hidroliz ve hibridizasyon problemleri ile “Molecular beacon” ve “Scorpion” problemlerdir (121).

Bu çalışmada hidroliz prob çalışma prensibine dayanan UPL problemleri kullanılmıştır. Hidroliz problemleri DNA'ya komplementer olan ve floresan işaretlenmiş tek zincirli bir prob içerir. Floresan işaretli probun 5' ucunda “fluorophore” (6-karboksifloresin= 6-FAM) ve 3' ucunda “quencher” (6-karboksitetrametil-rodamin= TAMRA) olarak adlandırılan işaretli eklentiler bulunmaktadır. 3' uçtaki baskılayıcı TAMRA boyası, 5' uçtaki FAM boyasının sinyal oluşturmalarını engellemektedir. Prob hedef DNA'ya bağlanma durumunda floresan sinyal ölçümü düşüktür. Çoğaltılma sırasında ise hedef nükleik asit dizisi üzerinde primerlerin bağlanma bölgeleri arasında hidroliz problemleri bağlanırlar. Primerlerin bağlanmasının ardından yeni zincir oluşmaya başlar. Probun bağlı olduğu bölgeye gelindiğinde Taq DNA polimeraz enzimi 5'→3 nükleaz aktivitesi ile FAM'ı probdan ayırır. Serbest hale geçen FAM sinyal oluşturur. DNA zincir sentezi uzamaya devam eder. Her bir döngüde ürün çoğalımı oldukça floresan salınımı da bu artışa bağlı olarak devam eder. (şekil 3-2)



Şekil 3-2: Hidroliz probunun çalışma prensibi

Bu çalışmada, Light Cycler 480 cihazı kullanılarak (Roche Applied Sciences, Mannheim, Germany) Behçet Hastalığı-genom analiz çalışmasında belirlenen IL23R-IL12RB2'nin intergenik bölgesinde yer alan varyantı (rs924080) heterozigot ve homozigot taşıyan ve bu varyanta sahip olmayan sağlıklı kişilerde (n=14) *IL23R* ve *IL12RB2* genlerinin anlatım seviyeleri tespit edildi. *IL12RB2* genine özgü primer ve probler “Roche Applied Sciences” firmasının hizmeti olan insan uluslar arası prob kütüphanesinden (UPL) yararlanılarak tasarlandı. (şekil 3-3) Bütün genler olası bir genomik DNA kontaminasyonunu engellemek adına ekzon-ekzon bağlantı bölgeleri esas alınarak dizayn edildi.

Use probe #82 (cat. no. 04689054001)

Primer	Length	Position	Tm	%GC	Sequence
Left	20	2638 - 2657	59	45	tccagatccagcaaataagca
Right	18	2693 - 2710	59	61	gtccaagggcagctgtgt
Amplicon (73 nt)					
tccagatccagcaaataagcacttgcgctaagaaatatccattgcagaggagaagacacagctgccttggac					

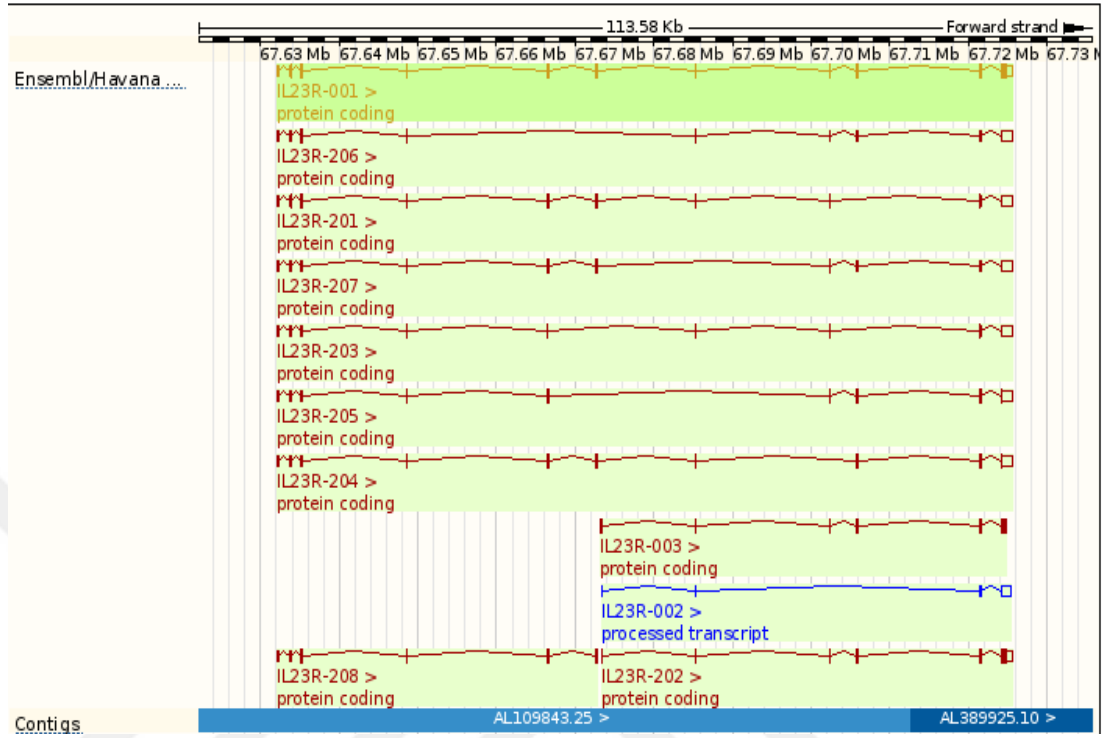
Şekil 3-3: *IL12RB2* genine uygun primer ve prob çifti (Uluslararası prob kütüphanesi)

Uluslar arası prob kütüphanesinin sunduğu forward primerin %GC içeriğinin reverse primere göre fazla olduğu gözlemlendi ve forward primer sabit tutularak, reverse primer Primer3 programı ile tekrar dizayn edildi (tablo 3-2).

Tablo 3-2: *IL12RB2* genine uygun tekrar dizayn edilen reverse primer

<i>IL12RB2</i>	Primer dizisi	Tm	Uzunluk	% GC	Ürün Boyu
Forward (ileri)	TCCAGATCCAGCAAATAGCA	59.38	20 bp	45.00	98 bp
Reverse (geri)	TATCAGGAGCCTGTCCAAGG	60.21	20 bp	55.00	

IL23R için primerler ise, bu genin tüm transkript varyantlarında ortak bölge olan 7. Ekzon ile 10. Ekzon arasından Primer3 programı kullanılarak tasarlandı (şekil 3-4).



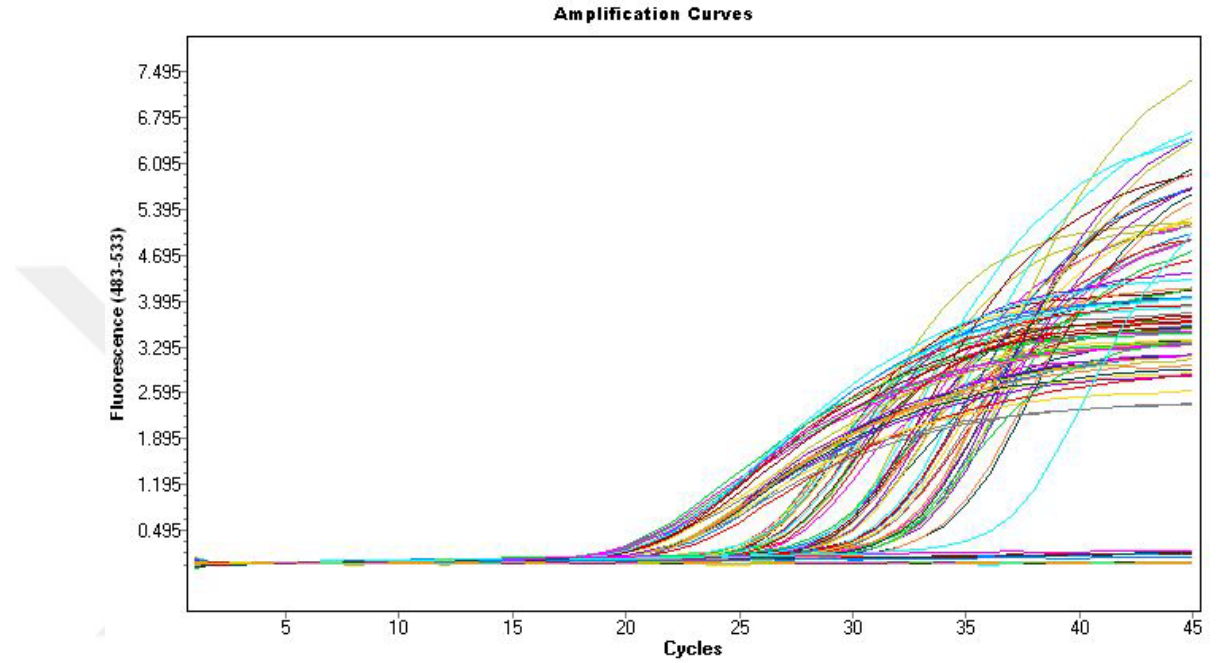
Şekil 3-4: *IL23R* geni transkriptleri (ensembl.org)

Tablo 3-3: *IL23R* genine uygun primerler

<i>IL23R</i>	<i>Primer Dizisi</i>	<i>T_m</i>	<i>Uzunluk</i>	<i>% GC</i>	<i>Ürün Boyu</i>
Forward (ileri)	ACAGTTCCCCAGGTCACATC	59.82	20 bp	55.00	198 bp
Reverse (geri)	CCCAGTTCGGAATGATCTGT	59.93	20 bp	50.00	

Tasarlanan primer çiftlerinin genler üzerindeki yerleşimleri şekil 3-5.'te gösterilmiştir.

eklendi. Karışımlara 1,8 µl H₂O eklenerek kuyuların son hacmi 10 µl'ye tamamlandı. Toplamda 45 döngü sonrasında RT-PZR işlemi sonuçlandı (Şekil 3-7). Gen anlatımlarını değerlendirirken her gen için ışımanın başladığı Ct değerine ve duplike örneklerin kendi aralarındaki standart sapmalarına bakıldı ve sonrasında bu verilere bağlı olarak delta delta Ct metodu uygulandı.



