



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

**TROMBOSPONDİN MOTİFLİ DİSİNTEGRİN BENZERİ
MATRİKS METALLOPROTEİNAZ GENLERİNİN BEHÇET
HASTALIĞI PATOGENEZİNDEKİ ROLLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. ABDULLAH ZÜBEYİR DAĞLI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR- 2016



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

**TROMBOSPONDİN MOTİFLİ DİSİNTEGRİN BENZERİ
MATRİKS METALLOPROTEİNAZ GENLERİNİN BEHÇET
HASTALIĞI PATOGENEZİNDEKİ ROLLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. ABDULLAH ZÜBEYİR DAĞLI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Doç. Dr. MEHTAP BOZKURT

TEZ DANIŞMANI

DİYARBAKIR- 2016

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen anabilim dalı başkanımız, hocam Prof. Dr. Remzi ÇEVİK'e,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tez hocam Doç.Dr. Mehtap BOZKURT'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tüm HOCALARIMA,

Tezimin hazırlanması sırasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen üniversitemiz Tıbbi Biyoloji AD. öğretim üyesi Yrd. Doç. Sevgi İRTEGÜN'e

Projemize olan katkısından dolayı Dicle Üniversitesi Proje Araştırma Koordinatörlüğüne,

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz hemşire ve personellerine,

Ayrıca bu günlere gelmemde büyük paya sahip olan, destek, ilgi ve sevgilerini benden esirgemeyen ve hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan çok sevdiğim ANNEME, BABAMA, KARDEŞLERİME, EŞİME ve OĞLUMA saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Abdullah Zübeyir DAĞLI

İÇİNDEKİLER

Sayfalar

ÖNSÖZ	i
ÖZET	iv
SUMMARY	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	x
2. GENEL BİLGİLER.....	1
2.1. Behçet Hastalığı Tanımı ve Tarihçesi.....	1
2.2. Epidemiyoloji	1
2.3. Patogenez	2
2.3.1. Genetik faktörler.....	2
2.3.2. Enfeksiyöz ajanlar.....	5
2.3.3. Isı şok proteinleri.....	7
2.3.4. İmmünolojik mekanizmalar.....	8
2.4. Histopatoloji.....	13
2.5. Klinik Özellikler	15
2.5.1. Mukokutanöz lezyonlar	15
2.5.2. Paterji deri reaksiyonu.....	17
2.5.3. Göz tutulumu.....	17
2.5.4. Kas iskelet sistemi tutulumu.....	18
2.5.5. Nörolojik tutulum	19
2.5.6. Gastrointestinal sistem tutulumu	19
2.5.7. Kardiyovasküler sistem tutulumu.....	20
2.5.8. Pulmoner tutulum.....	22
2.6. Behçet Hastalığı Tanısı.....	22
2.7. Laboratuar Bulguları.....	23
2.8. Prognoz ve Klinik Seyir.....	24

2.9. Tedavi.....	24
2.10. ADAMTS Genleri.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Periferik Kandan Ficoll-Paque Yöntemi ile PBMC'lerin İzolasyonu.....	32
3.2. RNA İzolasyonu, RNA Kantitasyonu, cDNA Sentezi ve qPCR.....	32
3.3. İstatiksel Analiz.....	35
4. BULGULAR	36
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ.....	47
7. KAYNAKLAR	48

ÖZET

Behçet hastalığı (BH), tekrarlayan oral ve genital ülserler, oküler, mukokutanöz, artriküler, nörolojik, vasküler ve gastrointestinal tutulumla seyreden geniş bir klinik spektrumla karakterize multisistemik inflamatuvar bir vaskülitir. Tedaviye rağmen önemli organ tutulumları, hastalarda şiddetli morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. BH'nin patogenezinde genetik, çevresel ve immünolojik faktörler rol oynamakta, immünolojik faktörler üzerine yoğun çalışmalar yapılmasına rağmen hastalığın patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Günümüzde BH'nin kesin bir tedavisi olmamakla beraber hastalık progresyonunu ve terapötik yanıtı tam olarak tahmin edebilen spesifik biyobelirteçler de mevcut değildir. Bu durum hastalığın patogenezinde sorumlu hücrel ve moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılmasının önemini vurgulamaktadır. BH'nin patogenezinde rol alan hücrel ve moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılması hastalığın tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

ADAMTS'ler (A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motifs) agrekan, brevikan ve versikan gibi hyalektikan proteoglikanlarına karşı proteolitik aktivite gösteren geniş bir proteoglikanaz enzim ailesidir. Ekstraselüler matriksi (ECM) degrades ederek artiküler kıkırdak kaybına ve endotelial doku hasarına sebep olan osteoartrit (OA) ve romatoid artrit (RA) gibi artritlerde, trombozda anevrizmada ve aterosklerozda ADAMTS proteazlarının görev aldığı gösterilmiştir. İmmün yanıtta ve inflamasyonda önemli mediyatörler olan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinler diğer inflamatuvar artrit ve vaskülitlerde olduğu gibi BH'nin patogenezinde de önemli rol oynarlar ve hastalığın progresyonu aberant sitokin ekspresyonu ile ilişkilidir. ADAMTS proteazlarının ekspresyon düzeylerinin TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinler tarafından upregüle edildiği bilinmektedir. BH'de immünolojik faktörler üzerine yoğun çalışmalar yapılmasına rağmen, inflamatuvar proses ile ilişkili olan ADAMTS proteazlarının bugüne kadar hastalığın patogenezinde rollerinin olup olmadığı bilinmemektedir. Bu nedenle, bu çalışmada ADAMTS genlerinin ekspresyon düzeylerinin BH'de prognostik biyobelirteç ve terapötik hedef olarak kullanılıp kullanılamayacağının belirlenmesi amacı oldukça önemlidir.

Amacımız; ekstraselüler matriksin (ECM) yeniden modellenmesinde rolü olan ADAMTS proteazlarının (ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9 ve -15) kronik immüno-inflamatuar bir hastalık olan Behçet Hastalığı (BH) patogenezindeki rollerini araştırmaktır.

Bu amaç doğrultusunda, 30 aktif dönem Behçet hastasından ve 30 sağlıklı kontrolden alınan total kandan periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) izole ettik. PBMC’lerde ADAMTS (ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9 ve -15) genlerinin mRNA ifadelerini real-time PCR (qPCR) yöntemini kullanarak ölçtük.

ADAMTS’lerin BH patogenezindeki potansiyel rollerinin ilk kez ortaya çıkartılması; ADAMTS’lerin potansiyel prognostik biyobelirteç olarak kullanılmalarını ve tedaviyi yönlendirici katkı sağlamalarını mümkün kılabilecektir.

Anahtar Sözcükler, BH, ADAMTS, ECM, PBMC, biyobelirteç

SUMMARY

Behçet Disease (BD) is a multisystemic inflammatory vasculitis characterized by a wide clinical spectrum including recurrent oral and genital ulcers, ocular, mucocutaneous, articular, neurologic, vascular and gastrointestinal involvement. Significant organs involvements cause severe morbidity and mortality in patients in spite of treatment. Genetic, environment and immunological factors play roles in the pathogenesis of BD. Although intensive studies have been done on the immunological factors, the pathogenesis of BD is still completely unknown. At present there is no definitive cure for BD and there are no specific markers that can accurately predict disease progression and therapeutic response. This indicates the importance of more understanding of cellular and molecular mechanisms regulating the disease. A better understanding of cellular and molecular mechanisms playing roles in the pathogenesis of BD will allow the development of new therapeutic strategies to fight with the disease.

ADAMTS (A disintegrin-like and metalloproteinase domain with thrombospondin-1 repeats) is a large family of proteoglycanase enzymes that show proteolytic activity towards hyaluronan proteoglycans, such as aggrecan, brevican, neurocan, and versican. It has been known that the expression levels of ADAMTS proteases which cause articular cartilage loss and damage of endothelial tissue by degrading extracellular matrix (ECM) in arthritis, such as osteoarthritis (OA) and rheumatoid arthritis (RA), thrombosis, vascular aneurysm and atherosclerosis are upregulated by pro-inflammatory cytokines, such as $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ ve IL-6 which are important mediators play important roles in the pathogenesis of BD as well as other inflammatory arthritis and vasculitis and the disease progression is associated with aberrant cytokine expression. Although intensive studies have been done on immunological factors in BD, whether ADAMTS proteases associated with inflammatory process play roles in the pathogenesis of BD remains unknown so far. Therefore, in this study the aim of the determination of whether the expression levels of ADAMTS genes can be used as a prognostic biomarker and therapeutic target in BD is quite important.

Our aim is to investigate the roles of ADAMTS proteases (ADAMTS-1, -4, -5, -8, 9 ve -15) in the pathogenesis of Behçet Disease (BD), which is a chronic immune-inflammatory multisystem disease.

For this purpose, periferal blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated from total blood obtained from 30 BD patients in active period and 30 healthy controls. The mRNA expression of ADAMTS (ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9 and -15) genes in PBMC was measured through real-time PCR (qPCR).

Revealing the potential roles of ADAMTS in the pathogenesis of BD for the first time; It would enable the use of ADAMTS as a potential prognostic biomarker and contributing to guiding.

Keywords, BD, ADAMTS, ECM, PBMC, biomarker

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADAMTS:	A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motifs
β :	Beta
BH:	Behçet Hastalığı
BHAAS:	Behçet Hastalığı Anlık Aktivite Skoru
BKİ:	Beden kitle indeksi
cDNA:	Complementary DNA
CRP:	C-reaktif protein
δ :	Delta
ECM:	Ekstraselüler matriks
ESH:	Eritrosit sedimentasyon hızı
γ :	Gamma
GİS:	Gastrointestinal sistem
GM-CSF:	Granülosit-makrofaj koloni stimule edici faktör
HLA:	İnsan lökosit antijen
HSV:	Herpes simpleks virus
ICAM-1:	İnterselüler adezyon molekülü-1
IFN:	İnterferon
Ig:	İmmünglobulin
IL:	İnterlökin
INF- γ :	İnterferon gamma
IŞP:	Isı Şok Proteinleri
MHC:	Majör histokompatibilite kompleks
MIC:	MHC klas 1 ilişkili gen
MMP:	Matrix metalloproteinaz
MR :	Manyetik rezonans
MSS:	Merkezi sinir sistemi
NK:	Naturel killer

OA:	Osteoartrit
PAA:	Pulmoner arter anevrizması
PBMC:	Periferik kan mononükleer hücreleri
PBS:	Phosphate Buffered Saline
PMNL:	Polimorfonükleer hücreler
qPCR:	Real-time PCR
RA:	Romatoid artrit
Th:	T helper
TIMP:	Tissue inhibitors of metalloproteinase
TNF- α :	Tümör nekrozis faktör alfa
VEGF:	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Behçet hastalığı (BH), tekrarlayan oral ve genital ülserler, oküler, kutanöz, artriküler, nörolojik, vasküler ve gastrointestinal belirtileri içeren geniş bir klinik spektrumla karakterize multisistemik bir inflamatuvar vaskülitir. Klinik ve deneysel çalışmalar hastalığın patogenezinde immün sistemin merkezi bir rolünün olduğunu işaret etmesine rağmen; genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin kompleks interaksiyonundan dolayı BH'nin patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. İnflamatuvar hücre veya sitokinler üzerinden hastalığı hedef alan tedavilerin BH'nin bazı semptom ve bulgularının tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmış olmasına rağmen bazı hastaların bu tedavilere yanıt vermediği görülmüştür. Bu durum hastalığın prosesinde önemli roller oynayan diğer faktörlerin olduğuna işaret etmektedir.

BH'nin patogenezi tam olarak bilinmediği için günümüzde küratif bir tedavisi yoktur ve hastalık progresyonunu ve terapötik yanıtı tam olarak gösteren spesifik biyobelirteçler mevcut değildir. Bu nedenle hastalığın diagnozu, prognozu ve tedaviye yanıtı için BH'ye spesifik biyobelirteçlerin keşfedilmesi ve yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

BH'nin gelişmesinde rolü olan moleküler sinyal yolları ve ilgili genlerin ekspresyonunun daha iyi anlaşılması; BH'nin patogenezi hakkındaki bilgimizi ilerletmek ve BH'ye spesifik yeni moleküler terapötik hedefleri başarılı bir şekilde tanımlamak için gerekmektedir. Relapslarla giden kronik inflamatuvar seyir, mortalite ve morbiditelere neden olduğu için yeni terapötiklere ihtiyaç duyulmaktadır. BH'nin patogenezinin tam olarak anlaşılabilmesi ve yeni terapötiklerin geliştirilmesi için inflamatuvar sinyal yollarındaki mediyatörlerin rollerinin ve izlemiş oldukları moleküler mekanizmalarının ortaya çıkartılması büyük önem taşımaktadır.

ADAMTS proteazlarının trombüs oluşumu, ateroskleroz, vasküler anevrizma, RA ve OA progresyonu ile ilişkili olduğu ve ECM degradasyonunu gerçekleştirerek eklem kıkırdığı ve endotel hasarına yol açtığı bilinmektedir. ADAMTS'lerin inflamasyondaki çeşitli reseptörler ve ligandlarla interaksiyonu, inflamatuvar yanıtta, birçok pro-inflamatuvar sitokinin ekspresyonunda da artışa neden olmaktadır. Pro-inflamatuvar sitokinlerin fazladan üretimi inflamatuvar hastalıkların patogenezinde ve progresyonunda önemli rol oynar. ADAMTS'lerin aktivitesini modüle eden

stratejiler kronik inflamatuvar hastalıkların mücadelesinde önemli terapötik potansiyele sahiptir. BH’de inflamasyonla ilişkili olan patofizyolojik, moleküler ve biyokimyasal mekanizmaları anlamak yeni potansiyel terapötiklerin gelişmesine olanak sağlayabilecektir.

Amacımız, eklemde ekstrasellular matriks (ECM) degradasyonunu gerçekleştirerek romatoid artrit (RA), osteoartrit (OA) gibi eklem hasarına yol açan romatizmal hastalıklarda, endotelde ECM hasarına bağlı ateroskleroz, anevrizma ve trombüs oluşumunda önemli rolleri olan ve ekspresyon düzeyleri pro-inflamatuvar sitokinler tarafından upregüle edilen ADAMTS proteazlarının BH patogenezindeki rollerini araştırmaktır. ADAMTS proteazları ECM remodellenmesinde, büyüme faktörleri ve çeşitli sitokinlerin salınımında görev aldığı için birçok hücresel süreçte önemli rollere sahiptir. İmmünopatogenezi tam olarak bilinmeyen BH’de ADAMTS proteazlarının araştırılması hastalığın patogenezinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacaktır. Ayrıca ADAMTS proteazlarının BH’deki rollerinin ilk araştırılması BH’nin oluşumu ve progresyonunun tedavisi için ümit verici terapötik bir yaklaşım sağlayabilecektir.

Bu kapsamda elde edilecek sonuçların, aşağıda belirtilen bilimsel sorulara yanıt vermesi hedeflenmektedir.

- BH hastalarının PBMC’lerinde, ADAMTS genlerinin ekspresyon seviyelerinde değişiklik var mıdır?
- ADAMTS genlerinin ekspresyon düzeyleri BH’nin tedavisinde moleküler prognostik biyobelirteç olarak kullanılabilir mi?

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım ve Tarihçe

Behçet Hastalığı; oral aft, genital ülser ve cilt lezyonlarının yanı sıra artriküler, oküler, gastrointestinal, nörolojik, kardiyak, tutulumla seyredebilen multisistemik bir vaskülitir (1).

BH'nin bulgularına benzer bulgular ilk kez Hipokrat döneminde tanımlanmaya çalışılmıştır (2). Oral aft, genital ülser ve irit triadı 20. yüzyılın erken dönemlerin de tanımlanmış olsa da bu bulgular tüberkuloz ve sifilize bağlanmış (3). Bir Türk dermatolog olan Prof. Dr Hulusi Behçet, ilk olarak 1924 yılında reküren aftöz stomatit, genital ülser, eritema nodozum ve göz tutulumu olan bir erkek hastayı tariflemiştir. 1930 ve 1936 lı yıllarda iki hasta da benzer bulgular saptayan Hulusi Behçet, bu bulguların özgün bir hastalığa ait olduğunu ileri sürmüştür. Bu düşüncesini 1936'da İstanbul'da Dermatoloji ve Veneryal Hastalıklar Derneği toplantısında sunmuş ve bu konudaki ilk uluslararası yayını 1937'de "Dermatologische Wochenschrift" dergisinde yayımlamıştır (4-7).

1947'de Cenevre'de düzenlenen Uluslararası Dermatoloji Kongresi'nde bu yeni tablo "Morbus Behçet" olarak adlandırılmıştır. Daha sonra uzun süre literatürde "Behçet'in 3'lü semptom kompleksi", "Behçet sendromu" gibi isimlendirmeler kullanılmıştır. Günümüzde ise çoğunlukla "Behçet hastalığı" terimi tıp literatüründe kullanılmaktadır (8,9).

2.2 Epidemiyoloji

BH, tüm dünyada ve hemen hemen her ırkta görülebilmesine rağmen, tarihi ipek yolu üzerinde bulunan Akdeniz, Orta Asya ve Uzak Doğu ülkelerinde görülmesi nedeniyle "İpek Yolu Hastalığı" olarak da adlandırılmaktadır (10). Yapılan çalışmalarda hastalığın prevalansının en yüksek Türkiye'de olduğu bildirilmiştir (80-370/100 000). Diğer endemik bölgelerde yapılan çalışmalarda (Japonya, Kore, Çin, İran, Irak ve Suudi Arabistan) hastalığın prevalansı 13,5-35/100 000 olarak

bildirilmiş (11,12). BH, Amerika’da, İngiltere’de ve Kuzey Avrupa ülkelerinde yaşayanlarda ve siyah ırkta seyrek olarak görülmektedir (1/300.000). Ayrıca Amerika yerlilerinde bu hastalığa hemen hemen hiç rastlanmamaktadır (13).

BH her yaş grubunda görülebilmekle beraber tipik olarak 20-40 lı yaş grubunu etkilemektedir (14). Türk hastalarda ortalama başlangıç yaşı 23,3 iken Almanya’da 26, Japonya’da ise 35,7 olarak bildirilmiştir (15). Çocukluk çağında ve ileri yaşlarda daha nadir görülür. Juvenil BH, 16 yaştan küçük başlangıçlı BH olarak tanımlanmakta, farklı etnik gruplarda görülme sıklığı %2-21 olduğu bildirilmiştir. Çocuklarla ilgili serilerde erişkinlerdekine benzer klinik ancak daha fazla ailevi birliktelik olduğu saptanmıştır (%19 juvenil BH’de, %10,3 erişkin BH’de) (16,17). BH’nin cinsiyet dağılımı farklı bölgelerde farklılık göstermektedir. Orta Doğu, Türkiye ve İran’da yapılan çalışmalarda erkek oranında yükseklik bildirilirken, Japonya, Çin ve ABD’de yapılan çalışmalarda kadın dominansı olduğu bildirilmiştir. Türkiye’de yapılan bazı çalışmalarda erkek kadın oranı birbirine yakın bulunmuştur (18). Genetik faktörler ve etnik köken dışında, çevresel faktörler de BH sıklığını etkilemektedir (19). Örneğin, Almanya’da yaşayan Türklerde hastalığın sıklığı diğer ırklara kıyasla daha fazla olduğu ancak bu oranın yine de Türkiye’dekinden daha az olduğu görülmüştür (20).

2.3. Patogenez

BH’nin patogenezine yönelik birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin kompleks etkileşiminden dolayı BH’nin patogenezini tam olarak bilinmemektedir. Bugün için en çok üzerinde durulan hipotez; kimyasal maddeler veya bazı mikroorganizmalar gibi çevresel bir antijenle ve/veya otoantijenlerle tetiklenme sonucu var olan genetik yatkınlıkla beraber immünolojik bozukluğun olduğu ve ortaya çıkan immünolojik değişikliklerin hastalıkta gözlenen klinik semptomlara neden olduğu şeklindedir (21,22). Hastalığın patogenezini son yıllarda sağlanan gelişmeler ışığında 3 alt başlık altında aşağıda özetlenmiştir.

