

T1691



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**BEHÇET HASTALIĞINDA
TOLL-LIKE RECEPTOR 2 ARG753GLN
GEN POLİMORFİZMİ**

Dr. Ali BACANLI

Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Erkan ALPSOY

“Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir
(Proje No: 2004.04.0103.04)”

“Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir”

Antalya, 2005

AKDENİZ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Behçet Hastalığı	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Epidemiyoloji	3
2.1.3. Etiyopatogenez	3
2.1.4. Klinik	11
2.1.5. Histopatoloji	16
2.1.6. Tanı	16
2.1.7. Tedavi	16
2.2. Rekürren Aftöz Stomatit	17
2.3. Romatoid artrit	17
2.4. Toll-like Receptor	18
2.4.1. Toll geni	18
2.4.2. Toll-like Receptor Geni ve İşlevi	18
2.4.3. Toll-like Receptor Geni ile İlişkili Polimorfizmler	19
2.4.4. Behçet Hastalığı ve Toll-like Receptor	19
2.5. Gen Polimorfizmi	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM	21
3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	21
3.2. TLR 2 Arg753Gln Polimorfizmi	21
3.2.1. TLR 2 Geni Amplifikasyonu İçin Kullanılan PCR Koşulları	22
3.2.2. Restriction Fragment Length Polymorphism	22
3.2.3. SfiI Enzimi ile Kesim Koşulları	22
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	23
4. BULGULAR	24
5. TARTIŞMA	27

SONUÇLAR

31

ÖZET

KAYNAKLAR

33

SİMGELER ve KISALTMALAR

A	Adenin
B.H.	Behçet Hastalığı
C	Sitozin
DNA	Deoksiribonükleik asit
G	Guanin
HLA	Human Leukocyte Antigen
HSV	Herpes Simpleks Virüs
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
IL	Interleukin
KD	Kilo Dalton
M	Mycoplasma
MALP	Macrophage Activating Lipopeptide
MICA	Major Histocompatibility Complex Class I Chain-related gene A
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	Ribonükleik asit
S	Streptococcus
T	Timin
TLR	Toll-like Receptor
TNF	Tumour Necrosis Factor
PCR	Polymerase Chain Reaction

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Behçet hastalığı, sağlıklı kontrol, rekürren aftöz stomatit ve romatoid artrit gruplarının demografik bulguları

Çizelge 4.2. Behçet hastalarının klinik özellikleri

Çizelge 4.3. Behçet hastalığı, sağlıklı kontrol, rekürren aftöz stomatit ve romatoid artrit gruplarının TLR 2 Arg753Gln polimorfizmine ait allel ve genotip sıklıkları

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Behçet hastalığı (B.H.), deri ve mukoza belirtilerinin yanında göz ve eklemler başta olmak üzere çok sayıda organı tutabilme özelliği gösteren sistemik bir hastalıktır. Temel patolojisi vaskülit olan hastalık, tekrarlayan ataklarla kronik bir seyir izlemektedir. Hastalığın etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, genetik ve immünolojik faktörler, enfeksiyöz ajanlar (herpes simpleks virus tip [HSV]-1, bazı Streptokok [S] suşları ve Mikoplazma [M.]), damar endotel patolojileri ve pıhtılaşma bozuklukları gibi çok sayıda neden suçlanmıştır. Bugün için üzerinde en çok durulan hipotez, hastalığın viral, bakteriyel veya diğer bir antijenle tetiklenen ve genetik olarak hastalığa yatkınlık gösteren kişilerde ortaya çıkan otoimmün bir reaksiyon olduğu yönündedir (1-4)

B.H. ile human leukocyte antigen (HLA)-B51 arasındaki güçlü ilişki genetik faktörlerin etyolojideki rolü için iyi bir kanıttır (3). Günümüzde hastalığın çok sayıda gen ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Özellikle immün sistem ile doğrudan ilişkili proteinleri kodlayan genler başta olmak üzere kromozomlar üzerindeki birçok bölgenin hastalıkla ilişkisini destekleyen bulgular vardır. Interleukin (IL)-1, tumour necrosis factor (TNF)- α gibi birçok genin çeşitli polimorfizmlerinin Behçet hastalarında kontrol gruplarına göre anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir (5,6).

Diğer yandan son yıllardaki araştırmalar B.H.'nin etyolojisinde enfeksiyöz ajanların da önemli rol oynadığına işaret etmektedir. S. sangius gibi bazı S. suşlarının heat shock protein (HSP) 'leri ile insan HSP'lerinin çapraz reaksiyona girerek otoimmün bir yanıtı neden olduğu bildirilmektedir (7,8).

Drosophila adı ile bilinen sirke sineğinde bulunan prototipik Toll geni hem bu sineğin fungal infeksiyonlara direncinde önemli rol oynamakta, hem de embriyodaki dorsal-ventral polarizasyonda yer alan bir plazma membran reseptörünü kodlamaktadır (9). Drosophiliadaki Toll sinyal yolağı ile insanlardaki IL-1 sinyal yolağı arasında büyük benzerlikler bulunmaktadır (10). Memelilerde bulunan ve Toll ile homoloji gösteren genlere Toll-like receptor (TLR) denmektedir. Bugüne kadar birkaç TLR tanımlanmıştır. Bu klonlanan genler arasında özellikle TLR 2 geni birçok araştırmaya

konu olmuştur. TLR 2'nin in vivo işlevi tam olarak belirlenememiştir (11). Ancak TLR 2'nin doğal bağışıklık sisteminde kendine özgü bir işlevi olduğu kesindir (12). Uygun hücre dizilerine transfekte edildiğinde TLR 2 peptidoglikan ve lipoteikoik asit gibi bir grup mikroorganizma bileşeni tarafından aktive edilmektedir (11). Bilim dünyasında haklı bir ilgi uyandıran bir başka alan da kişilerin TLR genlerinin çeşitliliğidir. Bu genlerdeki değişiklikler bazı insanların veya popülasyonların çeşitli mikroorganizmalara daha az ya da çok duyarlı olmasını açıklayabilir.

Kısaca, TLR 2 geni gibi çeşitli TLR genlerinde bulunan olası polimorfizmler S., M. gibi mikroorganizmalar ile meydana gelen enfeksiyonlara yatkınlığa yol açabileceği gibi bu enfeksiyonlar sonrası ortaya çıkan anormal immün sistem yanıtını da açıklayabilmektedir. Bu çalışmada amaçlanan, Behçet hastalarında ki TLR 2 Arg753Gln polimorfizm sıklığının kontrol gruplarına (normal popülasyon ile inflamatuvar hastalıklardan rekürren aftöz stomatit ve romatoid artritli hasta grupları) göre farklı olup olmadığının saptanmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Behçet Hastalığı

2.1.1. Tanım

B.H ataklarla birlikte kronik bir seyir gösteren, çok sayıda organı tutabilen ve temel patolojisi vaskülit olan sistemik bir hastalıktır. İlk olarak 1937 yılında bir Türk dermatoloğu olan, Dr. Hulusi Behçet tarafından oral ve genital ülserlerle birlikte hipopyonlu üveitten oluşan üç semptomlu bir kompleks olarak tanımlanmıştır (13). Sonraki çalışmalar hastalığın bu üç bölge ile sınırlı kalmayarak eklemeleri, pulmoner arter başta olmak üzere büyük damarları, gastrointestinal, ürogenital, kardiyak ve santral sinir sistemlerini tutabileceğini ortaya çıkarmıştır (1,3).

2.1.2. Epidemiyoloji

Genellikle ikinci on yılın sonlarında başlayan hastalık, en sık olarak 20-40 yaşları arasında görülmektedir (14-16) Her iki cinstе eşit olarak görülen B.H. erkeklerde daha şiddetli bir klinik seyir izlemektedir (17,18)

Hastalık Türkiye, İsrail, Yunanistan gibi Akdeniz ülkeleri, ortadoğu ülkeleri ve Japonya, Kore, Çin gibi uzakdoğu ülkelerinde diğer ülkelere göre daha sık görülmektedir (14,17,18). Yapılan araştırmalarda Japonya'da prevalans 1/10.000 iken İngiltere'de 1/100.000'den daha az olarak saptanmıştır (14,17). Türkiye'de bu konuda yapılan dört ayrı çalışmada hastalığın prevalansı sırasıyla; 4,09, 8, 11,5 ve 37/10.000 olarak bildirilmiştir (16,18-20) İlginç bir gözlem de hastalığın tarihi ipek yolu üzerinde bulunan ülkelerde daha sık görülmesidir.

2.1.3. Etyopatogenez

B.H.'nin etyolojisi henüz kesin olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, genetik yatkınlık, immünolojik bozukluklar, infeksiyöz ajanlar (HSV-1, bazı S. suşları ve M), endotelial hücre fonksiyon bozuklukları, hemostaz ve fibrinolitik aktivite bozuklukları ve hormonal faktörlerin hastalığın etyolojisinde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (1,3,18,21-30)

Etyopatogeneizde genetik faktörlerin de rol oynayabileceği hastalığın HLA-B51 ile ilişkisi saptandıktan sonra gündeme gelmiştir. B.H. ile HLA-B51 arasındaki güçlü ilişki ilk kez Ohno et al. (31) tarafından bildirilmiştir. Bu ilişki özellikle HLA-B51 allellerinden HLA-B5101 ve HLA-B5108 için geçerlidir (32). HLA-B51'in hastalığın bazı klinik özelliklerinin ortaya çıkışını etkilediği düşünülmektedir. Özellikle göz tutulumu ile HLA-B51 arasında bir ilişki bildirilmiştir (33). HLA-B51 geni eklenmiş farelerin nötrofilleri uyarıldıklarında daha fazla süperoksit üretmektedir. Behçet hastası olsun olmasın HLA-B51 pozitif kişilerin nötrofilleri aşırı fonksiyon göstermektedir (34). Hastalık prevalansının 1/10.000 olarak saptandığı Japonya'da HLA-B51 geni taşımak, riski 10 kat artırarak 1/1000 düzeyine çıkarmaktadır (35). HLA-B51 ilişkisi yöresel farklılıklar göstermektedir. Türk ve Japon Behçet hastalarında bu antijen daha sık görülürken İngiliz hastalarda bu oran düşmektedir (36-37).

Son yıllarda B.H. ile ilişkili olan genin HLA-B51'e yakın yerleşimli ve dengesiz bağlantılı kalıtılan bir başka gen olabileceği üzerinde de durulmuş ve buna işaret eden bazı kanıtlar elde edilmişse de bugün için hastalık ile en güçlü ilişkiye HLA-B51 geninin sahip olduğu gösterilmiştir (38,39). B.H.'nin yüksek oranda ailesel geçiş gösterdiği çeşitli toplumlarda yapılan çalışmalarda saptanmıştır. Ancak, Mendel tipi genetik geçiş göstermediği saptanmış olan B.H. tek bir gen ile ilişkili değildir (40). B.H.'nin birden çok gen ile ilişkili olduğu, her bir Behçet hastasında bunlardan bazılarının rol oynadığı düşünülmektedir. Günümüzde üzerinde durulan genlerden bazıları retinal damar oklüzyonuyla ilişkili olan faktör 5 geni, lökositlerin damar dışına çıkışıyla ilgili işlevi olan intercellular adhesion molecule (ICAM) geni, major histocompatibility complex class I chain-related gene A (MICA), TNF, IL-1 gibi proinflatuar sitokinlerle ilişkili genlerdir. Söz konusu genlerin çoğu 6. kromozomun kısa kolu üzerinde birbirine yakın yerleşim göstermektedir. 6. kromozom en çok polimorfizmin görüldüğü genleri içermektedir. B.H. ile çeşitli proinflatuar sitokin genlerine ait polimorfizmler arasında ilişki gösterilmiştir. B.H. ile ilişkisi gösterilmiş olan Faktör 5 Leiden mutasyonu ise major histocompatibility

complex dışındaki genlerin de B.H. etyopatogenezinde rolü olduğunu göstermesi açısından önemlidir (5,6,41-43).

Son yıllarda özellikle moleküler biyoloji alanındaki teknolojik gelişmeler sonucunda, immün sistem elemanlarının yapı ve görevleri hakkında elde edilen yeni bilgiler, immün sistemin hastalığın başlangıcında ya da seyrinde önemli bir rol üstlendiğine işaret etmektedir. Behçet hastalarının serumlarında myeloperoksidaz ve süperoksit gibi aktive nötrofillerden salınan faktörler ve TNF, IL-1 β ve IL-8 gibi çeşitli nötrofil aktive edici sitokinlerin arttığı saptanmıştır (44). Behçet hastalarının serumlarında IL-2 ve çözünür IL-2 reseptör düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş, bu düzeylerin özellikle hastalığın aktif döneminde belirgin derecede arttığı gösterilmiştir (4). Yine kontrol gruplarına göre Behçet hastalarında aktive lenfositlerin, nötrofilleri daha güçlü bir şekilde uyardığı, nötrofil kemotaksisinin daha yoğun olduğu bulunmuştur. Behçet hastalarındaki artmış nötrofil aktivitesinin genetik etkilerden mi yoksa enfeksiyöz ajanlarla sürekli aktivasyondan mı kaynaklandığı ise açık değildir. Bu iki faktörün bir arada işliyor olması da olasıdır (45).

İmmün sistemin farklı açılardan B.H. ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Dolaşkan immün komplekslerin B.H. ile ilişkisine yönelik çok sayıda araştırma yapılmış, oral ve genital ülser, papülopüstüler lezyonlar ve eritema nodozum benzeri lezyonlar gibi deri ve mukoza belirtilerinin patogenezinde immün komplekslerin rolü olabileceğini gösteren bulgular saptanmıştır (46). Behçet hastalarının serumlarında IL-1, IL-8 ve TNF- α gibi çeşitli proinflamatuvar sitokin düzeylerinde artış olduğu bilinmektedir. Bunlardan özellikler IL-8 ve IL-12'nin hastalık aktivitesi ile bağlantılı olması hastalığın aktif döneminde tip 1 yardımcı T hücre immün yanıtının rolüne işaret etmektedir (47-49).