Şekil 3-7: IL12RB2 ve IL23R için PZR amplifikasyon eğrilerini gösteren Light Cycler 480 yazılımı görüntüsü.

3.2.5.1. Referans genlerin belirlenmesi

Referans genler her dokuda eşit miktarda ekspresyonunun olduğu bilinen hücresel yaşam fonksiyonlarından sorumlu genler arasından seçilir. .

Literatür taramaları sonucunda normalizasyon için *GAPDH* (*glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*) referans gen olarak belirlendi (124).

Referans genimizin primerleri ve probu (Universal ProbeLibrary, Roche Applied Sciences, Mannheim, Germany) hazır kit (UPL, Human GAPD Gene Assay) şeklinde temin edildi.

ELISA ile Supernatantların Sitokin Seviyeleri Tespiti

Kültüre alınmış periferik kan MN hücrelerin serum ve supernatantlarında IL-12R ve IL-23R sinyalizasyonu ile üretilen IFN- γ , TNF- α , IL-6 ve IL-17 sitokinlerinin seviyelerine ELISA (Diacclone, Canton, MA, USA) ile bakıldı.

İstatistiksel Analiz

Hastaların ve kontrollerin rölatif mRNA düzeylerinin karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi ve Kruskal-Wallis testleri kullanılmıştır. Mann-Whitney U testi niceliksel ölçekli gözlemleri verilen iki örneğin aynı dağılımdan gelip gelmediğini incelemek için kullanılan bir istatistik testidir. Bu çalışmada kullandığımız Mann-Whitney U testi, t-testi'nin parametrik olmayan alternatifi olarak düşünülebilir. Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi testi ise; grup içi dağılımlarının normale uymaması veya gruplardaki örnek sayılarının eşit olmaması durumunda ortanca karşılaştırılması için yapılan bir diğer parametrik olmayan testtir. Birbirinden bağımsız iki yada daha fazla grubun bağımlı bir değişkene ilişkin ölçümlerinin karşılaştırılarak iki dağılım arasında anlamlı bir fark olup olmadığını test etmek amacı ile kullanılır.

Analizler GraphPad Prism 5.0 yazılımı kullanılarak yapılmış ve testlerde $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Olguların Genel Özellikleri

Çalışmaya 11 kadın 3 erkek olmak üzere Rs924080 SNP'si açısından genotipleri bilinen toplam 14 sağlıklı gönüllü katılmıştır. Rs924080 SNP'si için heterozigot taşıyıcı: AG (n=6; 2E, 4K) , homozigot taşıyıcı : AA (n=4; 1E, 3K) ve homozigot wild-type: GG (n=4; 4K) olgularının periferik kanlarından izole edilen mononükleer hücrelerinde gerçek zamanlı PZR yöntemi kullanılarak IL12RB2 ve IL23R mRNA anlatımları araştırılmıştır. Kadın (n=11) Yaş ortalamaları 38,55 iken; erkeklerin (n=3) yaş ortalaması 40,67 olarak hesaplanmıştır. Cinsiyet dağılımları, yaş ve haplotipleri Tablo 4.1.' de gösterilmiştir.

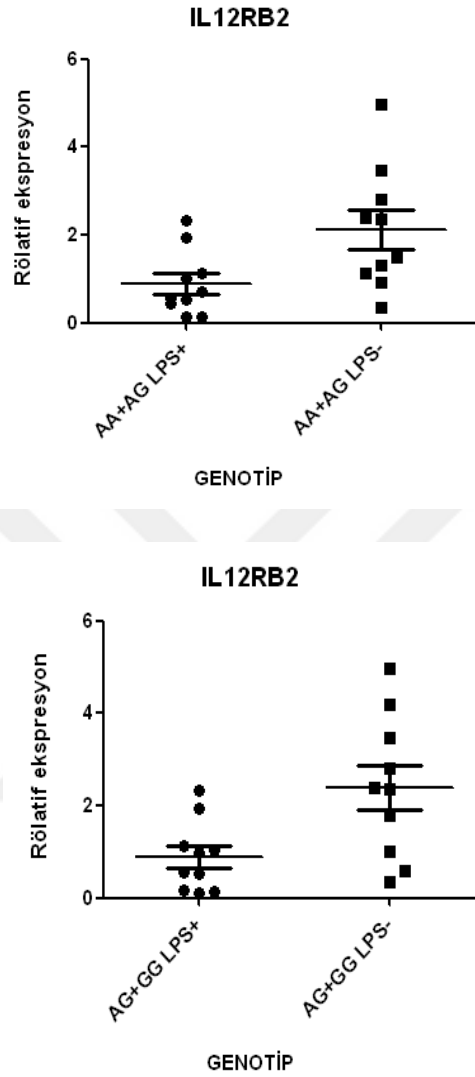
Tablo 4-1: Olguların cinsiyet, haplotip ve yaş dağılımları

Cinsiyet	Haplotip	Yaş	Cinsiyet	Haplotip	Yaş	Cinsiyet	Haplotip	Yaş
K	AA	47	K	AB	28	K	AB	40
K	AA	38	K	BB	54	E	AA	58
K	AA	28	K	BB	32	E	AB	28
K	AB	36	K	BB	26	E	AB	36
K	AB	23	K	BB	28			

4.2. IL12RB2 anlatımının alleller açısından incelenmesi

Rs924080 için AA, AG ve GG genotiplerine sahip kişilerde, IL12RB2 mRNA anlatımları allellerin gen ekspresyonuna etkisi açısından incelendiğinde; 250ng/ul LPS/kuyu ile uyarı sonrası 24 saat hücre kültüründe bekletilen (LPS+) gruplardan A/G allelini homozigot ya da heterozigot taşıyan ve uyarı verilmeden 24 saat hücre kültüründe bekletilen (LPS-) gruplardan A/G allelini homozigot ya da heterozigot taşıyan grup ile karşılaştırıldığında; LPS uyarısı ile, A ve G allellerinin etkisinin incelendiği AA+AG ve AG+GG genotiplerindeki her iki grupta da IL12RB2 anlatım

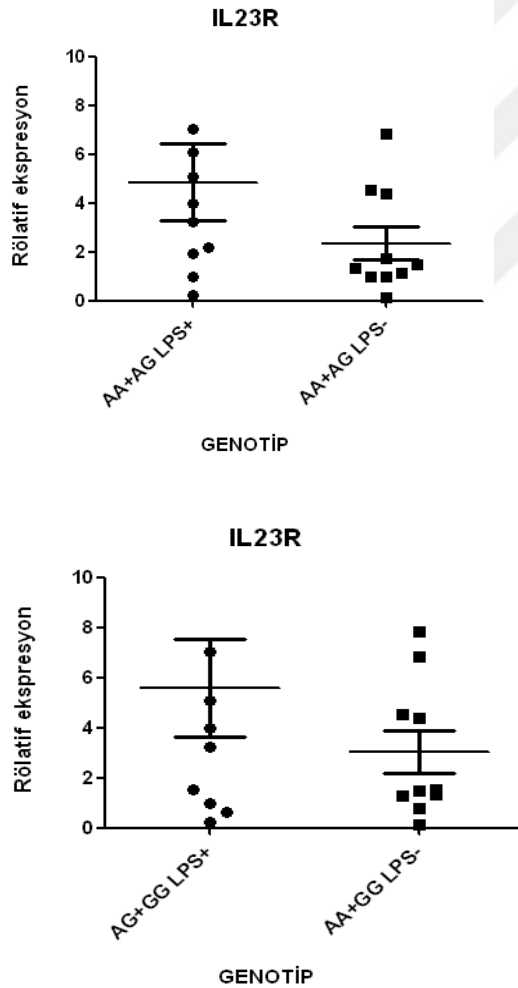
seviyelerinde anlamlı bir azalmanın olduğu bulunmuştur (Mann-Whitney U test) (Şekil 4-1) ($p=0,0093$ ve $p=0,0073$).



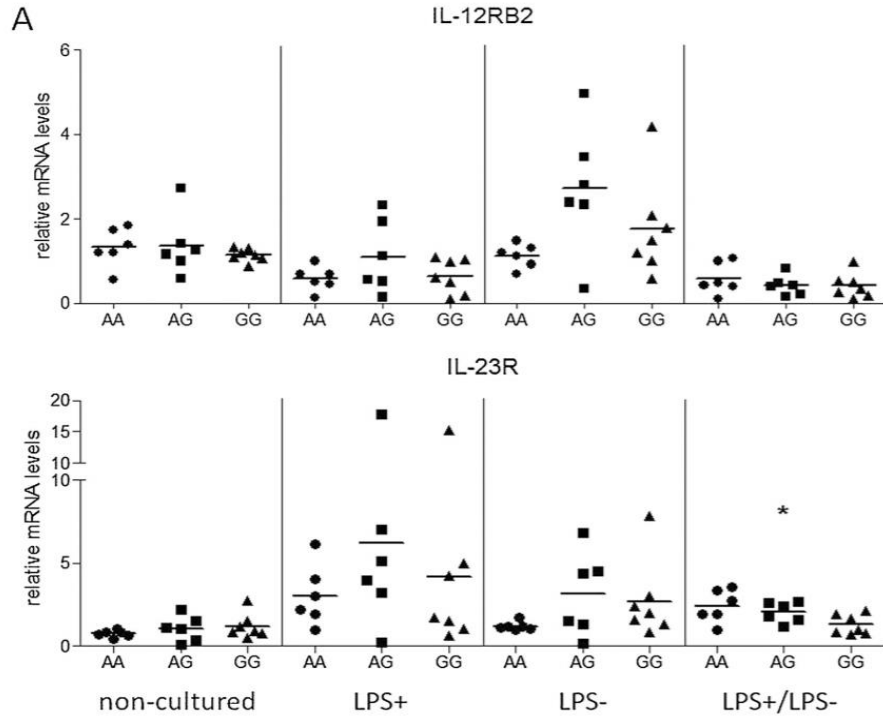
Şekil 4-1: LPS uyarısına göre, AA+AG ve AG+GG genotipindeki örneklerin alleller açısından IL12RB2 gen ekspresyonları ($p=0,0093$ ve $p=0,0073$)