2.3.1. Genetik faktörler

BH tek genli kalıtım göstermemesine rağmen, tarihi İpek Yolu üzerindeki ülkelerde daha sık görülmesi ve ailesel olguların varlığı hastalığın patogenezinde

genetik faktörlerin etkili olabileceğini düşündürmüştür (23,24). Ayrıca BH'nin patogeneğinde genetik faktörlerin önemli rolünün olduğunu vurgulayan çok sayıda çalışma vardır. Yapılan bu çalışmalarda bildirilen en güçlü genetik yatkınlığın İnsan Lökosit antijeni-B (HLA-B) genindeki polimorfizmlerle özellikle HLA-B51 ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. İlk defa Japon araştırmacılar tarafından ortaya konan bu ilişki daha sonraki yıllarda farklı etnik kökenli hastalarda yapılan çalışmalarla da doğrulanmıştır (25,26). Yapılan çalışmalarda HLA B5 taşıyıcılarında BH'nin gelişme olasılığı, bu antijeni taşımayanlara göre 5 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur (27). HLA-B5 lokusu HLA-B51 ve HLA-B52 alellerinden oluşmakta ve BH ile ilişkili olan alel HLA-B51 ya da HLA-B51'in major alt tipi olan HLA-B5101 alelidir (7,28). HLA-B51 hastalığı indükleyen alel olarak kabul edilmekte ve farklı etnik kökenli hastalarda yapılan genetik çalışmalar HLA-B51 in BH patogeneğinde doğrudan rol aldığını desteklemektedir (29-31).

HLA-B51 alelinin sıklığı toplumlar arasında da farklılıklar göstermektedir. İpek Yolu coğrafyasında normal popülasyonda HLA-B51 pozitifliği %25 iken Behçet Hastalarında bu oran %50-80 olarak bulunmuştur. BH'nin daha az sıklıkla görüldüğü diğer ülkeler de ise bu oranın %2-15 olduğu bildirilmiştir (32). Türkiye'de yapılan 2 çalışmada Behçet hastalarında HLA-B51 pozitifliği %54,1 ve %81,8, İtalya'da bu oran %71,4 olarak bildirilmiş (33-35).

Almanya'da Türk ve Alman Behçet hastalarında yapılan çalışmada HLA-B51 pozitifliği Alman Behçet hastalarında %58, Türk kökenli Behçet hastalarında %75 olarak bulunmuştur (36). BH ile HLA-B51 aleli arasındaki ilişki ABD ve İngiltere'de belirgin değildir (37).

Yapılan bir çalışmada, BH'de en sık görülen alel olan HLA-B5101 hastalık şiddeti ve kötü prognozla ilişkilendirilmiş, bu alelin özellikle erkeklerde daha şiddetli klinik seyirle (üveit, nörolojik tutulum ve eritema nodozum gibi) ilişkili olduğu gösterilmiştir (7,29,38,39). Başka bir çalışmada en az beş yıldır BH tanısı almış 148 hastada HLA-B51 varlığı ile hastalık şiddeti arasındaki ilişki araştırılmış; genital ülser, deri bulguları, deri paterji testi pozitifliği ve oküler tutulum varlığında HLA-B51 pozitifliğinin daha sık olduğu bildirilmiştir. Ancak HLA-B51 pozitifliği ile şiddetli hastalık seyri arasında bir ilişki gösterilememiştir (40).

Behçet hastalarında klinik bulgularla HLA-Class 1 antijenleri arasındaki ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, HLA-B51 varlığı ve HLA-B35 yokluğunun Behçet hastalarında venöz tromboz için risk faktörü olduğu öne sürülmüştür (41). Son zamanlarda Behçet hastalarında HLA-B5108 ve 5109 alt tipleri de saptanmıştır (42). Behçet hastalarının önemli bir kısmında HLA-B51 pozitifliği olmaması HLA-B51'in etyopatogeneze sorumlu tek gen olmadığı ve henüz tam olarak tanımlanamamış gen bölgelerinin de olabileceği öngörülmektedir.

Son yıllarda BH için çok sayıda gen polimorfizmi değerlendirilmiştir. Bu genler içerisinde HLA B51'e yakın komşuluk gösterenlerden özellikle tümör nekroz edici faktör-alfa (TNF- α) başta olmak üzere çok sayıda gen üzerinde durulmuştur. TNF- α geni, 6. kromozomun kısa kolunda bulunan ve HLA-B'ye 200 kb yakınlığında yerleşim gösteren bir gendir. Yapılan bir çalışmada İngiliz toplumunda HLA-B51'den bağımsız olarak, TNF- α -1031T/C promotör gen polimorfizminin hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (43). Ülkemizde yapılan bir çalışmada da, TNF- α -1031T/C gen polimorfizminin HLA B51'den bağımsız bir risk faktörü olabileceğini desteklemektedir (44).

BH ile ilişkisi gösterilmiş bir diğer immünogenetik lokus MIC (MHC class I ilişkili gen) genleridir. MIC genleri HLA-B51 ile ilişkili bir gen bölgesi olup TNF ve HLA-B doku grubu arasındaki bir bölgededir ve MHC I sınıfı moleküller tarafından tanınabilen aminoasit dizisi içerirler. MIC geninin hastalık için aday gen olabileceği fikri üzerinde çokça durulmuştur. Isı şoku sırasında bu genlerin ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiş ve MIC geni ürünlerinin bakteriyel antijenleri $\gamma\delta$ T hücrelerine sunarak immün yanıtta görev alması da bunda rol oynamıştır. MIC molekülleri Behçet Hastalarının periferik kan örneklerinin de arttığı bildirilmiştir (45). Yapılan çalışmalarda MIC 6 ve MIC 9 alelleri ile BH arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu gösterilmiştir (39,46).

HLA doku grupları dışında genetik faktör odakları olarak IL-23R, IL-12RB2 ve IL-10 bölgeleriyle de BH arasında ilişki olabileceği bildirilmiştir. IL-23R, IL-23 reseptörlerinin bir kısmını kodlar. IL-23 ise Th17 ve TNF- α salınımını upregüle eder. IL-12RB2 ise IL-12 zincirini kodlar. IL-12 Th1 cevabı, T hücre ve Naturel killer (NK) hücre sitotoksitesinde artışa, T ve NK hücrelerinde Interferon gama (IFN- γ)

yapımının artışına neden olur. IL-10 ise proinflamatuvar sitokinler olan IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α ve INF- γ nın kuvvetli inhibitörü olup ayrıca T hücre ve NK hücrelerinin makrofajlar tarafından aktive etmesini engeller. Genetik olarak doğal bağışıklık yanıtında meydana gelen dengesizlik (proinflamatuvar yanıtların artışı, IL-10 gibi inhibitör stokinlerin salınımının etkilenmesi), BH'nin ataklar ve remisyon şeklinde seyreden klinik seyrinin oluşumunda rol oynayabilir. Diğer taraftan başka bir çalışmada fonksiyonel TNF- α ve IL-10 genotiplerinin veya kombine TNF- α ve IL-10 genotiplerinin BH'ye yatkınlığı arttırdığı gösterilememiştir (47).

Yapılan çalışmalarda genetik olarak BH ile ilişkili bulunan diğer Non-HLA genleri: (ICAM)-1 geni (intercellular adezyon molekülü-1), Endotelyal Nitrikoksit geni, VEGF geni (vascular endothelial growth factor), Manganese Superoxide Dismutase geni, Sitokrom P450 geni, ERAP-1 geni (endoplasmic reticulum aminopeptidase 1) olarak sıralanabilir (48-51).

2.3.2. Enfeksiyöz ajanlar

2.3.2.1. Viral etyoloji

BH'nin tetiklenmesinde ve gelişmesinde enfeksiyöz ajanların sorumlu olabileceği düşünülmüş, enfeksiyöz bir ajanın hastalığın patogeneğinde rol oynayabileceğine ilk dikkat çeken araştırmacılardan birisi hastalığa adını veren Dr. Hulusi Behçet olmuştur. Daha sonradan birçok araştırmacı viral etyoloji kanıtı olabilecek gözlemlerini bildirmişlerdir. Özellikle Herpes simpleks virüs (HSV)-1 ile BH arasındaki olası bir ilişki birçok araştırmaya konu olmuştur. Behçet hastalarında sağlıklı kontrollere göre serumda daha sık HSV-1 antikorlarının belirlenmesi, Behçet hastalarından izole edilen lenfosit çekirdeğinde HSV-1 genomunun izole edilmesi ve dolaşımda HSV-1 antijeni içeren immünkomplekslerin saptanması bu ilişkiyi destekleyen bulgulardır (29). Ayrıca yapılan bir çalışmada Behçet hastalarının genital lezyonlarında ve tükürük salgılarında HSV-1 DNA'sı izole edilebilmişken başka bir çalışmada oral aftöz lezyonlardan HSV-1 DNA izolasyonu yapılamadığı bildirilmiştir (52-54). Ancak yapılan yayınlarda hastalıkta oluşan lezyonun BH'ye mi ait yoksa izole HSV-ilişkili lezyon mu bunu ayırtetmenin zorluğu vurgulanmaktadır. Bugün için BH'de HSV'nin yeri direkt olarak hastalığı oluşturmaktan çok T hücre immün regülasyonuna olan etkisi ile açıklanmaktadır (53).

Yine vaskülitlerle yakın ilişkili olduğu gösterilen parvovirüs B19 ile BH arasındaki ilişkisi araştırılmış, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Behçet hastalarında hastalığa bağlı cilt lezyonlarında parvovirüs B19 DNA'sının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Behçet hastalarında ülseratif lezyonlara kıyasla non ülseratif lezyonlarda DNA izolasyonun anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (55). Bir başka çalışma da hasta ve kontrollerin periferik kan örneklerinde anti-parvovirus B19 Ig M ve Ig G düzeyleri karşılaştırılmış, Behçet hastalarında anti-parvovirus B19 IgM pozitifliği saptanırken, kontrol grubunda parvovirus B19 IgM antikor pozitifliği saptanmamıştır. Ancak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Behçet hastalarında anti-parvovirus B19 IgG düzeylerinde anlamlı yükseklik saptanmamıştır. Bu durum BH patogeneğinde parvovirüs B19 ile anlamlı ilişkinin bulunmadığı ve akut parvovirüs enfeksiyonu olan Behçet hastalarının rastlantısal olabileceğini şeklinde yorumlanmıştır (56). Viral etyolojiyle ilgili Hepatit A,B,C ve E virüsleri araştırılmış ancak etyolojik olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (57,58)

2.3.2.2 Bakteriyel etyoloji

Oral aftlar BH'nin ilk bulgusu olması nedeniyle oral mukoza florasında bulunan mikroorganizmaların hastalığın gelişiminde rol oynayabileceği üzerinde uzun yıllardan beri durulmaktadır. Tonsillit enfeksiyonunu veya dişlerle ilgili girişimleri takiben başta oral ülser olmak üzere hastalığın çok sayıda belirtisinde aktifleşme görüldüğü, streptokok antijeniyle indüklenmiş deri testlerine reaksiyonunun varlığı, yüksek tonsillit prevalansı, hastaların ağız florasında atipik streptokok türlerinin baskınlığı ve antimikrobiyal ilaçlardan antibiyotikler ve antiseptikler oral ulserlerin ve diğer hastalık belirtilerinin kontrol altına alınmasında başarı ile kullanılmakta ve streptokok antijenleriyle BH'de T hücrelerinden IL-6 ve TNF- α salınımını arttırdığı gösteren son çalışmalar BH'nda olası patogeneğinde streptokokların rolünü düşündürmüştür (23,29,42,59,60). Ayrıca, *S. sanguis* ve *S. pyogenes*'e karşı gelişen antikorlar Behçet hastalarının serumlarında kontrol grubuna göre belirgin derecede daha sık oranda saptanmaktadır (21).

Yapılan çalışmalarda BH ve mikobakteriyel enfeksiyon ilişkisi de araştırılmış ve bu ilişki, son yıllarda önemi artan ısı şok proteinleri (İŞP) kavramıyla daha da

güncelleşmiştir. Bazı olguların serumlarında S. Sangius un belirli serotipleri ile çapraz tepkime verme yetisinde olan, M. tuberkulozis IŞP-65 için özgül ve IgA izotipinde antikorlarda artış gözlenmiştir (61).

Yapılan bir başka araştırmada Helicobakter pylori'ye verilen cevabında rol oynayabileceği düşünülmüştür. Çalışmaya dahil edilen Behçet hastaları ile kontrol grubunun serum Helicobacter pylori IgG düzeyleri karşılaştırmış ve benzer bulunmuştur. Ancak Behçet hastalarının serumlarında Helicobacter pylori cytotoxin-associated gene-A antikor düzeyi kontrole göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu antikorların endotel antijenleriyle çapraz reaksiyona girip vasküler hasar yaptığı varsayılır. Helicobacter eradikasyonunun BH aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir (62).

Mevcut verilere göre BH'nin doğrudan mikroorganizmalardan kaynaklanmadığı, ancak genetik yatkınlık zemininde bu ajanlara bağlı olarak bireylerde gelişen immün düzensizliklerin hastalığın patogenezinde rol oynayabileceğine inanılmaktadır. Etiyolojide söz konusu mikroorganizmalara ait yapısal moleküllere karşı gelişen immün yanıtın, çapraz reaksiyon ile BH lezyonlarına neden olduğu düşünülmektedir (13).

2.3.3. Isı şok proteinleri

Isı şok proteinleri (IŞP), hücrelerin yüksek ısıya maruz kalmasıyla üretimi artan, mikroorganizmalarda ve hayvan dokularında bulunan immün reaktif proteinlerdir. IŞP'ler, inflamatuvar durumlar, ultraviyole ve toksin maruziyetinde oluşabilmektedir. Bu nedenle IŞP ye stres proteinleri de denilmektedir ve stres cevabın bir komponenti olarak görülmektedir (63-65). Son yıllarda yapılan araştırmalar IŞP'ye karşı gelişen antikorların Behçet hastalarında çapraz otoimmün reaksiyona yol açtığına işaret etmektedir. Bu şekilde bir çapraz reaksiyonu açıklayabilecek benzer yapıları olan mikrobiyal 65 KD IŞP'ler ve insan 60 KD IŞP'ler saptanmıştır (61).

BH patogenezinde üzerinde durulan Streptokok suşlarının da (S. sangius, S. pyogenes, S. salivarius, S. faecalis) IŞP (65 kd) içerdiği gösterilmiştir (23). İnsan mitokondrial IŞP (60 kd)'nin streptokokal IŞP (65 kd) ile arasındaki bu benzerlik

bakteriyel IŞP'ye yanıt veren T lenfositlerin çapraz-aktivite mekanizması ile otoreaktif T hücrelerini uyardıkları öne sürülmüştür (42). Bu bulgu Behçet hastalarında başlangıçta IŞP (65 kd)'ye karşı gelişen immün yanıtın zaman içinde kendi IŞP (60 kd)'sine yönelebileceğini ve otoimmün mekanizmayı başlatarak BH'deki patolojik değişiklikleri başlatabileceğini düşündürmektedir (23).

Bir diğer stres proteini olan Alfa-beta kristalinin; Nörobeçetli hastalarda arttığı ve parankimal tutulumun göstergesi olabileceği ileri sürülmüştür (66).

IŞP'ye karşı T hücre proliferatif yanıtının BH için tanısal bir test olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür. Aktif dönem Behçet hastalarının %76'sında pozitif saptanan bu test; rekürren oral aftları olan, başka sistemik hastalığı bulunan ve sağlıklı kişilerden oluşan kontrol gruplarının sadece %3'ünde pozitif olduğu gösterilmiştir (67).

2.3.4. İmmünolojik mekanizmalar

2.3.4.1. Sitokinler

BH'nin patogenezi açıklamak ve hastalığın aktivasyonunu değerlendirmek amacı ile günümüze kadar pek çok kemokin, sitokin ve bunların reseptörleri araştırılmıştır. Moleküler biyolojideki gelişmeler neticesinde immün sistem elemanlarının yapı ve görevleri hakkında elde edilen yeni bilgiler BH'de immünolojik mekanizmaların hastalığın başlamasında ve seyrinde önemli bir rol üstlendiğini göstermektedir. BH'de inflamasyonda önemli görevler üstlenen sitokinler, sitokin reseptörleri ve kemokinlerin düzeylerinin serum ve/veya plazmada özellikle hastalığın aktif döneminde arttığı gösterilmiştir (68,69).

BH'de immün sistem aktivasyonu göz önüne alındığında proinflamatuvar sitokinlerin ve medyatörlerin hastalık seyrine etki edebildiği düşünülmektedir (29,70). Yapılan çalışmalarda Behçet hastalarında IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18, TNF- α , and IFN- γ gibi sitokinlerin üretiminin arttığı, artan bu sitokin düzeylerinin hastalığın patogenezinin sorumlu olabileceği vurgulanmıştır (69, 71-78). Lenfosit ve retikuloendotelial hücrelerden salınan TNF- α 'nın birçok inflamatuvar hastalıkta olduğu gibi BH'nin immünopatogenezinde de etkili olduğu düşünülmüştür.

Yapılan çalışmalarda Behçet hastalarının serumlarında TNF- α düzeylerinin arttığı, aktif dönem Behçet Hastalarında bu artışın daha fazla olduğu gösterilmiştir (70,79,80). Ayrıca göz tutulumu olan Behçet hastalarının aköz sıvılarında da artmış TNF- α düzeyleri saptanmıştır (81). Bu bulgular BH'nin tedavisinde anti-TNF- α ajanların kullanımını gündeme getirmiştir (80,81).

BH'de serum IL-6 ve IL-8 düzeyi hem aktif hem de inaktif hastalıkta, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı saptanmış ve bu durum IL-6 ve IL-8'in BH aktivitesi için duyarlı bir belirteç olabileceği vurgulanmıştır (82). Ayrıca merkezi sinir sistem (MSS) tutulumu olan Behçet hastalarının beyin omurilik sıvılarında da artmış düzeyde IL-6 saptanmıştır (83). Yapılan başka bir çalışmada BH'de posterior üveitte serum IL-6, IL-8, TNF- α düzeyinin artış gösterdiği bildirilmiştir (76).

Sitokinlerin BH patogeneğinde ki rolleriyle ilgili başka bir çalışmada sağlıklı kontrollerle Behçet hastalarının serum IL-4 ve IL-13 düzeyleri karşılaştırılmış ve anlamlı yükseklik saptanmamıştır (75).

IL-2'nin moleküler fonksiyonu; sitokin aktivitesi ve IL-2 reseptör bağlanmasıdır. IL-2 immün yanıtta önemli bir yer teşkil etmektedir (7). Yapılan bir çalışmada aktif BH olgularında IL-2 salgılayan Th1 hücre sayısının arttığı saptanmış ve bunun sonucunda IL-2 miktarının arttığı ve IL-2'nin BH patogeneğinde etkili olduğu düşünülmüştür (84). Buna karşın BH ve IL-2 arasında anlamlı ilişki tespit edilemeyen çalışmalar da bulunmaktadır (83,85).

2.3.4.2. Hücrel immün sistem

BH de hem periferik kanda hem de doku örneklerinde T hücre aktivasyonu gözlenmektedir (13). Doğal immün yanıtın ilk savunma hattını oluşturan $\gamma\delta$ -T hücrelerinin BH'de artması, HLA- B51'in bağladığı antijeni yalnızca sitotoksik T hücrelerine sunabilmesi, Th1 sitokin sunumunun hastalık aktivitesi ile ilişkili olması, mukozal ülserasyonlarda T hücrelerinde artmış HLA class II antijeni ekspresyonu, paterji deri testinin patolojik incelemesinde geç dönemde T hücresinden zengin infiltrasyon izlenmesi ve T lenfosit fonksiyonlarını baskılayan ilaçların BH bulgularında etkili olması BH'nin immünopatogeneğinde T lenfositlerin majör rol

oynadığını ve hücrel immüitenin hastalığın patogeneğinde önemli rolünün olduğunu göstermektedir (23, 86, 87).

BH’de Th1 ile Th2 arasındaki dengenin bozulmasıyla birlikte artan lenfosit sayısının Th1 lehine değışmesi, özellikle aktif BH’de güçlü Th1 immün yanıtına sebep olmaktadır (29,69,88). Th1 yönüne kayan denge ile Behçet hastalarında proinflatuar mediyatörler olarak adlandırılan IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, IL-18, TNF-a ve IFN-γ düzeylerinde artış saptanmıştır (29,69,86,89,90).

BH’de T hücrelerinin çeşitli antijenlere karşı aşırı duyarlı oldukları ve primer anormalliğin çok sayıda antijene karşı aktivasyon eşğinin düşmesi ile sonuçlanan T hücre sinyal iletimindeki bozukluk olduğu gösterilmiştir. In vitro ve in vivo kanıtlar aktif Behçet hastalarından alınan lenfositlerin kendiliğinden TNF-α, IL-6 ve IL-8 salgıladıklarını göstermiş ve nötrofil fonksiyonunu aktive ettiğii bilinen bu proinflatuar sitokinlerin, düzeylerine uygun olarak aktif Behçet hastalarının serumlarında artmış olduğu saptanmıştır (29,30).