Ayrıca, B.H.'de endotel hücre hasarının ve patolojik aktivasyonunun söz konusu olduğu gösterilmiştir. Hastalığın aktif dönemlerinde Behçet hastalarının lenfositlerinin endotel hücre kültürleriyle etkileşim gösterdiği saptanmıştır (50). B.H. hayatı tehdit eden komplikasyonlara da yol açabilen yaygın tıkalıcı-tipte vaskülitte kendisini gösterebilir. Damarsal lezyonlardaki tıkalıcı karakterin, hiperkoagulabilite ve protrombotik durumun işareti olduğu söylenmektedir (51).

B.H.'nin merak konusu olan bir başka boyutu da enfeksiyöz ajanlarla ilişkisidir. Dr. Hulusi Behçet hastalığa enfeksiyöz bir ajanın yol açabileceğini belirtmiştir (13). Özellikle B.H. ve HSV-1 arasındaki olası bir ilişki birçok araştırmaya konu olmuştur. HSV-1'e özgü deoksiribonükleik asit (DNA) ve mononükleer hücrelerdeki tamamlayıcı ribonükleik asit (RNA) arasında hibridizasyon, Behçet hastalarında kontrol grubuna göre belirgin derecede yüksek oranda saptanmıştır (52). Bu sonuçlar Behçet hastalarının mononükleer hücrelerinde HSV-1 genomunun en azından bir kısmının varlığını düşündürmektedir. Yapılan bir araştırmada HSV-1 DNA fragmanı Behçet hastalarının önemli bir kısmında saptanmıştır. Serum anti-HSV-1 antikorları Behçet hastalarında sağlıklı kontrollara göre daha yüksek oranda bulunmuştur. Behçet hastalarının kanında HSV-1 antijeni içeren immün kompleksler gösterilmiştir (53). Behçet hastalarının oral ülserlerinden alınan biopsilerde virüse özgü DNA saptanmamıştır, ancak genital ve intestinal ülserlerinden alınanlarda HSV-1'e özgü DNA gösterilmiştir (54,55).

Buna ek olarak, özellikle bazı *S.* ile ilgili araştırmalar bu bakterilerin de B.H. etyopatogenezinde rolü olduğunu göstermektedir. Bazı *S.* suşları ile oral epitelyal hücreler arasında çapraz reaksiyon gösterilmiştir (56). Yakın zamanda bazı *S.* suşları (*S. sanguis*, *S. pyogenes*, *S. faecalis* ve *S. salivarius*) B.H. etyolojisinde suçlanmıştır. Bu *S.* antijenleri ile Behçet hastalarında yapılan hipersensitivite testlerinde, hastalığın bazı klinik görünümünün ortaya çıkması bu konudaki en güçlü kanıtlardandır (57). Ayrıca, *S. sanguis* ve *S. pyogenes*'e karşı antikorlar Behçet hastalarının serumlarında kontrol grubununkilere göre belirgin derecede daha sık bulunmuştur.

Diş hastalıkları nedeniyle yapılan ağız içi operasyonlardan 1-2 hafta sonra B.H. belirtilerinin ortaya çıktığı gösterilmiştir (58). Behçet hastalarının oral florasında *S. sanguis* ve *S. oralis*' in yüksek oranda bulunduğu bilinmekte, hastalığın başlangıcı ile en çok bu iki suşun ilgili olduğu düşünülmektedir (59,60). Hastaların oral mukozası ve serumlarında *S.* antijenleri ve *S.*'lere karşı gelişmiş antikorlar sıklıkla bulunmaktadır (7,57,61). B.H.'nin aktif döneme geçmesini sağlayan en önemli faktörün *S.* antijenleri ile karşılaşma olabileceğini gösteren bulgular vardır. Bu mekanizmanın nötrofil aktivasyonu ile bağlantısı üzerinde durulmaktadır (7).

Son yıllarda M.'nin de etyopatogenezde rol oynayabileceği bildirilmiştir. M.'ler hücre duvarlarının yokluğu ile karakterize küçük prokaryotlardır. İnsanlarda mukozal dokularda çeşitli hastalıklara yol açtığı bilinmektedir. Özellikle M. fermentans başta olmak üzere birkaç M. türü; edinsel immün yetmezlik sendromu, non-gonokokkal üretrit, romatoid artrit ve konakta inflamasyonun aktivasyonu veya ilerlemesi ile ilişkilidir (62-67). M.'lerin hangi moleküler mekanizmalar ile insanlarda hastalık ortaya çıkardığı tam olarak bilinmemektedir. Hücre duvarları olmadığı için lipopolisakkarid, lipoteikoik asit veya murein fragmanları gibi modüllerini yoktur, ancak buna rağmen kuvvetli bir makrofaj aktivatörüdürler (68-70). M. fermentans ürünlerinin B ve T hücre aktivasyonu, monosit/makrofaj uyarılması ve sitotoksik aktivite ile konak immün cevabını etkiledikleri saptanmıştır (71-73). Bu şekilde konak immün cevabını etkileyebilmesi patojenik özelliklerine katkıda bulunmaktadır (74). Konak immün sisteminde değişiklik oluşturma kapasitesine sahip 3 M. lipopeptit/proteini; macrophage activating lipopeptide (MALP)-2, P48 ve M161Ag'dir. Bunlar sitokin üretimi, nitrik oksit üretimi ve antijen sunan hücrenin olgunlaşması gibi makrofaj/dendritik hücreler üzerinde benzer immünmodulator etkiler ortaya çıkarmaktadır (67). Çeşitli araştırmalar M161Ag için hücresel reseptörün TLR 2 olduğunu göstermiştir (74). P48 ile M161Ag arasındaki fonksiyonel benzerlik dikkate alındığında P48 için hücresel reseptörün TLR 2 olması gerektiği düşünülmektedir (67). M161Ag varlığında myeloid hücre dizilerinin apoptoza gittiği gösterilmiş, ancak bunun moleküler mekanizması açıklığa kavuşturulamamıştır; TLR'ler içinde yalnızca TLR 2'nin apoptozisi indüklediğinin rapor edildiği göz önüne alınınca M161Ag hücre reseptörünün TLR 2 olması gerektiği düşünülebilir (41). Kompleman sistem aktivasyonu dışında bu M. lipopeptit/proteinlerinin belirtilen diğer etkilerden TLR 2'nin sorumlu olduğu gösterilmiştir (67). TLR 4'süz MALP-2'ye karşılık olarak TNF- α üretebilirken TLR 2'siz veya MyD88'siz fareler bunları üretememektedirler (45). Romatoid artrit ve edinsel immün yetmezlik sendromu ile M. fermentans ve gen ürünlerinin sıklıkla ilişkili olduğu rapor edilmiştir (67). MALP-2 MALP-404 adlı 40 Kilo Dalton (KD) büyüklüğünde bir lipoproteinden köken alan küçük bir lipopeptittir (75). MALP-404

M fermentans'ın immüdominant belirleyicisidir. MALP-404 reaktif artritli hastaların eklemlerinden izole edilmişleri de kapsayan şekilde çoğu M. fermentans suşu tarafından eksprese edilmektedir (24). Birçok farklı bakteriyel protein gibi MALP-404 de HLA-B51 ile ilişkili olabilecek, B.H. ile ilişkisini destekleyen çalışmaların bulunduğu peptid motiflerini içerir (1,25). Zouboulis et al. (24), yaptıkları araştırmada MALP-404 antikorlarını 22 Behçet hastasının 7'sinde (%32) saptarken kontrol grubunun hiçbirisinde saptamamıştır. MALP-404 makrofaj aktivasyonundan sorumludur ve sağlıklı donörlerin makrofajlarının Behçet hastalarının serumları ile karşılaştırıldığında güçlü bir şekilde aktive olduğu gösterilmiştir (26). HLA-B51 eksprese eden Behçet hastalarında M. fermentans enfeksiyonunun çapraz-reaktif otoimmün bir yanıtla yatkinlik sonucunda hastalığı ortaya çıkarmış olması olasıdır (1).

B.H.'de gözlenen mukozal lezyonların HSV-1, S. veya M. gibi mikrobiyal ajanlarca doğrudan ortaya çıktığını düşünmek, çok sayıda organı etkileyen vaskülitin nasıl geliştiğini açıklamamaktadır. Günümüzde vaskülitin doğrudan mikrobiyal nedenden kaynaklanmadığı, ancak bazı mikroorganizmalara ait moleküller ile otoimmün çapraz reaksiyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. Oral mukoza homojenatlarına karşı T hücrelerin proliferatif, sitotoksik ve antikor yanıtları, B.H.'de otoimmünitenin rolüne işaret etmektedir (76-78).

Bu immün yanıtların bir takım çapraz reaksiyonlarca ortaya çıktığı sanılmaktadır. Bu şekilde bir çapraz reaksiyonu açıklayabilecek şekilde homoloji gösteren yapılar ancak çok yakın bir tarihte gösterilebilmiştir. Bu yapılar mikrobiyal 65 KD HSP ve insan 60 KD HSP'dir (23).

Bu iki proteinin yüksek orandaki yapısal benzerliği göz önüne alınarak, mikrobiyal ve mukozal HSP'lerinin çapraz reaksiyona girdiği, B.H.'deki patolojik değişikliklere neden olan immün cevabın bu şekilde ortaya çıktığı düşünülmektedir (23,79,80).

HSP, diğer adıyla stres proteinleri, mikroorganizmalar ve hayvan dokularında bulunan ve ısı dışında anoksi, ağır metal iyonları, hidrojen peroksit ile karşılaşma ya da virüslerle tetiklenen bir grup immünreaktif proteindir. HSP'nin, B.H. patogeneğinde rol aldığını gösteren birçok kanıt söz konusudur. B.H. etyolojisinde

suçlanan 4 S. suşunda da 65-KD'luk HSP'nin bulunduğu gösterilmiştir (81). Behçet hastalarının serumlarında bu HSP'ye karşı IgA ve IgG alt tiplerinde antikorlar immunoblotting ve radioassay yöntemlerle saptanmıştır. Bu hasta serumlarında, ayrıca, hem mikrobiyal hem insan HSP sekanslarına karşılık gelen 4 B hücre epitopu ELISA yöntemiyle belirlenebilmiştir (82). Ek olarak, HSP ile fetal oral mukoza ve insan mitokondriyel P1 antijeni arasında çapraz reaktivite in vitro çalışmalarda kanıtlanmıştır. Yine mikrobiyal HSP üzerinde T hücelere bağlanarak onları uyaran kısmın, bu uyarıyı tekrarlayan oral ülserli, juvenil romatoid artritli hastalarda veya sağlıklı kontrol grubunda değil, sadece Behçet hastalarında ortaya çıkardığı gösterilmiştir (83). Bu bilgiler ışığında, mikrobiyal HSP'lerinin Behçet hastalarının immün sistemini aktive ettiği, bu aktivasyonun normal kişilerde veya başka hastalık gruplarında değil sadece Behçet hastalarında meydana geldiği söylenebilir.

Behçet hastalarının mukozal ülserlerindeki mikrobiyal yük ve bununla ilişkili mikrobiyal HSP'ne karşı oluşan immün yanıtın endojen HSP ile çapraz reaksiyona girerek otoreaktif T hücre klonları oluşturduğu ve buna bağlı olarak B.H.'deki immünopatolojik değişikliklerin görüldüğü düşünülmektedir. Sıklıkla B.H.'nin tekrarlayıcı mukozal ülserlerle başlayıp zaman içinde diğer klinik belirtilerin ortaya çıkması da bu görüşü destekleyici özelliktedir. Lehner et al. (83) S. Sangius antijenine karşı T hücre IL-6 yanıtının 17 Behçet hastasının tamamında ortaya çıktığı, farklı romatolojik hastalığı bulunan 13 kişinin hiçbirinde bu yanıtın oluşmadığını saptamışlardır.

T lenfositlerince salgılanan sitokinlerin B.H.'nin gelişiminde ve hastalığın aktivasyonunda önemli olduğuna inanılır. S. antijenleri ve lipopolisakkaritle uyarılma sonucunda IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, interferon- γ ve TNF- α başta olmak üzere özellikle inflamasyonun gelişiminde önemli olan sitokinlerin arttığı saptanmıştır (37,38,84-87).

T hücreleri taşıdıkları reseptörlere göre $\alpha\beta$ ve $\gamma\delta$ olarak ayrılır. Behçet hastalarında $\gamma\delta$ T-hücrelerinin oranı artmıştır (88,89). Yapılan çalışmalar mikrobiyal HSP'nin T hücre proliferasyonunu $\gamma\delta$ reseptörleri üzerinden sağladığını göstermektedir (80). Behçet hastalarında bu $\gamma\delta$ tipte reseptör taşıyan T hücrelerinin

mitokondriyel insan HSP'ne ait homolog peptitlere de reaksiyon verdiği gözlenmiştir. Ayrıca, bu durumun B.H.'ye spesifik olduğu da gösterilmiştir (90). Söz konusu γδ T hücrelerinin sitokin üretimi dışında T hücrelerini kontrol etme, öldürücü hücre olarak rol alma ve epitel hücre çoğalmasını etkileme özellikleri taşıdığı düşünülmektedir. HSP'ne karşı T hücre proliferatif yanıtı B.H için tanısal bir test olarak kullanılmaktadır. Behçet hastalarının %76'sında pozitif olan bu test tekrarlayan oral ülserleri olan, başka sistemik hastalığı bulunan ve sağlıklı kişilerden oluşan kontrol gruplarının sadece %3'ünde pozitifdir. B.H.'nin aktif döneminde yapıldığında bu test %76'dan da fazla oranda pozitif saptanmaktadır (83). B.H.'nin aktivitesiyle T hücre yanıtı arasında ilişki bulunmaktadır.

T hücrelerinin yanında, monositlerin de hastalığın klinik özelliklerinin oluşumunda payı bulunmaktadır. Sahin et al (91) B.H.'de monositlerin in vivo aktif olduğunu ve hastalıkta saptanan kronik inflamasyonda rolü bulunan çeşitli proinflamatuvar sitokin üretiminden sorumlu olduğunu göstermiştir.