4.3. IL23R anlatımının alleller açısından incelenmesi

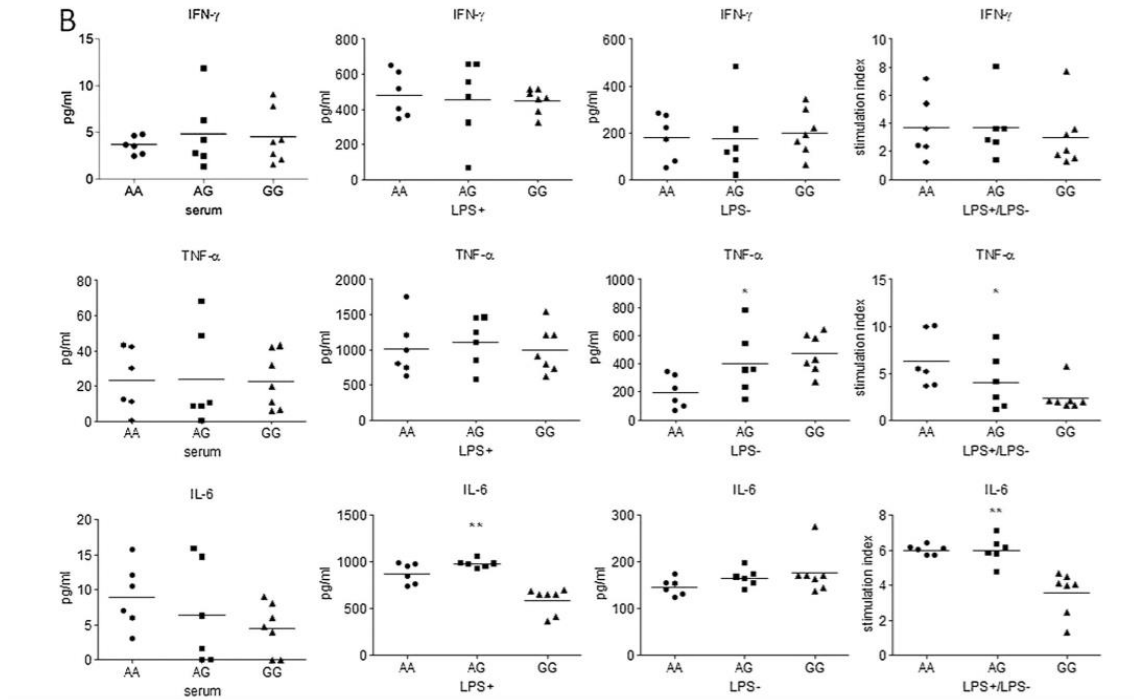
Rs924080 için AA, AG ve GG genotiplerine sahip kişilerde, IL23R mRNA anlatımları allellerin gen ekspresyonuna etkisi açısından incelendiğinde; 250ng/ul LPS/kuyu ile uyarı sonrası 24 saat hücre kültüründe bekletilen (LPS+) gruplardan A/G allelini homozigot ya da heterozigot taşıyan ve uyarı verilmeden 24 saat hücre kültüründe bekletilen (LPS-) gruplardan A/G allelini homozigot ya da heterozigot taşıyan grup ile karşılaştırıldığında; LPS uyarısı ile, A ve G allellerinin etkisinin incelendiği AA+AG ve AG+GG genotiplerindeki her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen, IL23R anlatım seviyelerinde artış tespit edilmiştir (Mann-Whitney U test) (Şekil 4-3) ($p=0,0952$; $p=0,2894$).



Şekil 4-2: LPS uyarısına göre, AA+AG ve AG+GG genotipindeki örneklerin alleller açısından IL23R gen ekspresyonları ($p=0,0952$; $p=0,2894$)



Şekil 4-3. rs924080 AA, AG and GG genotiplerine sahip sağlıklı bireylerden alınmış MN hücrelerin göreceli IL-12RB2 ve IL-23R subunit ekspresyon seviyeleri



Şekil 4-4: rs924080 AA, AG and GG genotiplerine sahip sağlıklı bireylerden alınmış MN hücrelerin serum ve supernatant sitokin seviyeleri

Risk A alleli, LPS ile uyarı sonucunda IL-12RB2, IL-23R, IFN- γ and TNF- α 'nın bazal ekspresyonunu etkilemiyor fakat IL-23R and TNF- α 'nın ekspresyon kapasitesini arttırarak yanıtı neden oluyor.

Bunun tersine A alleli ise baseline IL-6 üretimini arttırıyor. Bu eğilim risk allelini taşıyan bireylerde görülen IL23R ekspresyon kapasitesi artışından mı kaynaklanıyor ya da farklı bir yol üzerinden mi daha ayrıntılı araştırılması gerekiyor.

IL-12RB2 ekspresyon sonuçları ile uyumlu olarak; IL-12R sinyalizasyonu tarafından üretilen IFN- γ 'nın serum ve süpernatantlardaki seviyesi gruplar arasında kıyaslanabilecek seviyede idi. IL-23R ekspresyon sonuçları ile uyumlu olarak ta, IL-23R sinyalizasyonu tarafından kısmen üretilen TNF- α seviyeleri ise; AA genotipilerine ait hiç uyarılmamış periferik kan MN hücrelerde göreceli olarak düşük ama aynı kişilerin LPS ile uyarılmış MN hücrelerinde oldukça yüksek olarak bulundu. Sonuç olarak AA genotipine sahip kişilerde “ortalama stimulasyon indeksi” diğer iki gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.046$).

IL-23R sinyalizasyonu tarafından kısmen üretilen bir diğer sitokin olan IL-6 seviyeleri ise AA ve AG genotipine sahip kişilerin LPS ile uyarılmış MN hücrelerinde serum (anlamlı değil) ve süpernatantlarında ($p=0.015$) yüksek olarak bulundu. AA ve AG genotipine sahip kişilerde IL-6 için ortalama stimulasyon indeksi, GG grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.018$).

Serum IL-17A seviyeleri ise tüm gruplar arasında karşılaştırıldı fakat periferik kan MN hücrelerin süpernatantlarında detekte edilecek düzeyde tespit edilememiştir (Data gösterilmemiştir).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada ilk kez BH ile ilişkili varyant olarak tespit edilen IL23R-IL12RB2 lokusundaki rs924080 SNP'sinin, IL23R ve IL12RB2 genlerine etkisi incelenmiştir. IL-12RB2 ve IL-23R anlatım seviyeleri ve IL-12RB2 stimülasyon endeksleri kültür ortamına alınmamış PBMC, kültüre edilmiş ve LPS ile uyarılmış PBMC ya da kültür ortamına alınmış ama uyarılmamış PBMC grupları arasında farklılık göstermiştir.

IL23/IL17 yolağının terleme, ateş, ağrı ve artmış immün cevaplarla gelişen lokal doku inflamasyonu ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bundan dolayı IL23'ün patojenlere karşı erken immün cevapta ya da direk olarak IL17 üretimini indükleyip erken nötrofil toplanması nedenli hasarlarda rol oynayabileceği düşünülmüştür. Bu yanıtlarda önemli olmasından dolayı, hastalık risk allelini taşıyan kişilerin (A), istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiş olmasına rağmen, IL23R'nü göreceli olarak daha fazla eksprese ettikleri gösterilmiştir. Buna karşın, AA ve AG gruplarının IL-23R stimülasyon endeksleri GG grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.042$).

IL-23, TNF- α ve IL-6 hem Th17 farklılaşması hem de BH patogenezinde etkindir.

Ayrıca Anti-TNF- α terapilerinin Th17 farklılaşmasını baskılayarak BH'ndaki inflamasyonu azalttığı bilinmektedir. LPS stimülasyon sonuçlarına dayanarak, rs924080 A alleleline sahip bireylerin bakteriyel patojenlere aşırı ve abartı inflamatuvar yanıtlar veriyor olmaları da BH gelişimine destek oluyor diyebiliriz. Sonuçlarımız rs924080 lokusunun Th 17 ve IL-6 cevaplarında modulator bir yeri olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda anlamlı artış gösteren IL-6 ve TNF a doğal bağışıklık hücreleri tarafından üretilirken, anlamlı değişiklik göstermeyen IFN γ ise ağırlıklı olarak edinsel bağışıklığın üyesi olan Th1 tipi lenfositler tarafından üretilmektedir. BH'de duyarlılığı artmış doğal bağışıklık hücrelerinin ön planda hastalığın başlamasına sebep olduğu

bilindiğinden, risk aleline sahip BH olgularında bu sitokin profilinin saptanması patogeneze ile ilgili bilgilerimizle uyumludur.

Çalışmamızda risk aleline sahip BH olgularının daha düşük IL12RB2 ekspresyonu gösterme eğilimi olduğu saptanmıştır. Patojenlerin eliminasyonunda rol oynayan IL12-IL12R sisteminin düşük ekspresyonunun çeşitli dokularda mikroorganizma miktarının artmasına sebep olması ve böylece doğal bağışıklık hücrelerinin daha fazla uyarılması sonucunda BH bulgularının gelişiyor olması olasıdır.

Daha geniş olgu örneklerinde bu konuda ileri araştırmaların yapılması ve çalışılan örneklerin sitokin seviyelerinin tespit edilmesi, hastalık patogenezindeki bu genlerin rollerinin anlaşılmasını ve BH tedavisi için yeni tedavilerin geliştirilmesini sağlayabilir.