Th1 ve Th2 hücrelerine ek olarak Th17 hücre alt grubu tanımlanmıştır. Th17 hücreleri proinflatuar bir sitokin olan IL-17 yi üretir. Bu sitokin monositlerden, epitel ve endotel hücrelerinden TNF, IL-1, IL-6, IL-8 ve CXC ligand-1’in üretilmesini sağlar. Üretilen bu proinflatuar sitokinler inflamasyonun olduğu alana nötrofillerin hızla migrasyonuna katkıda bulunur (91). Yapılan bir çalışmada oral aft, genital ülser, aktif göz tutulumu ve eklem tutulumu olanlarda inaktif hastalara ve sağlıklı kontroller göre serum IL-17 düzeyi belirgin derecede yüksek bulunmuştur (92). Bir başka çalışmada Th17 hücrelerinin ve bu hücrelerden salınan IL-17’nin Behçet hastalarında ve özellikle aktif üveiti olan hastalarda artmış inflamasyondan sorumlu olduğunu bildirilmiştir (93)

2.3.4.3. Humoral immüinite

BH patogenezi hakkında yapılan immünolojik çalışmalarda; özellikle hücrel immüitenin aktivasyonu ile ilgili kanıtlar ortaya konmuş olsa da BH’deki immün sistem değışikliklerinin sadece hücrel immüiniteyle sınırlı kalmayıp humoral immüitedeki değışikliklerle de ilişkili olduğu gösterilmiştir (13).

Aktif dönem Behçet hastalarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında toplam B lenfosit sayısında artış olmaksızın poliklonal olarak immünoglobulin düzeyinde artış olduğu saptanmıştır. Behçet hastalarının %44-%60'ında spesifik antijene karşı olmayan heterojen yapıda IgG, IgA, IgM tipinde immün kompleksler bulunmaktadır. Bu immün komplekslerin nötrofil hiperfonksiyonuna neden olarak doku hasarı oluşturabileceği ileri sürülmektedir. Behçet hastalarında saptanan poliklonal B hücre aktivasyonun; supresör T hücre disfonksiyonu veya B hücre aktivasyonuna neden olan IL-6, IL-1 ve IL-10 gibi sitokinlerin aşırı miktarda salgılanması sonucu oluşabileceği düşünülmüştür (94-100).

Behçet hastalarının serum incelemesinde IgG ve IgD düzeylerinde artış sadece aktif hastalıkta saptanmışken, hastalık aktivitesine bağlı olmaksızın IgA düzeyleri artmış olduğu bildirilmiştir. Klinikte mukozal lezyonların ön planda olması hastalığın etiyopatogenezinde IgA'nın rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Hastalarda serum IgA düzeyi yüksekken tükürük salgısında düşük bulunmuştur. Sekretuar IgA düşüklüğünün antijenik uyarıların vücuda girişi için açık kapı oluşturabileceği düşünülmüştür (29,96).

BH klasik otoantikor bağımlı hastalıklardan farklıdır. Behçet hastalarında otoantikor üreten CD5⁺, CD19⁺ B hücrelerinde artış yoktur. Genel olarak B hücre sayısında değişiklik saptanmazken aktif hastalarda CD13⁺, CD33⁺, CD80⁺ B hücrelerinde artış tespit edilmektedir (13).

2.3.4.4. Nötrofil ve monosit aktivasyonu

Doğal immün yanıt hücrelerinden nötrofillerin aktivitesinin BH'de arttığı, bu aktivite artışının aktif tutulumu olmayan Behçet hastalarında da görüldüğü bildirilmiştir (101). BH'de monositlerden salınan IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α ve granülosit makrofaj koloni stimüle eden faktör (GM-CSF) gibi bazı proinflamatuvar sitokinlerin vasküler geçirgenliği kolaylaştırarak nötrofil kemotaksisinde ve doku migrasyonunda artışa sebep olduğu ve bu artışın doku hasarıyla sonuçlandığı, ayrıca bu sitokinlerin endotel hücreleri ile etkileşime girerek polimorfo nükleer lökosit (PMNL) aktivasyonuna katkı sağladığı gösterilmiştir (23,29). Nötrofilin endotele bağlanması, E-selektin gibi adezyon moleküllerinin yüzey ekspresyonunun

artmasıyla daha da kolaylaşmakta olup luminal yüzeyde E-selektinin artması, nötrofilin adezyonunu hızlandırmakta ve etkilenen damar duvarına nötrofil migrasyonunu kolaylaştırmaktadır (102). IL-8 ve TNF- α gibi sitokinlerin artan seviyesi PMNL ve endotelial yüzey aktivasyonuna sebep olmaktadır (103,104). BH'de PMNL motilitesinin arttığı ve in vitro ortamda endotelial hücrelere adezyon artışı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca CD-11, CD-18 ve ICAM-1 i gibi hücre yüzey reseptörlerinin ekspresyonun da arttığı bildirilmiştir. Hasta serumlarında soluble ICAM-1'in BH'de arttığı ve serum soluble ICAM-1 konsantrasyonunun, hastalık aktivitesiyle korele olabileceği düşünülmüştür (105,106). Ayrıca Behçet hastalarında serum-soluble selektin düzeylerinde yükseklik olduğu, tedavi edilmiş ve inaktif hastalığı olan hastalarda ise yükselme olmadığı gösterilmiştir. BH'ye bağlı retinal vaskülit olan hastalarda yapılan bir çalışmada, soluble E-selektin, s-ICAM-1 ve IFN- β seviyelerinde yükselme olduğu gösterilmiştir. İn vitro çalışmalar bunun retinal vasküler endotelial hücrelerin aktivasyonuna bağlı olduğunu göstermiştir (29).

Behçet hastalarında artan reaktif oksijen miktarı, oksidatif stresin başlıca kaynağı olan nötrofil aktivasyonunun varlığını desteklemektedir. Ayrıca endojen serbest radikalleri temizleyen enzim aktivitesinin BH'de azaldığı ve oksidan-antioksidan dengesinin bozulduğu gösterilmiştir (29,107-109). Yapılan çalışmalarda nötrofil aktivite belirteçleri olan PMNL-elastaz, plazma myeloperoksidaz ve ileri okside protein ürünlerinin hastalık aktivitesi ve şiddeti hakkında muhtemel bir belirteç olabileceği öne sürülmüştür (105,110,111).

Matrix metalloproteinazlar (MMP) lökositlerin santral sinir sistemine invazyonunda rol oynar. BOS'ta bakılan MMP-9 seviyesi kontrolle karşılaştırıldığında BH'de arttığı ve nörolojik tutulumu olan BH'li hastalarda yapılan bir çalışmada MMP-9 seviyesinin nötrofil ve mononükleer hücre seviyesiyle korele olduğu tespit edilmiştir (112).

BH'de görülen eklem tutulumu sinovyal inflamasyonla karakterizedir ve eklemlerde nötrofilik inflamasyonun lenfositik inflamasyondan daha fazla olduğu bildirilmiştir (113).

2.3.4.5. Behçet hastalığı ve otoimmünite

BH birçok yönü ile otoimmün bir hastalık olarak değerlendirilebilir. Hastaların bir bölümünde damar duvarında depolanan immün komplekslerin yanı sıra dolaşan antikorların saptanması bu teorinin geliştirilmesinde önemli rol oynamıştır. Hastalığın otoimmün kökenli olduğuna ilişkin bir diğer önemli kanıt ise immünsupresif ilaçların bu hastalıkta kullanılıyor olmasıdır. Diğer yandan kadın dominansının olmaması, ANA gibi diğer otoimmün hastalıklarda sık görülen otoantikorların bulunmaması, diğer otoimmün hastalıklarla birliktelik göstermemesi ve bu grup hastalıklarla birliktelik gösteren HLA haplotiplerinin (HLA-A1, -B8, -DR3) sık rastlanmaması BH'nin otoimmün bir hastalık olarak tanımlanamayacağı da ileri sürülmüştür (22,114).

Son yıllarda bazı yazarlar hastalığın objektif bir neden olmaksızın otoinflamatuvar hastalıklar grubunda yer alması gerektiğini ileri sürülmüştür. Özellikle doğal immünitinin rol aldığı tekrarlayan inflamasyon atakları ve belirgin bir otoimmün patolojinin yokluğu ile karakterize otoinflamatuvar hastalıklar grubunda çok sayıda hastalık yer almaktadır. Bunlardan ülkemizde en iyi bilineni ise Ailevi Akdeniz Ateşidir. Dolayısıyla BH hem otoimmün, hem de otoinflamatuvar hastalıklarla benzerlikler taşımaktadır (22).

2.4. Behçet Hastalığının Histopatolojisi

BH'nin klinik bulgularından sorumlu olan histopatolojik lezyon, özellikle venülleri tutan vaskülitir. Lezyonun yaşına göre farklı lezyonlarda farklı hücreler rol oynasa da karakteristik olarak perivasküler lenfositik ve monositik hücrel infiltrasyon gözlenir. Nötrofil infiltrasyonu özellikle paterji reaksiyonunda erken dönemde dikkati çeken bir bulgudur (115).

BH'de görülen klasik lezyon; nekrotize lökositoklastik obliteratif perivaskülit ve tüm boy arter, ven ve kapillerleri tutan lenfositik infiltrasyonlu trombozudur. Sıklıkla hücrel infiltrasyonlar perivasküler dağılımlı olup nötrofiller ve CD4 T lenfositler perivasküler ve vazovazorum çevresine yerleşmiştir (29).

Mukokutanöz lezyonlarda lenfosit infiltrasyonu, kompleman- immünglobulin depozitleri ve dermal-epidermal bağlantılarda nekroz ve ülserle ilişkili likenifikasyon- dejenerasyon gösterilmiştir (116,117).

Nötrofilik ve monositik infiltratlar sıklıkla deri paterji testinde ve spontan oluşan akut lezyonlarda görülür (118). Patherji deri lezyonunun histopatolojik incelemesinde %39,1'inde mix tip inflamatuvar hücre infiltrasyonu, %8,7'sinde vaskülit olmaksızın lobuler pannükülit, %8,7 sinde nötrofilik infiltrasyon ve %21,7'sinde lenfositik infiltrasyon görülmüştür. Yine bu lezyonların %26'sında eritrosit ekstrasvazasyonu, %13'ünde perivasküler hücre infiltrasyonu, %8,6'sinde lenfositik vasküler reaksiyon, %13 ünde lenfositik vaskülit ve %21,7'sinde lökositoklastik vaskülit görülmüştür (119).

Papüllopüstüler lezyonlar da IgM, IgG, C3 ve fibrin depozitleri içeren lökositoklastik vaskülitir. Püstüler deri lezyonları sıklıkla non-sterildir ve Staf. aureus ve Prevotella türü bakteriler içerebilir (120).

Eritema nodozum lezyonları değişken sayılarda nötrofil, lenfosit ve histiosit içeren sıklıkla lökositoklastik vaskülitik lezyonlardır. BH'de gözlenen eritema nodozum benzeri lezyonların vaskülitik lezyon olması nedeni ile diğer hastalıklarda izlenen eritema nodozumdan ayrılır.

Oküler lezyonlarda damar çevresinde lökosit infiltrasyonu, oklüziv retinal perivaskülit ve tromboz görülebilir. Non-granulomatoz panüveit karakteristiktir. Aktif hastalık esnasında gözün anterior kamarasında hücre infiltrasyonu görülebilir. Anterior kamaranın yanı sıra bu hücreleri kornea epitelinde, iriste, silier cisimde ve koroidde görmek mümkündür (29).

Santral sinir sisteminde; spinal kord, beyin sapı, serebellum, bazal gangliyonlar, talamus, kapsula internada ve periventriküler beyaz cevherde perivasküler T lenfosit ve monositin yanı sıra etkilenen nöronların apoptozisi görülebilir (121).

Renal tutulum çok sık değildir ve hafif seyirlidir. Histolojik olarak mezengial proliferasyon, proliferatif glomerülonefrit, kresent formasyonları ve glomerüllerde immünglobulin, kompleman, immünkompleks depozitleri görülebilir (122).

BH'ye bağlı artiküler tutulumda nötrofilik inflamasyonun lenfositik inflamasyondan daha baskın olduğu sinovial inflamasyon görülür (113).

2.5. Behçet Hastalığının Klinik Özellikleri

Başlangıçta Hulusi Behçet tarafından oral aft, genital ülser ve iridosiklit üçlü kompleksi olarak tanımlanan BH, hastaların takiplerinde üçlü kompleks dışında cilt, kardiyovasküler sistem, kas iskelet sistemi, genitoüriner sistem, pulmoner sistem gibi birçok sistemi etkileyebilen geniş klinik spekturuma sahip vaskülitik bir hastalık olarak tanımlanmıştır.

2.5.1. Mukokutanöz lezyonlar

Oral aft, genital ülser, eritema nodozum, papülopüstüler lezyonlar ve subkutan tromboflebit mukokutanöz lezyonlar olarak değerlendirilirler. Behçet hastalarının %60 kadarı yalnızca mukokutanöz bulgularla seyretmektedir (123).

2.5.1.1. Oral aftöz ülserler

Tekrarlayan oral aftöz ülserler BH'nin seyri boyunca hastaların tamamına yakınında gözlenir. Oral aftlar olguların %75-90'ında hastalığın ilk bulgusu olarak ortaya çıkmaktadır (124). BH'de görülen ülserler major (≥ 10 mm), minör (< 10 mm) veya herpetiform olabilmesine karşın olguların %80'inde minör ülserler görülür. Major ve herpetiform ülserler daha nadir görülür. Yuvarlak veya oval, etrafı eritemli bir hale ile çevrili, üzeri sarı, beyaz renkte bir psödomembran ile örtülü yüzeysel ağrılı ülsere lezyon olarak görülen oral aftlar sıklıkla keratinize olmayan mukoza bölgelerinde ortaya çıkarlar. Sıklıkla dudaklar, bukkal mukoza, dilde lokalize olurlar. Keratinize mukoza bölgeleri olan dil dorsumu, sert damak ve diş etlerinde ise daha nadir görülürler (125). Ülserler 1-3 haftada genellikle skarlaşma göstermeden iyileşirler (126).

2.5.1.2. Genital ülserler

Oral aftlardan sonra BH'de en sık görülen ikinci bulgu olan genital ülserler Behçet hastalarında %60-90 oranında gözlenirler. Oval veya yuvarlak, zemini

nekrotik veya sarımtırak bir membranla kaplı ağrılı ülserler şeklinde ortaya çıkan genital lezyonlar görünüm olarak oral aftlara benzerlik gösterirler. Ancak daha büyük ve derindirler. Lezyonlar erkeklerde en sık skrotumda görülmesine karşın perianal bölge ve glans peniste çok daha nadir görülür. Kadınlarda ise sıklıkla labium major ve minörlere yerleşirler. İç genital mukozada yerleşerek akıntı, ağrı ve dispareniye sebep olabilirler. Skar bırakan genital ülserler tanı için patognomoniktir. Ancak küçük ve labia minörde çıkan lezyonlar iz bırakmayabilir (127).

2.5.1.3. Deri lezyonları

Papülopüstüler lezyonlar

BH'nin en sık görülen deri lezyonu olan ve akneiform lezyonlar olarak adlandırılan papülopüstüler lezyonlar, Behçet hastalarının %50-96'sında izlenirler. Akne lezyonlarına benzeyen lezyonlar, aknenin sık rastlandığı yüz ve sırtta da görülebilmekle birlikte akne lezyonları için tipik yerleşim bölgesi olmayan ekstremitelerde nodüler akne lezyonları şeklinde de görülebilmektedir. Bu lezyonlar steril değildir. Eritemli bir papül şeklinde başlayıp 24-48 saat içinde püstül haline gelirler (127).

Eritema nodozum benzeri lezyonlar

Eritema nodozum benzeri lezyonlar olguların yaklaşık %50'sinde görülür ve kadınlarda daha siktir. Subkutan yerleşimli olan bu lezyonlar ağrılıdır ve sayıları birkaç taneden onarcaya kadar değişebilir. En sık alt ekstremitelerde lokalize olan bu lezyonlar; gluteal bölge, üst ekstremiteler, yüz ve boyun gibi diğer vücut bölgelerinde de görülebilirler. Ülserasyon eğilimi göstermezler ve 10-20 gün içinde skar bırakmadan bazı olgularda ise pigmentasyonla gerilerler. Diğer hastalıklarda gözlenen eritema nodozuma klinik olarak büyük benzerlik gösteren bu lezyonlar klasik eritema nodozumun aksine gruplar halinde geniş plaklar oluşturabilirler (127).

Yüzeysel tromboflebit

Yüzeysel tromboflebit Behçet hastalarının %10-20'sinde izlenir ve erkeklerde daha sık görülür (127). Sıklıkla alt ekstremitelerde ven trasesi boyunca eritemli, hassas, lineer yerleşimli, ağrılı subkutan lezyonlar şeklinde görülür. Palpasyonla ven

içerisindeki trombus hissedilebilir. Önce tromboze olan ven zamanla skleroze olma eğilimindedir (125).

2.5.2. Paterji deri reaksiyonu

Paterji testinde amaç iğne batırılarak yapılan travma ile kutanöz inflamatuvar yanıtın provake edilmesidir (132). Derinin travmaya vermiş olduğu yanıtın değerlendirildiği bir testtir. 20 gauge iğne ile deri travmaya uğratıldıktan sonra 48 saat sonra travma bölgesinde papül veya püstül görülmesi durumunda test pozitif kabul edilir. Japonya ve Türkiye’de BH olgularının %60-70’inde paterji testi pozitif saptanmasına karşın Avrupa ve ABD’de nadir görülür (129).

Paterji reaksiyonunun mekanizması halen tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Cerrahi temizliğin bu reaksiyonu azalttığı görülmüştür. Pozitif paterji spesmeninin cilt biyopsi immünofenotipik analizinde spesifik bir reaksiyona bağlı olmaksızın gecikmiş tip bir hipersensitivite reaksiyonu ortaya çıktığı gösterilmiştir (130).

2.5.3. Göz tutulumu

Göz tutulumu BH’nin en ciddi bulgularından biridir. Hastaların yaklaşık %50’sinde göz tutulumu mevcuttur. Erkek cinsiyet ve hastalığın genç yaşta başlaması bu riski arttırdığı gösterilmiştir. Oküler tutulum hastaların %90’ında bilateraldir (131,132). Göz tutulumunun başlangıç yaşı genellikle 2-3. dekatlardır (128).

BH’deki göz tutulumu; tekrarlayan, kronik, körlüye kadar varan ciddi morbidite yapabilen anterior ve posterior üveit şeklindedir. Anterior üvea tutulumu sıklıkla fotofobi ve kırmızı göze sebep olurken, posterior tutulum görme zayıflığıyla sonuçlanır. İzole anterior üveit sadece %10 hastada görülür (131). Beyaz hücrelerin ön segmentte presipite olmasıyla oluşan hipopiyonlu üveit hastaların %10-20’sinde görülür ve şiddetli retinal tutulumun göstergesidir.

Üveit, BH’de major bulgular arasında değerlendiriliyorsa da gözdeki hastalığa ait belirtiler üvea dokusuyla sınırlı kalmayıp retinal vasküler sistem, dolayısıyla retina ve optik siniri de kapsamaktadır. Retinal vaskülit BH’de görülebilecek bir diğer göz lezyonudur ve hemoraji, venöz tromboz, papil ödem ve

maküler hastalığa sebep olabilir. Akut alevlenme sırasında vitreusta fibrin, inflamatuvar hücreler ve hücre debritlemanları görülür. Tekrarlayan inflamatuvar aktiviteler; anterior-posterior sineşi, katarakt, sekonder glokom, maküler dejenerasyon gibi geç komplikasyonlarla sonuçlanabilir (131).

2.5.4. Kas iskelet sistemi tutulumu

Artrit veya artralji olarak prezente olabilen eklem tutulumu, Behçet hastalarının yaklaşık %30-70 inde görüldüğü ve bunların yaklaşık %15'inde eklem tutulumunun BH'nin ilk belirtisi olduğu bildirilmiştir (133). Tutulum genellikle deformite bırakmayan mono veya oligoartrikuler şeklindedir. Ancak simetrik seyir de olabilmektedir. Semptomlar genellikle birkaç haftadan daha kısa sürer. En sık tutulan eklemler dizlerdir ve bunu ayak bileği, el bileği ve dirsek takip eder. Genellikle eklem şikayetleri birkaç hafta içinde geriler ve nadiren deformite ve erozyona yol açar. Eroziv değişiklikler daha çok aksiyel eklem ve entezis bölgelerinde saptanır (134-138).

BH'de bel ağrısı oldukça nadirdir ve kontrollü çalışmalarda sakroiliak eklem tutulumunun artan prevalansı tespit edilmemiştir (139).

Artriti olan Behçet hastalarında daha fazla akne lezyonlarının olduğu gösterilmiştir. Dahası bu hastalarda entezopatinin anlamlı olarak daha fazla olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalar BH'li artrit ve akne lezyonları bulunan hastaların ayrı bir küme oluşturduğu hipotezini doğrulamaktadır. Bu birlikteliğin ailesel vakalarda anlamlı olarak daha fazla olduğu ve özellikle bu hasta kümesinde genetik yatkınlığın daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ancak sakroiliit ve HLA-B27'nin bu kümede arttığı gösterilememiştir (140).