Bakteri, virüs veya HSP tarafından uyarılmış makrofajların hem T hücreleri ve nötrofilleri aktive ettiği, hem de direk doku hasarı meydana getirdiği düşünülmektedir. Makrofajlar immün sistemi hem tip 1 yardımcı T hücrelerini aktive ederek hem de tip 2 yardımcı T hücrelerini inaktive ederek harekete geçirmektedir. Behçet hasta serumlarının in vitro klasik yoldan insan makrofajlarını aktive ettiği ve sitokin salımına yol açtığı gösterilmiştir (26).

Hormonal faktörlerin B.H.'de rolü olduğu uzun bir zamandır bilinmektedir. Bu ilişkiye işaret eden bir takım klinik özellikler bulunmaktadır. Erkeklerde ve daha genç yaşlarda görüldüğünde hastalığın seyri daha şiddetli olmaktadır. Göz tutulumu, folikülit ve tromboflebit erkek Behçet hastalarında daha sık ortaya çıkmaktadır. Paterji testi erkeklerde daha güçlü pozitiflik göstermektedir. B.H.'nin puberte öncesinde veya 50 yaşından sonra başlangıç göstermesi nadirdir. B.H. 40 yaşından sonra ortaya çıktığında görme kaybına yol açacak derecede şiddetli göz tutulumu ve merkezi sinir sistemi tutulumu gibi ciddi bulgular daha nadir gözlenmektedir (30,92). Hastalığın göz bulguları dışındaki klinik görünümünün şiddeti zamanla düzelme eğilimindedir (93). Behçet hastalarında sebum üretiminin sağlıklı kişilere göre daha

fazla olduğu saptanmıştır (94). Ayrıca, premenstrüel dönemde atak sıklığında artış ve gebelikle düzelme eğilimi gözlenmektedir (95). B.H.'deki papülopüstüler lezyonların akne vulgarise benzerliği ve akne vulgarisin de androjenlerle ilişkisi dikkat çekicidir. Kliniğimizde yapılan bir çalışmada Behçet hastalarının papülopüstüler lezyonlarındaki androjen reseptör düzeylerinin sağlam görünümlü lezyonsuz deri alanına göre ve sağlıklı kontrollerin derilerine göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Alpsoy et al. (96) paterji testi alanında normal deriye göre anlamlı derecede yüksek androjen reseptör düzeyleri saptamıştır. Hormonların, özellikle de androjenlerin etyopatogeneze veya en azından hastalığın seyrinde önemi olduğu düşünülmektedir.

2.1.4. Klinik

Deri ve mukoza belirtileri B.H.'nin en önemli bulgularındandır. Hastalığın başlangıcında ya da herhangi bir döneminde en sık saptanan ve hastalığın tanısında da son derece önemli olan belirtilerdir. Oral (%92-100) ve genital ülserler (%57-93), deri belirtileri (%38-99), göz belirtileri (%29-100) ve eklem bulguları (%16-84) hastalığın görüldüğü tüm ülkelerde en sık saptanan semptomlardır. Eritema nodozum benzeri lezyonlar (%15-78) ve papülopüstüler lezyonlar (%28-96) ise hastalığın en sık gözlenen deri belirtileridir (96-98).

Hastalığın en sık başlangıç semptomu hemen tüm dünyada oral ülser olarak bildirilmiştir (%47-86) (99). Ağrılı ve yineleyici özellikteki oral mukoza ülserleri, hastalığın en önemli semptomlarındandır. Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu' nun birçok ülkeden elde ettiği verilere göre hastaların %97-99' unda bulunmaktadır (13). Genellikle dudak ve yanak mukozası, yumuşak damak ve dilin ventral yüzü gibi ağız mukozasının keratinizasyon göstermeyen bölgelerine lokalize olurlar. Sert damak, diş etleri ve dilin dorzal yüzü gibi keratinize bölgeler daha az sıklıkla tutulur. Tonsil ve farenks yerleşimi nadir de olsa görülebilir. Ağrı en önemli semptomdur ve zaman zaman beslenme güçlüğüne yol açabilir. Oral ülserler yuvarlak ya da oval, eritemli ve ödemli lezyonlar halinde başlar ve 48 saat içerisinde hızla ülsere olurlar. Böylece oval-yuvarlak, kenarları ödemli ve eritemli bir hale ile çevrili, tabanı gri-sarı renkte ülser/ler gelişir. Oral ülserler genellikle 1-4 hafta devam eder (100-103).

Oral mukoza ülserleri çaplarına göre üç grupta incelenir. Minör ülserler hastalığın seyrinde en sık görülen oral ülser tipidir. Tek ya da çok sayıda, çapları 1 cm' den küçük (sıklıkla 3-6 mm) olan ve genellikle 1-2 hafta içerisinde skatris bırakmadan iyileşen yüzeysel ülserlerdir. Major ülserler görünüm olarak minör ülserlere benzemekle birlikte çapları 1 cm' den büyük olup, 10-40 gün veya daha uzun bir sürede ve skatris ile iyileşir. Herpetiform ülserler sayıları 100'e ulaşan, 1-2 mm çaplı, yüzeysel ve birbirleriyle birleşme eğilimi olan ülserlerdir. Daha nadir görülen herpetiform ülserler, genellikle skatris bırakmadan iyileşir (100-103).

Dr. Hulusi Behçet tarafından tanımlanmış orjinal üç semptomdan birisi olan genital ülserler genellikle papülopüstül şeklinde başlar ve hızla ülsere olurlar. Genital ülserlerin görünümü ve seyri oral ülserlerinkine benzer. Ancak genellikle daha derindirler ve daha az sıklıkta tekrarlama özelliği gösterirler. Genital ülserler ağrı yanında fiziksel aktivitede zorlanmalara neden olabilir (100-103). Erkeklerde en sık gözlenen lokalizasyon skrotumdur. Kadınlarda ise en sık lokalizasyon labiumlardır (104,105).

B.H.'nin deri belirtileri hastalığın tanısında son derece önemlidir ve büyük bir çeşitlilik gösterir. Bunlar arasında eritema nodozum benzeri lezyonlar, papülopüstüller lezyonlar, yüzeysel tromboflebit, ekstragenital ülser, paterji reaksiyonu ve diğer vaskülitik deri belirtileri sayılabilir (106-107).

Klinikte en sık gözlenen deri belirtisi olan papülopüstüller lezyonlar eritemli zeminde yerleşmiş follikülit veya akneye benzer steril püstüllerle karakterizedir. Papül halinde başlayan lezyonlar, 24-48 saat içinde püstüle dönüşürler ve sıklıkla gövde, alt ekstremiteler ve yüz bölgesi yerleşimi gösterirler (106,107). Bu tip lezyonların olguların %65-96' sında bulunduğu bildirilmiştir (97,106). Foliküler yerleşim göstermeyen ve özellikle gövde ve ekstremitelere lokalize olan lezyonların hastalık için spesifik olduğu ve lökositoklastik vaskülitin temel histopatolojik değişiklik olduğu, lezyon bölgesindeki vasküler yapılarda belirgin bir immünglobulin birikimi bulunduğu gösterilmiştir (108).

Eritema nodozum benzeri lezyonlar kadınlarda daha sık gözlenmektedir. Eritema nodozum benzeri lezyonlar özellikle alt ekstremitelere lokalize olurlar.

Subkutan yerleşimli olan bu lezyonlar ağrılıdır. Eritemli lezyonlar lokal ısı artışı gösterir ve ortalama 2-3 hafta içerisinde, ülserleşmeksizin gerilerler. Özellikle koyu tenlilerde daha belirgin olmak üzere lezyonların yerlerinde pigmentasyon bırakarak ve bazen de skuamlanarak kaybolduğu gözlenir. Lezyonlar daha az sıklıkla kalça, yüz ve boyun lokalizasyonu gösterebilir. Klinik olarak klasik eritema nodozumdan ayırt edilemezler (109,110).

B.H.'deki vasküler tutulumun özellikle venöz sistemi etkilediği saptanmıştır. En sık gözlenen venöz damar tutulum şekli ise yüzeysel tromboflebittir (%47.3). Hastalar eritemli, hassas ve lineer bir dizilim gösteren subkutan nodüler lezyonlara sahiptir. Özellikle erkek hastalarda sık gözlenen bu tutulum şeklinde tromboz ve takiben de skleroz gelişimine genel bir eğilim vardır. Venöz sistemin çok sayıda segmenti aynı anda tutulabilir ve bu nedenle de nodüllerin lokalizasyonu günler içerisinde değişiklikler gösterebilir (111,112).

Deri tutulumunun bir diğer klinik görünümü olan ekstrasgenital ülserlerin hastaların %3'ünde gözlemlendiği bildirilmiştir. Lezyon, klinik olarak hastalığın aftöz lezyonlarına benzer. Kenarları zımbayla delinmiş gibi keskin sınırlı ve ödemli, çevresi eritemli, tabanı sarı renkte, derin ülserlerdir. Tekrarlayıcı özellik gösteren ekstrasgenital ülserler genellikle skatrisle sonlanır. Bacaklar, koltuk altları, meme, boyun, ayak parmak araları, inguinal bölge ve boyun gibi alanlara lokalize olabilir (113). Çocuk hastalarda da sık rastlanan deri belirtilerinden olan ekstrasgenital ülserler hastalığın en özgün belirtilerindendir (114,115).

Behçet hastalarının çoğunda nonspesifik bir uyarana karşı deri yanıtı alınmakta ve bu fenomen paterji testi ile gösterilebilmektedir. Deri paterji testi, iğne batırılan alanda gelişen artmış nonspesifik deri reaktivitesini gösterir (116,117). Bu reaksiyon sonucu gelişen lezyonların Behçet hastalarında spontan olarak gelişen papülopüstüler lezyonlar ile benzer olduğu gösterilmiştir. Deri paterji testi steril koşullar altında, ön kol fleksör yüzüne uygulanır. Testin enjektör iğnesi ile ve en az iki ayrı noktaya pikür yapılarak uygulanması önerilmektedir (118). Deri paterji testinin pozitiflik oranı %6-71 arasında değişmektedir. Japonya ve Akdeniz ülkelerinde test pozitifliği ortalama %60-70 iken batılı ülkelere bu oran düşmekte ve testin tanı koydurucu özelliği

azalmaktadır (97). Ancak yine de son derece özgün bir bulgu olan deri paterji testi hemen hemen tüm tanı kriterlerinin vazgeçilmez elemanlarından.

Sweet sendromu benzeri, pyoderma gangrenozum benzeri, eritema multiforme benzeri lezyonlar, palpabl purpurik lezyonlar, subungual infarktlar, hemorajik büller, fronk l ve abseler diğ r deri belirtileri arasında yer almaktadır (101,119-124).

B.H.'nin en ciddi belirtilerinden birisi olan ve körlükle sonuçlanabilen göz tutulumu, erkeklerde ve hastalığın ilk yıllarında daha siktir (1,2,125). Göz tutulumu;  n üveit, arka üveit ve retinal vaskülit olmak üzere başlıca üç grubu içerir. Tek başına ön segment tutulması nadirdir. Tutulum sıklıkla bazen  n, bazen arka üveit ağırlıklı olmak üzere panüveit ve/veya retinal vaskülit şeklindedir. G z tutulumunun seyri ataklar halinde ve alevlenmeler ve iyile melerle gider. Ciddi göz komplikasyonları arka segment tutulumu sonucunda gelişir. Bu alevlenmeler sırasında görülebilen  n kamera ve vitreus içinde iltihabi hücre ve protein artışı retinada eksüda ve hemoraji, papil  demi gibi bulguların bir kısmı remisyon sırasında kaybolurken bazı hastalarda vitreus içinde opasite, optik atrofi, kistoid maküler  dem gibi kalıcı komplikasyonlara yol açarlar. Sekonder glokom ve katarakt gibi komplikasyonların da eklenmesi ile görme azalır. Hastaların %50'sinde görülen göz tutulumunda görme kaybı göz tutulumu olanların %10-20'sinde ortaya çıkar (25,125).

B.H.'de eklem tutulumu ilk kez hastalık tanımlandıktan bir yıl sonra yine Dr. Hulusi Behçet tarafından bildirilmiştir. Eklem tutulumu sıklıkla artr t şeklinde olabileceği gibi artralji şeklinde de olabilmektedir. Hastaların yaklaşık %60'ında bulunur. Tekrarlayıcı ve genellikle noneroziv özellikte, seronegatif bir artrittir. Tutulum genellikle asimetrik ve oligoartiküler tipte olup en sık diz eklemi, daha düşük oranda ise ayak bileği, el bileği ve dirsek tutulumu gözlenir. Reaktif artr tlerin tersine sakroileit nadiren görülür (1,101,107).

Nörolojik bulgular multipl skleroz ile benzerlik gösterip hastaların %4-42'sinde görülmektedir. Basit bir ba  ağrısından, ciddi meningoensefalit, benign intrakraniyal hipertansiyon, beyin sapı lezyonları, kraniyal sinir paralizileri, piramidal, ekstrapiramidal ve serebellar sistem belirtileri, spinal kord ve periferik sinir tutulumuna kadar değişen özellikler gösteren nörolojik bulguların mortalitesi

yüksektir. Hastaların yaklaşık 2/3'ü nörolojik belirtilerin ortaya çıkmasından itibaren 1 yıl içerisinde kaybedilmektedir (1,102,126).

B.H.'de vasküler tutulum temelde venöz, arteriyel oklüzyon ve arteriyel anevrizmalar şeklindedir. Daha sık görülen venöz tutulum genellikle yüzeysel veya derin tromboflebit şeklinde olup genellikle alt ekstremitelere yerleşim gösterir. Tekrarlayan tromboflebit atakları hastaların yaklaşık dörtte birinde görülür. Pulmoner emboli B.H.'nin nadir görülen ancak mortalite ile sonuçlanabilen ciddi bir damar tutulumudur. Vena kava superior veya vena kava inferior gibi büyük venlerin tıkanması durumunda göğüs ve karında kollateraller oluşur. Tam olarak sıklığı bilinmeyen arteriyel tutulum; ciddi bir komplikasyondur. Nadiren femoral ve popliteal arter gibi damarlarda anevrizmalar gelişebilir ve rüptür sonucu ölüme neden olabilirler. Pulmoner arter anevrizması da ölümlü sonuçlanabilen bir başka ciddi vasküler tutulum şeklidir. Damar lezyonları olan hastalarda paterji testi pozitifliği ve göz tutulumu sıklığı artmıştır. (103,104,125).