KAYNAKLAR

1. Sakane T, Takeno M, Suzuki N et al.: Behçet's disease. *N Engl J Med* 1999; 341:1284-91.
2. Evereklioglu C. Managing the symptoms of Behcet's disease. *Expert Opin Pharmacother* 2004; 5:317–28.
3. Marshall SE. Behcet's disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004; 18:291–311.
4. Yazıcı H, Yurdakul S, Hamuryudan V, Behçet's Syndrome, *Curr Opin Rheum*,1999; 11:53-57.)
5. Zierhut. M. Mizuki, N.; Ohno, S.; Inoko, H.; Gül, A.; Onoé, K.; Isogai, E et al. Immunology and functional genomics of Behcet's Disease. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.*60 (2003) 1903-1922
6. Stojanov S, Kastner DL: Familial autoinflammatory diseases: genetics, pathogenesis and treatment. *Curr Opin Rheumatol* 2005; 17: 586-99.
7. Gül, A. (2003) in *Immunology of Behçet's disease*, (Zierhut, M., Ohno, S., Eds.), Swets & Zeitlinger, Lisse, pp. 73-79.
8. Pay S, Simsek I, Erdem H, Dinc A. Immunopathogenesis of Behcet's disease with special emphasize on the possible role of antigen presenting cells. *Rheumatol Int* 2007;27:417–24.
9. Esin S, Gül A, Hodara V, Jeddi-Tehrani M, Dilsen N, Koniçe M, Andersson R, Wigzell H, Peripheral blood T cell expansions in patients with Behçet's disease. *Clin. Exp. Immunol.*, 1997 107(3), 520-527.
10. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Hentati F, Kahan A, Ayed K, Chabbou A et al, Phenotype and functional profile of T cells expressing g d receptor from patients with active Behçet's disease. *J Rheumatol*, 1994; 21: 2301–2306.
11. Suzuki Y, Hoshi K, Matsuda T, Mizushima Y, Increased peripheral blood g d T cells and natural killer cells in Behçet's disease. *J Rheumatol*, 1992; 19: 588–592
12. Mizuki N. et al. Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. *Nat. Genet.*, 2010; 42: 703-707
13. Remmers E.F. et al. Genome-wide association study identifies variants in the MHC Class 1, IL 10 and IL 23R-IL12RB2 regions associated with Behcet's disease. *Nat. Genet.*, 2010; 42: 698-702

14. Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006;441:231-4.
15. Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006;24:179-89.
16. Chang, J.T., Shevach, E.M. & Segal, B.M. 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 (1999).
17. Akdis M et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : Receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Mar;127(3):701-721.
18. Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans JC, Xu Y, Hunte B, et al. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity* 2000;13:715-25.
19. Özışık H. I., Altınayar S., Özcan A. C. Behçet Hastalığında Nörolojik Tutulum. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 12(4) 239-242.
20. Ehrlich GE. Vasculitis in Behçet's disease. *Int Rev Immunol* 1997;14:81–8.
21. Köse, O. (2009). Behçet Hastalığında Tanı ve Ayırıcı Tanı, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Dermatoloji Anabilim Dalı, *Türkderm*, 2: 87-91.)
22. Tunc R, Uluhan A, Meliko.lu M, Ozyazgan Y, Ozdo.an H, Yazıcı H. A reassessment of the International study group criteria for the diagnosis (classification) of Behcet's syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2001;19:45-7.
23. Yazici, H., Fresko, I., Yurdakul, S. (2007). Behcet's syndrome: diseases manifestations, management, and advances in treatment. *Nature Rheumatol*, 3:148-54).
24. Yurdakul, S., Yazici, H. (2008). Behcet's Syndrome. *Best Prac Res Cli Rheumatol*, 22:793-809.
25. Verity Dh, Marr Je, Ohno S, Wallace Gr, Stanford Mr: Behçet's disease, the Silk Road and HLA-B51: historical and geographical perspectives. *Tissue Antigens* 1999; 54: 213-20)
26. Guo, S.W., Inflation of sibling recurrence-risk ratio, due to ascertainment bias and/or overreporting. *Am J Hum Genet*, 1998. 63(1): p. 252-8. 29)
27. Gül A, Inanc, M, Ocal L et al.: Familial aggregation of Behçet's disease in Turkey. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 622-5.)

28. Koné-Paut I, Geisler I, Wechsler B, Ozen S, Ozdogan H, Rozenbaum M, et al. Familial aggregation in Behçet's disease: high frequency in siblings and parents of pediatric probands. *J Pediatr* 1999;135:89–93.).
29. MacGregor, A.J., et al., Disease recurrence risk and the risk of lymphoproliferative disorders in the relatives of patients with Behçet's syndrome: results of a nationwide survey. *Br J Rheumatol*, 1997. **36**(suppl 1): p. 34.
30. Molinari N, Paut IK, Manna R, Demaille J, Daures JP, Touitou I, Identification of an autosomal recessive mode of inheritance in paediatric Behcet's families by segregation analysis., *Am. J. Med. Genet.*, 2003; 122A : 115-118)
31. Fresko I, Soy M, Hamuryudan V, Yurdakul S, Yavuz S, Tumer Z, et al. Genetic anticipation in Behçet's syndrome *Ann Rheum Dis* 1998;57:45–8).
32. Gül A., Hajeer AH., Worthington J., Barrett JH., Ollier WE., Silman AJ. (2001): Evidence for linkage of the HLA-B locus in Behçet's disease, obtained using the transmission disequilibrium test. *Arthritis Rheum Jan*, 44(1), 239-40)
33. Mizuki, N., H. Inoko, and S. Ohno, Pathogenic gene responsible for the predisposition of Behcet's disease. *Int Rev Immunol*, 1997. 14(1): p. 33-48
34. Sakane, T., New perspective on Behcet's disease. *Int Rev Immunol*, 1997. 14(1): p. 89-96.
35. Mizuki N, Ota M, Kimura M et al (1997) Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene: a strong association of six GCT repetitions with Behçet's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:1298–1303
36. Mizuki N, Ota M, Katsuyama Y et al. Association analysis between the MICA and HLA-B alleles in Japanese patients with Behcet's disease. *Arthritis Rheum* 1999;42:1961-6.)
37. Yasuoka H, Okazaki Y, Kawakami Y et al (2004) Autoreactive CD8+ cytotoxic T lymphocytes to major histocompatibility complex class I chain-related gene A in patients with Behçet's disease. *Arthritis Rheum* 50:3658–3662
38. Takemoto Y, Naruse T, Namba K et al.:Re-evaluation of heterogeneity in HLAB* 510101 associated with Behçet's disease. *Tissue Antigens* 2008 Aug 12.
39. Mizuki N, Meguro A, Tohnaı I, Gül A, Ohno S: Association of Major Histocompatibility Complex Class I Chain Related Gene A and HLA-B Alleles with Behçet's Disease in Turkey. *Jpn J Ophthalmol* 2007; 51: 431-6.

40. Ricano-Ponce I, Wijmenga C. Mapping of immune-mediated disease genes. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2013; 14:325–353.
41. Hughes T, Coit P, Adler A, et al. Identification of multiple independent susceptibility loci in the HLA region in Behcet's disease. *Nat Genet* 2013; 45:319–324.)
42. Kirino Y, Bertsias G, Ishigatsubo Y, et al. Genome-wide association analysis identifies new susceptibility loci for Behcet's disease and epistasis between HLA-B 51 and ERAP1. *Nat Genet* 2013; 45:202–207.
43. J. Karasneh, A.H. Hajeer, J. Barrett, W.E. Oliver, M. Thornhill, A. Gül. Association of specific interleukin 1 gene cluster polymorphisms with increased susceptibility for Behçet's disease. *Rheumatology*, 42 (2003), pp. 860–864
44. L. Boiardi, C. Salvarani, B. Casali, I. Olivieri, G. Ciancio, F. Cantini et al. Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphisms in Behçet's disease *J Rheumatol*, 28 (2001), pp. 1283–1287
45. D.H. Verity, R.W. Vaughan, E. Kondeatis, W. Madanat, H. Zureikat, F. Fayyad et al. Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphism in Behçet's disease *Eur J Immunogenet*, 27 (2000), pp. 73–76
46. C. Salvarani, L. Boiardi, B. Casali, I. Olivieri, G. Ciancio, F. Cantini et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in Behçet's disease. *J Rheumatol*, 29 (2002), pp. 535–540)
47. Karasneh J., Gul A., Ollier WE. Whole-genome screening for susceptibility genes in multicase families with Behçet's Disease. *Arthritis & Rheumatism* 2005; Vol. 52, No. 6, pp 1836–1842).
48. Gül A. Behçet's disease: An update on the pathogenesis. *Clin Exp Rheumatol* 2001; 19 (Suppl. 24), S6- S12,41
49. Kurhan-Yavuz S, Direskeneli H, Bozkurt N, Ozyazgan Y, Bavbek T, Kazokoglu H. Anti-MHC autoimmunity in Behçet's disease: T cell responses to an HLA-B derived peptide cross-reactive with retinal-S antigen in patients with uveitis. *Clin Exp Immunol* 2000;120:162–6.).
50. Lee S, Bang D, Lee E, Sohn S. Behcet's Disease A guide to its clinical understanding. Berlin: Springer-Verlag; 2001. p.15-8.
51. Oram O, Oram Y, Yücel E. Behçet's Disease: Etiology and pathogenesis. *Journal of Turgut Özal Medical Center* 1995;2:72-6.)

52. Lee S, Bang D, Cho YH, Lee ES, Sohn S. Polymerase chain reaction reveals herpes simplex virus DNA in saliva of patients with Behçet's disease. *Arch Dermatol Res.* 1996;288:179–183.
53. N. Ilter, E. Senol, M. A. Gürer, and M. O. Oztas,, “Behcet’s disease and HCV infection,” *International Journal of Dermatology*, vol. 39, no. 5, pp. 396–397, 2000.
54. S. Kiraz, M. A. Oztürk, I. Ertenli, and M. Calgüneri, “Parvovirus B19 infection in Behçet’s disease,” *Annals of the Rheumatic Diseases*, vol. 60, no. 8, pp. 814–815, 2001
55. A. Sun, J. G. Chang, C. L. Kao et al., “Human cytomegalovirus as a potential etiologic agent in recurrent aphthous ulcers and Behçet’s disease,” *Journal of Oral Pathology and Medicine*, vol.25, no. 5, pp. 212–218, 1996.
56. A. Sun, J. G. Chang, C. T. Chu, B. Y. Liu, J. H. Yuan, and C. P. Chiang. Preliminary evidence for an association of Epstein- Barr virus with pre-ulcerative oral lesions in patients with recurrent aphthous ulcers or Behcet’s disease. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, vol. 27, no. 4, pp. 168–175, 1998.
57. S. Akdeniz, M. Harman, S. Atmaca, and N. Akpolat. The seroprevalence of varicella zoster antibodies in Behçet’s and other skin diseases. *European Journal of Epidemiology*, vol. 18, no. 1, pp. 91–93, 2003
58. T. Lehner, E. Lavery, R. Smith, R. van der Zee, Y. Mizushima, and T. Shinnick. Association between the 65-kilodalton heat shock protein, *Streptococcus sanguis*, and the corresponding antibodies in Behçet’s syndrome. *Infection and Immunity*, vol.59, no. 4, pp. 1434–1441, 1991.
59. I. Krause, Y. Monselise, G. Milo, and A. Weinberger. Anti-saccharomyces cerevisiae antibodies—a novel serologic marker for Behçet’s disease. *Clinical and Experimental Rheumatology*, vol. 20, no. 4, pp. S21–S24, 2002.
60. E. Isogai, H. Isogai, S. Kotake et al. Detection of antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with uveitis. *American Journal of Ophthalmology*, vol. 112, no. 1, pp. 23–30, 1991.
61. O. Avci, E. Ellidokuz, I. Simsık, B. Büyükgöbüz, and A. T. Günes. *Helicobacter pylori* and Behçet’s disease. *Dermatology*, vol. 199, no. 2, pp. 140–143, 1999.