BH'de, özellikle kadın hastalarda fibromyaljinin daha yüksek oranda görüldüğü gösterilmiştir (141).

BH'de hem proksimal hem de distal ekstremitenin tutulduğu fokal veya sistemik myozit nadiren görülebilir ve histolojik özellikleriyle polimyozitten ayırt edilemez. Bir diğer kas iskelet bulgusu BH ile ilişkili osteonekrozdur. Bu tutulum muhtemelen vaskülit ile ilişkili bir tutulum olup steroid kullanımını gerektirmektedir (142).

2.5.5. Nörolojik tutulum

BH’de nörolojik tutulumun prevalansı %5-10 olmasına rağmen bu tutulumlar mortal seyredebilmesi nedeniyle önem taşımaktadır. Erkeklerde kadınlara oranla 3-4 kat daha sık nörolojik tutulum gözlenmektedir (143). BH’de MSS tutulumunu parenkimal ve dural sinüs trombozu olarak iki ana grupta ele almak mümkündür. Bu iki ana grup dışında daha nadir görülen semptomlar da vardır (optik nöropati, aseptik menenjit, nöro-psikiyatrik tutulum, serebral arteriyel tutulum).

Parankimal tutulum genellikle geç bulgu verir ve hastalığın başlangıcından 5-10 yıl sonra gelişir. Erkek hastalarda bu tutulum daha şiddetlidir. Genellikle beyin sapı etkilenir ancak hemisferik, meningial ve spinal kord lezyonları da görülebilir (144). Diğer vaskülitlerin aksine periferik tutulum nadirdir. Başlıca piramidal bulgular hemiparazi, davranışsal ve kognitif değişiklikler, sfinkter bozuklukları ve impotanstır. Hafıza bozukluğu, demans ve diğer psikiyatrik semptomlarda görülebilir. Lezyonlar bulbar paraliziyle sonuçlanabilir ve bu durum genellikle mortaldir (143, 145). Parankimal tutulum varlığı; beyin omurilik sıvısında (BOS) protein düzeyi ve/veya pleositoz ve başlangıçtan itibaren progresif seyir kötü prognostik faktörler olduğu bildirilmiştir (143). Lezyonlar en iyi MR ile gösterilebilir.

Bir diğer tutulum şekli olan Dural sinüs trombozu genellikle diğer venöz tutulum tipleriyle ilişkilidir (146). BH’ye bağlı nörolojik tutulumu olan olguların yaklaşık %20’sinde dural sinüs trombozu ve buna bağlı intrakranyal hipertansiyon görülür (143). Diğer nedenlere bağlı dural sinüs trombozlarının aksine; epileptik nöbet ve venöz kortikal enfarkt ve buna bağlı nörolojik defisit gelişmesi nadirdir (147). Sinüs trombozu ile parankimal nörolojik tutulumun aynı hastada görülme olasılığı çok düşüktür (143,145). Şiddetli baş ağrısı, papil ödem ve n. abducens paralizileri görülebilir. Bilateral ödemli optik disk en sık bulgudur. Tedaviye rağmen persistan intrakranial basınç optik atrofiye ve körlüğe neden olabilmektedir (148). Kranial Manyetik rezonans (MR) görüntülemeye “Kapalı sinüste akım” fenomeni kaybı görülebilir bunun dışında MR genellikle normaldir. MR venografi veya serebral anjiyografi tanıda yardımcıdır (149).

2.5.6. Gastrointestinal tutulum

Gastrointestinal sistem (GİS) tutulumu Behçet hastalarının %0,5-5’inde görülür. Temel lezyon mukozal ülserdir ve en sık tutulum yeri terminal ileum ve çekumdur. Ancak lezyonlar ağızdan anüse kadar GİS’in her yerinde görülebilir. Ülserlere bağlı perforasyonlar da bildirilmiştir. Histolojik olarak BH’ye bağlı oluşan ülserler Ülseratif Kolite bağlı ülserlerden ayırt edilemez. Genel semptomlar karın ağrısı ve melenadır. Derin penetre edici ülserlere bağlı perforasyon, fistül, kanama, peritonit gibi komplikasyonlar yüksek oranda bildirilmiştir (150,151).

2.5.7. Kardiyovasküler Tutulum

2.5.7.1. Kardiyak tutulum

Kardiyak tutulum nadir olmakla beraber hastalık endokard, miyokard ve perikardı tutup buraların inflamasyonuna sebep olabilir. Bunların yanı sıra BH’ye bağlı intrakardiyak trombüs, endomiyokardiyal fibrozis, koronal vaskülit ve ventriküler anevrizma vakaları da bildirilmiştir. İntrakardiyak trombüs genellikle sağ kalpte görülür ve pulmoner arter tutumuyla ilişkilendirilmiştir.

2.5.7. 2. Vasküler tutulum

BH’de olguların yaklaşık %40’ında damar tutulumu görülür ve hastalık her boyda ven ve arter tutulumu yapabilmektedir. Venöz tutulum arterial tutulumla göre daha fazladır (%75-%25) .Yaklaşık %30 hastada vasküler hadise hastalığın başlangıcında veya henüz bulgular hastalığın kriterlerini karşılamazken görülebildiği bildirilmiştir (152). Alt ekstremitte venöz trombozu, Budd–Chiari sendromu ve dural ven trombozu hastalığın erken dönemlerinde oluşurken, vena kava trombozu ve non-pulmoner arter anevrizması geç dönem bulgusu olduğu saptanmış ve hastalığın tanısından ortalama 5-7 yıl sonra görülebildiği rapor edilmiştir (152,153).

Damar tutulumu olan hastalarda paterji pozitifliği, yüzeysel tromboflebit, eritema nodozum, nörolojik ve GİS tutulumları daha fazla görülürken, üveitli

hastalarda daha az damar tutulumu olmaktadır. Damar tutulumu olanların yaklaşık 1/4'ünde 5 yıl içinde yeni bir vasküler olay görülmektedir (154).

BH'de 4 tip vasküler lezyon tanımlanmıştır (154)

1. Venöz oklüzyon: Yüzeyel venöz tromboz, derin ven trombozu, vena kava trombozu, serebral ven trombozu, Budd-Chiari trombozu, portal ven trombozu, sağ ventrikül trombozu, pulmoner emboli

2. Varisler

3. Sistemik arteriyel vaskülit: Anevrizma, stenoz/oklüzyon

4. Pulmoner arteriyel vaskülit: Anevrizma, stenoz/oklüzyon

Venöz trombozlar en sık alt ekstremitte yüzeyel ve derin venlerinde görülür. Derin ven trombozuna bağlı gelişen uzun süreli venöz staz gelişimi sonrası staz ülserleri oluşabilir. Yüzeyel trombozlar, tutulan ven trasesi boyunca ağrılı kalınlaşmış palpe edilebilen lezyonlardır. Ayrıca BH'de alt ekstremitte tutulumunun yanı sıra dural ven trombozu, vena cava trombozu, Budd-Chiari sendromuna sebep olabilen hepatik ven trombozu görülebilir.

BH'de gözüken hiperkoagulabilitenin ana nedeninin intravasküler prokoagulan faktörlerden kaynaklanmayıp inflamatuvar olay ve akut destriksiyondan kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Oluşan trombüsler damar duvarına yapışık olması nedeniyle emboli riski hemen hemen hiç yoktur. Bu nedenle BH'de antikoagulan kullanımı tartışmalıdır (155,156).

BH'de arteriyel tutulum venöz tutulumu göre daha azdır (%2,5). Erkeklerde daha sık görülür ve sigara önemli bir risk faktörüdür (154). BH pulmoner arter anevrizması yapabilen tek vaskülitir (144). Pulmoner arter tutulumu daha çok anevrizma olarak prezente olmakta ve BH'nin hayatı tehdit eden major komplikasyonudur. Sıklıkla bu lezyona pulmoner arter trombozuda eşlik eder. Tek başına pulmoner arter trombozu nadir görülür. Pulmoner arter trombozu klinik ve prognostik olarak Pulmoner arter anevrizmasına (PAA) benzemektedir. Hastalarda ateş, öksürük, dispne, göğüs ağrısı, hemoptizi ve yüksek akut faz cevabı vardır. Bu

hastalarda hafif pulmoner hipertansiyonda görülebilir (157). Tutulum sıklıkla bilateral ve inferior lobtadır. Anevrizma vakalarının 2/3'ü sadece medikal tedaviyle iyileşebilmektedir. PAA, bu anevrizmanın bronşa rüptüre olması halinde önemli mortalite ve morbiditeye sebep olabilmektedir (158,159). PAA, hastaların %25 inde erken tanı ve tedaviye rağmen mortaliteyle sonuçlanmaktadır.

Non-pulmoner arter tutumu sıklıkla anevrizma olarak görülmekte ve abdominal aorta, karotis, femoral ve popliteal arterleri tutmaktadır. Bu lokalizasyonlarda oklüzyonlar anevrizmaya göre daha az görülür ve daha iyi prognoza sahiptir (160).

BH'de endotelial disfonksiyon varlığı iyi bilinen bir durum olmasına rağmen anjina ve iskemik kalp hastalığı prevelansı sağlıklılarla karşılaştırıldığında benzer olduğu tespit edilmiştir (161). Subklinik ateroskleroza ait kanıtlarda zayıftır (162).

2.5.8. Pulmoner tutulum

BH'de pulmoner tutulum nadirdir (%0.7–7) ve erkekler de daha sık olduğu gösterilmiştir (163,164)

Pulmoner bulgular; vaskülit, emboli, fibrozis, plörit gibi çeşitli etyolojiye bağlı olmasına rağmen temelde bulgular pulmoner arterler, ven ve septal kapillerlerin vaskülitik tutulumuyla ilişkilidir. Pulmoner vasküler tutulum; anevrizma, trombotik oklüzyon, hemoraji, plevral efüzyon, pulmoner enfarkt ve fokal/diffüz pulmoner fibrozis oluşumuna yol açar. Anevrizmalar, trombozlardan daha sık görülür ve multiple olma eğilimindedirler (165). Buna rağmen venöz sistem tutulumu arteriyel sistem tutulumundan daha siktir ancak arteriyel sistem komplikasyonları daha mortal seyreder (166,167)

2.6. Behçet Hastalığı Tanısı

İlk kez Dr. Hulusi BEHÇET tarafından; oral aft, genital ülser ve göz bulgularına dayanılarak “Three symptom Behçet” adıyla tanımlanmış olan BH, ilerleyen yıllarda birçok araştırmacı tarafından araştırılmış ve tanısal amaçlı farklı tanı kriterleri öne sürülmüştür. Bugün BH tanısı çok yaygın olarak kabul gören ve kullanılan 1990 yılında yapılan “Uluslararası Çalışma Grubu” tarafından tanımlanan

“Behçet Hastalığı Tanı Kriterleri” ile konmaktadır. Aşağıdaki tabloda gösterilen bu kriterlerin duyarlılığı %91, özgüllüğü ise %96’dır (168).

Behçet Hastalığı Tanı Kriteri (168)	
-Tekrarlayan Oral Ülserler	Yılda en az 3 kez oluşan hekim ya da hasta tarafından gözlenen major, minor veya herpetiform ülser
Buna ek olarak en az iki semptom	
-Tekrarlayan Genital Ülserler	Hasta veya hekim tarafından gözlenen ülser veya skar oluşumu
-Göz lezyonları	Anterior/Posterior üveit veya retinal vaskülit veya biyomikroskopi ile vitreusta hücre
-Cilt lezyonları	Eritema nodozum, psödofolikülit, papülopüstüler lezyon, akneiform nodül
-Paterji testi	24-48 saat içinde gözlenen püstül

BH’nin deri ve mukoza belirtilerinin ayırıcı tanısında oral aftlarda travmatik ülserler, rekürren aftöz stomatit, virüslerle oluşan ülserler (herpes simpleks, koksaki virüs, ebstein-barr virüsü, sitomegalo virüs), bakterilerle oluşan ülserler (Treponema pallidum, Neisseria gonorrhea), eritema multiforme, hematolojik hastalıklar, reiter sendromu, ülseratif kolit, crohn hastalığı, sistemik lupus eritematoz (SLE), ilaçlarla oluşan ülserler ve liken planus göz önüne alınmalıdır (123).

2.7. Laboratuvar Bulguları

BH’nin spesifik laboratuvar bulgusu olmamakla beraber hastalıkta ılımlı kronik hastalık anemisi, %15 hastada lökositoz, artmış eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve C-reaktif protein (CRP) düzeyi saptanabilir. Bu değişiklikler hastalığın aktivitesiyle korele olmayabilir. Sinoviyal sıvı genellikle inflamatuvar karakterde olup hücre analizinde 5000-50 000/mm³ beyaz küre saptanabilir ve nötrofil baskınlığı mevcuttur. Yüksek hücre sayısına rağmen münşin pıhtı testi genellikle pozitifdir. Serumda Romatoid faktör (RF), Anti nükleer antikor (ANA), Anti nötrofil sitoplazmic antikor (ANCA) gibi otoantikorlar genellikle negatiftir, serum immünglobulin ve kompleman seviyesi artmış olarak saptanabilir.

2.8. Prognoz ve Klinik Seyir

BH nüksler ve remisyonların görüldüğü kronik seyirli bir hastalıktır. Hayati organ tutulumu olmaması halinde hastalığın şiddeti zamanla azalabilmekte ve stabil hale gelebilmektedir. 427 Behçet hastasını içeren 20 yıllık verilerin değerlendirildiği bir kohort çalışmasına göre erkek cinsiyet ve genç başlangıçlı hastalarda hastalığın daha ağır ve daha mortal seyrettiği bildirilmiştir (132). Ayrıca vasküler tromboz, oküler, gastrointestinal ve MSS tutulumu ve HLA-B51 pozitifliği olan Behçet hastalarında daha şiddetli hastalık seyri görülmektedir ve bu klinik ve laboratuvar bulguların kötü prognoz nedeni olduğu bildirilmiştir (37). Göz tutulumu özellikle körlüğe neden olabileceği için hastalığın en önemli morbidite sebebidir. BH mortal seyredebilen bir hastalıktır. Yapılan bir çalışmada 817 Behçet hastasının ortalama 8 yıllık takibinde mortalite oranının %5 olduğu bildirilmiştir (169).

Gebelik döneminde Behçet hastalarının prognozu net değildir. Yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiş, bazı çalışmalara göre gebelik döneminde hastalıkta alevlenmenin görüldüğü bazı yazarlar ise gebelikte hastalığın remisyona girdiğini bildirmişlerdir. Yine benzer şekilde BH'nin gebeliğe etkisi üzerinde de bir fikir birliği yoktur (170).

2.9. Tedavi

BH, kronik seyirli, etiyolojisi bilinmeyen, birçok sistemi tutabilen ve mortaliteyle seyredebilen bir sistemik vaskülitir. BH'nin etiyolojisi henüz tam olarak bilinmediğinden, hastalığa spesifik bir tedavi rejimi yoktur. Hastalığın tedavisi daha çok semptomatik olup, tedavi ajanının seçimi hastanın semptomlarının tipine ve şiddetine bağlıdır. Hastalığın tedavisinde temel prensip, hastalık semptomlarını iyileştirmek ve anti-inflamatuvar ve immünmodulator ilaçlarla relapsları önlemektir.

Nonsteroid antienflamatuvar ilaçların BH'ye bağlı semptomların tedavisindeki yeri hakkında yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar çelişkili olmakla beraber bu ajanların BH'ye bağlı artraljik yakınmalarda kullanılabileceği öne sürülmüştür (171).

Glukokortikoidler BH'nin birçok belirti ve bulgularının tedavisinde tek başına veya immünsupresiflerle birlikte kullanılabilir. Progresif, şiddetli hayatı tehdit eden durumlarda pulse şeklinde kullanılmaktadır. Üveit ataklarının kontrolünde de orta dozlarda kullanılabileceği gösterilmiştir. Ancak akut atakların kontrolünü

kullanımına en az 2 yıl devam edilmesi önerilmektedir. Siklosporin ciddi dirençli üveit ve retinal vaskülit tedavisinde azatioprinle kombine edilebilir.

Siklofosfamid, genellikle steroid tedavisiyle kombine olarak 1-2,5mg/kg/gün oral veya 0,75-1g/m²/ay IV infüzyon şeklinde şiddetli vasküler ve nörolojik sistem tutulumu gibi hayatı tehdit eden komplikasyonların tedavisinde kullanılabilir. Pulmoner arter anevrizması, vena cava trombozu, Budd-Chiari gibi ciddi vasküler tutulumların tedavisinde siklofosfamid kullanılabilir (181). Ayrıca meningoensefalit, serebral ven trombozları ve myelopati gibi nörolojik tutulumların tedavisinde başarılı olduğu gösterilmiştir (182).

BH'de kullanılabilen bir diğer terapötik ajan Interferon- α (IFN- α) dır. Haftada 3 defa 3-6 MU/gün subkutan uygulanan IFN- α tedavisinin mukokutanöz lezyonların ve oküler tutulumun tedavisinde etkinliği saptanmıştır (183). İlaç kesilmesi sonrası uzun dönem remisyon sağlanabilmiştir (184). Kullanımına bağlı grip benzeri semptomlar ve sitotoksite meydana gelebilmektedir.

Antikoagulan ve antitrombotik ajanların BH'de kullanımının gerekliliği hakkında bir fikir birliği sağlanamamıştır. Damar lümeninde gelişen trombüsler inflamasyon sonucu oluştuğu için damar lümenine sıkıca bağlanır, bu nedenle trombüs varlığında tedavi inflamasyona yönelik olmalıdır. Azatioprin trombotik durumlarda tercih edilmelidir. Vena kava superior ve inferior, Budd-Chiari sendromunda ise siklofosfamid pulse şeklinde kullanılmalıdır. Antitrombotik ilaçlar genellikle hastalara önerilir. Pulmoner arter tulumunda ise antikoagulan tedavi kontrendikedir (179,185).

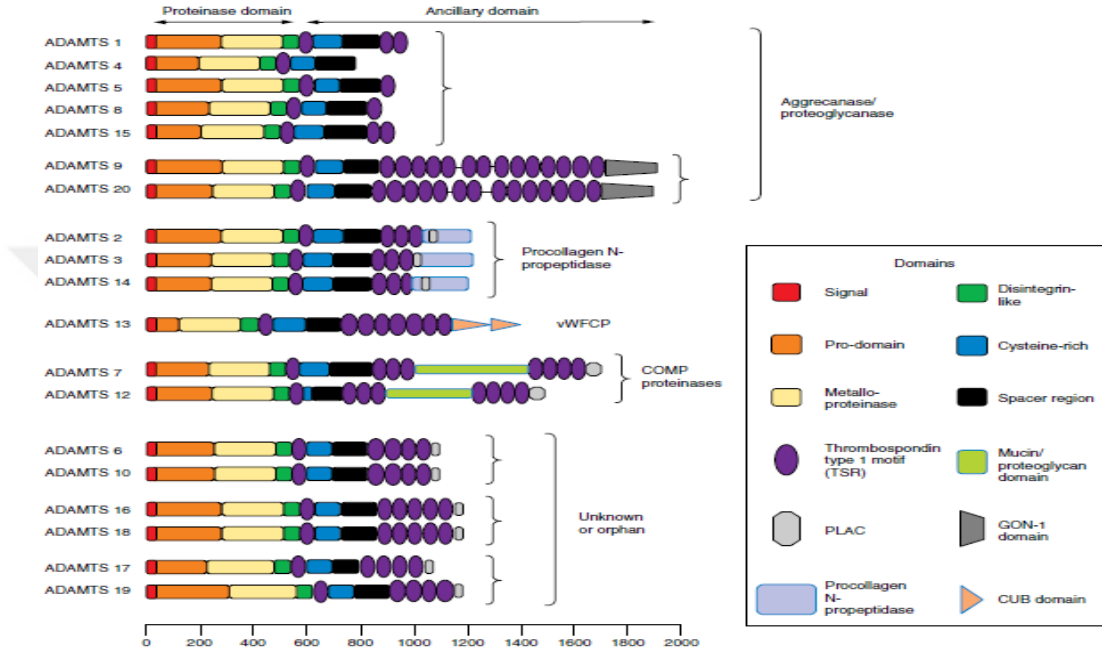
Son yıllarda birçok romatizmal hastalıkta kullanımı gündeme gelen İnfiliksimab, Adalimumab ve Etanercept gibi TNF- α inhibe eden ajanlar BH'de da denenmiştir. Konvansiyonel immünsupresif tedaviye yanıt alınamayan hastalarda yüz güldürücü sonuçlar elde edilmiştir. BH'de en sık kullanılan ve en çok çalışma yapılan İnfiliksimab kullanımının oküler, major organ tutulumu ve BH'ye bağlı diğer semptomların tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (186,187). Ayrıca azatioprin ve/veya siklosporinin, İnfiliksimab ile kombinasyonunun oküler remisyonun sürdürülebilirliği açısından mono terapiye göre daha üstün olduğu bildirilmiş ve refrakter okular lezyonlarda daha etkili olduğu gösterilmiştir (187,188). Bir diğer

TNF- α üzerinden etki gösteren Etanerceptin BH'de ki etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda mukozal lezyonlar, cilt lezyonları ve artritte etkili olduğu ancak cilt paterji yanıtını inhibe edemediği gösterilmiştir (189). Başka bir vaka derleme çalışmasında oküler tutulumu olan hastalarda Etanercept kullanımına bağlı oküler lezyonların azaldığı gösterilmiştir (190). BH'de kullanılan bir diğer anti-TNF- α ajan adalimumabdır. Adalimumabın BH'deki etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada BH'ye bağlı göz tutulumunda etkili olduğu gösterilmiştir (191,192). Ayrıca ekstraoküler etkinliğin araştırıldığı vaka derlemelerinde genital ülser, serebral vaskülit ve PAA'da etkili olduğu gösterilmiştir (193-196).