Gastrointestinal sistem tutulumu özellikle Japon Behçet hastalarında sık görülen bir bulgudur. Ülkemizdeki Behçet hastalarında nadir görülmektedir. Karın ağrısı, distansiyon, bulantı, iştah azalması, ishal gibi nonspesifik bulgulardan, kanlı diyare ile seyreden ülseratif kolite benzer anüs ve kolon ülserasyonlarına kadar değişen özellikte olabilir. Submukozanın lenfositik infiltrasyonu ve küçük damarların vaskülitini tanımlayan klinik semptomlara yol açan intestinal ülserasyonlarla sonuçlanır. Lezyonlar en çok terminal ileum ve çekumda lokalize olur. Barsak perforasyonları B.H.'de ölüm sebeplerindendir (125).

Kalp tutulumu perikardit, myokardit, endokardiyal fibrozis sonucu kapak fonksiyon bozuklukları gibi belirtilerle karakterizedir ve hastaların %5'inde ortaya çıkar (1,103,104).

B.H.'de akciğer tutulumu nadir olup, bazı serilerde %5 oranı belirtilmektedir. B.H.'de, akciğere ait patolojik değişikliklerin temelinde, her boydan pulmoner arter ve ven ile septal kapiller damarlarda yerleşen lenfositik ve nekrotizan vaskülit yatmaktadır. Buna bağlı olarak da pulmoner arter anevrizmaları, arteriel ve venöz

trombozlar, pulmoner enfarktlar görülebilmektedir. Bu lezyonlar nadir olmakla birlikte, ölümcül seyir olasılığı konunun önemini arttırmaktadır (127,128).

Orşit, epididimit, pankreatit, amiloidoz, hepatit, pulmoner ve bölgesel lenfadenopati hastalığın daha nadir görülen diğer bulgularıdır (1,125).

2.1.5. Histopatoloji

B.H.'de deri lezyonlarının histolojik değerlendirilmesinde esas olarak vaskülit ve tromboz saptanır. Genellikle her boydan arter ve venleri tutan bir vaskülit tablosu gözlenir. Erken dönemdeki deri lezyonlarının histopatolojik incelemesi nötrofilik vasküler reaksiyon ya da lökositoklastik vaskülit gelişimini gösterir. Geç dönemde ise lenfositik bir perivaskülit bulunur. Bu bulgular B.H.'nin patogenezinde immün kompleks-aracılı bir vaskülitin bulunduğu ve temel olarak vasküler endotelin tutulduğuna işaret etmektedir (128).

2.1.5. Tanı

B.H.'de kesin tanı koydurucu laboratuvar ve histopatolojik bulgular olmadığından tanı klinik bulgulara dayanmaktadır. Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu' nun tanımladığı tanı kriterleri son yıllarda en çok kabul gören kriterlerdir. Bu kriterler tekrarlayan oral ülserler (1 yıl içinde en az 3 kez tekrarlayan, hastanın veya doktorun tanımladığı minör, major veya herpetiform ülserler), tekrarlayan genital ülserler (hastanın veya doktorun tanımladığı genital ülser veya skatrisi), göz lezyonları (ön veya arka üveit, retinal vaskülit veya biomikroskopi ile vitreusta hücre saptanması), deri lezyonları (hastanın tanımladığı ya da hekimin saptadığı eritema nodozum, hekimin saptadığı papülopüstüler lezyonlar veya steroid tedavisinde olmayan erişkin hastalarda akneiform nodüller) ve paterji testinin pozitifliğinden (24-48 saat sonra yapılan paterjinin pozitif olması) oluşur. Tekrarlayan oral ülserlere ek olarak en az iki bulgunun daha olması B.H. tanısını koydurmaktadır (124).

2.1.6. Tedavi

B.H.'nin standart bir tedavisi bulunmamaktadır. Topikal antiseptik ve antiinflamatuvar etkili ajanlar, kostik solüsyonlar, anestetikler, sükralfat, topikal veya

sistemik kortikosteroidler, kolşisin, pentoksifilin, interferon-alfa, siklosporin, azatioprin, metotreksat, dapson, talidomid ve anti-TNF tedavi seçenekleri arasındadır. Tedavi seçimine hastanın klinik tutulumları değerlendirilerek karar verilir (99)

2.2. Rekürren Aftöz Stomatit

Rekürren aftöz stomatit ağız içinde tekrarlayan ülserlerle karakterize bir hastalıktır. Ağız içinde ülser yapan inflamatuvar hastalıklar içinde sıklık açısından önemli bir yer tutar. Prevalans seçilen topluma göre değişmekle birlikte %5-50 arasındadır (129).

Rekürren aftöz stomatitin etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Hastalığın gelişiminde otoimmünitenin önemli bir rol oynadığına ilişkin çok sayıda bulgular saptanmıştır. Ayrıca, B.H.'ye benzer şekilde enfeksiyöz etkenler, immün sistemin çalışmasında bazı düzensizlikler ve inflamatuvar sitokinlerin rolü üzerinde durulmaktadır (101).

Genetik yatkınlıkla ilişkisi olduğu bilinen rekürren aftöz stomatitte çeşitli inflamatuvar sitokinlere ait gen polimorfizmleri çalışılmıştır. Bunlardan IL-1 β ve IL-6 genlerine ait polimorfizmler ile ilişki gösterilmiştir. (130).

2.3. Romatoid Artrit

Romatoid artrit sistemik tutulum gösterebilen, özellikle deformitelerle sonlanabilen kronik eklem tutulumuna yol açan inflamatuvar bir hastalıktır. Eklem sinovyasında yangı ve çoğalmaya neden olur. Zamanla, sinovya da pannus oluşumu sonucunda kıkırdak, kemik doku ve komşu diğer dokularda yıkıma, eklemde şekil bozukluğuna yol açar (131).

Yangısal romatizmal hastalıkların en önemli ve sık görüleni olan romatoid artrit etyopatogenezi günümüzde açıklığa kavuşturulamamıştır. Birden fazla mekanizmanın rol oynadığı düşünülmektedir. Bunlar arasında pyojenik bakteriler, M. gibi enfeksiyöz ajanlar, bakteriyel HSP, genetik ve immünolojik faktörler de yer almaktadır (131).

Romatoid artritli hastalarda çeşitli inflamatuvar sitokin gen polimorfimleri ile ilişkiye yönelik birçok araştırma yapılmıştır. İlişki saptanan genler arasında TNF- α ve IL-1 de yer almaktadır (132,133).

2.4. Toll-like Receptor

2.4.1. Toll Geni

Drosophila'da bulunan prototipik Toll geni hem bu sineğin fungal infeksiyonlara direncinde önemli rol oynamakta, hem de embriyodaki dorsal-ventral polarizasyonda yer alan bir plazma membran reseptörünü kodlamaktadır (9). Drosophila'daki Toll sinyal yolağı ile insanlardaki IL-1 sinyal yolağı arasında büyük benzerlikler bulunmaktadır (10).

2.4.2. Toll-like Receptor Geni ve İşlevi

Memelilerde bulunan ve Toll ile homoloji gösteren genlere TLR denmektedir. Bugüne kadar birkaç TLR tanımlanmıştır. Bu klonlanan genler arasında özellikle TLR 2 geni birçok araştırmaya konu olmuştur. TLR 2'nin in vivo işlevi tam olarak belirlenememiştir (11). Ancak TLR 2'nin doğal bağışıklık sisteminde kendine özgü bir işlevi olduğu kesindir (12). Uygun hücre dizilerine transfekte edildiğinde TLR 2 peptidoglikan ve lipoteikoik asit gibi bir grup mikroorganizma bileşeni tarafından aktive edilmektedir (11). Araştırmacıların TLR 2'ye ilgisi TLR 2'nin B. Burgdorferi, T. Pallidum ve M. Fermentans gibi bir grup bakterinin hücre duvarından elde edilen lipoproteinler için en önemli memeli reseptörü olduğunun anlaşılmasıyla daha da artmıştır (12). TLR 2'nin Borrelia, M. ve Treponema gibi bazı bakterilerin lipoproteinlerinin tanınmasında rol aldığı kanıtlanmıştır (134). TLR 2'nin stafilokok sinyalinde rol aldığı da gösterilmiştir (135,136). Çeşitli bakteri duvar bileşenleri dışında M. fermentans, Staphylococcus aureus, S. Pneumonia, Listeria monocytogenes, Mycobacterium tuberculosis, Borrelia burgdorferi, Treponema pallidum ve mayalar gibi mikroorganizmaların da TLR 2 aktivasyonu sağladığı gösterilmiştir. Tüberküloz bakterisi ile enfekte makrofajlardaki TLR 2'nin tetiklenmesiyle immün sistem hücrelerinin patojenlere karşı aktive olduğu bildirilmiştir (137). Borrelia burgdorferi, Treponema pallidum, M. fermentans

membran lipoprotein/lipopeptitlerinin heterolog olarak TLR 2 eksprese eden hücreleri aktive ettiği, ancak TLR 1 ve TLR 4 eksprese eden hücreleri aktive etmediği izlenmiştir. TLR 2 antikorunun bakteriyel lipoprotein/lipopeptitleriyle tetiklenen kan mononükleer TNF salınımını engellediği saptanmıştır. TLR 2-null Çin hamster makrofajlarının lipoprotein/lipopeptitlerle aktive edilemedikleri gözlenmiştir (134). TLR 4 geni taşımayan fare hücrelerinin lipopolisakkaritlere cevap olarak sitokin üretmedikleri, TLR 2 geni taşımayan fare hücrelerinin ise Gram-pozitif bakteri bileşenlerine cevap veremedikleri gösterilmiştir (137). TLR 2 geni iptal edilmiş fare embriyonik kök hücreleri kullanılarak bu genin peptidoglikan ve lipopeptit algılanması için gerekli olduğu bulunmuştur (138,139). Bakteriyel lipoproteinler kendine özgü bir NH₂-terminal lipo amino asit olan N-acyl-S-diacylglyceryl cysteine ile karakterizedir (140) ve bu kısmın TLR 2 üzerinden hücre aktivasyonu için çok önemli olduğu gösterilmiştir (135,136,141). Sonuç olarak TLR 2 birçok Gram-pozitif bakteri duvarı bileşenlerini tanımaktadır.

2.4.3. Toll-like receptor Geni ile İlişkili Polimorfizmler

Bilim dünyasında haklı bir ilgi uyandıran bir başka alan da kişilerin TLR'lerinin çeşitliliğidir. Bu genlerdeki değişiklikler bazı insanların veya popülasyonların bazı mikroorganizmalara daha az ya da çok duyarlı olmasını açıklayabilir. Beutler grubunun elde ettiği kanıtlara göre bir TLR mutasyonuna sahip kişi sepsise neden olabilen bir bakteriyel enfeksiyona diğer kişilerden daha duyarlıdır. TLR'lerin enfeksiyonların seyri üzerinde güçlü bir etkisi olduğu ve birçok hastalığa duyarlılıkta TLR'lerin önemli belirleyici olduğu düşünülmektedir. Lorenz et al. (142) TLR 2 Arg753Gln polimorfizminin Gram-pozitif septik şok için risk faktörü olabileceğini düşündüren sonuçlara ulaşmıştır. TLR 2 Arg753Gln polimorfizminin lipopolisakkarit tepkisini etkilemediği, ancak *Borrelia*, *M* ve *Treponema* peptitlerine karşı immün yanıtsızlığa neden olduğu belirlenmiştir (12).

2.4.4. Behçet Hastalığı ve Toll-like Receptor

TLR 2'nin doğal immünitinin *S. suşları* gibi Gram-pozitif mikroorganizmaları tanımasındaki etkin rolü bilinmektedir. Behçet hastalarının monosit ve

granulositlerinde 60 KD HSP, lipopolisakkarit ve S. sangius ekstraktı ile uyarılmadan önce ve sonra TLR 2 ekspresyonunun değerlendirildiği bir çalışmada, bu uyaranlarla Behçet hastalarının granulositlerinin TLR 2 ekspresyonunda artış, monositlerin TLR 2 ekspresyonunda ise azalma saptanmıştır (143)

2.5. Gen Polimorfizmi

Bir popülasyonda mevcut olan genetik çeşitliliğe polimorfizm denir. Polimorfizmin tanımı; bir gen veya kromozomun bir toplumda, iki veya daha fazla sıklıkta rastlanan allelinin varlığıdır. Bir başka ifadeyle gen polimorfizmi DNA üzerinde hastalığa neden olmayan, suskun nükleotid değişimleri olarak tanımlanabilir. Allel (diploid bir organizmada herhangi iki eş kromozomdan birinde var olan bir gen veya DNA dizisinin alternatif formu) sayısı arttıkça toplumda o gen için polimorfizm de artar. Bu doğal farklılıklar kuşaktan kuşağa Mendel yasalarına göre aktarılır (144)

İnsan genomunda tek baz değişiklikleri çok sıktır. Bazılarına göre bu sıklık her 100 baz çiftinde bir olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nükleotid değişikliklerinin büyük çoğunluğu zararsızdır. Eğer bu polimorfizmler, bir restriksiyon enzimi kesme bölgesinin yok olmasına ya da yeniden oluşmasına neden olurlarsa; kolaylıkla saptanabilirler. DNA; bu enzimlerle kesildiğinde farklı uzunlukta parçalar oluşur ve analizlerde değişik pozisyonlarda görülürler. Bunlara restriction fragment length polymorphism (RFLP) denmektedir (144)

Eğer bir bireyin herhangi bir biallelik DNA yapısı RFLP’de heterozigot ise, o takdirde birey bakılan biallelik yapı için bilgilendirici olarak tanımlanır. Saptanan değişiklik bir gen bölgesine yakın olduğunda; gendeki hatanın bu polimorfizme paralel gittiği varsayılır. Bu gene indirekt yaklaşım olarak tanımlanabilir (144).