62. Z. Amoura, M. Guillaume, S. Caillat-Zucman, B. Wechsler, and J. C. Piette. Pathophysiology of Behçet's disease. *La Revue de Médecine Interne*, vol. 27, no. 11, pp. 843–853, 2006.
63. Isogai E, Isogai H, Yoshikawa K, Et Al.: Microbial Ecology Of Oral Flora In Behçet's Disease. In: O'duffy Jd, Kokmen E (Eds.): *Behçet's Disease: Basic and Clinical Aspects*, New York, Marcel Dekker, Inc., 1991: 405-14.
64. Na R I K Awa S, Suzuki Y, Takahashi M, F U Ru K Awa A , Sakane T, Mizushima Y: *Streptococcus oralis* previously identified as uncommon *Streptococcus sanguis* in Behçet's disease. *Arch Oral Biol* 1995; 40: 685-90.
65. Kaneko F, Oyama N, Yanagihori H, Isogai E, Yokota K, Oguma K. The role of streptococcal hypersensitivity in the pathogenesis of Behçet's Disease. *Eur J Dermatol*. 2008;18:489–498
66. Direskeneli H, Eksioglu-Demiralp E, Yavuz S, et al. T cell responses to 60/65 kDa heat shock protein derived peptides in Turkish patients with Behcet's disease. *J Rheumatol* 2000;27:708-13)
67. Direskeneli H, Hasan A, Shinnick T, Mizushima Y, van der Zee R, Fortune F, Recognition of B cell epitopes of the 65 kDa HSP in Behçet's disease. *Scand J Immunol*. 1996;43:464–471.
68. Inaloz HS, Evereklioglu C, Unal B, Kirtak N, Eralp A, Inaloz SS. The significance of immunohistochemistry in the skin pathergy reaction of patients with Behçet's syndrome. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004;18:56- 61.
69. Dalghous AM, Freysdottir J, Fortune F. Expression of cytokines, chemokines, and chemokine receptors in oral ulcers of patients with Behcet's disease (BD) and recurrent aphthous stomatitis is Th1-associated, although Th2 association is also observed in patients with BD. *Scand J Rheumatol*. 2006;35: 472-5.
70. Van Hagen P.M., Hooijkaas H., Vd Beemd M.W., Verjans G., Baarsma G.S. (2003): Tgammadelta receptor restriction in peripheral lymphocytes of patients with Behçet's disease. *Adv Exp Med Biol* 528, 267-8.
71. Niwa Y., Mizushima Y. (1990): Neutrophil-potentiating factors released from stimulated lymphocytes; special reference to the increase in neutrophil-potentiating factors from streptococcus-stimulated lymphocytes of patients with Behçet's disease. *Clin Exp Immunol Mar*, 79(3), 353-60).

72. Witowski J, Pawlaczyk K, Breborowicz A et al (2000) IL-17 stimulates intraperitoneal neutrophil infiltration through the release of GRO alpha chemokine from mesothelial cells. *J Immunol* 15(165):5814–5821.
73. Leung BP, Culshaw S, Gracie JA et al (2001) A role for IL- 18 in neutrophil activation. *J Immunol* 167:2879–86)
74. Cassatella MA (1999) Neutrophil-derived proteins: selling cytokines by the pound. *Adv Immunol* 73:369–509.
75. Yamashiro S, Kamohara H, Wang JM et al (2001) Phenotypic and functional change of cytokine-activated neutrophils: inflammatory neutrophils are heterogeneous and enhance adaptive immune responses. *J Leukoc Biol* 69:698–704.
76. Eksioglu-Demiralp E., Kibaroglu A., Direskeneli H., Yavuz S., Karalı F., Yurdakul S., Yazici H., Akoglu T. (1999): Phenotypic characteristic of B cells in Behçet's disease: increased activity in B cell subsets. *J Rheumatol* Apr, 26(4), 826-32).
77. Boyvat A. Behçet hastalığının etyopatogenezi. *T Klin Tıp Bilimleri* 2004;14:15-21
78. Abdallah MA, Ragab N, Khalil R, Kamel N. Circulating immune complexes in various forms of Behcet's disease. *Int J Dermatol* 1995;34:841-5.
79. Abul K. Abbas, A.H.L., Temel immünoloji, immün sistemin islev ve bozuklukları. Dogal Bağışıklık, ed. G.D. Yıldız Camcıoglu. 2007, İstanbul.
80. Frassanito MA, Dammacco R, Cafforia P, Dammacco F. Th1 polarization of the immune response in Behcet's disease: a putative pathogenic role of interleukin-12. *Arthritis Rheum* 1999;42:1967-74.
81. Sahin S, Lawrence R, Direskeneli H, Hamuryudan V, Yazıcı H, Akoglu T. Monocyte activity in Behcet's disease. *Br J Dermatol* 1996;35:424
82. Cem Evereklioglu, Hamdi Er, Yusuf Tu rkoz, Mustafa Cekmen. Serum levels of TNF-a , sIL-2R, IL-6 and IL-8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behçet's disease. *Mediators of Inflammation*, 11, 87–93 (2002.)
83. Ribi C, Sztajzel R, Delavelle J, Chizzolini C. Efficacy of TNF{alpha} blockade in cyclophosphamide resistant neuro-Behcet disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:1733-5.

- 84.** Sfikakis P, Theodossiadis PG, Katsiari CG, Kaklamanis P, Markomichelakis NN. Effect of infliximab on sight-threatening panuveitis in Behcet's Disease. *Lancet* 2001;358:295-6.
- 85.** Sfikakis P, Markomichelakis N., Alpsoy E., Assaad-Khalil S., Bodaghi B. , Gul A. Anti-TNF therapy in the management of Behcet's diseases: review and basis for recommendations. *Rheumatology* 2007;46:736–741
- 86.** Kobayashi M, Fitz L, Ryan M, Hewick RM, Clark SC, Chan S, et al. Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes. *J Exp Med* 1989;170: 827-45.
- 87.** Merberg DM, Wolf SF, Clark SC. Sequence similarity between NKSF and the IL-6/G-CSF family. *Immunol Today* 1992;13:77-8.
- 88.** Gubler U, Chua AO, Schoenhaut DS, Dwyer CM, McComas W, Motyka R, et al. Coexpression of two distinct genes is required to generate secreted bioactive cytotoxic lymphocyte maturation factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88: 4143-7.
- 89.** Presky DH, Yang H, Minetti LJ, Chua AO, Nabavi N, Wu CY, et al. A functional interleukin 12 receptor complex is composed of two beta-type cytokine receptor subunits. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:14002-7.
- 90.** Wu C, Wang X, Gadina M, O'Shea JJ, Presky DH, Magram J. IL-12 receptor beta 2 (IL-12R beta 2)-deficient mice are defective in IL-12-mediated signaling despite the presence of high affinity IL-12 binding sites. *J Immunol* 2000;165: 6221-8.
- 91.** Szabo SJ, Dighe AS, Gubler U, Murphy KM. Regulation of the interleukin (IL)-12R beta 2 subunit expression in developing T helper 1 (Th1) and Th2 cells. *J Exp Med* 1997;185:817-24.
- 92.** Bacon CM, McVicar DW, Ortaldo JR, Rees RC, O'Shea JJ, Johnston JA. Interleukin 12 (IL-12) induces tyrosine phosphorylation of JAK2 and TYK2: differential use of Janus family tyrosine kinases by IL-2 and IL-12. *J Exp Med* 1995;181:399-404.
- 93.** Zou J, Presky DH, Wu CY, Gubler U. Differential associations between the cytoplasmic regions of the interleukin-12 receptor subunits beta1 and beta2 and JAK kinases. *J Biol Chem* 1997;272:6073-7.

- 94.** Bacon CM, Petricoin EF 3rd, Ortaldo JR, Rees RC, Larner AC, Johnston JA, et al. Interleukin 12 induces tyrosine phosphorylation and activation of STAT4 in human lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:7307-11.
- 95.** Hsieh CS, Macatonia SE, Tripp CS, Wolf SF, O'Garra A, Murphy KM. Development of TH1 CD41 T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages. *Science* 1993;260:547-9.
- 96.** Lauwerys BR, Renauld JC, Houssiau FA. Synergistic proliferation and activation of natural killer cells by interleukin 12 and interleukin 18. *Cytokine* 1999;11:822-30.
- 97.** Yoshimoto T, Okamura H, Tagawa YI, Iwakura Y, Nakanishi K. Interleukin 18 together with interleukin 12 inhibits IgE production by induction of interferongamma production from activated B cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94: 3948-53.
- 98.** Lawless VA, Zhang S, Ozes ON, Bruns HA, Oldham I, Hoey T, et al. Stat4 regulates multiple components of IFN-gamma-inducing signaling pathways. *J Immunol* 2000;165:6803-8.
- 99.** Fukao T, Frucht DM, Yap G, Gadina M, O'Shea JJ, Koyasu S. Inducible expression of Stat4 in dendritic cells and macrophages and its critical role in innate and adaptive immune responses. *J Immunol* 2001;166:4446-55.
- 100.** Grohmann U, Belladonna ML, Bianchi R, Orabona C, Ayroldi E, Fioretti MC, et al. IL-12 acts directly on DC to promote nuclear localization of NF-kappaB and primes DC for IL-12 production. *Immunity* 1998;9:315-23.
- 101.** Altare F, Durandy A, Lammas D, Emile JF, Lamhamedi S, Le Deist F, et al. Impairment of mycobacterial immunity in human interleukin-12 receptor deficiency. *Science* 1998;280:1432-5.
- 102.** Matsui E, Kaneko H, Teramoto T, Fukao T, Inoue R, Kasahara K, et al. Reduced IFNgamma production in response to IL-12 stimulation and/or reduced IL-12 production in atopic patients. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1250-6.
- 103.** Kondo N, Matsui E, Kaneko H, Fukao T, Teramoto T, Inoue R, et al. Atopy and mutations of IL-12 receptor beta 2 chain gene. *Clin Exp Allergy* 2001;31: 1189-93.
- 104.** Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans JC, Xu Y, Hunte B, et al. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity* 2000;13:715-25.