TNF- α inhibe edici ajanlar dışındaki biyolojik ajan tedavilerinin BH'de etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda Rituksimab tedavisinin oftalmik vaskülitte iyileşme ve görme keskinliğinde artış sağladığı gösterilmiştir (197). Bir başka çalışmada oküler tutulumu olan BH'li olgularda göz bulgularının tedavisinde sitotoksik ilaçlarla karşılaştırıldığında Rituksimab tedavisinin daha etkili olduğu gösterilmiştir (198). IL-1 ve IL-6'nın BH'nin patogenezinde rol aldığının gösterilmesi ve Behçet hastalarının serumlarında düzeyinin artmış olarak tespit edilmesi; IL-1 ve IL-6 üzerinden inhibisyon yapan ajanların BH'de kullanımını dşndrmştir. Kanakinumab, Anakinra gibi IL-1 inhibisyonu yapan ajanların verildiği Behçet hastalarında oral aft, genital ülser, artrit ve iliokolik ülser gibi hastalığa bağlı semptomlarda gerileme olduğu tespit edilmiştir (199,200). IL-6 inhibisyonu yapan Tocilizumab tedavisi alan Behçet hastalarında, hastalığa bağlı nörolojik ve oküler komplikasyonlarda gerileme saptanmıştır (201,202). Ancak bu çalışmaların çoğunlukla olgu sunumu olması nedeniyle bu ajanların hastalıktaki etkinliği için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.10. ADAMTS Genleri

“A disintegrin like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif” (ADAMTS) olarak adlandırılan ve ürünleri enzim fonksiyonu gören ADAMTS gen ailesi, ilk kez 1997 yılında tanımlanmış ve bugüne kadar bu büyük gen ailesine ait 19 genin varlığı bildirilmiştir (203).



Günümüzde 19 adet ADAMTS geni tanımlanmıştır. ADAMTS5 ve ADAMTS11 aynı genidir.

Bu genlerin ürünleri olan proteazlar, çinko bağımlı matriks enzimleri olup bir veya daha fazla trombospondin tip 1 motif tekrarları içermektedirler. ADAMTS enzimleri birçok dokuda bulunmaktadır. Bu dokular embriyonik dönemde de sentezlenirler (204). Bu proteazlar özelleşmiş çok farklı domain yapılardan oluştuğu için bu özel kısımlar ADAMTS proteinlerine çok fonksiyonlu bir yapı kazandırmaktadır. Bu enzimler ve bulundukları dokular aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (205).

GEN İSMİ	MUTASYON	SUBSTRAT	SENTEZLENDİĞİ DOKULAR
ADAMTS1		AGREKAN, BREVİKAN, VERSİKAN, NİDOGEN1/2, DESMOKOLİN-3,	BÖBREK, KALP, KIKIRDAK
ADAMTS2	EDS*	PROKOLLAJEN 1,2,3 VE 5 N-PROPEPTİD	DERİ, TENDON
ADAMTS3		PROKOLLAJEN 1, 2, 3 VE 5 N-PROPEPTİD	BEYİN
ADAMTS4		AGREKAN, VERSİKAN, BREVİKAN,	BEYİN, KALP, KIKIRDAK
ADAMTS5		AGREKAN, VERSİKAN, BREVİKAN, NÖROKAN	UTERUS, PLASENTA, KIKIRDAK
ADAMTS6			PLASENTA

ADAMTS7		COMP	
ADAMTS8		AGREKAN	AKCİĞER, KALP
ADAMTS9		AGREKAN, VERSİKAN	KIKIRDAK
ADAMTS10	WMS		
ADAMTS12		COMP	AKCİĞER
ADAMTS13	TTP	vWF	KARACİĞER, BEYİN, PROSTAT
ADAMTS14		PROKOLLAJEN 1 N-PROPEPTİD	BEYİN, UTERUS
ADAMTS15		AGREKAN, VERSİKAN	KARACİĞER, BÖBREK
ADAMTS16		AGREKAN	PROSTAT, BEYİN, UTERUS
ADAMTS17	WMS		PROSTAT, BEYİN, KARACİĞER
ADAMTS18		AGREKAN	PROSTAT
ADAMTS19			AKCİĞER
ADAMTS20			BEYİN, TESTİS

* Kısaltmalar: EDS, Ehler Danlos Sendromu; WMS, Weill Marchesani Sendromu; TTP, Trombotik Trombositopenik Purpura; COMP, Kıkırdak Oligomerik Matris Proteini; vWF, von Willebrand Faktör

ADAMTS proteazlarının günümüzde birçok fizyolojik ve patolojik süreçte rol oynadığı bilinmektedir. Doku remodelingi, hemostaz, organogenez, koagülasyon, anjiyogenez ve ovülasyon ADAMTS'ların önemli fizyolojik fonksiyonlarından bazılarıdır. Ayrıca hücre dışı matrisin ve bazal membranın parçalanması, genetik hastalıklar, tümör hücre invazyonu-metastaz, ateroskleroz, artrit gibi patolojik süreçlerde de rol aldığı tespit edilmiştir (206,207).

Birçok ADAMTS geni transkripsiyonel olarak sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar ve inflamatuvar mediatörler tarafından regüle edilmektedir (207). ADAMTS'ler kollajen, versikan ve agrekan gibi hücre dışı matrisin yapısal proteinlerini parçalayarak etkilerini gösterirler ve metalloproteinazların doku inhibitörleri olarak bilinen "tissue inhibitors of metalloproteinase" (TIMP) tarafından inhibe edilirler. TIMP-3 şu an için bilinen en etkili ADAMTS inhibitörüdür (208).

ADAMTS1, -4, -5, -8, -9, -15, -16 ve -18 ekstraselüler matrisin (ECM) temel bileşenlerinden biri olan agrekanı degrade ettiklerinden agrekanazlar olarak isimlendirilmişlerdir (203). Bu grup proteazlar agrekan, versikan ve brevikan vb. ECM proteoglikanlarını enzimatik olarak yıkarlar. Agrekan, kıkırdığın esas proteoglikanıdır ve dokuların tip II kollajen sarmalına karşı hidrate edilmesi ve şişmesi yoluyla baskıya karşı koymasından sorumludur. ADAMTS-4 ve -5 en iyi karakterize olan ve en yüksek agrekanaz aktivite gösteren agrekanazlar olup yapılan çalışmalarda bu agrekanazların OA ve RA'da kıkırdak yıkımında önemli rol aldığı

gösterilmiştir (209,210). Yapılan başka bir çalışmada ADAMTS-5 geni delesyona uğrayan farelerin osteoartrite karşı direnç kazandıkları görülmüştür (211).

ECM'nin proteazlar tarafından degradasyonundaki değişiklikler RA, OA ve ateroskleroz gibi birçok patolojik inflamatuvar durumlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (212,213). Ayrıca ECM'nin ADAMTS proteazlarıyla yıkıma uğraması sonucu ateroskleroz, vasküler hasar gibi birçok patolojik inflamatuvar durumla da ilişkili olduğu bildirilmiştir (213).

ADAMTS genlerinin ekspresyonunun sitokinler tarafından indüklendiği bilinmektedir (214). İnflamatuvar sitokinlere yanıt olarak ADAMTS'lerin ekspresyonunun artması inflamasyonun artmasına neden olur. Pro-inflamatuvar sitokinlerden IL-1 β ve TNF- α 'nın ADAMTS-4, -5, -7, -12 ekspresyonunu upregüle ettiği gösterilmiştir (215,216).

Ayrıca yapılan çalışmalarda bu ADAMTS'lerin birçok dokuda kritik görev üstlenmesi nedeniyle eksikliğinde veya kusurunda ciddi hastalıkların oluşabildiği ve apoptoziste de görevli olan bu gen ailesinin hücrelerin ortadan kaldırılmasında görevli oldukları (217), bu genlerin tümör oluşumuyla ilişkili olduğu ve tümör süpresör gen olarak da görev aldığı ve birçok kanserle ilişkili olabileceği gösterilmiştir (218).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma kapsamında Ocak- Eylül 2016 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı ve Göz Hastalıkları Anabilim Dalına müracaat edip Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu kriterlerine göre yeni tanı almış veya immünsupresan kullanmamış en az iki aktif bulgusu olan 30 Behçet hastasından periferik kan örnekleri alındı. BH dışında akut veya kronik sağlık problemleri olan bireyler çalışma kapsamı dışında bırakıldı. Kontrol grubu olarak, yaş ve cinsiyet açısından hasta grubu ile uyumlu olan 30 sağlıklı hastane personelinden periferik kan örnekleri temin edildi. Araştırmaya katılan hasta ve sağlıklı bireylerin bilgilendirilmiş onayı yazılı olarak alındı. Tüm çalışma Helsinki deklarasyonuna uygun bir biçimde ve Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alınarak gerçekleştirildi.

Hastaların adı, soyadı, cinsiyeti, yaşı, hastalık süresi, ilaç kullanım öyküsü, beyaz küre sayısı, hemoglobin, ESH, CRP seviyeleri kaydedildi. Hastaların vücut ağırlıkları kilogram cinsinden, boyları santimetre cinsinden kaydedildi. Beden kitle indeksi (BKİ) kg cinsinden vücut ağırlığının, metre cinsinden boy uzunluğunun karesine bölünerek hesaplandı.

Hastalık aktivitesi, Behçet Hastalığı Anlık Aktivite Formu (BHAAF) kullanılarak değerlendirildi (219). Hastanın tarafımıza başvurduğu tarih öncesindeki son 4 hafta içinde; oral aft, genital ülser, göz tutulumu, eritema nodozum, püstüler lezyon, artrit, artralji, bulantı/kusma/karın ağrısı, diyare/rektal kanama, baş ağrısı, santral sinir sistemi tutulumunu ve büyük damar tutulumunu düşündüren şikayet varlığı sorgulandı. Hastaların vermiş olduğu cevap üzerinden 0-12 arasında bir değer hesaplandı. Tüm katılımcıların sistemik muayeneleri yapıldı. BH'ye bağlı belirti ve bulgular kaydedildi (220).

Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (DÜBAP) tarafından desteklenen TIP.16.005 sayılı proje kapsamında yapılan bütün deneyler, Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜBTAM)'da gerçekleştirildi.

3.1. Periferik Kandan Ficoll-Paque Yöntemi ile PBMC'lerin İzolasyonu

BH hastaları, sağlıklı bireylerden elde edilecek 15 ml venöz kan heparinize tüp içine alındı. Tüm hücre izolasyon basamakları steril koşulları sağlamak amacıyla Class II tip laminar kabinde (Thermo safe 1.2 class II) yürütüldü. Total kandan PBMC izolasyonu standart protokol kullanılarak gerçekleştirildi (221). 50 ml'lik falkon tüp içine 10 ml heparinize kan aktarıldı, üzerine aynı volümde Phosphate Buffered Saline (PBS) [Gibco®] eklendi. PBS ile sulandırılan kan pipet ile üç-dört kez (çekip-verme) karıştırıldı. Sulandırılan kan, içinde 15 ml Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare Life Sciences) bulunan tüpün yan duvarından çok yavaşça sızdırılarak bırakıldı. Tüpler 30 dakika 400 g 18°C de santrifüj edildi (Thermo SL16R). Santrifüj sonrasında en alta çöken eritrositlerin üzerinde yoğunluğu yüksek olan ficoll ve en yukarıda PBS ve plazma vardı. PBMC'ler Ficoll ve PBS birleşim yerinde bir bulut şeklinde görünmektedir. 25 ml steril pipet kullanarak PBS ve plazma uzaklaştırıldı. Yeni 5 ml steril pipet kullanarak PBMC'ler toplandı. Toplanan PBMC'ler yeni bir 50 ml'lik falkon tüpe aktarıldı ve üzerine toplam volüm 40 ml olacak şekilde PBS ilave edilerek 10 dakika 200 g 18 °C'de santrifüj edildi. PBMC'ler falkon tüpün dibine çöktü, üzerindeki PBS döküldükten sonra falkon tüpün dibindeki hücreler tüpe hafifçe vurularak kaldırıldı. Hücrelerin üzerine tekrar 40 ml PBS eklenerek 10 dakika 200 g 18 °C'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında hücreler falkonun dibinde çöktü. Üzerindeki PBS döküldü ve PBMC'ler 10 ml tam medium RPMI 1640 (Gibco®) ile sulandırıldı. Tam medium RPMI 1640 inaktif edilmiş %10'luk Fetal Bovine Serum (FBS) [Gibco®], 2mM L-Glutamine [Gibco®] ve 100 units/ml penicillin/streptomycin [Gibco®]) içermektedir.

3.2. RNA İzolasyonu, RNA Kantitasyonu, cDNA Sentezi ve Kantitatif Real-Time PCR (qPCR):

Hastaların ve sağlıklı bireylerin periferik kanlarından izole edilen PBMC'lerde ADAMTS genlerinin (ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9 ve -15) mRNA ifadelerini belirlemek ve kantite etmek amacıyla real-time PCR (qPCR) yapıldı. Bu amaç doğrultusunda PBMC'lerden total RNA'lar, high pure RNA isolation kit

(Roche) kullanılarak ve firmanın kullanma talimatlarına uyularak izole edildi. Elde edilen RNA'ların konsantrasyonu ve saflığı spektrofotometrik yöntemle belirlendi. Reaksiyonda 1µg RNA örnekleri olacak şekilde transcriptor first strand cDNA (complementary DNA) sentez kiti (Roche) kullanılarak ve firmanın kullanma talimatlarına uyularak cDNA elde edildi.

3.2.1. RNA izolasyonu, kantitasyonu ve cDNA sentezi

İnkübasyon süresinden sonra hücreler kuyucuklardan filtreli uçlar kullanılarak pipetle çek-ver yaparak kaldırıldı. Serum-free medium içinde bulunan PBMC'ler 1,5 ml'lik ependorf tüplere aktarılıp, tüpler 5000 g'de 5 dk santrifüj edildi. Ependorf tüpün dibine çöken PBMC'lere değdirilmeden pipet yardımıyla tüpteki serum-free medium alındı. High pure RNA isolation kiti (Roche) kullanılarak izolasyon aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

PBMC'ler 200 µl PBS kullanılarak pipetle yerlerinden kaldırıldı. Üzerine kitte bulunan 400 µl lisis-binding solüsyonu bırakılıp, pipetle çek-ver yapıldı ve karışımın homojen bir yapı alması sağlandı. Tüpler 15 sn vortexlenip, filtreli tüplere aktarıldı. Tüpler 8000 g'de 15 sn santrifüj edildi. Dibe çöken sıvı döküldü. Tüpe 10 µl DNaz 90 µl de DNaz incubation karışımı içeren solüsyondan bırakılıp oda sıcaklığında 15 dk bekletildi. DNA ların ayrılması sağlandı. Süre sonunda tüplere 500 µl wash buffer I'den bırakılıp 8000 g'de 15 sn santrifüj edildi. Santrifüj sonunda dibe çöken sıvı dökülüp, tüplere 500 µl wash buffer II bırakıldı ve 8000 g'de 15 sn santrifüj edildi. Dibe çöken sıvı dökülüp, üzerine tekrar wash buffer II den 200 µl bırakıldı ve 15000 g'de 3 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonunda tüplerin filtreli kısmı hazırlanmış yeni ependorf tüplere bırakıldı ve tüplere 50 µl elution buffer bırakıldı. 8000 g'de 1 dk santrifüj edilip, RNA'ların ependorf tüplere aktarımı sağlandı. Elde edilen RNA'ların konsantrasyonu ve saflığı spektrofotometrik yöntemle belirlendi. Ortalama 40-45 ng RNA miktarları elde edilmiştir.

3.2.1.1. cDNA sentezi

RNA'lar transcriptor first strand cDNA sentez kiti (Roche) kullanılarak ve firmanın kullanma talimatlarına uyularak cDNA lara çevrilmiştir. Aşamalar sırasıyla aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir.

Tüpler hazırlanıp, her tüpe 1 µl oligo 1 µl hexamer solüsyonundan olacak şekilde toplam 2 µl karışım bırakıldı. Her bir uygulama kendi tüpüne gelecek şekilde 11 µl RNA bırakılıp, tüpler spin yapıldı. Tüpler Thermal Cycler kullanılarak, cDNA 1 işaretlenmiş 65°C de 10 dk bırakıldı. Süre sonunda kitin talimatlarıyla hazırlanmış master karışımdan her bir tüpe 7 µl bırakılıp, Thermal Cycler kullanılarak cDNA 2 işaretlendi ve 55°C de 1 saat, 85°C de 5 dk ve 4°C de duracak şekilde ayarlandı. Master karışım aşağıdaki gibi hazırlandı:

a) Vial 2 : 4 × 1

b) Vial 4 : 0,5 × 1

c) Vial 3 : 2 × 1

d) Vial 1 : 0,5 × 1

Süre dolduktan sonra tüpler -20 de muhafaza edildi.

3.2.1.2. Kantitatif real-time PCR (qPCR):

Elde edilen cDNA lar LightCycler 480 Probes master (Roche) ve Roche LightCycler® 480 kullanılarak ADAMTS genlerinin (ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9 ve -15) mRNA kantitasyonu yapıldı. Bütün genlerin ifade seviyeleri gliseraldehid -3-fosfat dehidrojenaza (GAPDH) göre normalize edildi ve bütün mRNA ölçümleri her bir ayrı gen için triplicate olarak yapıldı. Primer dizilimleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 1. qPCR için kullanılacak primer dizilimleri.

Gen	Forward 5'-3'primer	Reverse 5'-3'primer
ADAMTS-1	GCTGCTCCGTCATAGAAGATG	GCATCATCATGTGGCATGTTA
ADAMTS-4	ACTTCCTGGACAATGGCTATG	AAAGTCACAGGCAGATGCAA
ADAMTS-5	TGGCAGCACCAACACAAC	GAATGATGCCACATAAATCCT
ADAMTS-8	CCTCACCCCAACCAATTA	CCGCTGCTTCAGTCAATA
ADAMTS-9	ACGCTGCATGGAGTACTGG	TTTATGCCCTCGACCACAA
ADAMTS-15	TGAGGGTGAAATACCGATCC	CTCCTCCCGGAAGCTCTTT
GAPDH	AGCCACATCGCTCAGACAC	GCCCAATACGACCAATCC

3.3. İstatiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks ve Kolmogrov Smirnov testi ile belirlendi. Normal dağılıma uyan veriler ortalama ve standart sapma ile normal dağılıma uymayan veriler median ve minimum-maksimum değerler ile gösterildi. Parametrik test koşullarını karşılayan verilerde bağımsız gruplar t testi, karşılamayan verilerde Mann Whitney-U testi kullanıldı. Korelasyon analizinde Spearman Korelasyon testi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında değerlendirildi ve $p<0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizde SPSS (statistical package for social sciences) Version 21.0 programı kullanıldı.



4. BULGULAR

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, Dermatoloji ve Göz Hastalıkları polikliniğine Ocak- Eylül 2016 tarihinde başvuran 30 Behçet hastası ile 30 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan BH hastalarının 16'sı (%53,3) kadın, 14'ü (%46,7) erkek idi. Kontrol grubunun 16'sı (%53,3) kadın, 14'ü (%46,7) erkek idi. Hasta grubunun yaş ortalaması $33,33 \pm 9,6$ kontrol grubunun yaş ortalaması $33,27 \pm 8,3$ ' idi.

Yaş ($p=0,977$) ve cinsiyet ($p=1$) açısından iki grup arasında anlamlı fark yoktu. BH'li hastaların BKİ ortalaması $24,51 \pm 4,12$; kontrol grubunun BKİ ortalaması $25,66 \pm 2,88$ olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p= 0,216$) Hasta grubunda ortalama hastalık süresi 65 ± 56 aydı. Behçet hastaların 19 u ilaç kullanıyordu (Tablo 1). Hastaların hiçbirisi immünsupresan ilaç kullanmıyordu. İlaç kullanan hastaların 18 i sadece kolşisin, 1 hasta kolşisin ve NSAİİ kullanıyordu.