Kullanılan genetik işaret ve hastalık loküsü birbirine ne kadar yakınsa rekombinasyon olasılığı o kadar küçüktür ki bu da analiz için avantajdır (144).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmaya Temmuz 2003- Ekim 2004 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Behçet Hastalığı Tanı, Tedavi ve Araştırma Ünitesi'ne başvuran ve Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu'nun kriterlerine göre (124) B.H. tanısı almış, gerekli bilgilendirmeden sonra çalışmaya katılmayı kabul eden ardışık 100 olgu ile kontrol grubu olarak çalışmaya dahil olmayı kabul eden otoimmün hastalık tanısı almamış, özgeçmişinde rekürren aftöz stomatit, üveit, artralji, eritema nodozum ve soygeçmişinde B.H. bulunmayan, herhangi bir romatizmal hastalık tanısına sahip olmayan 100 olgu alındı. Ayrıca, rekürren aftöz stomatit tanısı almış, ancak B.H.'na ait başka belirti ve bulguya sahip olmayan 25 olgu ile romatoid artrit tanısı almış 25 hasta da çalışmaya dahil edildi.

Behçet hastaları, sağlıklı kontrol, rekürren aftöz stomatit ve romatoid artritlen oluşan 4 çalışma grubu oluşturulurken cinsiyet farkı gözetilmedi. Tüm çalışma gruplarından herhangi iki kişinin akraba olmamasına dikkat edildi.

3.2. TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi

Çalışma için, tüm olgulardan günün herhangi bir saatinde alınan 5 ml venöz kan TLR 2 gen polimorfizmi araştırılmak üzere kullanıldı.

TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi, insan TLR 2 messenger RNA sekansının (GenBANK acc. no: BC033756) 2408 nükleotidine denk gelmektedir. Bu pozisyondaki guanin (G) bazının yerine, polimorfizm varlığında adenin (A) bazı gelmekte ve böylece yabancıl tipte sitozin (C) GG olan ve arginini kodlayan kodon, CAG haline dönüşerek glisinini kodlar hale gelmektedir. Ayrıca, nükleotid düzeyindeki G-A dönüşümü, bu bölgede SfiI restriksiyon enzimi için kesim noktası oluşturmaktadır (C timin [T] GCAG). Bu nedenle TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi açısından genotiplendirme çalışmalarında polymerase chain reaction (PCR)-RFLP tekniği kullanılmıştır. Bu amaçla önceden alınmış olan 5 ml kandan, QIAamp deoxyribonucleic acid blood midi kiti (Qiagen Inc.) kullanılarak DNA izole edilmiştir. Daha sonra aşağıdaki primerler kullanılarak TLR 2 geninin 407 bp lik

kısmı PCR ile çoğaltılmış ve SfcI enzimi ile kesim yapılarak genotiplendime yapılmıştır; TLR 2 Forward Primer: 5' GCC TAC TGG GTG GAG AAC CT (BC033756: 2104-2123) ve TLR 2 Reverse Primer: 5' GGA ACC TAG GAC TTT ATC GCA GCT CTC (BC033756: 2510-2486).

3.2.1. TLR 2 Geni Amplifikasyonu İçin Kullanılan PCR Koşulları

Reaksiyon toplam 50 µl'lik hacimde kurulmuştur.

1x	Taq Polimeraz Tampon solüsyonu
3 mM	MgCl ₂
0.2 mM	dNTP mix
20 pmol	forward primer
20 pmol	reverse primer
2 ünite	Taq polimeraz (MBI Fermentas)

Reaksiyon, Techno marka thermal cycler da 30 döngü olarak çoğaltılmış (95⁰C'de 1 dak., 65⁰C'de 1 dak, 72⁰C'de 1 dak.) ve 72⁰C'de 10 dakikalık bir uzatımdan sonra buz üzerine alınmıştır. Daha sonra 5 µl'lik bir miktar, agaroz jele yüklenmiş ve 50V'ta, TAE tampon solüsyonunda 30 dakika elektroforez yapılmış ve jel ethidium bromür ile boyanarak ultraviolet ışığında PCR ürünleri gözlenmiştir (407 bp).

3.2.2. Restriction Fragment Length Polymorphism

PCR ürünleri, öncelikle phenol/choloroform yöntemi ile temizlenmiş ve %96 etanol ile DNA çöktürülmüştür. DNA kurutulduktan sonra 20 µl steril ddH₂O'da sulandırılmış ve bundan 5 µl alınarak SfcI enzimi ile kesilmiştir.

3.2.3. SfcI Enzimi ile Kesim Koşulları

Reaksiyon toplam 20 µl'de yapılmıştır ve 5 µl PCR ürünü, 1x SfcI tampon solüsyonu ve 4 ünite SfcI (New England Biolabs) enzimi ile 37⁰C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Kesim ürünleri yukarıda anlatıldığı gibi jel elektroforezini takiben ultraviolet altında incelenmiştir.

Yabanıl tipte (GG homozigot) SfcI enzim kesim bölgesi bulunmadığından, SfcI enzimi PCR ürününü kesmemiş ve GG homozigotlarda 407 bp'lik ürün gözlenmiştir.

Polimorfizm varlığında (AA homozigot) ise SfcI enzim tanı bölgesi oluştuğundan 407 bp'lik PCR ürünü, SfcI enzimi ile kesim sonrasında 301 ve 106 bp'lik iki parçaya ayrılmıştır. SfcI enzimi ile kesim sonrasında 407- 301 ve 106 bp'lik üç fragmanın da gözlemlendiği olgular ise G/A heterozigot olarak değerlendirilmişlerdir (145)

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm istatistiksel değerlendirmeler Statistical Packages For Social Sciences version 11.5 for MS Windows programıyla yapıldı.

Çalışma gruplarındaki genotip ve allel dağılımları; ki-kare testi (iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi) ile karşılaştırıldı. Gruplar arasında cinsiyet farkları; ki-kare testi ile değerlendirildi. Grupların yaşı student-t testi ile karşılaştırıldı. Değerler; ortalama $\pm$ SS olarak belirtildi. İstatistiksel olarak; $p \leq 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 100 Behçet hastasının 83'ünde, 100 sağlıklı kontrol olgusunun 95'inde, 25 rekürren aftöz stomatitli olgunun 12'sinde ve 25 romatoid artritli hastanın 21'inde TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi sonuçları elde edildi. Alınan venöz kanın taşınması, saklanması ve çalışma sürecinde ortaya çıkan sorunlar nedeniyle toplam 39 kişide TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi çalışılamadı.

TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi çalışılan 83 Behçet hastasının (39 Kadın, 44 Erkek) yaşı 12-58 arasında değişiyordu. Sağlıklı kontrol grubuna dahil olan kişilerin (54 Kadın, 41 Erkek, toplam 95 kişi) yaşları 18-71 arasında; rekürren aftöz stomatit grubundakilerin (9 Kadın, 3 Erkek, toplam 12 olgu) yaşları 19-45 arasında; romatoid artritli olguların (15 Kadın, 6 Erkek, toplam 21 kişi) yaşları ise 27-72 arasındaydı.

Çalışma gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı Çizelge 4.1'de verilmiştir. Yaş dağılımı açısından değerlendirildiğinde, sağlıklı kontrol grubu ve romatoid artrit grubunun yaşları Behçet hastalarının oluşturduğu grubun yaşlarından anlamlı derecede yüksekti ($p < 0,05$). Gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Behçet hastalarının klinik özelliklerine ait veriler Çizelge 4.2'de verilmiştir.

İnsan TLR 2 messenger RNA sekansının 2408 nükleotidindeki TLR 2 Arg753Gln polimorfizminin çalışma gruplarındaki genotip ve allel dağılımları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Genotip ve allel dağılımları karşılaştırıldığında herhangi 2 çalışma grubu arasında istatistiksel olarak belirgin bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$). Behçet hastalarının klinik bulguları ile TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, belirgin derecede bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$). Ayrıca, cinsiyet yönünden Behçet hastaları ele alındığında da TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi açısından erkek ve kadın hastalar arasında belirgin derecede bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$).

Çizelge 4.1. Behçet hastalığı, sağlıklı kontrol, rekürren aftöz stomatit ve romatoid artrit gruplarının demografik bulguları

	Behçet Hastalığı (n: 83)	Kontrol (n: 128)		
		Sağlıklı Kontrol (n: 95)	Rekürren Aftöz Stomatit (n: 12)	Romatoit Artrit (n: 21)
Yaş (Ort. ± SD)	34.46 ±9.87	40,29 ±13.12	31.17 ±7.54	49.71 ±10.11
Cinsiyet				
Erkek	44 (53,0%)	41 (%43,2)	3 (%25)	6 (%28,6)
Kadın	39 (47,0%)	54 (%56,8)	9 (%75)	15 (%71,4)

Çizelge 4.2. Behçet hastalarının klinik özellikleri.

	Hastalar	
	(n: 83)	(%)
Klinik özellikler		
Oral ülser	83	100,0
Genital ülser	70	84,33
Papülopüstüler lezyonlar	64	77,11
Eklemler tutulumu	51	61,45
Eritema nodozum	27	32,53
Göz tutulumu	20	24,10
Tromboflebit	8	9,88
Nörolojik tutulum	4	4,55
Gastrointestinal tutulum	2	2,41
Deri paterji testi	44	53,01
HLA B ₅₁	28	33,73

Çizelge 4.3. Behçet hastalığı, sağlıklı kontrol, rekürren aftöz stomatit ve romatoid artrit gruplarının TLR 2 Arg753Gln polimorfizmine ait allel ve genotip sıklıkları

TLR 2 Arg753Gln	Allel (%)		Genotip (%)		
	G	A	G/G	A/G	A/A
Behçet Hastalığı (n:83)	165 (99,4)	1 (0,6)	82 (98,8)	1 (1,2)	-
Sağlıklı Kontrol (n:95)	188 (98,9)	2 (1,1)	93 (97,9)	2 (2,1)	-
Rek. Aftöz Stomatit (n:12)	24 (100)	-	12 (100)	-	-
Romatoid Artrit (n:21)	42 (100)	-	21 (100)	-	-

5. TARTIŞMA

Çalışmanın sonucunda elde edilen veriler Behçet hastalarında TLR 2 Arg753Gln polimorfizm sıklığının sağlıklı kontrol grubunu oluşturan kişiler, rekürren aftöz stomatit ve romatoid artritli hastalardan farklı olmadığını göstermektedir. Behçet hastalarının oluşturduğu grupta (%1,2) sağlıklı kontrol grubuna göre (%2,1) daha düşük bir sıklık belirlenmesine rağmen, fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

B.H.'nin etyopatogenezi tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Günümüzde birçok yazar bazı mikroorganizmalara ait 60 ve 65 KD HSP'ler ile insan HSP arasındaki yüksek orandaki benzerliğin B.H. gelişiminde önemli rolü olduğunu düşünmektedir. 60 KD HSP'nin immün sisteme 'tehlike' uyarısı vererek hızlı inflamatuvar sitokin salınımı ve tip 1 yardımcı T hücre yanıtına yol açtığını gösteren bulgular vardır. Çeşitli etnik gruplar üzerinde yapılan araştırmalarda Behçet hastalarında 60 ve 65 KD HSP'lere karşı artmış T ve B hücre aktivitesine yönelik bulgular saptandığı belirtilmiştir. HSP'ler ile hem doğal hem kazanılmış immün sistem aktivasyonu B.H.'nin tüm klinik tutulumlarını açıklayabilmektedir. Mikrobiyal HSP'lerin TLR 2 ve TLR 4'ün ligantı olduğu bilinmektedir (146).

TLR'ler evrim sürecinde korunmuş, IL-1 süper-ailesine ait transmembran reseptörlerini kodlar. Bu reseptörlerin hücre içi kısmı IL-1'in hücre içi kısmı ile benzerlik göstermektedir ki bu kısma Toll/IL-1R bölümü denmektedir (147). TLR 2 esas olarak Gram-pozitif bakterilerin lipoteikoik asit ve peptidoglikanlarını tanımaktadır, ancak bunun dışında Spiroket glikolipitleri, Borrelia ve M. lipopeptitleri ile mikobakteriyel lipoarabinomannanlarının tanınması da bu yolla olmaktadır (139,148-151).

Fonksiyonel açıdan etkisi bulunan 2 ayrı TLR 2 gen polimorfizmi tanımlanmıştır. Her 2 gen polimorfizminin de, hamsterların over hücrelerinde lipopeptit sentezinde azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (145). TLR 2'nin bakteri duvarı bileşenlerini tanıma işlevinin bozulmasına neden olan bu polimorfizmler Arg677Tıp ve Arg753Gln polimorfizmleridir (152).

TLR 2 Arg677Tıp polimorfizminin lepramatoz lepra ile ilişkisi saptanmıştır. Kore toplumunda yapılan bu çalışmada, ilginç olarak hiçbir homozigot polimorfik

birey saptanmamıştır. Tüm heterozigot yapıdaki bireylerin ise lepramatoz lepra hastaları olduğu gözlenmiştir (153).

Tanımlanmış diğer TLR 2 polimorfizmi olan TLR 2 Arg753Gln polimorfizminin ise Gram-pozitif septik şok riski ile ilişkisi saptanmıştır. TLR 2 Arg753Gln gen polimorfizmi sonucunda M. gibi çeşitli mikroorganizmalara etkin bir immün sistem yanıtı geliştirilemediği belirtilmiştir (12).

Ayrıca, periodontitin B.H. etyolojisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Periodontite en sık yol açan bakteri *Porphyromonas gingivalis*'tir (154). Gram-negatif bir bakteri olmasına rağmen, *Porphyromonas gingivalis*'e özgü moleküler yapıların en kritik reseptör ve sinyal ileticisi TLR 2'dir (155,156). TLR 2 polimorfizmlerinin sıklığı periodontitli hastalarda çalışılmış, ancak sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı fark saptanmamıştır (152).