- 105.** Parham C, Chirica M, Timans J, Vaisberg E, Travis M, Cheung J, et al. A receptor for the heterodimeric cytokine IL-23 is composed of IL-12Rbeta1 and a novel cytokine receptor subunit, IL-23R. *J Immunol* 2002;168:5699-708.
- 106.** Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, de Sauvage FJ, Gurney AL. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. *J Biol Chem* 2003;278:1910-4.
- 107.** Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006;441:231-4.
- 108.** Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006;24:179-89.
- 109.** Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441:235-8.
- 110.** Beadling C, Slifka MK. Regulation of innate and adaptive immune responses by the related cytokines IL-12, IL-23, and IL-27. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2006;54:15-24.
- 111.** Duerr, R.H. et al. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 314, 1461–1463 (2006)
- 112.** Cargill, M. et al. A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes. *Am. J. Hum. Genet.* 80, 273–290 (2007).
- 113.** Sandeep K. Agarwal et al. Association of Interleukin 23 Receptor Polymorphisms with Anti-Topoisomerase-I Positivity and Pulmonary Hypertension in Systemic Sclerosis- *J Rheumatol.* 2009 December ; 36(12): 2715–272).
- 114.** Liu, Y. et al. A genome-wide association study of psoriasis and psoriatic arthritis identifies new disease loci. *PLoS Genet.* 4, (2008).
- 115.** Hirschfield, G.M. et al. Primary biliary cirrhosis associated with HLA, IL12A, and IL12RB2 variants. *N. Engl. J. Med.* 360, 2544–2555 (2009).
- 116.** Rueda, B. et al. The IL23R Arg381Gln non-synonymous polymorphism confers susceptibility to ankylosing spondylitis. *Ann. Rheum. Dis.* 67, 1451–1454 (2008)

117. Isomura, M. et al. IL12RB2 and ABCA1 genes are associated with susceptibility to radiation dermatitis. *Clin. Cancer Res.* 14, 6683–6689 (2008)
118. Lacher M et al. Association of the interleukin-23 receptor gene variant rs11209026 with Crohn's disease in German children. *Acta Pædiatrica* 14 December 2009, ISSN 0803–5253
119. Zhengxuan Jiang et al. IL-23R gene confers susceptibility to Behcet's disease in a Chinese Han population *Ann Rheum Dis* 2010;69:1325-1328.
120. Bustin, S.A., et al., Quantitative real-time RT-PCR--a perspective. *J Mol Endocrinol*, 2005. 34(3): p. 597-601.]
121. Di Meglio P, Di Cesare A, Laggner U. PLoS ONE | www.plosone.org 1 February 2011 | Volume 6 | Issue 2 | e17160. The IL23R R381Q Gene Variant Protects against Immune-Mediated Diseases by Impairing IL-23-Induced Th17 Effector Response in Humans
122. Xavier J.M., Shahram F., Davatchi F., Rosa A., Crespo J., Abdollahi B.S., Nadji A., Jesus G., Barcelos F., Patto J.V., Shafiee N.M., Ghaderibarim F., Oliveira S.A. Association study of IL10 and IL23R-IL12RB2 in Iranian patients with Behçet's disease. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2761–2772. doi: 10.1002/art.34437.
123. Khaib Dit Naib O., Aribi M., Idder A., Chiali A., Sairi H., Touitou I., Lefranc G., Barat-Houari M. Association Analysis of IL10, TNF- α , and IL23R-IL12RB2 SNPs with Behçet's Disease Risk in Western Algeria. *Front. Immunol.* 2013;4:342. doi: 10.3389/fimmu.2013.00342
124. Qin X., Xu J., Wu Z., Sun F., Chen H., Zheng W., Li S., Li P., Chen S., Shen M., Zhang W., You X., Wu Q., Zhang F., Li Y.Z. Association study of rs924080 and rs11209032 polymorphisms of IL23R-IL12RB2 in a Northern Chinese Han population with Behcet's disease. *Hum. Immunol.* 2016;77(12):1284–1290. doi: 10.1016/j.humimm.2016.09.006.
125. Yu H, Zheng M, Zhang L, Li H, Zhu Y, Cheng L, Li L, Deng B, Kijlstra A, Yang P. Identification of susceptibility SNPs in IL10 and IL23R-IL12RB2 for Behçet's disease in Han Chinese. *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Feb; 139(2):621-627. Epub 2016 Jun 21.
126. Kang E.H., Kim S., Park M.Y., Choi J.Y., Choi I.A., Kim M.J., Ha Y.J., Lee E.Y., Lee Y.J., Lee E.B., Kang C., Song Y.W. Behçet's disease risk association fine-

mapped on the IL23R-IL12RB2 intergenic region in Koreans. *Arthritis Res. Ther.* 2017;19(1):227. doi: 10.1186/s13075-017-1435-5.

127. Kramer M, Hasanreisoglu M, Weiss S, Kumova D, Schaap-Fogler M, Guntekin-Ergun S, Ozdek S, Gurelik G, Ergün MA, Goldenberg-Cohen N, Cohen Y. Single-Nucleotide Polymorphisms in IL23R-IL12RB2 (rs1495965) Are Highly Prevalent in Patients with Behcet's Uveitis, and Vary between Populations. *Ocul Immunol Inflamm.* 2018 May 24;1-8. doi: 10.1080/09273948.2018.1467463.



FORMLAR

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

I-Araştırmayla İlgili Bilgi Verilmesi :

Proje Adı: "Behçet Hastalığı-genom analiz çalışmasında belirlenen IL23R-IL12RB2 bölgesindeki varyantın (rs924080), IL23R ve IL12RB2 genlerinin ekspresyonları ile ilişkisinin araştırılması."

Yapılacak işlemin tanımı: Bu çalışmada, Behçet Hastalığı-genom analiz çalışmasında belirlenen IL23R-IL12RB2 bölgesindeki varyantın (rs924080), IL23R ve IL12RB2 genlerinin ekspresyonları ile ilişkisinin araştırılması planlanmaktadır.

Örneklerin periferik kanlarından elde edeceğimiz mononükleer hücrelerinden, CD3+ T hücreleri FACSAria ile izole edilip, hücre kültüründe IL23R ve IL12RB2 ekspresyonları için uyarılacaktır. Bu hücrelerden total RNA izolasyonu yapıp, RNA'lardan cDNA sentezi ile Real Time PCR metodu kullanarak genlerin relatif ekspresyonları araştırılacaktır. Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı tarafından yürütülecektir.

Araştırmanın Amacı: Behçet Hastalığı-genom analiz çalışmasında belirlenen IL23R-IL12RB2 bölgesindeki varyantı (rs924080) heterozigot ve homozigot taşıyan ve bu varyanta sahip olmayan sağlıklı kişilerde, IL23R ve IL12RB2 sitokinlerinin ekspresyon farklılığının incelenmesi planlanmaktadır.

Araştırmada Kullanılacak Yöntemler

Yapılması planlanan genetik incelemelerde sizden 10 cc'lik EDTA'lı tüplerdeki kanlarınız kullanılacaktır.

Sizden alınan kan örnekleri, araştırma amacıyla kullanılacağından numaralandırılıp, size ait kişisel bilgiler saklanacak ve 3. kişilerle paylaşılmayacaktır.

Yapılacak olan bilimsel çalışmadaki sonuçların kişisel olarak sizin ve ya ailenizin diğer bireylerinin yararlanması söz konusu olmayacaktır. Bununla beraber, vereceğiniz kan örnekleri sayesinde, bu hastalığın tam olarak anlaşılması, yeni tedavi ve tanı yöntemlerinin geliştirilmesini sağlayacak çalışmaların yapılabilmesi mümkün olacaktır.

Sizden alınacak örnekler, genlerimizde bulunan değişikliği gösterecek ve Behçet Hastalığı dışında diğer hastalıklarla ilgili araştırmalarda da, o hastalığa özgü genetik değişikliklerin tanımlanmasında yardımcı olabilecektir. Bu amaçla elde edilen veriler, herhangi bir kimlik bilgisi içermeden, uygun kontrol olarak hizmet edebileceği diğer araştırmalarda ve veritabanlarında kullanılabilir.

Bağışladığınız bu kan örnekleriyle, çalışmaların sonuçlarından herhangi bir ticari kazanç beklememeyi de taahhüt ediyorsunuz. Bu çalışmaya katılmak için de herhangi bir ücret ödemeniz de gerekmemektedir.

Bu araştırmaya yaklaşık 30 sağlıklı kişinin katılması beklenmektedir. Bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 10-20 ml (1-2 tüp) kadar kan almamız gerekmektedir. Bu kandan mononükleer hücreleriniz ayrılacak ve CD3+ T hücreleri izole edilecektir. Hücre kültüründe IL23R ve IL12RB2 ekspresyonları için uyarılacak olan bu hücrelerden total RNA elde edilecek ve cDNA sentezi ile Real Time PCR metodu kullanarak genlerin relatif ekspresyonları araştırılacaktır.

Kol damarlarınızda kan alınması esnasında iğne batması sonrasında bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması, iğne batan yerde geçici bir morluk gelişmesi ya da çok daha nadir olarak enfeksiyon riski bulunmaktadır.

Bu bilimsel çalışmaya katkıda bulunmak amacıyla kan vermenizin vücudunuz için herhangi bir zararlı etkisi yoktur ve kan verebilmek için düzenli bir ilaç kullanmıyor olmanız gerekmektedir.

Kan örneği verip vermemek ve istediğiniz anda bu çalışmadan çıkmak konusunda özgürsünüz.