Tablo1: Hasta ve kontrol grubuna ait demografik veriler.

	BH	Kontrol	p
Yaş (ort $\pm$ ss)	$33,33 \pm 9,6$	$33,27 \pm 8,3$	0,977
Cinsiyet K/E	16/14	16/14	1
BKİ (ort $\pm$ ss)	$24,51 \pm 4,12$	$25,66 \pm 2,88$	0,216
Sigara kullanımı (n)	10	12	0,599
Alkol kullanımı (n)	0	0	-
Hastalık süresi (ay) (ort $\pm$ ss)	65 ± 56	-	-
İlaç kullanımı (n)	19	-	-

Behçet Hastalığı Anlık Aktivite Skoru (BHAAS) (ort $\pm$ ss) $3,5 \pm 0,86$ olarak hesaplandı. Hastaların hesaplanan BHASS değeri ve laboratuvar bulguları Tablo2 verilmiştir.

Tablo 2: Hasta grubuna ait laboratuvar ve aktivite skoru verileri

ESR (ort±ss)	12,6±9,2
CRP (ort±ss)	1,24±1,74
WBC (ort±ss)	8,7±2,51
Hgb (ort±ss)	13,52±2,01
BHAAS (ort±ss)	3,5±0,86

Uluslararası Behçet Hastalığı çalışma kriterlerine göre tanı alan ve çalışmamıza dahil ettiğimiz 30 Behçet hastasından; 25 hastada aktif oral aft, 14 hastada aktif genital ülser, 14 hastada aktif cilt lezyonu, 11 hastada aktif üveit, 19 hastada aktif eklem tutulumu, 1 hastada derin ven trombozu ve 1 hastada nörolojik tutulum mevcuttu (Tablo 3).

Tablo 3: Hastalara ait klinik bulgular

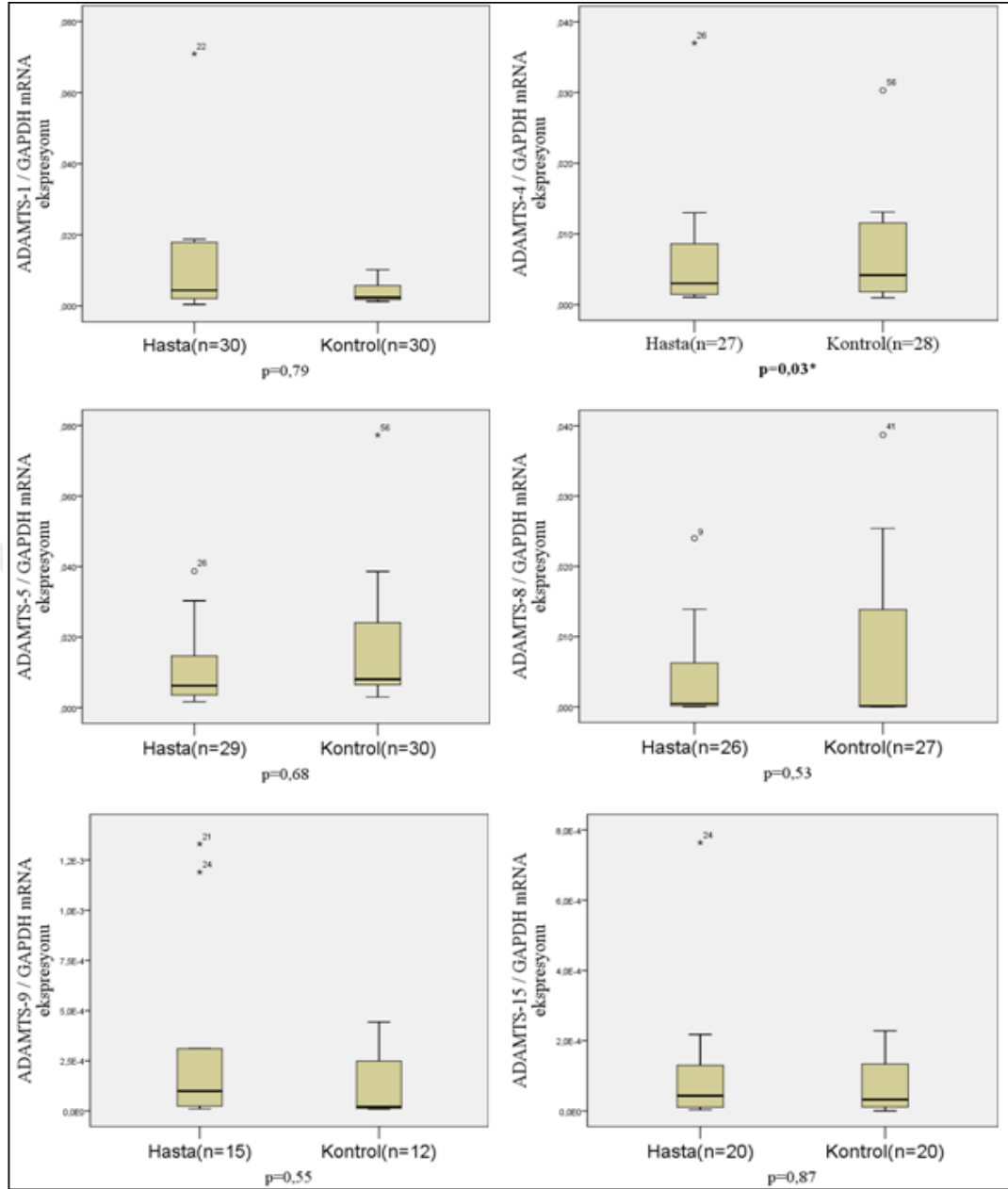
	n	%
Oral aft	25	83,3
Genital ülser	14	46,6
Cilt tutulumu	14	46,6
Göz tutulumu	11	36,6
Artrit / Artralji	4 / 19	13,3 / 63,3
Vasküler	1	3,3
Nörolojik tutulum	1	3,3

Çalışmaya dahil edilen 30 hasta ve 30 sağlıklı kontrol örneklerinden, hasta grubundan ADAMTS-1 için 30, ADAMTS-4 için 27, ADAMTS-5 için 29, ADAMTS-8 için 26, ADAMTS-9 için 15, ADAMTS-15 için 20 numunenin; kontrol grubundan ADAMTS-1 için 30, ADAMTS-4 için 28, ADAMTS-5 için 30, ADAMTS-8 için 27, ADAMTS-9 için 12, ADAMTS-15 için 20 numunenin PCR değerlendirilmesi yapılabildi.

BH'li hastalar ve kontrol grubunda ADAMTS-1,-4, -5, -8, -9, -15 genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri Tablo 4'te sunulmuştur. ADAMTS-4 mRNA ekspresyon düzeyinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında BH grubunda daha az olduğunu saptadık. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı. ADAMTS-1, -5, -8'de hasta grubunda daha az eksprese olmuştu. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ADAMTS-9, -15 ekspresyon düzeyi açısından hasta ve kontrol grubunda anlamlı farklılık tespit edilmedi (Tablo 4, Şekil 1).

Tablo 4: BH'li hastalar ve kontrol grubunda ADAMTS-1,-4, -5, -8, -9, -15 mRNA ekspresyon düzeylerine ait ortalama, median ve minimum-maximum değerleri

	Grup	Ort±ss	Median	Min.	Max.	p
ADAMTS-1	Hasta	0,01285±0,0214	0,004405	0,000441	0,070900	0,79
	Kontrol	0,00413±0,0037	0,002440	0,001250	0,010200	
ADAMTS-4	Hasta	0,00755±0,0110	0,003015	0,001050	0,037000	0,03
	Kontrol	0,00755±0,0110	0,003015	0,001050	0,037000	
ADAMTS-5	Hasta	0,01179±0,0127	0,006250	0,001690	0,038700	0,68
	Kontrol	0,02137±0,0274	0,008060	0,003010	0,077300	
ADAMTS-8	Hasta	0,00465±0,0081	0,000464	0,000041	0,024000	0,83
	Kontrol	0,00952±0,0158	0,000112	0,0000003	0,038700	
ADAMTS-9	Hasta	0,00034±0,0004	0,000099	0,000011	0,001330	0,55
	Kontrol	0,00014±0,0002	0,000021	0,000010	0,000443	
ADAMTS-15	Hasta	0,00013±0,0002	0,000043	0,000004	0,000764	0,87
	Kontrol	0,00007±0,0001	0,000033	0,000001	0,000228	



Şekil 1: PBMC’lerde ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9, 15 ekspresyon düzeyi açısından Hasta ve Kontrol grubunun karşılaştırılması (median ve minimum-maximum değerler)

BH'li hastaların laboratuvar değerleri ve BHAAS değeri ile ADAMTS-1,-4, -5, -8, -9, -15 mRNA ekspresyon düzeyleri arasında korelasyon yoktu (Tablo5).

Tablo 5: BH hastalarında laboratuvar değerleri ve BHAAS ile ADAMTS genleri arasındaki ilişki

	ADAMTS-1	ADAMTS-4	ADAMTS-5	ADAMTS-8	ADAMTS-9	ADAMTS-15
	p (r)	p (r)	p (r)	p (r)	p (r)	p (r)
ESR	,364 ,172	,722 -,069	,813 -,046	,788 ,055	,851 ,048	,557 -,140
CRP	,066 -,082	,382 -,169	,436 -,150	,434 ,160	,748 ,082	,588 -,129
WBC	,821 -,043	,204 -,243	,305 ,197	,143 ,295	,531 -,158	,541 -,145
Hgb	,223 -,229	,578 -,108	,584 ,106	,551 ,122	,521 -,162	,912 -,026
BHAAS	,891 ,026	,244 -,223	,120 ,295	,936 -,017	,711 -,094	,514 -,155

BH'li hastalarda ilaç kullanıp kullanmamayla ADAMTS-1,-4, -5, -8, -9, -15 mRNA ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı farklılık yoktu. (Tablo6).

Tablo 6: BH hastaların da ilaç kullanımıyla ADAMTS genleri arasındaki ilişki

	ADAMTS-1	ADAMTS-4	ADAMTS-5	ADAMTS-8	ADAMTS-9	ADAMTS-15
	p	p	p	p	p	p
İlaç kullanımı	,333	,228	,783	,386	,535	,536

BH'li hastaların periferik kan örneklerinden izole edilen PBMC'lerde eksprese olan ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9, -15 mRNA düzeyleriyle hastalığa bağlı bulgular arasında korelasyon yoktu (Tablo7).

Tablo7: BH'ye bağlı semptomlarla ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9, -15 mRNA ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişki

	Oral aft p (r)	Genital ülser p (r)	Cilt Tutulumu p (r)	Göz Tutulumu p (r)	Artralji p (r)	Artrit p (r)	Nörolojik Tutulum p (r)	Vasküler Tutulum p (r)
ADAMTS-1	,312 ,191	,808 ,046	,850 ,036	,300 ,196	,963 ,004	,369 ,170	,325 ,186	,693 ,075
ADAMTS-4	,612 ,098	,392 ,165	,322 ,191	,289 ,204	,827 ,042	,386 ,167	1,000 0,000	,483 ,136
ADAMTS-5	1,000 0,000	,442 ,148	,057 ,357	,893 ,026	,965 ,008	,189 ,251	,529 ,122	,560 ,113
ADAMTS-8	,323 ,202	,230 ,244	,233 ,242	,440 ,158	,129 ,306	,253 ,233	,506 ,136	,265 ,227
ADAMTS-9	,329 ,244	,858 ,045	,312 ,253	,370 ,225	,232 ,297	,777 ,072	,644 ,117	,303 ,257
ADAMTS-15	,334 ,228	,197 ,301	,761 ,073	,939 ,018	,473 ,170	,384 ,206	,271 ,259	,616 ,119

5. TARTIŞMA

BH oral ve genital ülserlerin yanı sıra üveit, cilt lezyonları ve birçok organ tutulumunun görülebildiği, remisyon ve alevlenmeler gösteren etiyopatogenezi bilinmeyen kronik inflamatuvar multisistemik bir hastalıktır.

Çalışmamızda; inflamasyon üzerinde rolleri saptanmış ve değişen ekspresyon düzeylerinin bazı hastalıklarla ilişkili olduğu bildirilmiş olan ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9, -15 genlerinin, patogenezinde immünolojik ve genetik faktörlerin kompleks etkileşiminin olduğu gösterilmiş inflamatuvar bir vaskulit olan BH'nin patogenezindeki olası etkilerini araştırdık.

ADAMTS genlerinin ürünleri olan ADAMTS proteazlarının; spesifik matriks bileşenlerinin yıkımına sebep olarak ECM remodellemesinde, adezyon ligandları, büyüme faktörleri ve çeşitli sitokinlerin salınımında rol oynadığı bildirilmiştir. Bu proteazların inflamasyonda görev alması ve ECM elemanlarının yıkımına sebep olması bazı romatizmal ve vasküler hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

ECM degradasyonu ile sonuçlanan agrekan, versikan ve brevikan proteoglikanlarını enzimatik olarak yıkımını gerçekleştiren ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9 ve -15 proteazlarının (agrekanazlar) hastalıkların patogenezindeki rolleri hakkında yapılan çalışmalar oldukça az olmakla beraber bazı romatizmal ve vasküler hastalıkların patogenezindeki rolü bazı araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. Bizim çalışmamız, BH'de ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9 ve -15 genlerinin mRNA ekspresyon düzeylerinin değerlendirildiği ilk çalışmadır.

En yüksek agrekanaz aktiviteye sahip ADAMTS-4 ve -5'in OA ve RA'da hastalığın patogenezindeki rolünün araştırıldığı çalışmalarda; Torterella ve ark. tarafından hayvan modelleri üzerinde yapılan araştırmada, kartilaj dokusunda başlangıçta ADAMTS-5 (agrekanaz-2) mRNA tespit edilmişken, ADAMTS-4 (agrekanaz-1) tespit edilmemiştir. Bu dokuların IL-1 ve TNF- α ile stimüle edilmesiyle ADAMTS-4 düzeyinde anlamlı artış saptanırken, ADAMTS-5 düzeyinde belirgin bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir. Bu durum ADAMTS-5'in kartilajda sürekli eksprese olduğu ancak ADAMTS-4'ün ekspresyonunun proinflamatuvar sitokinlerle arttığı

şeklinde yorumlanmış (222). Kevorkian ve ark. osteoartritli hastaların kıkırdak dokularında ADAMTS-1, -5, -6, -15, -18 ve -19'un yüksek oranda eksprese olduğunu göstermiştir (223). Yine OA'lı hastalarda yapılan çalışmada Malfait ve ark. ADAMTS-4 ve -5 inhibisyonuna bağlı OA gelişiminin inhibe edilebileceğini öne sürmüştür (224). Yamanicshi ve ark. RA'lı hastaların sinovyal sıvısında ADAMTS-1 ekspresyonunun, non-artritlik sinoviyal sıvıya kıyasla arttığı ve yine RA daki ekspresyon artışının OA'ya göre daha fazla olduğunu bildirmiş (225). Başka bir çalışmada pro-inflamatuar bir sitokin olan IL-6'nın RA'lı hastaların fibroblast benzeri sinoviositlerinde ADAMTS-4 ekspresyonunu indüklediği rapor edilmiştir (226). Bu durum ADAMTS genlerinin ekspresyonunun inflammatuar sitokinlerle up-regüle edildiği şeklinde yorumlanmıştır.

BH'de inflammatuar reaksiyonlardan sorumlu olan IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 ve IL-12, IL-17, IL-18 gibi pro-inflamatuar sitokinlerin üretiminin arttığı rapor edilmiştir (227). Ancak BH, RA ve OA sinovial sıvı sitokin düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada IL-1 ve TNF- α düzeylerinin BH'de, RA ve OA'ya kıyasla anlamlı olarak daha az saptandığı ve IL-1'in reseptör antagonisti olan IL-1Ra'nın düzeyinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Saptanan bu TNF- α ve IL-1 düzeyi düşüklüğünün BH'de eklem kartilajında erozyon gelişmemesinde önemli bir faktör olabileceği bildirilmiştir (228). Biz de çalışmamızda artmış sitokin düzeyleriyle indüklendiği gösterilmiş olan ADAMTS genlerinin yine inflammatuar sitokinlerin arttığı gösterilen BH'de ekspresyon düzeylerinin inflammatuar hastalıklar olan RA ve OA'da olduğu gibi artmış olabileceğini düşündük. Ancak ADAMTS-1, -5, -8, -9, -15 mRNA ekspresyon düzeylerinde Behçet hastalarında kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olmadığı, ilginç bir şekilde en güçlü agrekanaz olan ADAMTS-4 m-RNA ekspresyon düzeyinin Behçet hastalarında kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde suprese olduğunu tespit ettik. Ancak artriti ve/veya artraljisi olan hastalarda eklem tutulumuyla ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9, -15 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki olmadığını saptadık. Bu bulgular ADAMTS-1, -5, -8 ve -9'un BH patogenezinde direkt olarak etkin bir rol almadığını ve diğer kompleks moleküler sinyal mekanizmalarının varlığını önermektedir. Gerçektende yapılan bir çalışmada IL-1 α ve retinoik asit ile uyarılmış olan ratların kartilaj dokusunda başlıca agrekanazlar olan ADAMTS-4 ve ADAMTS-5'in

aktivitesi baskılandığında agrekan kaybının olduğu ve bunun ADAMTS-4 ve ADAMTS-5 dışında özellikle retinoik asidin uyardığı bir molekül tarafından gerçekleştirildiği bildirilmiştir. Ayrıca kartilaj dokusunda ADAMTS-1, -4, -5 ve -9 mRNA ekspresyon düzeyinde ADAMTS-4 ve ADAMTS-5'in aktivitesinin yokluğunu kompanse edici bir artışın olmadığı rapor edilmiştir (229).

Bu sonuçlar bize, RA ve OA gibi romatizmal hastalıklarda görülen eklem erozyonunun aksine BH'de artiküler kartilajda erozyon görülmemesinin sebebinin büyük oranda ADAMTS ekspresyon düzeyinde bir değişikliğin olmamasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu durum ADAMTS inhibitör tedavisinin RA ve OA gibi eklem yıkımıyla giden hastalıkların tedavisinde eklem erozyonunun önlenmesinde kullanılabileceği düşündürmektedir.

Çalışmamızda artiküler kartilaj erozyonunun görüldüğü RA ve OA gibi hastalıkların aksine ADAMTS-4 mRNA düzeyinin Behçet hastalarının PBMC'lerinde azaldığını saptadık. Bu sonuç ADAMTS-4'ün BH patogenezinde bir rolü olduğunu, fakat bu rolün başlıca agreganaz aktivitesi üzerinden değil (non-enzimatik), başka moleküler yollarla örneğin inflamasyon yolağıyla ilişkili olabileceğini önermektedir. Yakın bir zamanda yapılan bir çalışmada rat iskemik modelinde ADAMTS-4'ün MSS'de anti-inflamatuar bir rolünün olduğu gösterilmiştir. Primer mikroglia ve astrosit hücrelerinin LPS uyarımından önce ADAMTS-4 ile muamele edilmesi sonucu pro-inflamatuar sitokinlerin üretiminde bir azalma olduğu rapor edilmiştir (230). BH, merkezi sinir sistemini de etkileyen kronik inflammatuar bir hastalık olduğu için, bu anlamda çalışmamız BH'de ADAMTS-4 mRNA düzeyindeki azalışın BH'deki artmış olan inflamasyonla ilişkili olabileceğini gösteren literatürdeki ilk çalışmadır.

ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9 proteazlarının non-enzimatik anti-anjiogenik etkilerinin varlığı birçok çalışma da gösterilmiş olup bu proteazların bu etkisini endotel üzerinde VEGFR-2'ye (VEGF reseptörü-2) bağlanarak VEGF in reseptörüne bağlanmasını engellemek suretiyle gerçekleştirdiği bildirilmiştir. Bu inhibisyona bağlı olarak anjiogenezisle ilgili genlerin ekspresyon düzeyinde değişikliklerin ortaya çıkması sonrası anjiogenezin engellendiği öne sürülmüştür (231). Yapılan çalışmalarda BH ilişkili üveitin, oküler inflamasyona bağlı oklüziv vaskülit olduğu

ve oklüzyon sonrası neo-vaskularizasyonun gerçekleştiği bildirilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada BH'ye bağlı akut üveit, kronik üveit ve kontrol grubun da bakılan VEGF düzeyinde akut üveiti olan hastalarda kronik üveit ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında serum VEGF düzeyinin daha yüksek bulunduğu ve üveit tablosunda görülen yeni damar oluşumunun, artan VEGF düzeyine bağlı olduğu düşünülmüştür (232). Biz çalışmamızda aktif üveiti olan hastalarda beklenen neo-vaskularizasyona bağlı VEGF artışının ADAMTS genlerinin supresyonuna bağlı olarak sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı azalma olmasını bekliyorduk. Ancak hasta grubuyla kontrol grubu karşılaştırıldığında ADAMTS-4 ekspresyon düzeyinde anlamlı azalma saptanmasına rağmen, hasta grubunda göz tutulumu açısından ADAMTS ekspresyon düzeyleri açısından korelasyon yoktu.