Tüm bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, insan doğal immün sisteminin Gram-pozitif bakterileri tanımasında önemli rolü olan TLR 2 Arg753Gln polimorfizminin B.H. açısından önemli olabileceği düşünülebilir. Bu açıdan bakıldığında, B.H.'de polimorfizm sıklığında artış beklenebilir. Diğer yandan, TLR 2 Arg753Gln polimorfizminin immün sistem yanıtınlığına yol açtığı; B.H.'de ise immün sistemin hiperreaktif olduğu göz önüne alındığında bu polimorfizmin B.H.'den koruyucu bir rol oynayabileceği de akla gelmektedir.

B.H.'de TLR'lerin yerine ilişkin literatürde çok az sayıda yayın bulunmaktadır. Elbir et al. (143) 42 Behçet hastası ve 23 sağlıklı kontrol grubunun granulosit ve monositlerinin yüzeyindeki TLR 1, 2 ve 6 düzeylerini 60 KD HSP ve S. Sangius ekstraktının da aralarında bulunduğu çeşitli uyarınlarla karşılaşma öncesi ve sonrasında akım sitometrisi yöntemi ile değerlendirmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, Behçet hastalarının granulositlerinde TLR 2 ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı, monositlerinde ise anlamlı derecede azaldığı belirlenmiştir. Araştırma sonuçları granulosit ve monositlerin B.H. etyopatogenezinde farklı rollere sahip olabileceğine işaret etmektedir. TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi, uyarılma sonrası daha düşük yüzey TLR 2 ekspresyonu ile ilişkili olabilir. Bununla birlikte, B.H.'de TLR 2'nin karmaşık bir role sahip olduğu düşünülmektedir.

TLR 2 Arg753Gln polimorfizm sıklığı çalışılan popülasyona göre farklılık göstermektedir. Yurtdışında yapılan iki ayrı çalışmada toplumdaki dağılım sıklığı %2,73 ve %9,4 olarak saptanmıştır (12,145). Türk toplumundaki TLR 2 Arg753Gln polimorfizmine yönelik ise literatürde tek çalışma bulunmaktadır. Ogus et al. (157), çalışmalarında Antalya bölgesindeki A alleleine ait sıklığı %7,7 bulmuşlardır. Çalışmamızdaki sağlıklı kontrol grubuna ait sıklık bundan daha düşük (%2,1) bulunmuştur.

Şu ana kadar izlenen literatürdeki tüm çalışmalar ve bu araştırmanın bulguları değerlendirildiğinde TLR 2 Arg753Gln açısından tek bir homozigot polimorfik gen yapısına sahip kişinin tespit edilememiş olması, bu polimorfizmin nadir görülmesi ile açıklanabilir. Bununla birlikte bir başka olası durum ise bu yapıya sahip bireylerin bebeklik veya çocukluk döneminde Gram-pozitif septik şok gibi ciddi enfeksiyonlarla kaybediliyor olmasıdır.

TLR 2 polimorfizmlerinin yanısıra, IL-1, TNF- α gibi inflamatuvar yanıtı arttıran bazı sitokinelere ait gen polimorfizmlerinin de B.H. ile ilişkili olabileceği bildirilmiş; CTLA-4 gen polimorfizmi ile B.H.'nin bazı klinik tutulumları arasında ilişki saptanmıştır.

IL-1 ve TNF- α , B ve T hücre aktivasyonu, nötrofil göçü, virüs ve bakteri proliferasyonunda azalma, antijen sunumunda artış ve kazanılmış immün yanıtta artış gibi immün sistemde etkin rollere sahip 2 sitokindir. IL-1 α -889C ve IL-1 β +5887T allellerinin B.H. ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (5,158). Diğer yandan, TNF promoter bölgesindeki TNF-1031C polimorfizminin B.H.'ye yakınlıkla ilişkisi gösterilmiştir (6).

Ayrıca, endotel hücreleri ve antijen sunan hücrelerce eksprese edilen ve T hücre aktivasyonu yanında lökosit göçünde işlevi bulunan ICAM genine ait ICAM1469E polimorfizminin B.H.'de anlamlı derecede sık görüldüğü saptanmıştır (159).

CTLA-4 T hücre aktivasyonunu baskılama ve buna bağlı olarak IL-2 üretimini azaltma özelliğine sahiptir. CTLA-4 49 A alleli ve A/A genotipinin Behçet

hastalarında eritema nodozum-benzeri lezyonlar ve göz tutulumunun ortaya çıkışı ile ilişkili olabileceği saptanmıştır (160).

Çalışmamızda rekürren aftöz stomatitli 12 ve romatoid artritli 21 hastanın hiçbirinde TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi saptanmamıştır. Bu gruplarda hiç mutant allel saptanmamış olmasına rağmen sağlıklı kontrol grubu veya Behçet hastalarıyla karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Hasta sayılarındaki düşüklük nedeniyle bu veriler sağlıklı bir yorum olanağı sağlamamaktadır.

Etyolojisi günümüzde hala tam olarak açıklanamamış olan romatoid artritte sinovyal sıvı T hücrelerinde bakteriyel HSP'ye karşı artmış proliferatif yanıt saptanmıştır. Bunda moleküler benzerliğin rolü olduğu bildirilmiştir (131). Bu verilere rağmen, çalışmada romatoid artrit olgularında artmış TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi saptanmamıştır. Bu nedenle, olgu sayısındaki yetersizliğe rağmen çalışma sonuçlarının TLR 2 Arg753Gln polimorfizminin romatoid artrit etyopatogenezindeki olası bir rolünü desteklemediği söylenebilir.

Çalışmamızın verileri B.H. ile TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi arasında belirgin bir ilişki olmadığına işaret etmektedir. Çalışmamız, TLR 2'nin B.H.'deki olası fonksiyonunun TLR 2 Arg753Gln polimorfizminden bağımsız olduğunu göstermektedir. Ancak TLR 2 gen polimorfizmlerinin hastalıktaki gerçek yeri, TLR 2 Arg677Trp polimorfizmi veya henüz tanımlanmamış diğer olası polimorfizmlerin de araştırılması ile belirlenebilecektir.

SONUÇLAR

1. Çalışmamızdan elde edilen veriler, Antalya ve çevresinde TLR 2 Arg753Gln polimorfizminin nadir görüldüğünü düşündürmektedir
2. TLR 2 Arg753Gln polimorfizmi çalışılan 83 Behçet hastasının sadece birinde A/G genotipi saptanmış, hiç G/G genotipine rastlanmamıştır.
3. Çalışmanın bulguları Behçet hastalığının etyopatogenezinde TLR 2 Arg753Gln polimorfizminin rol oynamadığına işaret etmektedir

ÖZET

B H.'nin etyopatogenezinde günümüzde en çok üzerinde durulan hipotez, hastalığın viral, bakteriyel veya diğer bir antijenle tetiklenen ve genetik olarak hastalığa yatkınlık gösteren kişilerde ortaya çıkan otoimmün bir reaksiyon olduğu yönündedir. TLR 2 geni gibi çeşitli TLR genlerinde bulunan olası polimorfizmler S., M. gibi mikroorganizmalar ile meydana gelen enfeksiyonlara yatkınlığa yol açabileceği gibi bu enfeksiyonlar sonrası ortaya çıkan anormal immün sistem yanıtını da açıklayabilmektedir.

Bu çalışma Behçet hastalarındaki TLR 2 Arg753Gln polimorfizm sıklığının kontrol gruplarına (normal popülasyon ile inflamatuvar hastalıklardan rekürren aftöz stomatit ve romatoid artritli hasta grupları) göre farklı olup olmadığının saptanması amacıyla yapıldı.

TLR 2 Arg753Gln polimorfizminin 83 Behçet hastasında allel (A) ve genotip (A/G) sıklıkları sırasıyla %1,2 ve %0,6'dı. Sağlıklı kontrollerde (95 kişi) aynı sıklıklar sırasıyla %2,1 ve %1,1 oranında saptandı. Rekürren aftöz stomatit (12 hasta) ve romatoid artrit (21 hasta) olgularının hiçbirisinde bu polimorfizm (A alleli ve A/G genotipi) gözlenmedi. Çalışma gruplarından hiçbirisinde G/G genotipine rastlanmadı. Gruplardaki TLR 2 gen polimorfizmine ait hem allel hem genotip sıklıkları arasındaki fark istatistiksel açıdan belirgin bir farklılık göstermiyordu.

Çalışma sonuçları TLR 2 Arg753Gln polimorfizminin B H. etyopatogenezinde rol oynamadığına işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Behçet Hastalığı, Etyopatogenez, Gen Polimorfizmi, Toll-like receptor

KAYNAKLAR

- 1-Sakane T, Takeno M, Suzuki N, Inaba G. Behçet's disease. *N Engl J Med* 1999;341:1284-1291.
- 2-Lehner T. Immunopathogenesis of Behçet's disease. *Ann Med Interne (Paris)* 1999;150:483-487.
- 3-Alpsoy E, Yilmaz E, Savas A, Coskun M, Yegin O. HLA antigens and linkage disequilibrium patterns in Turkish Behçet's patients. *J Dermatol* 1998;25:158-162.
- 4-Alpsoy E, Cayirli C, Er H, Yilmaz E. The levels of plasma interleukin-2 and soluble interleukin-2r in Behçet's disease; as a marker of disease activity. *J Dermatol* 1998;25:513-516.
- 5-Coskun M, Bacanlı A, Sallakci N, Alpsoy E, Yavuzer U, Yegin O. Specific interleukin-1 gene polymorphisms in Turkish patients with Behçet's disease. *Exp Dermatol* 2005;14:124-129.
- 6-Ahmad T, Wallace GR, James T, Neville M, Bunce M, Mulcahy-Hawes K et al. Mapping the HLA association in Behçet's disease: a role for tumor necrosis factor polymorphisms? *Arthritis Rheum* 2003;48:807-813.
- 7-Lehner T. The role of heat shock protein, microbial and auto-immune agents in the aetiology of Behçet's disease. *Int Rev Immunol* 1997;14:21-32.
- 8-The Behçet's Disease Research Committee of Japan. Skin hypersensitivity to streptococcal antigens and the induction of systemic symptoms by the antigens in Behçet's disease—a multicenter study. *J Rheumatol* 1989;16:506-511.
- 9-Anderson KV, Jurgens G, Nusseim-Volhard C. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: genetic studies on the role of the Toll gene product. *Cell* 1985;42:779-789.
- 10-Wasserman SA. A conserved signal transduction pathway regulating the activity of the rel-like proteins dorsal and NF-kappa B. *Mol Biol Cell* 1993;4:767-771.
- 11-Anderson KV. Toll signaling pathways in the innate immune response. *Current Opinion in Immunology* 2000;12:13-19.

- 12-Lorenz E, Mira JP, Cornish KL, Arbour NC, Schwartz DA A novel polymorphism in the Toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infection and Immunity* 2000;68:6398-6401.
- 13-Behçet H. Über rezidivierende aphthöse, durch ein Virus Verursachte Geschwüre am Mund, am auge, und an den Genitalien. *Dermatol Wochenschr* 1937;105:1152-1157.
- 14-Gürler A, Boyvat A, Türsen Ü. Clinical manifestations of Behçet's disease: An analysis of 2147 patients. *Yonsei Med J* 1997;38:423-427.
- 15-Saylan I, Özarmağan G, Azizkuli G, Övül C, Öke N. Morbus Behçet in der Türkei. *Zbl Haatkr* 1986;61:1120-1122.
- 16-Nakae K, Masaki F, Hashimoto I, Inaba G, Mochizuki M, Sakane T. Recent epidemiological features of Behçet's disease in Japan. In; Wechsler B, Godeau P, eds. Behçet's disease. International Congress series 1037. Amsterdam: Excerpta Medica, 1993:145-51.
- 17-Yazıcı H, Tüzün Y, Pazarlı H, Yurdakul S, Ozyazgan Y, Ozdogan H et al. Influence of age of onset and patient's sex on the prevalans and severity of manifestations of Behçets syndrome. *Ann Rheum Dis* 1984 43:783-789.
- 18-Tüzün Y, Kotogyan A, Aydemir EH, Baransü O. *Dermatoloji*. Istanbul, Nobel Tıp Kitabevi 1994; 393-399.
- 19-İdil A, Gürler A, Boyvat A. Behçet's disease prevalence study over 10-year age in park Health Care Center. In; Oliveri I, Salvanani C, Cantini F, eds. 8th International Congress on Behçet's Disease. Program and abstracts. Milano. Prex, 1998:99.
- 20-Yurdakul S, Günaydın I, Tüzün Y, Tankurt N, Pazarlı H, Ozyazgan Y, Yazıcı H. The prevalance of Behçet's syndrome in rural area in nothern Turkey. *J Rheumatol* 1988;15:820-822.
- 21-Sakane T, Suzuki N, Nagafuchi H. Etiopathology of Behcet disease: immunological aspects. *Yonsei Med J* 1997;38:350-358.
- 22-Sohn S. Etiopathology of Behçet's disease: herpes simplex virus infection and animal model. *Yonsei Med J* 1997;38:359-364.

- 23-Lehner T, Lavery E, Smith R, van der Zee R, Mizushima Y, Shinnick T. Association between the 65-kilodalton heat shock protein, streptococcus sanguis, and the corresponding antibodies in Behçet's disease. *Infect Immun* 1991;59:1434-1441.
- 24-Zouboulis CC, Turnbull JR, Muhlradt PF. High seroprevalence of anti-Mycoplasma fermentans antibodies in patients with malignant aphthosis. *J Invest Dermatol* 2003;121:211-2.
- 25-Falk K, Rötzschke O, Takiguchi M, Gnau V, Stevanovic S, Jung G, Rammensee HG. Peptide motifs of HLA-B51, -B52 and -B78 molecules, and implications for Behçet's disease. *Int Immunol* 1995;7:223-228.
- 26-Alpsoy E, Kodelja V, Goerdt S, Orfanos CE, Zouboulis ChC. Serum of patients with Behçet's disease induces classical (pro-inflammatory) activation of human macrophages in vitro. *Dermatology* 2003;206:225-232.
- 27-Yazici H. Behçet's syndrome, a personel view. *Clin Exp Rheumatol* 1987;5:1-3.
- 28-Arnold H, Odom RB, James WB. *Diseases of the Skin*. WB Saunders Company Philadelphia 1990;940-942.
- 29-Hamza M. Pathology and physiopathology of Behcet's disease. *Rev-Rhum-Mal-Osteoartic* 1988;55:771-778.
- 30-Durusoy C, Alpsoy E, Elpek O, Karpuzoglu G. Histological findings and androgen receptor levels in the sebaceous glands of papulopustular lesions from patients with Behçet's disease and acne vulgaris: A Controlled Study. *Advances in Clinical Pathology* 2002;6:87-93.
- 31-Ohno S, Ohguchi M, Hirose S, Matsuda H, Wakisaka A, Aizawa M. Close association of HLA-Bw51 with Behcet's disease. *Arch Ophthalmol* 1982;100:1455-1458.
- 32-Mizuki N, Inoko H, Ando H, Nakamura S, Kashiwase K, Akaza I. Behcet's disease associated with one of the HLA-B51 subantigens, HLA-B* 5101. *Am J Ophthalmol* 1993;116:406-409.
- 33-Yazici H, Akokan G, Yalcin B, Muftuoglu A. The high prevalence of HLA-B5 in Behcet's disease. *Clin Exp Immunol* 1977;30:259-261.