Yürümekte olan çalışmaların genel sonuçları hakkında İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı'ndan Dr. Ahmet Gül'e (0212) 414 2000-32892 no'lu numaradan ulaşabilirsiniz.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Sayın Dr. *Ahmet Gül* tarafından İstanbul Üniversitesi DETAE Genetik AD'da tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim. Eğer bu çalışmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşacağıma inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağının bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan sebeplerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda güvence verildi (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte İç Hastalıkları AD Romatoloji Bilim Dalı'ndan Dr. Ahmet Gül'ü (0212)414 2000-32892 no'lu numaradan arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: Ayşe PALANDUZ
Gönüllünün Telefonu : 532-2538425
Gönüllünün Adresi :

Tarih: 12-06-12
İmzası

Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasinin Adı-Soyadı, İmzası, Adresi(varsa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı:
Fazıl ÇALUŞ

İmzası

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: Filiz Akçın
Gönüllünün Telefonu :
Gönüllünün Adresi :

Tarih: 5.6.2012
İmzası

İstanbul Tıp Fakültesi Enfeksiyon Lab.

Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasiinin Adı-Soyadı, İmzası, Adresi(varsa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı: Filiz Akçın

İmzası

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: *Ayşe Fatma Saygı*
Gönüllünün Telefonu : *518 29 00 1 313 41*
Gönüllünün Adresi : *İTF Tıbbi Genetik AD.*

Tarih: *13.06.2012*
İmzası: *[Signature]*

Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasiinin Adı-Soyadı, İmzası, Adresi(verssa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı:

Fatih GAVLİŞ

İmzası:

[Signature]

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası:

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: *Ömür Aksoy*
Gönüllünün Telefonu : *0533 241 85 97*
Gönüllünün Adresi :

Tarih: *5.6.2012*
İmzası: *ÖA*

Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasinin Adı-Soyadı,
İmzası, Adresi (varsa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı:

Fikri ÇAVUŞ

İmzası

Fikri ÇAVUŞ

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: Özkan Güneş Tarih: 05.06.12
Gönüllünün Telefonu : Gerçek Lab Dahiliye İmzası
Gönüllünün Adresi : 05364231805

Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasiinin Adı-Soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı:

Fatih ÇAVUŞ

İmzası



Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

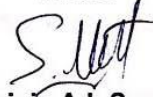
İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: Selma MERT
Gönüllünün Telefonu : 0505 899 74 96
Gönüllünün Adresi : İTF Dahiliye AD
Rumatoloji BD

Tarih: 28.05.12
İmzası



Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasiinin Adı-Soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı:

Filiz GAVUŞ

İmzası



Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

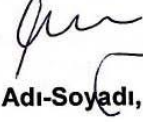
İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: **Nitifer Alpay**
Gönüllünün Telefonu : **0532 567 1494**
Gönüllünün Adresi : **İTF Dahiliye AD Romatoloji BD.**

Tarih: **26.05.2012**
İmzası



Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasinin Adı-Soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı:

Filiz GAVLİS

İmzası



Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: *Neslihan Çoban*
Gönüllünün Telefonu : *0535 961 69 56*
Gönüllünün Adresi : *DEFAE- Genetik*

Tarih: *23.05.12*

İmzası



Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasiinin Adı-Soyadı,
İmzası, Adresi (varsa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı:

Filiz GAVULŞ

İmzası



Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: Z. Gauze CİVEN
Gönüllünün Telefonu : 0532 470 1093
Gönüllünün Adresi : DETAE Genetik

Tarih: 28.05.12
İmzası

[Signature]

Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasinin Adı-Soyadı,
İmzası, Adresi(versa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı:

Filiz ÇAVUŞ

İmzası

[Signature]

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

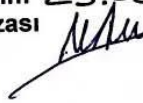
Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: **M. Ali ÖZGELİK**
Gönüllünün Telefonu :
Gönüllünün Adresi : **DETAE -**

Tarih: **23.05.12**
İmzası 

Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasinin Adı-Soyadı,
İmzası, Adresi(varsa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı:
FİREZ GAVLİŞ

İmzası 

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: **Neslihan Abacı**
Gönüllünün Telefonu : **DETAE Genetik**
Gönüllünün Adresi :

Tarih: **25.05.2012**
İmzası

Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasiinin Adı-Soyadı, İmzası, Adresi (varsın telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı: **Filiz Çavuş**

İmzası

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: *Suzan Cabal Taloncu*
Gönüllünün Telefonu :
Gönüllünün Adresi : *Detae Genetik*

Tarih: *23.05.12*
İmzası: *[Signature]*

Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasiinin Adı-Soyadı, İmzası, Adresi(varsa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı: *Filiz Cavuş*

İmzası: *[Signature]*

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllü Onay Formu

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı: MELBA SARIMAN
Gönüllünün Telefonu : 0535 229 781
Gönüllünün Adresi : Halide Edip Urmah Akoprtan Sulu DT.

Tarih: 22/05/2012
İmzası

M. Sarım

Velayet ve ya vesayet altında bulunanlar için veli ve ya vasinin Adı-Soyadı,
İmzası, Adresi(varsa telefon no, fax no)

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı-Soyadı:

Fatih Cevus

İmzası

Fatih Cevus

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası

ETİK KURUL KARARI

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**



Sayı : 1352

Tarih : 27.05.2011

Konu : Doç. Dr. Burçak VURAL hk,

Sayın Doç. Dr. Burçak VURAL
Deneysel Tıp Araştırmalar Enstitüsü
Öğretim üyesi
İlgi : 25.04.2011 tarih 117 sayılı çalışmanız

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz 2011/994-600 dosya numaralı "Behçet-hastalığı analiz çalışmasında belirlenen IL23R-IL12RB2 bölgesindeki varyantın (rs924080), IL23R ve IL12RB2 genlerinin ekspresyonları ile ilişkisinin araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 27.05.2011 tarihli 08 sayılı toplantısında etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.
Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.


Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

İSTANBUL KLİNİK ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ETİK KURUL DEĞERLENDİRME FORMU

ETİK KURULUN ADI	İstanbul Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
AÇIK ADRES	I.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Hulusi Behçet Kütüphanesi Kat 3 Çapa Fatih/İstanbul 34380
TELEFON	0 212 414 20 00 – 313 46
FAKS	0 212 414 21 53
E-POSTA	

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Behçet-hastalığı analiz çalışmasında belirlenen IL23R-IL12RB2 bölgesindeki varyantın (rs924080), IL23R ve IL12RB2 genlerinin ekspresyonları ile ilişkisinin araştırılması		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU	-		
	EUDRACT NUMARASI	-		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Burçak VURAL		
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Ana Bilim Dalı		
	KOORDİNATÖRÜN ÜNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Burçak VURAL		
	KOORDİNATÖRÜN UZMANLIK ALANI	Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Ana Bilim Dalı		
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	I.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü		
	ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ	I.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü		
	BAŞVURULAN ETİK KURULUN ADI	İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu		
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ	-		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ	-		
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ	AKADEMİK AMAÇLI (X)	
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1		
		FAZ 2		
FAZ 3				
FAZ 4				
BE/BY				
DİĞER		Diğer ise belirtiniz:		
İLAC DİŞİ ARAŞTIRMA		Belirtiniz:		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ (X)	ÇOK MERKEZLİ	ULUSAL	ULUSLARARASI

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	25.04.2011	1	TürkçeX	İngilizce	Diğer
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	-	-	Türkçe	İngilizce	Diğer
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	-	-	TürkçeX	İngilizce	Diğer
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe	İngilizce	Diğer

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	X	
	SİGORTA		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ		
	ILAN		
	YILLIK BİLDİRİM		
	SONUÇ RAPORU		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ		
	DİĞER		Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgu Rapor Formu, İlgili Elemanların Belgelendirildiğine Dair Belge, Cv, Cd

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 08	Tarih: 27.05.2011
	Doç. Dr. Barçak VURAL ve Yüksek Lisans Öğrencisi Filiz ÇAVUŞ'un koordinatörlüğü ve sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen tez başvuru dosyası ve araştırma ile ilgili belgeler gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	İstanbul Üniversitesi İnsan Denekler Üzerinde Yürütülecek Bilimsel Araştırmalar ve Etik Değerlendirme Kurulları Yönergesi, 10 Aralık 2010 tarihli, T.C. Sağlık Bakanlığı İyî Klinik Uygulamaları Klavuzu
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI:	Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN
ETİK KURUL ÜYELERİ	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlgili *	Katılım **	İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	EX K	E H X	EX H	
Prof. Dr. Berin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E K X	E H X	EX H	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	EX K	E H X	E H X	T Katılmadı.
Prof. Dr. Rukiye EKER OMEROĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İstanbul Tıp Fakültesi	E K X	E H X	EX H	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	EX K	E H X	EX H	
Prof. Dr. Pınar SALP	Onkoloji	İ.U. Onkoloji Enstitüsü	E K X	E H X	EX H	
Uzm. Dr. Ahmet Rıza URAS	Biyokimya	Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya	EX K	E H X	EX H	
Prof. Dr. Ayşen BULUT	Halk Sağlığı	Emekli	E K X	E H X	E H X	T Katılmadı.
Doç. Dr. Tufan TÜKEK	İç Hastalıkları	Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hast. 1. Dahiliye Kliniği	EX K	E H X	E H X	T Katılmadı.
Prof. Dr. Ünal KUZGUN	Ortopedi	Şişli Etfal E. ve Araştırma Hast.	EX K	E H X	EX H	
Prof. Dr. Ahmet O. ARAMAN	Eczacılık	İ.U. Eczacılık Fakültesi	EX K	E H X	E H X	T Katılmadı.
Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK	Hukukçu	İstanbul Üniversitesi	E K X	E H X	EX H	
Prof. Dr. Demir TIRYAKI	Biyofizik	Emekli	EX K	E H X	E H X	T Katılmadı.
M. Kerim AKMAN	İİBF İktisat Bölümü	Özel (Ekonomist)	EX K	E H X	EX H	

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

BEHÇET HASTALIĞI-GENOM ANALİZ ÇALIŞMASINDA
BELİRLENEN IL23R-IL12RB2 BÖLGESİNDEKİ VARYANTIN
(RS924080), IL23R VE IL12RB2 GENLERİNİN
EKSPRESYONLARI İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% **10**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **6**