ADAMTS genleri hakkında yapılan başka çalışmalarda bu genlerin ateroskleroz ve vasküler anevrizma gibi vasküler patolojilerle ekspresyon düzeylerinin anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (203,233). Ayrıca metalloproteinaz grubundan olan MMP-9 ile BH hastalığına bağlı abdominal aort anevrizması arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışma da anevrizmayla MMP-9 mRNA ekspresyon düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (234). Ancak anevrizma gibi vasküler bir problemi olmayan hasta grubunda MMP-9 mRNA ekspresyon düzeyi arasında anlamlı ilişki olmadığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamıza dahil ettiğimiz BH olgularının hiçbirinde BH'ye anevrizma tanısı alan hastamız olmaması nedeniyle biz bu durum açısından değerlendirme yapamadık.

Çalışmamızda, BH'ye bağlı muko-kutanöz lezyonlarla ADAMTS genleri arasında anlamlı ilişki olmadığını saptadık. Benzer şekilde Lee ve ark. yine metalloproteinaz ailesinden olan MMP-9 ile BH'de görülen klinik non-visseral manifestasyonlarla ilişkisi olmadığını saptamıştır. Ancak Lee ve ark. yapmış oldukları bu çalışmada BH'nin non-visseral tutulum tipleri ayrı ayrı ele alınmamıştır (235). Yine benzer şekilde Pay ve ark. Behçet hastalarında serum MMP-2 ve MMP-9 düzeyiyle BH'ye bağlı muko-kutanöz lezyonlar arasında anlamlı ilişki olmadığını bildirmiştir (236). Park ve ark. yapmış olduğu başka bir çalışmada, idiopatik eritema nodozum ve BH'ye bağlı eritema nodozum doku örneklerindeki MMP-2 ve MMP-9 ekspresyon düzeylerini karşılaştırmış, BH'li olgularda MMP-2 ekspresyonunun anlamlı olarak azaldığını ancak MMP-9 ekspresyonunun anlamlı olarak arttığını bildirmiştir

(237). Benzer şekilde bizde çalışmamızda mukokutanöz bulgularla ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9, -15 ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı ilişki olmadığını saptadık. Nitekim oral aft, genital ülser ve cilt lezyonlarının yapılan histopatolojik değerlendirmesinde lezyonlarda lenfosit, nötrofil ve histiyositlerden oluşan hücre infiltrasyonunun izlendiği ve damar duvarında oklüziv değişikliklerin görüldüğü bildirilmiştir (125).

Çalışmamızın kısıtlılıkları; hasta grubumuzdaki BH'li olgularda BH'ye bağlı daha az sıklıkla görülen klinik bulguların olmaması nedeniyle bu klinik bulgularla ADAMTS genlerinin ilişkisini değerlendiremedik. Daha geniş hasta grubu olması, BH'ye bağlı diğer klinik bulguların da değerlendirilmesi için önem arz etmektedir. Biz çalışmamız da periferik kan örneklerinden izole ettiğimiz PBMC'lerde ADAMTS mRNA ekspresyonunu değerlendirdik. Bu hastalarda tutulumun olduğu dokulardan alınan doku örneklerinde gen ekspresyonuna bakılması daha anlamlı olabilir. Çalışmamıza dahil ettiğimiz sadece 7 hastada HLA-B51 laboratuvar bilgisi olması nedeniyle ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9, -15 genleri ve HLA-B51 arasında korelasyon analizi yapamadık.

6. SONUÇ

Çalışmamızda, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında Behçet hastalarında PBMC'lerde baktığımız ADAMTS-1, -5, -8, -9, -15 mRNA ekspresyon düzeyleri açısından anlamlı fark olmadığını saptadık. Ancak en güçlü agrekanaz etkiye sahip ADAMTS-4 mRNA düzeyinin hasta grubunda anlamlı düzeyde azalma olduğunu dolayısıyla ADAMTS-4 geninin Behçet hastalarında suprese olduğunu tespit ettik. Bu bulgular literatürde inflamatuvar sitokinlerle upregule olan ADAMTS genleriyle inflamatuvar bir vaskülit olan Behçet hastalığının patogenezinde diğer kompleks moleküler sinyal mekanizmalarının varlığını önermektedir ve dejeneratif artrit, ateroskleroz ve vasküler anevrizma gibi ekstrasellüler yıkım sonucu gelişen klinik bulguların BH'de nadir görülmesinin sebebi olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca çalışmamızda ADAMTS-1, -4, -5, -8, -9, -15 mRNA ekspresyon düzeyleriyle BH'ye bağlı klinik bulgular ve BHAAS arasında korelasyon saptamadık.

Behçet Hastalığı kompleks etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış multisistemik bir hastalıktır. Bu durumun net ortaya konabilmesi için hem ADAMTS gen ailesi hem de diğer olası immünolojik ve genetik faktörlerin araştırıldığı iyi dizayn edilmiş, farklı klinik bulguların değerlendirilebileceği geniş popülasyonlu çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Sakane T, Takeno M, Suzuki N, Inaba G. Behçet's disease. N Engl J Med. 199;1284–1291
2. Feigenbaum A. Description of Behçet's syndrome in the Hippocratic third book of endemic diseases. Br J Ophthalmol. 1956;40(6):355-7
3. Önder M. Behçet hastalığı. Epidemiyoloji. Türkderm. 2009;43(2):28-31
4. Saylan T. Live story of Dr. Hulusi Behçet. Yonsei Med J. 1997;38:327-332.
5. İncedayı CK. Behçet hastalığı. Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi. 1968;5:783-805.
6. Tat AL. Hocam Hulusi Behçet. Türkiye Klinikleri Behçet Özel Sayısı. 1985;5:393-395
7. Saylan T, Mat C, Fresko İ, Melikoğlu M. Behçet's disease in the middle east. Clin in Dermatol. 1999;17:209-223.
8. Verity DH, Wallace GR, Vaughan RW, Stanford MR. Behçet's disease: from Hippocrates to the third millennium. Br J Ophthalmol 2003;87:1175-183.
9. Alpsöy E. Behçet hastalığı. Türkderm. 2009; 43(2):21-3.
10. Yurdakul S. Behçet sendromunun epidemiyolojisi. Aktüel Tıp Dergisi. 1997;2:66-7.
11. Yurdakul S, Hamuryudan V, Yazici. Behçet syndrome. H Curr Opin Rheumatol. 2004;16(1):38.
12. Yazici H, Fresko I, Yurdakul S. Behçet's syndrome: disease manifestations, management, and advances in treatment. Nat Clin Pract Rheumatol. 2007;3(3):148-55.
13. Borlu M. BH'de etyopatogenez. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2007;16(1): 63-72.

14. Karıncaoglu Y, Borlu M, Toker SC, Akman A, Onder M, Gunasti S, Usta A, Kandi B, Durusoy C, Seyhan M, Utas S, Saricaoglu H, Ozden MG, Uzun S, Tursen U, Cicek D, Donmez L, Alpsoy E. Demographic and clinical properties of juvenile-onset Behçet's disease. A controlled multicenter study. *J Am Acad Dermatol.* 2008;58(4):579.
15. Uzun S, Alpsoy E, Durdu M, Akman A. The clinical course of Behçet's disease in pregnancy, a retrospective analysis and review of the literature. *J Dermatol* 2003;30:499-502.
16. Hegap S, Al-Mutawa S. Immunopathogenesis oh Behçet's Disease. *Clin Immunol.* 2000;96:174-186.
17. Zouboulis CC. Adamantiades- Behçet Disease. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine'de.* (Ed. Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ). Volüm 1. 7. baskı, Mc-Graw Hill, Newyork, 2007: 1620-1626.
18. Türsen Ü, Gürler A, Boyvat A. Evaluation of clinical findings according to sex in 2313 Turkish patients with Behçet's disease. *Int J Dermatol.* 2003; 42: 346-351.
19. Pamuk ÖN, Çakır N. Behçet hastalığı epidemiyolojisi. *T Klin J Int Med Sci.* 2005;1:3-9.
20. Zouboulis CC, Kötter I, Djawari D, Kirch W, Kohl PK, Ochsendorf FR, Keitel W, Stadler R, Wollina U, Proksch E, Söhnchen R, Weber H, Gollnick HP, Hölzle E, Fritz K, Licht T, Orfanos CE. Epidemiological features of Adamantiades- Behçet's disease in Germany and in Europe. *Yonsei Med J.* 1997 Dec;38(6):411-22.
21. Akman A, Sallakci N, Kacaroglu H. Relationship between periodontal findings and the TNF-alpha Gene 1031T/C polymorphism in Turkish patients with Behçet's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2008;22:950-7.
22. Akman A, Alpsoy E. Behçet's Disease. Current Aspects in the Etiopathogenesis. *Turkderm-Archives of the Turkish Dermatology and Venerology.* 2009;43(Suppl. 2):32-8.

23. Boyvat A. Behçet hastalığının etyopatogenezi. *T klin Dermatol.* 2004;14:15-21.
24. Zouboulis CC, May T. Pathogenesis of Adamantiades- Behçet's disease. *Med Microbiol Immunol* 2003; 192: 149-155.
25. Ohno S, Ohguchi M, Hirose S. Close assosiation of HLA-Bw51 with Behcet's disease. *Arch Ophthalmol.* 1982;100:1455-8.
26. Araysi T, Hamdan A. New insights into the pathogenesis and therapy of Behçet's disease. *Curr Opin Pharmacol* 2004; 4: 183-188.
27. Maldini C, Lavalley MP, Cheminant M. Relationships of HLA-B51 or B5 genotype with Behcet's disease clinical characteristics: systematic review and meta-analyses of observational studies. *Rheumatology (Oxford).* 2012;51:887-900.
28. Lehner T. Immunopathogenesis of Behcet's disease. *Ann Med Interne.* 1999;150:483-7.
29. Evereklioglu C. Current concepts in the etiology and treatment of Behcet disease. *Surv Ophthalmol.* 2005;50:297-350.
30. Pay S. Behçet hastalığı: etiyoloji ve patogenezi. *T Klin J Int Med Sci.* 2005;1:10-8.
31. Durrani K, Papaliodis GN. The genetics of Adamantiades-Behcet's disease. *Semin Ophthalmol.* 2008;23(1):73-9.
32. Yurdakul S, Yazıcı Y. Epidemiology of Behcet's syndrome and regional differences in disease expansion. *Springer.* 2010;35-53
33. Zouboulis CC, May T. Pathogenesis of Adamantiades- Behçet's disease. *Med Microbiol Immunol* 2003; 192: 149-155.
34. Mizuki N, Meguro A, Tohnai I, Gül A, Ohno S, Mizuki N. 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: 431-436.

35. Kera J, Mizuki N, Ota M, Katsuyama Y, Pivetti-Pezzi P, Ohno S, Inoko H. Significant associations of HLA-B*5101 and B*5108, and lack of association of class II alleles with Behçet's disease in Italian patients. *Tissue Antigens* 1999; 54: 565-571.
36. Kötter I, Günaydin I, Stübiger N, Yazici H, Fresko I, Zouboulis CC, Adler Y, Steiert I, Kurz B, Wernet D, Braun B, Müller CA. Comparative analysis of the association of HLA-B*51 suballeles with Behçet's disease in patients of German and Turkish origin. *Tissue Antigens* 2001; 58: 166-170.
37. Al-Otaibi LM, Porter SR, Poate TWJ. Behçet's disease: A Review. *J Dent Res* 2005; 84: 209-222.
38. Kaklamani VG, Vaiopoulos G, Kaklamanis PG. Behçet's Disease. *Semin Arthritis Rheum.*1998; 27: 197-217.
39. Zouboulis CC, May T. Pathogenesis of Adamantiades- Behçet's disease. *Med Microbiol Immunol* 2003; 192: 149-155.
40. Gül A, Uyar FA, Ğnanç M, Öcal L, Tugal-Tutkun I, Aral O, Koniçe M, Direskeneli-Saruhan G. Lack of association of HLA-B*51 with a severe disease course in Behçet's disease. *Rheumatology* 2001; 40: 668-672.
41. Kaya TI, Türsen Ü, Gürler A, Dur H. Association of class I HLA antigens with the clinical manifestations of Turkish patients with Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol* 2002; 27: 498-501.
42. Direskeneli H. Behçet's disease: infectious aetiology, new autoantigens, and HLA-B51. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 996-1002.
43. Ahmad T, Wallace GR, James T, et al. Mapping the HLA association in Behcet's disease: a role for tumor necrosis factor polymorphisms? *Arthritis Rheum* 2003;48:807-13.
44. Akman A, Sallakcı N, Coşkun M. TNF-alfa gene 1031 T/C polymorphism in Turkish patients with Behcet's disease. *British Journal of Dermatology.* 2006;155:350-6.

45. Mendoza-Pinto C, García-Carrasco M, Jiménez-Hernández M, Jiménez Hernández C, Riebeling-Navarro C, Nava Zavala A, Vera Recabarren M, Espinosa G, Jara Quezada J, Cervera R. *Autoimmun Rev.* 2010;9(4):241-5.
46. Hirohata S, Kikuchi H. Behçet's disease. *Arthritis Res Ther.* 2003;5:139-146.
47. Ateş O, Dalyan L, Hatemi G, Hamuryudan V, Topal-Sarikaya A. Analyses of functional IL-10 and TNF- α genotypes in Behçet's syndrome. *Mol Biol Rep.* 2010;37(7):3637-41.
48. Salvarani C, Boiardi L, Casali B, Olivieri I, Ciancio G, Cantini F, Salvi F, Malatesta R, Govoni M, Trotta F, Filippini D, Paolazzi G, Nicoli D, Farnetti E, Macchioni P. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in Behçet's disease. *J Rheumatol.* 2002;29(3):535.
49. Chmaisse HN, Fakhoury HA, Salti NN, Makki RF. The ICAM-1 469 T/C gene polymorphism but not 241 G/A is associated with Behçets disease in the Lebanese population. *Saudi Med J.* 2006;27(5):604.
50. Tursen U, Tamer L, Api H, Yildirim H, Baz K, Ikizoglu G, Atik U. Cytochrome P450 polymorphisms in patients with Behcet's disease. *Int J Dermatol.* 2007;46(2):153.
51. Sousa I, Shahram F, Francisco D, Davatchi F, Abdollahi BS, Ghaderibarmi F, Nadji A, Mojarad Shafiee N, Xavier JM, Oliveira SA. Brief report: association of CCR1, KLRC4, IL12A-AS1, STAT4, and ERAP1 With Behçet's disease in Iranians. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67(10):2742
52. Bang D, Cho YH, Choi H-J. Detection of herpes simplex virus DNA by polymerase chain reaction in genital ulcer of patients with Behçet's disease. In: Hamza M, editor. *Proceedings of the 7th International Conference on Behçet's Disease*; 1996; Tunis, Tunisia. Pub Adhoua; 74–75.
53. 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 Apr; 288(4):179-83.

54. Studd M, McCance DJ, Lehner T. Detection of HSV-1 DNA in patients with Behçet's syndrome and in patients with recurrent oral ulcers by the polymerase chain reaction. *J Med Microbiol.* 1991;34(1):39-43.
55. Baskan EB, Yilmaz E, Saricaoglu H, Alkan G, Ercan I, Mistik R, Adim SB, Goral G, Dilek K, Tunali S. Detection of parvovirus B19 DNA in the lesional skin of patients with Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol.* 2007;32(2):186
56. Kiraz S, Ertenli I, Benekli M, Calgüneri M. Parvoviral B19 infection in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* 1999;14: 71–3.
57. Al-Otaibi LM, Porter SR, Poate TWJ. Behçet's disease: A Review. *J Dent Res* 2005; 84:209-222.
58. Önder M, Gürer MA. The multiple faces of Behçet's disease and its aetiological factors. *JEADV.* 2001;15: 126-36.
59. Alpsoy E. Behçet's disease: treatment of mucocutaneous lesions. *Clin Exp Rheumatol.* 2005;23:532-9.
60. Al-Waiz MM, Sharquie KE, A-Qaissi MH, Hayani RK. Colchicine and benzathine penicillin in the treatment of Behçet disease: A case comparative study. *Dermatol Online J* 2005; 11: 3.
61. Lehner T. The Role of Heat Shock Protein, Microbial and Autoimmune Agents in the Aetiology of Behçet's Disease. *International Reviews of Immunology.* 1997;14:1,21-32.
62. TZ, Gürsel R, Dolgun A. Increased seropositivity of *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated gene-A in Behçet's disease. *Apan Clin Rheumatol.* 2007;26(6):885.
63. Aufricht C. Heat-shock protein 70: molecular supertool? *Pediatr Nephrol.* 2005; 20:707–713.

64. Morimoto RI, Santoro MG. Stress-inducible responses and heat shock proteins: new pharmacologic targets for cytoprotection. *Nat Biotechnol.* 1998; 16:833–838.
65. Petrof EO, Ciancio M, Chang EB. Role and regulation of intestinal epithelial heat shock proteins in health and disease. *Chin J Dig Dis.* 2004; 5: 45–50.
66. Celet B, Akman-Demir G, Serdaroğlu P, et al. Anti- α - β -crystallin immuno reactivity in inflammatory nervous system diseases. *J Neurol* 2000; 247:935–939.
67. Lehner T. State of art in Behcet Disease. 8th International Conference on Behcet's disease 1998.
68. Hamzaoui K, Ayed K, Slim A, Hamza M, Touraine J: Natural killer cell activity, interferon-gamma and antibodies to herpes viruses in patient's with Behcet's disease. *Clin Exp Immunol* 1990;79:28-34.
69. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F, Bessioud M, Hamza M, Ayed K: Cytokine profile in Behcet's disease patients. Relationship with disease activity. *Scand J Rheumatol.* 2002;31:205-10.
70. Akdeniz N, EĞrefoğlu M, Keleş MS, Karakuzu A, Atasoy M. Serum interleukin-2, interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and nitric oxide levels in patients with Behçet's disease. *Ann Acad Med Singapore.* 2004; 33: 596-9.
71. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Ghorbel I, Khanfir M, Houman H. Levels of IL-15 in Serum and Cerebrospinal Fluid of Patients with Behçet's Disease. *Scand J Immunol.* 2006; 64: 655-660.
72. Sugi-Ikai N, Nakazawa M, Nakamura S, et al. Increased frequencies of interleukin-2- and interferon-gamma-producing T cells in patients with active Behçet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998; 39:996.
73. Frassanito MA, Dammacco R, Cafforio P, Dammacco F. Th1 polarization of the immune response in Behçet's disease: a putative pathogenetic role of interleukin-12. *Arthritis Rheum* 1999; 42:1967.

74. Boiardi L, Salvarani C, Casali B, et al. Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphisms in Behçet's Disease. *J Rheumatol* 2001; 28:1283.
75. Ben Ahmed M, Houman H, Miled M, et al. Involvement of chemokines and Th1 cytokines in the pathogenesis of mucocutaneous lesions of Behçet's disease. *Arthritis Rheum* 2004; 50:2291.
76. Bardak Y, Aridoğan BC. The demonstration of serum interleukin 6-8, tumor necrosis factor-alpha, complement, and immunoglobulin levels in Behçet's disease with ocular involvement. *Ocul Immunol Inflamm*. 2004; 12:53.
77. Suzuki N, Nara K, Suzuki T. Skewed Th1 responses caused by excessive expression of Txk, a member of the Tec family of tyrosine kinases, in patients with Behcet's disease. *Clin Med Res*. 2006; 4:147.
78. Imamura Y, Kurokawa MS, Yoshikawa H, et al. Involvement of Th1 cells and heat shock protein 60 in the pathogenesis of intestinal Behcet's disease. *Clin Exp Immunol* 2005; 139:371.
79. Evereklioglu C, Er H, Türköz Y, Cekmen M. Serum levels of TNF-alpha, sIL-2R, IL-6, and IL-8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behçet's disease. *Mediators Inflamm* 2002; 11: 87-93.
80. Öztaş MO, Önder M, Gürer MA, Bukan N, Sancak B. Serum interleukin 18 and tumour necrosis factor- α levels are increased in Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol*. 2005; 30: 61-63.
81. Keystone EC. The utility of tumour necrosis factor blockade in orphan diseases. *Ann Rheum Dis*. 2004; 63: 79-83.
82. Ozdamar Y, Berker N, Bahar G, et al. Inflammatory mediators and posterior segment involvement in ocular Behcet disease. *Eur J Ophthalmol* 2009; 19:998.
83. Akman-Demir G, Tüzün E, İçöz S, et al. Interleukin-6 in neuro-Behçet's disease: association with disease subsets and long-term outcome. *Cytokine*. 2008; 44:373.