- 34-Takeno M, Kariyone A, Yamashita N, Takiguchi M, Mizushima Y, Kaneoka H. Excessive function of peripheral blood neutrophils from patients with Behcet's disease and from HLA-B51 transgenic mice. *Arthritis Rheum* 1995;38:426-433.
- 35-Ohno S, Asanuma T, Sugiura S, Wakisaka A, Aizawa M, Itakura K. HLA-Bw51 and Behcet's disease. *JAMA* 1978;240:529.
- 36-Mege JL, Dilsen N, Sanguedolce V, Gul A, Bongrand P, Roux H. Overproduction of monocyte derived tumor necrosis factor alpha, interleukin (IL) 6, IL-8 and increased neutrophil superoxide generation in Behcet's disease. A comparative study with familial Mediterranean fever and healthy subjects. *J Rheumatol* 1993;20:1544-1549.
- 37-Hamzaoui K, Ayed K, Slim A, Hamza M, Touraine J. Natural killer cell activity, interferon-gamma and antibodies to herpes viruses in patients with Behçet's disease. *Clin Exp Immunol*. 1990;79:28-34.
- 38-Pirim I, Atasoy M, Ikbali M, Erdem I, Aliagaoglu C. HLA class I and class II genotyping in patients with Behcet's disease: a regional study of eastern part of Turkey. *Tissue Antigens* 2004;64:293-297.
- 39-Zouboulis CC, May T. Pathogenesis of Adamantiades-Behcet's disease. *Adv Exp Med Biol*. 2003;528:161-171.
- 40-Ahmet Gül, Murat Inanç, Lale Öcal, Orhan Aral, Meral Konıçe. Familial aggregation of Behçet's disease in Turkey. *Ann Rheum Dis* 2000;59:622-625
- 41-Mammo L, Al-Dalaan A, Bahabri SS, Saour JN. Association of factor V Leiden with Behcet's disease. *J Rheumatol* 1997;24:2196-2198.
- 42-Verity DH, Vaughan RW, Kondeatis E, Madanat W, Zureikat H, Fayyad F et al. Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphisms in Behcet's disease. *Eur J Immunogenet* 2000;27:73-76.
- 43-Wallace GR, Verity DH, Delamaine LJ, Ohno S, Inoko H, Ota M et al. MIC-A allele profiles and HLA class I associations in Behcet's disease. *Immunogenetics* 1999;49:613-617
- 44-Matsumura N, Mizushima Y. Leucocyte movement and colchicine treatment in Behcet's disease. *Lancet* 1975;2:813.

- 45-Verity DH, Wallace GR, Vaughan RW, Stanford MR. Behcet's disease: from Hippocrates to the third millenium. *Br J Ophthalmol* 2003;87:1175-1183.
- 46-Abdallah MA, Ragab N, Khalil R, Kamel N. Circulating immune complexes in various forms of Behcet's disease. *Int J Dermatol* 1995;34:841-845.
- 47-Zouboulis CC, Katsantonis J, Ketteler R, Treudler R, Kaklamani E, Hornemann S, Kaklamanis P, Orfanos CE. Adamantiades-Behcet's disease: interleukin-8 is increased in serum of patients with active oral and neurological manifestations and is secreted by small vessel endothelial cells. *Arch Dermatol Res* 2000;292:279-284.
- 48-Katsantonis J, Adler Y, Orfanos CE, Zouboulis CC. Adamantiades-Behcet's disease: serum IL-8 is a more reliable marker for disease activity than c-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate. *Dermatology* 2000;201:37-39.
- 49-Frassanito MA, Dammacco R, Cafforio P, Dammacco F. Th1 polarization of the immune response in Behcet's disease: a putative pathogenetic role of interleukin-12. *Arthritis Rheum* 1999;42:1967-1974.
- 50-Treudler R, Zouboulis CC, Buttner P, Detmar M, Orfanos CE. Enhanced interaction of patients' lymphocytes with human dermal microvascular endothelial cell cultures in active Adamantiades-Behcet disease. *Arch Dermatol* 1996;132:1323-1329.
- 51-Kiraz S, Ertlenli I, Ozturk MA, Haznedaroglu IC, Celik I, Calguneri M. Pathological haemostasis and "prothrombotic state" in Behcet's disease. *Thromb Res* 2002;105:125-133.
- 52-Eglin RP, Lehner I, Subak-Sharpe JH. Detection of RNA complementary to herpes-simplex virus in mononuclear cells from patients with Behcet's syndrome and recurrent oral ulcers. *Lancet* 1982;2:1356-1361.
- 53-Hussain L, Ward RG, Barnes CG. In: Lehner I, Barnes CG, eds. Recent advances in Behcet's disease. London, New York, Royal Society of Medicine Service, 1986;79:28-34.
- 54-Studd M, McCance DJ, Lehner I. Detection of HSV-1 DNA in patients with Behcet's syndrome and in patients with recurrent oral ulcers by the polymerase chain reaction. *J Med Microbiol* 1991;34:39-43.

- 55-Lee ES, Lee S, Bang D, Sohn S. Herpes simplex virus detection by polymerase chain reaction in intestinal ulcer of patients with Behcet's disease. In: Melasma Hamza, ed. Proceedings of the 7th International Conference on Behcet's Disease. Tunis, Tunisia: Pub Adhona, 1997;71-74.
- 56-Wilton JMA, Lehner T. J Dent Res. 1968;47:1001.
- 57-Kaneko F, Takahashi Y, Muramatsu Y, Miura Y. Immunological studies on aphthous ulcer and erythema nodosum-like eruptions in Behcet's disease. Br J Dermatol. 1985;113:303-312.
- 58-Mizushima Y, Matsuda I, Hoshi K, Ohno S. Induction of Behçet's disease symptoms following dental treatment and streptococcal antigen skin test. J Rheumatol 1988;61:1029-1030.
- 59-Hoover CI, Greenspan JS. Immunochemical comparison of cell-wall antigens of various viridans streptococci, including strain 2A2+3 hot from recurrent oral aphthous ulceration in man. Arch Oral Biol 1983;28:917-922.
- 60-Namba K, Uena T, Okito M. Behçet's disease and streptococcal infection. Int J Ophthalmol 1986;30:385-401.
- 61-Narikawa S, Suzuki Y, Takahashi M, Furukawa A, Sakane I, Mizushima Y. Streptococcus oralis previously identified as uncommon "Streptococcus sanguis" in Behçet's disease. Arch Oral Biol 1995;40:685-690.
- 62-Lo C, Tsai S, Benish JR, Shih JW, Wear DJ, Wong DM. Enhancement of HIV-1 cytotoxic effects in CD4+ lymphocytes by the AIDS-associated mycoplasma. Science 1990;251:1074-1076.
- 63-Katseni VL, Gilroy CB, Ryait BK, Ariyoshi K, Bieniasz PD, Weber JN, Taylor-Robinson D. Mycoplasma fermentans in individuals seropositive and seronegative for HIV-1. Lancet 1993;341:271-273.
- 64-Horner PJ, Gilroy CB, Thomas BJ, Naidoo RO, Taylor-Robinson D. Association of mycoplasma genitalium with acute non-gonococcal urethritis. Lancet 1993;342:582-585.

- 65-Barile MF, Yoshida H, Roth H. Rheumatoid arthritis: new findings on the failure to isolate or detect mycoplasmas by multiple multiple cultivation or serologic procedures and a review of literature. *Rev Infect Dis* 1991;13:571-582.
- 66-Sohaeverbeke T, Gilroy CB, Bebear C, Dehais J, Taylor-Robinson D. *Mycoplasma fermentans* in joints of patients with rheumatoid arthritis and other joint disorders. *Lancet* 1996;347:1418.
- 67-Seya T, Matsumoto M. A lipoprotein family from *Mycoplasma fermentans* confers host immune activation through toll-like receptor 2. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2002;34:901-906
- 68-Henderson B, Poole S, Wilson M. Bacterial modulins: a novel class of virulence factors which cause host tissue pathology by inducing cytokine synthesis. *Microbiol Rev* 1996;60:316.
- 69-Mühlradt PF, Quentmeier H, Schmitt E. Involvement of interleukin-1 (IL-1), IL-6, IL-2, and IL-4 in generation of cytolytic T cells from thymocytes stimulated by a *Mycoplasma fermentans*-derived product. *Infect Immun* 1991;59:3962
- 70-Feng SH, Lo SC. Induced mouse spleen B-cell proliferation and secretion of immunoglobulin by lipid-associated membrane proteins of *Mycoplasma fermentans incognitus* and *Mycoplasma penetrans*. *Infect Immun* 1994;62:3916.
- 71-Kostyal DA, Butler GH, Beezhold DH. A 48 kilodalton *Mycoplasma fermentans* membrane protein induces cytokine secretion by human monocytes. *Infect Immun* 1994;62:3793
- 72-Rawadi G, Roman-Roman S, Castedo M, Dutilleul V, Susin S, Marchetti P et al. Effects of *Mycoplasma fermentans* on the myelomonocytic lineage: different molecular entities with cytokine-inducing and cytotoxic potential. *J Immunol* 1996;156:670
- 73-Mühlradt PF, Kiess M, Meyer H, Sussmuth R, Jung G. Isolation, structure elucidation, and synthesis of a macrophage stimulatory lipopeptide from *Mycoplasma fermentans* acting at picomolar concentration. *J Exp Med* 1997;185:1951.
- 74-Nishiguchi M, Matsumoto M, Takao I, Hoshino M, Shimonishi Y, Tsuji S et al. *Mycoplasma fermentans* lipoprotein M161Ag-Induced Cell Activation is mediated by

Toll-like receptor 2: Role of N-terminal hydrophobic portion in its multiple functions. *The Journal of Immunology* 2001;166:2610-2616

75-Calcutt MJ, Kim MF, Karpas AB, Muhlradt PF, Wise KS. Differential post-translational processing confers intraspecies variation of a major surface lipoprotein and macrophage-activating lipopeptide (MALP-2) of *Mycoplasma fermentans*. *Infect Immun* 1999;67:760-771

76-Lehner T. Behçet's syndrome and autoimmunity. *Br Med J* 1967;i:465-467.

77-Dolby AI. Recurrent aphthous ulceration. Effect of sera and peripheral blood lymphocytes upon oral epithelial tissue culture cells. *Immunology* 1969;17:709-713.

78-Rogers R, Sams W, Shorter R. Lymphocytotoxicity in recurrent aphthous stomatitis. Lymphocytotoxicity for oral epithelial cells in recurrent aphthous stomatitis and Behçet syndrome. *Arch Dermatol* 1974;109:361-363.

79-Pervin K, Childerstone A, Shinnick T. T cell epitope expression of mycobacterial and homologous human 65-kilodalton heat shock protein peptides in short term cell lines from patients with Behçet's disease. *J Immunol* 1993;151:2273-2281

80- Hasan A, Fortune F, Wilson A, Warr K, Shinnick T, Mizushima Y et al. Role of gamma delta T cells in pathogenesis and diagnosis of Behçet's disease. *Lancet* 1996;347:789-794.

81-Isogai E, Ohno S, Takehashi K. *Bifidobact Microflora* 1990;9:27-41.

82-Direskeneli H, Shinnick T, Hasan A, Mizushima R, van der Zee R, Fortune F et al. Recognition of B-cell epitopes of the 65 kDa HSP in Behçet's disease. *Scand J Immunol* 1994;43:464-471.

83-Lehner T. State of art in Behçet Disease. 8th International Conference on Behçet's disease; 1998.

84-Ohno S, Kato F, Matsuda H, Fujii N, Minagawa T. Detection of gamma interferon in the sera of patients with Behçet's disease. *Infect Immun* 1982;36:202-208.

85-Fujii N, Minagawa T, Nakane A, Kato F, Ohno S. Spontaneous production of gamma-interferon in cultures of T lymphocytes obtained from patients with Behçet's disease. *J Immunol* 1983;130:1683-1686.