İNTERNET
KAYNAKLARI

% **4**

YAYINLAR

% **5**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

- | | | |
|---|---|-----------------------|
| <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px 5px; display: inline-block;">1</div> | <p>Filiz Çavuş, Canan Ulusoy, Arda Örçen, Ahmet Gül, Erdem Tüzün, Burçak Vural. "Increased IL-23 receptor, TNF-α and IL-6 expression in individuals with the IL23R–IL12RB2 locus polymorphism", Immunology Letters, 2014</p> <p>Yayın</p> | <p>% 2</p> |
| <div style="background-color: purple; color: white; padding: 2px 5px; display: inline-block;">2</div> | <p>Submitted to Istanbul University</p> <p>Öğrenci Ödevi</p> | <p>% 1</p> |
| <div style="background-color: purple; color: white; padding: 2px 5px; display: inline-block;">3</div> | <p>detae.org</p> <p>İnternet Kaynağı</p> | <p>% 1</p> |
| <div style="background-color: teal; color: white; padding: 2px 5px; display: inline-block;">4</div> | <p>Submitted to Ankara University</p> <p>Öğrenci Ödevi</p> | <p>% 1</p> |
| <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px 5px; display: inline-block;">5</div> | <p>Submitted to Trakya University</p> <p>Öğrenci Ödevi</p> | <p>% 1</p> |
| <div style="background-color: brown; color: white; padding: 2px 5px; display: inline-block;">6</div> | <p>acikerisim.deu.edu.tr</p> <p>İnternet Kaynağı</p> | <p><% 1</p> |
| <div style="background-color: brown; color: white; padding: 2px 5px; display: inline-block;">7</div> | <p>library.cu.edu.tr</p> <p>İnternet Kaynağı</p> | <p><% 1</p> |

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Filiz	Soyadı	ÇAVUŞ
Doğ.Yeri	Varna	Doğ.Tar.	04.01.1983
Email	filizcavus@gmail.com	Uyruğu	TC

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü	2005
Ön lisans	Anadolu Üniversitesi Sağlık Kurumları İşletmeciliği	2012
Lise	Kabataş Erkek Lisesi	2001

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Uluslararası Müşteri İlişkileri Yöneticisi	Carthagenetics	6
2.	Klinik Araştırmalar Asistanı	EBM	1
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Office	İyi

Presentations in International Meetings

- 2011 Filiz Cavus, Elif Ugurel, Erdem Tuzun, Sema Icoz, Murat Kurtuncu, Ece Erdag, Ahmet Gul, Ali O.Gure, Ugur Ozbek, Gulsen Akman-Demir G, Burcak Vural. Anti STIP-1 Antibody in Neuro-Behcet's Disease. 9th CIMT Annual Meeting, Mainz, Germany, 25 – 27 May 2011 (poster).
- 2011 Akman-Demir G, Vural B, Ugurel E, İçöz S, Tüzün E, Kürütüncü M, Çavuş F, Özbek U, Eraksoy M. Anti-Neuronal and Stress-Induced-Phosphoprotein 1 Antibodies In Neuro-Behçet's Disease. 63rd AAN Annual Meeting Honolulu, HI. April 09-16, 2011 (Poster).
- 2010 Elif Ugurel, Burçak Vural, Filiz Çavuş, Uğur Özbek, Ahmet Gül, Ali O. Güre. Antibody Responses Against PINK1 and SWAP70 Antigens in Behçet's Disease. 14th International Conference on Behçet's Disease, London, UK, 2010 (Poster).

Presentations in National Meetings

- 2012 Elcin Şehitoğlu, Filiz Çavuş, Elif Uğurel, Şükrü Atakan, Erdem Tüzün, Ahmet Gül, Gülşen Akman Demir, Can Fahrettin Koyuncu, Çiğdem Gündüz Demir, Ali Osmay Güre, Uğur Özbek, Burçak Vural. Autoreactive Antigens In Behcet's Disease By Protein Macroarray Method, Molecular Immunology and Immunogenetics Congress, Antalya, Turkey, 2012 (poster).
- 2011 Uğurel E, Vural B, Tüzün E, Kürtüncü M, Zuliani L, Çavuş F, İçöz S, Erdağ E, Gül A, Güre AO, Vincent A, Ozbek U, Eraksoy M, Akman-Demir G. Anti neuronal and stress-induced-phosphoprotein 1 antibodies in neuro-Behçet's disease. 47. Congress of National Neurology, Antalya, Turkey, 2011. (Oral)
- 2011 Elif Uğurel, Filiz Çavuş, Burçak Vural, Erdem Tüzün, Murat Kürtüncü, Sema İçöz, Ece Erdağ, Ahmet Gül, Ali O. Güre, Uğur Özbek, Mefkure Eraksoy, Gülşen Akman Demir. Anti-STIP1 Antibody in Neuro-Behçet's Disease. 21. National Congress of Immunology, Marmaris, Turkey, 2011. (Oral)

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

- 1- Cost analysis of management of cardiovascular disease comorbidities in Turkey. April 2019 Journal of Pharmaceutical Health Services Research DOI: 10.1111/jphs.12298 Güvenç Kockaya, Mete Saylan, Bülent Ozin, Filiz Cavus, Gülpembe Ergin Oğuzhan
- 2- Expert Analysis On Cost Analysis Of Management Of Cardiovascular Disease Co-Morbidities October 2018 Value in Health G. Kockaya, F. Cavus, B. Ozin, K.C. Yilmaz, O. Ciftci, G. Oguzhan Ergin, A. Sharaf, N. Buyuktuna, T. Buyukisik, M. Saylan DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jval.2018.09.612>
- 3- Effect Of Time In Therapeutic Range On Cost And Clinical Outcomes Of Atrial Fibrillation Patients : A Cost-Consequences Analysis Of Rivaroxaban Vs Warfarin For Turkey October 2018 Value in Health 21:S104 DOI: 10.1016/j.jval.2018.09.617 Güvenç Kockaya, Filiz Cavus, Mete Saylan, Bülent Ozin, Gülpembe Ergin Oğuzhan, Tansu Büyükişik, Amir Sharaf, Nazım Büyuktuna
- 4- Immunol Invest. 2017 Jul;46(5):490-499. doi: 10.1080/08820139.2017.1299754. Epub 2017 Apr 4. Immunization with Recombinantly Expressed LRP4 Induces Experimental Autoimmune Myasthenia Gravis in C57BL/6 Mice. Ulusoy C, Çavuş F, Yılmaz V, Tüzün E.
- 5- Inflamm Res. 2014 Oct;63(10):799-801. doi: 10.1007/s00011-014-0754-0. Epub 2014 Jul Sorcin antibody as a possible predictive factor in conversion from radiologically isolated syndrome to multiple sclerosis: a preliminary study. Şehitoğlu E¹, Çavuş F, Ulusoy C, Küçükerden M, Orçen A, Akbaş-Demir D, Coban A, Vural B, Tüzün E, Türkoğlu R.
- 6- Immunology Letters Volume 160, Issue 1, July 2014, Pages 96-98 Letter to the Editor Increased IL-23 receptor, TNF- α and IL-6 expression in individuals with the IL23R–IL12RB2 locus polymorphism FilizÇavuş, CananUlusoy,ArdaÖrçen, AhmetGül, ErdemTüzün, BurçakVural
- 7- Immunol Invest. 2017 Jul;46(5):490-499. doi: 10.1080/08820139.2017.1299754. Epub 2017 Apr 4. Immunization with Recombinantly Expressed LRP4 Induces Experimental Autoimmune Myasthenia Gravis in C57BL/6 Mice. Ulusoy C, Çavuş F, Yılmaz V, Tüzün E
- 8- Eur Neurol. 2013;69(5):257-62. doi: 10.1159/000342237. Epub 2013 Feb 20. Progressive encephalomyelitis with rigidity and myoclonus: a syndrome with diverse clinical features and antibody responses. Shugaiv E1, Leite MI, Şehitoğlu E, Woodhall M, Çavuş F, Waters P, İçöz S, Birişik Ö, Uğurel E, Ulusoy C, Kürtüncü M, Vural B, Vincent A, Akman-Demir G, Tüzün E.

- 9- Novel Anti-Neuronal Antibodies in Neuromyelitis Optica Patients with or without Aquaporin-4 Antibodies (P02.135) February 12, 2013; 80 (7 Supplement) MARCH 19,2013 Filiz Cavus, Elif Ugurel, Elcin Sehitoglu, Mark Woodhall, Patrick Waters, Canan Ulusoy, Selin Turan, Burcak Vural, Recai Turkoglu, Mefkure Eraksoy, Angela Vincent, Gulsen Akman-Demir, Erdem Tuzun
- 10- CACNA1H antibodies associated with headache with neurological deficits and cerebrospinal fluid lymphocytosis (HaNDL). Cephalalgia. 2013 Jan;33(2):123-9. doi: 10.1177/0333102412463494. Epub 2012 Oct 30. Kürtüncü M, Kaya D, Zuliani L, Erdağ E, İçöz S, Uğurel E, Cavuş F, Aysit N, Birişik O, Vincent A, Eraksoy M, Vural B, Akman-Demir G, Tüzün E.
- 11- Mitochondrial carrier homolog 1 (Mtch1) antibodies in neuro-Behçet's disease Journal of Neuroimmunology Volume 263, Issues 1–2, 15 October 2013, 139-144 Burçak Vural, Elçin Şehitoğlu, Filiz Çavuş, Nazlı Yalçınkaya, Hazal Haytural, Melike Küçükerden, Canan Ulusoy, Elif Uğurel, SelinTuran, Leyla Bulut, Recai Türkoğlu, Erkingül Shugaive, Murat Kürtüncü, Şükrü Atakan, Ali O.Güre, Ahmet Gül, Mefkure Eraksoy, Gülşen Akman-Demir, Erdem Tüzün
- 12- Inflamm Res. 2012 Sep;61(9):927-30. doi: 10.1007/s00011-012-0488-9. Epub 2012 May 22. Switch-associated protein 70 antibodies in multiple sclerosis: relationship between increased serum levels and clinical relapse. Erdağ E, Tüzün E, Uğurel E, Cavuş F, Sehitoglu E, Giriş M, Vural B, Eraksoy M, Akman-Demir G.
- 13- J Neuroimmunol.2011Oct 28;239(1-2):917.doi:10.1016/j.jneuroim.2011.08.008. Epub 2011 Aug 27. Anti-neuronal and stress-induced-phosphoprotein 1 antibodies in neuro-Behçet's disease.Vural B, Uğurel E, Tüzün E, Kürtüncü M, Zuliani L, Cavuş F, İçöz S, Erdağ E, Gül A, Güre AO, Vincent A, Ozbek U, Eraksoy M, Akman-Demir G.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Sokak hayvanları, barınak destekleri, ahşap boyama.