- 86-Bacon TH, Ozbakir F, Elms CA, Denman AM. Interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells from patients with Behcet's syndrome. *Clin Exp Immunol* 1984;57:541-547.
- 87-Hirohata S, Oka H, Mizushima Y. Streptococcal-related antigens stimulate production of IL6 and interferon-gamma by T cells from patients with Behcet's disease. *Cell Immunol* 1992;140:410-419.
- 88-Fortune F, Walker J, Lehner T. The expression of gamma delta T cell receptor and the prevalence of primed, activated and IgA-bound T cells in Behcet's syndrome. *Clin Exp Immunol* 1990;82:326-332.
- 89-Hamzaoui K, Hamzaoui A, Hentati F, Kahan A, Ayed K, Chabbou A et al. Phenotype and functional profile of T cells expressing gamma delta receptor from patients with active Behcet's disease. *J Rheumatol* 1994;21:2301-2306.
- 90-Direskeneli H, Eksioglu-Demiralp E, Sahin S. *Rev Rheum* 1996;63:620
- 91-Sahin S, Lawrence R, Direskeneli H, Hamuryudan V, Yazici H, Akoglu T. Monocyte activity in Behcet's disease. *Br J Rheumatol* 1996;35:424-429
- 92-Demiroglu H, Barista I, Dundar S. Risk factor assessment and prognosis of eye involvement in Behcet's disease in Turkey. *Ophthalmology* 1997;104:701-705.
- 93-Yazici H, Tuzun Y, Pazarli H, Yurdakul S, Ozyazgan Y, Ozdogan H et al. Influence of age of onset and patient's sex on the prevalans and severity of manifestations of Behcet's syndrome. *Ann Rheum Dis* 1984;43:783-789.
- 94-Yazici H, Mat C, Deniz S, Iscimen A, Yurdakul S, Tuzun Y et al. Sebum production is increased in Behcet's syndrome and even more so in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1987;5:371-374.
- 95-Uzun S, Alpsoy E, Durdu M, Akman A. The clinical course of Behcet's disease in pregnancy: a retrospective analysis and review of the literature. *The Journal of Dermatology* 2003;30:499-502
- 96-Alpsoy E, Zouboulis CC, Ehrlich GE. Mucocutaneous lesions of Behcet's disease. *Yonsei Medical Journal* 2004 (In press).
- 97-Zouboulis CC. Epidemiology of Adamantiades-Behcet's disease. *Ann Med Interne* 1999;150:488-498

- 98-Alpsoy E, Aktekin M, Er H, Durusoy C, Yilmaz E. Distribution and frequency of papulopustular lesions in Behçet's disease: A randomized, controlled study. *Int J Dermatol* 1998;37:839-843.
- 99-Alpsoy E, Donmez L, Bacanlı A, Apaydin C, Butun B. Review of the chronology of clinical manifestations in 60 patients with Behçet's disease. *Dermatology* 2003;207:354-356.
- 100-Ghate JV, Jorizzo JL. Behçet's disease and complex aphthosis. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:1-18.
- 101-Schreiner DT, Jorizzo JL. Behçet's disease and complex aphthosis. *Dermatol Clin* 1987;5:769-778.
- 102-Chajek I, Fainaru M. Behçet's disease. Report of 41 cases and a review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1975;54:179-196.
- 103-Alpsoy E, Durusoy C, Yilmaz E, Ozgurel Y, Ermis O, Yazar S et al. Interferon alpha-2a in the treatment of Behçet's disease: A randomised, placebo-controlled and double-blind study. *Arch Dermatol* 2002;138:467-71.
- 104-Arbesfeld SJ, Kurban AK. Behçet's disease. New perspectives on an enigmatic syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1988;19:767-779.
- 105-Stratigos AJ, Laskaris G, Stratigos JD. Behçet's disease. *Semin Neurol* 1992;12:346-357.
- 106-Ergun T, Gurbuz O, Dogusoy G, Mat C, Yazici H. Histopathologic features of the spontaneous pustular lesions of Behçet's syndrome. *Int J Dermatol* 1998;37:194-196.
- 107-Kim B, LeBoit PE. Histopathologic features of erythema nodosum-like lesions in Behçet disease: a comparison with erythema nodosum focusing on the role of vasculitis. *Am J Dermatopathol* 2000;22:379-390.
- 108-Alpsoy E, Uzun S, Akman A, Acar MA, Memisoglu HR, Basaran E. Histologic and immunofluorescence findings of non-follicular papulopustular lesions in patients with Behçet's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003;17:521-524.

- 109- Chun SI, Su WP, Lee S, Rogers RS 3rd. Erythema nodosum-like lesions in Behcet's syndrome: a histopathologic study of 30 cases. *J Cutan Pathol* 1989;16:259-265.
- 110-Kansu E, Ozer FL, Akalin E, Guler Y, Zileli T, Tanman E et al. Behçet syndrome with obstruction of the vena cava. *Q J Med* 1972;41:151-168
- 111-Demircioglu FF, Boke E, Demircin M, Dagsali S, Kucukali T. Abdominal aortic aneurysm with inferior vena cava obstruction: case report. *Angiology* 1989;40:227-232.
- 112-Azizlerli G, Ozarmagan G, Ovul C, Sarica R, Mustafa SO. A new kind of skin lesion in Behcet's disease: extragenital ulcerations. *Acta Derm Venereol* 1992;72:286
- 113-Krüger K, Fritz K, Daniel V. Juveniler Morbus Adamantiades-Behçet bei erniedrigter Stimulation mit Anti-CD3 monoklonalem Antikörper. *Hautarzt* 1997;48:258-261.
- 114-Treudler R, Orfanos CE, Zouboulis ChC. Twenty eight cases of juvenile-onset Adamantiades-Behçet's disease in Germany. *Dermatology* 1999;199:15-19.
- 115-Altac M, Tuzun Y, Yurdakul S, Binyildiz P, Yazici H. The validity of the pathergy test (non-specific skin hyperreactivity) in Behçet's disease: a double-blind study by independent observers. *Acta Derm Venereol* 1982;62:158-159.
- 116-Ergun T, Gurbuz O, Harvell J, Jorizzo J, White W. The histopathology of pathergy: a chronologic study of skin hyperreactivity in Behcet's disease. *Int J Dermatol* 1998;37:929-933
- 117-Serdaroğlu S, İşçimen A, Tüzün Y. Behçet hastalığında paterji testinin multipl pikür tarzında uygulanmasının önemi. *Ulusal Dermatoloji Kongresi* 1990;339
- 118- Oguz O, Serdaroglu S, Tuzun Y, Erdogan N, Yazici H, Savaskan H. Acute febrile neutrophilic dermatosis (Sweet's syndrome) associated with Behcet's disease. *Int J Dermatol* 1992;31:645-646.
- 119-Cho KH, Shin KS, Sohn SJ. Behcet's disease with Sweet's syndrome-like presentation-a report of six cases. *Clin Exp Dermatol* 1989;14:20-24.
- 120-Armas JB, Davies J, Davis Melasma. Atypical Behcet's disease with peripheral erosive arthropathy and pyoderma gangrenosum. *Clin Exp Rheumatol* 1992;10:177-

- 121-Lee ES, Bang D, Lee S. Dermatologic manifestation of Behcet's disease. *Yonsei Med J* 1997;38:380-389.
- 122-Golan G, Beerl R, Mevorach D. Henoch-Schonlein purpura-like disease representing a flare of Behcet's disease. *Br J Rheumatol* 1994;33:1198-1199.
- 123- Cornelis F, Sigal-Nahum M, Gaulier A, Bleichner G, Sigal S. Behcet's disease with severe cutaneous necrotizing vasculitis: response to plasma exchange-report of a case. *J Am Acad Dermatol* 1989;21:576-579.
- 124-International Study Group for Behcet's Disease. Criteria for diagnosis of Behcet's disease. *Lancet* 1990;335:1078-1080.
- 125-Bang D, Yoon KH, Chong HO. Epidemiological and clinical features of Behcet's disease in Korea. *Yonsei Med J* 1997;38:428-436.
- 126-Martin S, Greenberg DDS. Disorders affecting the oral cavity: HIV-associated lesions *Dermatologic Clinics* 1996;14:319-26.
- 127- Jorizzo JL, Taylor RS, Schmalstieg FC, Solomon AR Jr, Daniels JC, Rudloff HE et al. Complex aphthosis: a forme fruste of Behcet's syndrome? *J Am Acad Dermatol* 1985;13:80-84.
- 128- Alpsoy E. Behcet Hastalığının Deri ve Mukoza Belirtileri. *Deri Hastalıkları ve Frenği Arşivi* 2003;37(2):92-99.
- 129-Rogers RS 3rd. Recurrent aphthous stomatitis in the diagnosis of Behcet's disease. *Yonsei Med J* 1997;38:370-379.
- 130-Bazrafshani MR, Hajeer AH, Ollier WE, Thornhill MH. IL-1B and IL-6 gene polymorphisms encode significant risk for the development of recurrent aphthous stomatitis (RAS). *Genes Immun* 2002;3:302-305.
- 131-Albani S, Carson DA: Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. Koopman WJ, McCarty DJ eds. *Arthritis and allied conditions*. Williams-Wilkins Comp. 1997:979-993.
- 132-Rodriguez-Carreón AA, Zuniga J, Hernandez-Pacheco G et al. Tumor necrosis factor-alpha -308 promoter polymorphism contributes independently to HLA alleles in the severity of rheumatoid arthritis in Mexicans. *J Autoimmun* 2005;24:63-68.

- 133-Kaijzel EL, van Dongen H, Bakker AM, Breedveld FC, Huizinga TW, Verweij CL. Relationship of polymorphisms of the Interleukin-1 gene cluster to occurrence and severity of rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens* 2002;59:122-126
- 134-Lien E, Sellati TJ, Yoshimura A, Flo TH, Rawadi G, Finberg RW et al. Toll-like receptor 2 functions as a pattern recognition receptor for diverse bacterial products. *J Biol Chem* 1999;274:33419-33425.
- 135-Aliprantis AO, Yang RB, Mark MR, Suggett S, Devaux B, Radolf JD et al. Cell activation and apoptosis by bacterial lipoproteins through toll-like receptor-2. *Science* 1999;285:736-739.
- 136-Brightbill HD, Libraty DH, Krutzik SR, Yang RB, Belisle JT, Bleharski JR et al. Host defence mechanisms triggered by microbial lipoproteins through Toll-like receptors. *Science* 1999;285:732-736.
- 137-Kirschning CJ, Schumann RR. TLR2: cellular sensor for microbial and endogenous molecular patterns. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2002;270:121-144.
- 138-Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, Sanjo H, Takada H, Ogawa T et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of Gram-negative and Gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity* 1999;11:443.
- 139-Takeuchi O, Kaufmann A, Grote K, Kawai T, Hoshino K, Morr M et al. Cutting edge: preferentially the R-stereoisomer of the mycoplasmal lipopeptide macrophage-activating lipopeptide-2 activates immune cells through a Toll-like receptor-2 and MyD88-dependent signaling pathway. *J Immunol* 2000;164:554.
- 140-Sankaran K, Wu HC. Lipid modifications of bacterial prolipoprotein. *J Biol Chem* 1994;269:19701.
- 141-Hirshfeld M, Kirschning CJ, Schwandner R et al. Inflammatory signaling by *Borrelia burgdorferi* lipoproteins is mediated by toll-like receptor 2. *J Immunol* 1999;163:2382.
- 142-Beutler B, Poltorak A. Positional cloning of LPS, and the general role of toll-like receptors in the innate immune response. *Eur Cytokine Netw* 2000;11:143-152.
- 143-Elbir Y, Tulunay A, Özilhan G, Akdeniz I, Ekşioğlu-Demiralp E, Direskeneli H et al. Toll Like Receptors XI. International Conference On Behçet's Disease, October

- 27-31, Antalya, 2004. In: Yazici H, Ben-Chetrit E (eds). *Clinical and Experimental Rheumatology; Behçet's disease and Familial Mediterranean Fever*. 2004;(22)4 (suppl 34):S-93.
- 144-Bilkent Üniversitesi Genetik ve Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi; Terimler Sözlüğü.
- 145-Schroder NW, Hermann C, Hamann L, Gobel UB, Hartung T, Schumann RR. High frequency of polymorphism Arg753Gln of the Toll-like receptor-2 gene detected by a novel allele-specific PCR. *J Mol Med* 2003;81:368-372.
- 146-Direskeneli H, Saruhan-Direskeneli G. The role of heat shock proteins in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 2003;21:44-48.
- 147-Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000;406:7857.
- 148-Schwandner R, Dziarski R, Wesche H, Rothe M, Kirschning CJ. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J Biol Chem* 1999;274:17406-17409.
- 149-Schröder NW, Opitz B, Lamping N, Michelsen KS, Zahringer U, Gobel UB et al. Involvement of lipopolysaccharide binding protein, CD14, and Toll-like receptors in the initiation of innate immune responses by *Treponema* glycolipids. *J Immunol* 2000;165:2683-2693.
- 150-Hirschfeld M, Kirschning CJ, Schwandner R, Wesche H, Weis JH, Wooten RM et al. Cutting edge: inflammatory signaling by *Borrelia burgdorferi* lipoproteins is mediated by toll-like receptor 2. *J Immunol* 1999;163:2382-2386.
- 151-Means TK, Wang S, Lien E, Yoshimura A, Golenbock DT, Fenton MJ. Human toll-like receptors mediate cellular activation by *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol* 1999;163:3920-3927.
- 152-Folwaczny M, Glas J, Torok HP, Limbersky O, Folwaczny C. Toll-like receptor (TLR) 2 and 4 mutations in periodontal disease. *Clin Exp Immunol* 2004;135:330-335.
- 153-Kang IJ, Chae GT. Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001;31:53-58.

- 154-Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25:1344-4.
- 155-Yoshimura A, Kaneko T, Kato Y, Golenbock DT, Hara Y Lipopolysaccharides from periodontopathic bacteria *Porphyromonas gingivalis* and *Capnocytophaga ochracea* are antagonists for human Toll-like receptor 4. *Infect Immun* 2002;70:218-225.
- 156-Ogawa T, Asai Y, Hashimoto M, Takeuchi O, Kurita T, Yoshikai Y, Miyake K. Cell activation by *porphyromonas gingivalis* lipid A molecule through Toll-like receptor 4- and myeloid differentiation factor 88-dependent signalling pathway *Int Immunol* 2002;14:1325-1332.
- 157-Ogus AC, Yoldas B, Ozdemir I, Uguz A, Olcen S, Keser I et al The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease *Eur Respir J* 2004;23:219-223.
- 158-Guzman S, Karima M, Wang HY, Van Dyke TE Association between interleukin-1 genotype and periodontal disease in a diabetic population *J Periodontol* 2003;74:1183-1190.
- 159-Eun HK, Jee WM, Dongsik B, Eun-So L, Sungnack Lee, Kyungsook P. Intercellular adhesion molecule-1 polymorphisms in Korean patients with Behçet's disease. *J Korean Med Sci* 2003;18:415-418.
- 160-Sallakci N, Bacanlı A, Coskun M, Yavuzer U, Alpsoy E, Yegin O. CTLA-4 Gene 49 A/G polymorphism in Turkish patients with Behçet's disease. *Clinical and Experimental Dermatology* (In press)