84. Turan B, Gallati H, Erdi H, Gürler A, Michel BA, Villiger PM. Systemic levels of the T cell regulatory cytokines IL-10 and IL-12 in Behçet's disease; soluble TNFR-75 as a biological marker of disease activity. *J Rheumatol.* 1997; 24 : 128-132.
85. Curnow SJ, Pryce K, Modi N, Knight B, Graham EM, Stewart JE, Fortune F, Stanford MR, Murray PI, Wallace GR: Serum cytokine profiles in Behçet's disease: Is there a role for IL-15 in pathogenesis? *Immünol Lett.* 2008;121:7-12
86. Doğanavşargil E, Keser G. Behçet Hastalığı. *T Klin J Int Med Sci.* 2005;1:80-91.
87. Al-Mutawa SA, Hegab SM. Behçet's disease. *Clin Exp Med.* 2004; 4: 103-131.
88. Zierhut M, Mizuki N, Ohno S, Inoko H, Gul A, Onoe K, Isogai E. Immunology and functional genomics of Behçet's disease. *Cell Mol Life Sci.* 2003;60:1903-22.
89. Evereklioglu C, Er H, Turkoz Y, Cekmen M. Serum levels of TNF-alpha, sIL-2R, IL-6, and IL-8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behcet's disease. *Mediators Inflamm.* 2002;11:87-93.
90. Ilhan F, Demir T, Türkçüoğlu P, Turgut B, Demir N, Gödekmerdan A. Th1 polarization of the immune response in uveitis in Behçet's disease. *Can J Ophthalmol.* 2008;43(1):105-8.
91. Furuzawa-Carballeda J, Vargas-Rojas MI, Cabral AR: Autoimmune inflammation from the Th17 perspective. *Autoimmun Rev.* 2007;6:169-75.
92. Sayın N, Alpsoy E, Akman A, Buyukkara Yılmaz S, Yegin O. The role of IL-17 in activity of Behcet's disease. *Journal of Investigative Dermatology.* 2009;129(Suppl 2):S99-S99.
93. Chi W, Zhu X, Yang P, Liu X, Lin X, Zhou H, Huang X, Kijlstra A. Upregulated IL-23 and IL-17 in Behcet patients with active uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:3058-64.

94. Gbate JV, Jarizzo JL. Behçet's disease and complex aphthosis. *J Am Acad Dermatol.* 1999; 40 (1): 1-18
95. Emmi L, Brugnolo F, Marchione T. Pathogenesis and therapy of Behçet's disease. *Ann Ital Med Int.* 1997; 2 (1): 20-25.
96. Gürler A, Boyvat A. Behçet hastalığının immunopatogenezi. II. Ege Dermatoimmunoloji Simpozyum Kitabı. İzmir 1997; 29-38.
97. Turan B, Gallati H, Erdi H, Gürler A, Michel BA. Systemic levels of the T cell regulatory cytokines IL-10 and IL-12 in Behçet's disease. *J Rheumatol* 1997; 24 (1): 128-132.
98. Treudler R, Zoubolis CC, Buttner P, Detmar M, Orfanos CE. Enhanced interaction of patients' lymphocytes with human dermal microvascular endothelial cell cultures in active Adamantiades-Behçet disease. *Arch Dermatol.* 1996;132 (11):1323-1329.
99. Şahin S, Lawrence R, Direskeneli H, Hamuryudan V, Yazıcı H, Akoğlu T. Monocyte activity in Behçet's disease. *Brit J Rheumatol.* 1996; 35 (5): 424-429.
100. Hirohata S, Isshi K, Oguchi H, Ohse T, Haraoka H, Takeuchi A, Hashimoto T. Cerebrospinal fluid interleukin-6 in progressive Neuro-Behçet's syndrome. *Clin Immunol Immunopathol.* 1997; 82 (1): 12-17.
101. Ekşioğlu-Demiralp E, Direskeneli H, Kibaroglu A, Yavuz S, Ergün T, Akoğlu T. Neutrophil activationin Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2001;19(5 Suppl 38):S19-24.
102. Triolo G, Accardo-Palumbo A, Triolo G, et al. Enhancement of endothelial cell E-selectin expression by sera from patients with active Behçet's disease: moderate correlation with anti-endothelial cell antibodies and serum myeloperoxidase levels. *Clin Immunol.* 1999; 91:330.
103. Itoh R, Takenaka T, Okitsu-Negishi S, et al. Interleukin 8 in Behçet's disease. *J Dermatol.* 1994; 21:397.

104. Al-Dalaan A, al-Sedairy S, al-Balaa S, et al. Enhanced interleukin 8 secretion in circulation of patients with Behçet's disease. *J Rheumatol*. 1995; 22:904.
105. Calis M, Ates F, Yazici C, et al. Adenosine deaminase enzyme levels, their relation with disease activity, and the effect of colchicine on adenosine deaminase levels in patients with Behçet's disease. *Rheumatol Int*. 2005; 25:452.
106. Sahin S, Akoğlu T, Direskeneli H, et al. Neutrophil adhesion to endothelial cells and factors affecting adhesion in patients with Behçet's disease. *Ann Rheum Dis*. 1996; 55:128.
107. Erkiliç K, Evereklioglu C, Cekmen M, et al. Adenosine deaminase enzyme activity is increased and negatively correlates with catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in patients with Behçet's disease: original contributions/clinical and laboratory investigations. *Mediators Inflamm*. 2003; 12:107.
108. Orem A, Efe H, Değer O, et al. Relationship between lipid peroxidation and disease activity in patients with Behçet's disease. *J Dermatol Sci* 1997; 16:11.
109. Yoshida T, Tanaka M, Sotomatsu A, et al. Serum of Behçet's disease enhances superoxide production of normal neutrophils. *Free Radic Res* 1998; 28:39.
110. Değer O, Orem A, Akyol N, et al. Polymorphonuclear leukocyte elastase levels in patients with Behçet's disease. *Clin Chim Acta*. 1995; 236:129.
111. Yazici C, Köse K, Çalış M, et al. Increased advanced oxidation protein products in Behçet's disease: a new activity marker? *Br J Dermatol*. 2004; 151:105.
112. Hamzaoui K, Maître B, Hamzaoui A. Elevated levels of MMP-9 and TIMP-1 in the cerebrospinal fluid of neuro-Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2009; 27:S52.
113. Cañete JD, Celis R, Noordenbos T, et al. Distinct synovial immunopathology in Behçet disease and psoriatic arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2009; 11:R17.

114. Fresko İ. Behçet sendromunda patogenezi. Tüzün Y, Gürer MA, Serdaroğlu S, Oğuz O, Aksungur VL, editör. Dermatoloji. 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008: 915-7.
115. O'Duffy JD. Vasculitis in Behçet's disease. Rheum Dis Clin North Am 1990; 16:423-31
116. Onder M, Gürer MA. Behçet's disease: an enigmatic vasculitis. Clin Dermatol. 1999; 17:571.
117. Kose AA. Direct immunofluorescence in Behçet's disease: a controlled study with 108 cases. Yonsei Med J. 2009; 50:505.
118. Inaloz HS, Evereklioglu C, Unal B, et al. The significance of immunohistochemistry in the skin pathergy reaction of patients with Behçet's syndrome. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2004; 18:56.
119. Ozluk E, Balta I, Akoguz O, et al. Histopathologic Study of Pathergy Test in Behçet's Disease. Indian J Dermatol. 2014; 59:630.
120. 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; 22:379-90.
121. Hirohata S. Histopathology of central nervous system lesions in Behçet's disease. J Neurol Sci. 2008; 267:41.
122. Ardalan MR, Sadreddini S, Noshad H, et al. Renal involvement in Behçet's disease. Saudi J Kidney Dis Transpl. 2009; 20:618.
123. Köse O. BH'de tanı ve ayırıcı tanı. Turkderm 2009; 43 Özel Sayı 2: 87-91.
124. Gurler A, Boyvat A, Tursen U: Clinical manifestations of Behçet's disease: an analysis of 2147 patients. Yonsei Med J 1997;38:423-7.
125. Boyvat A. BH'de Deri ve Mukoza Belirtileri. Turkderm 2009; 43 Özel Sayı 2: 42-7.

126. O'Duffy JD. Behçet's syndrome. In: Primer on the Rheumatic Diseases, 10th, Arthritis Foundation, Atlanta 1993. Vol 29, p.206.
127. Alpsoy E, Donmez L, Onder M, Gunasti S, Usta A, Karıncaoglu Y, Kandi B, Buyukkara S, Keseroglu O, Uzun S, Tursen U, Seyhan M, Akman A. Clinical features and natural course of Behçet's disease in 661 cases: a multicentre study. *Br J Dermatol.* 2007;157:901-6.
128. Karadağ AS, Akbay G, Aydın M, et al. Comparison of clinical and histopathologic findings of pathergy test with disposable/sharp and nondisposable/blunt needles in Behçet's disease. *Turk J Med Sci.* 2009; 39:47-51.
129. Yazici H, Chamberlain MA, Tuzun Y, et al. A comparative study of the pathergy among Turkish and British patients with Behçet's disease. *Ann Rheum Dis.* 1984; 43:74-5.
130. Melikoglu M, Uysal S, Krueger JG et al. Characterization of the divergent wound-healing responses occurring in the pathergy reaction and normal healthy volunteers. *J Immunol.* 2006; 177 (9): 6415 –6421.
131. Tugal-Tutkun I, Onal S, Altan-Yaycioglu R, Huseyin Altunbas H, Urgancioglu M. Uveitis in Behçet disease: an analysis of 880 patients. *Am J Ophthalmol.* 2004; 138 (3): 373 –380.
132. Kural-Seyahi E, Fresko I, Seyahi N et al. The long-term mortality and morbidity of Behçet syndrome: a 2-decade outcome survey of 387 patients followed at a dedicated center. *Medicine (Baltimore).* 2003 ; 82 (1): 60 –76.
133. Tursen U, Gurler A, Boyvat A. Evaluation of clinical findings according to sex in 2313 Turkish patients with Behçet's disease. *International Journal of Dermatology.* 2003; 42(5) 346–351.
134. Yurdakul S, Yazici H, Tuzun Y, Pazarlı H, Yalcın B, Altac M, Ozyazgan Y, Tuzuner N, Muftuoğlu A. The arthritis of Behçet's disease: a prospective study. *Ann Rheum Dis.* 1983; 42:505-15.

135. Kim HA, Choi K W, Song YW. Artropathy in Behçet's disease. *Scand J Rheum.* 1997;26:125-9.
136. Benamour S, Zerouol B, Alaoui FZ. Joints manifestations in Behçet's disease: A review of 340 cases. *Rev Rhum.* 1998;65:299-307.
137. Hamza M. Enthesitis in Behçet's disease: In: Godeau P, Wechler B (eds) *Behçet's disease*, Elsevier. 251-3.
138. Chamberlain MA: Behçet's syndrome in 32 patients in Yorkshire. *Ann Rheum Dis.* 1977;36: 492-9.
139. Yurdakul S, Yazici Y. Locomotor system disease in Behçet's syndrome. In: Yazici Y, Yazici H, editors. *Behçet's syndrome*. New York: Springer; 2010; 149-63.
140. Karaca M, Hatemi G, Sut N, Yazici H. The papülopüstüler lesion/arthritis cluster of Behçet's syndrome also clusters in families. *Rheumatology (Oxford).* 2012;51:1053-60.
141. Melikoglu M, Melikoglu MA. The prevalence of fibromyalgia in patients with Behçet's disease and its relation with disease activity. *Rheumatol Int.* 2013 May;33(5):1219-22.
142. Yazıcı H, Fresko I, Yurdakul S: Behçet's syndrome: disease manifestations, management, and advances in treatment. *Nat Clin Prac.* 2007; 3:148-55.
143. Akman-Demir G, Serdaroglu P, Tasci B: Clinical patterns of neurological involvement in Behçet's disease: evaluation of 200 patients. *Brain* 1999; 122:2171-82.
144. Hamuryudan V, Yurdakul S, Moral F, Numan F, Tuzun H, Tüzüner N, Mat C, Tuzun Y, Özyazgan Y, Yazici H. Pulmonary arterial aneurysms in Behçet's syndrome: a report of 24 cases. *Br J Rheumatol.* 1994; 33:48-51.

145. Siva A, Kantarci OH, Saip S et al. Behçet's disease: diagnostic and prognostic aspects of neurological involvement. *J Neurol.* 2001; 248 (2): 95 – 103.
146. Tunc R, Saip S, Siva A, Yazici H. Cerebral venous thrombosis is associated with major vessel disease in Behçet's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2004; 63(12): 1693 –1694.
147. Yeşilot N, Bahar S, Yılmaz S, Mutlu M, Kurtuncu M, Tuncay R, Çoban O, Akman-Demir G. Cerebral venous thrombosis in Behçet's disease compared to those associated with other etiologies. *J Neurol.* 2009; 256:1134-42.
148. Saadoun D, Wechsler B, Resche-Rigon M et al. Cerebral venous thrombosis in Behçet's disease. *Arthritis Rheum* 2009; 61(4): 518 –526.
149. Akman-Demir G, Bahar S, Coban O, Taşcı B, Serdaroğlu P: Cranial MRI findings in Behçet's disease. *Neuroradiology.* 2003; 45: 851-9.
150. Ebert EC. Gastrointestinal manifestations of Behçet's disease. *Dig Dis Sci.* 2009; 54:201-7.
151. Yurdakul S, Tuzuner N, Yurdakul I, Hamuryudan V, Yazici H: Gastrointestinal involvement in Behçet's syndrome: a controlled study. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1996; 55: 208-10.
152. Melikoglu M, Ugurlu S, Tascilar K et al. Large vessel involvement in Behçet's syndrome: A retrospective survey. *Ann Rheum Dis.* 2008; 67 (SupplII): 67.
153. Ideguchi H, Suda A, Takeno M et al. Behçet disease: evolution of clinical manifestations. *Medicine (Baltimore).* 2011; 90 (2): 125 –132.
154. Calamia K, Schimer M, Melikoglu M. Major vessel involvement in Behçet disease. *Current Opinion in Rheuma.* 2005;17:1-8.
155. Kaklamani VG, Kaklamanis PG. Treatment of Behçet's disease an update. *Semin Arthritis Rheumatism.* 2001; 30: 299-312.

156. Espinosa G, Cervera R, Reverter JC. Vascular involvement in Behçet's disease. *Isr Med Assoc.* 2002; 4: 614-6.
157. Seyahi E, Baskurt M, Melikoglu M et al. The estimated pulmonary artery pressure can be elevated in Behcet's syndrome. *Respir Med.* 2011; 105(11): 1739–1747.
158. Seyahi E, Melikoglu M, Akman C et al. Pulmonary artery involvement and associated lung disease in Behcet syndrome: a series of 47 patients. *Medicine.* 2012; 91(1): 35–48.
159. Hamuryudan V, Er T, Seyahi E et al. Pulmonary artery aneurysms in Behcet syndrome. *Am J Med* 2004; 117 (11): 867–870.
160. Tuzun H, Seyahi E, Arslan C et al. Management and prognosis of nonpulmonary large arterial disease in 25 patients with Behcet disease from a single center. *J Vasc Surg.* 2012; 55 (1): 157–163.
161. Ugurlu S, Seyahi E, Yazici H. Prevalence of angina, myocardial infarction and intermittent claudication assessed by Rose Questionnaire among patients with Behcet's syndrome. *Rheumatology (Oxford).* 2008; 47 (4): 472–475.
162. Seyahi E , Ugurlu S , Cumali R et al. Atherosclerosis in Behcet's syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 2008; 38 (1): 1–12.
163. U. Tursen, A. Gurler, and A. Boyvat. Evaluation of clinical findings according to sex in 2313 Turkish patients with Behcet's disease. *International Journal of Dermatology.* 2003; 42(5): 346–351.
164. Alpsoy E, Zouboulis C, Ehrlich GE. Mucocutaneous lesions of Behçet's disease. *Yonsei Medical Journal.* 2007; 48(4): 573–585.
165. Davatchi F, Shahram F, Chams-Davatchi C. et al, Behçet's disease: from east to west. *Clinical Rheumatology.* 2010; 29(8): 823–833.

166. Keogan MT. Clinical imm nology review series: an approach to the patient with recurrent orogenital ulceration, including Behçet's syndrome. Clinical and Experimental Imm nology.2009; 156(1): 1–11.
167. Yamato M, Lecky JW, Hiramatsu K, Kohda E. Takayasu arteritis: radiographic and angiographic findings in 59 patients. Radiology. 1986;161: 329–334.
168. International Study Group for Behçet's disease. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. Lancet 1990;335:1078-80.
169. Saadoun D, Wechsler B, Desseaux K et al. Mortality in Behçet's disease. Arthritis Rheum. 2010; 62 (9): 2806 –2812.
170. Uzun S. Gebelik ve Behçet Hastalığı. Türkderm. 2009; 43  zel Sayı 2: 71-3.
171. Saleh Z, Arayssi T. Update on the therapy of Behçet Disease. Ther Adv Chronic Dis. 2014;5(3): 112– 134.
172. Bang D. Treatment of Behçet's disease. Yonsei med J. 1997; 38: 401-410.
173. Yurdakul S, Mat C, Tüzün Y, et al. A double-blind trial of colchicine in Behçet's syndrome. Arthritis Rheum. 2001; 44:2686.
174. Davatchi F, Sadeghi Abdollahi B, Tehrani Banihashemi A, et al. Colchicine versus placebo in Behçet's disease: randomized, double-blind, controlled crossover trial. Mod Rheumatol. 2009; 19:542.
175. Kumbasar E, G kdemir G, K şl  A. Dermatolojide imm nmod lat rler. Türkderm 2008; 42: 3-8.
176. Yazici H, Pazarli H, Barnes CG, et al. A controlled trial of azathioprine in Behçet's syndrome. N Engl J Med. 1990; 322:281.
177. Hamuryudan V,  zyazgan Y, Hızlı N, et al. Azathioprine in Behçet's syndrome: effects on the long-term prognosis. Arthritis Rheum. 1997;40:769-74.

178. Desbois AC, Wechsler B, Resche-Rigon M, et al. Immunosuppressants reduce venous thrombosis relapse in Behçet's disease. *Arthritis Rheum.* 2012; 64:2753.
179. Hatemi G, Silman A, Bang D, Bodaghi B, Chamberlain AM, Gul A, Houman MH, Kotter I, Olivieri I, Salvarani C, Sfikakis PP, Siva A, Stanford MR, Stubiger N, Yurdakul S, Yazıcı H. Management of Behçet's disease: A systematic review for the European League Against Rheumatism evidence-based recommendations for the management of Behçet's disease. *Ann Rheum Dis* 2009;68;1528-34.
180. Sakane T, Takeno M. Novel approaches to Behçet's disease. *Expert Opin Investig Drugs.* 2000; 9:1993.
181. Hatemi G, Silman A, Bang D, et al. EULAR recommendations for the management of Behçet disease. *Ann Rheum Dis.* 2008; 67:1656.
182. Ait Ben Haddou E, Imounan F, Regragui, W, Mouti, O, Benchakroune, N, Abouqal, R. et al. Neurological manifestations of Behçet's disease: evaluation of 40 patients treated by cyclophosphamide. *Rev Neurol Paris.* 2012;168: 344–349.
183. Kotter I, Vonthein R, Zierhut M et al. Differential efficacy of human recombinant interferon-alpha2a on ocular and extraocular manifestations of Behcet disease: results of an open 4-center trial. *Semin Arthritis Rheum.* 2004; 33 (5): 311 –319.
184. Deuter CM, Zierhut M, Mohle A et al. Long-term remission after cessation of interferon- α treatment in patients with severe uveitis due to Behcet's disease. *Arthritis Rheum.* 2010; 62 (9): 2796 –2805.
185. Fresko I, Yazıcı H. Treatment strategies for Behçet's disease. *Expert Opin Pharmacother.* 2008;9:3211-9.
186. Tugal-Tutkun I, Mudun A, Urgancioglu M et al. Efficacy of infliximab in the treatment of uveitis that is resistant to treatment with the combination of azathioprine, cyclosporine, and corticosteroids in Behcet's disease: an open-label trial. *Arthritis Rheum.* 2005; 52(8): 2478 –2484.

187. Sfrikakis PP, Markomichelakis N, Alpsoy E et al. Anti-TNF therapy in the management of Behcet's disease-review and basis for recommendations. *Rheumatology (Oxford)*. 2007; 46(5): 736 –741.
188. Arida A, Fragiadaki K, Giavri E, Sfrikakis PP SO. Anti-TNF agents for Behcet's disease: analysis of published data on 369 patients. *Semin Arthritis Rheum*. 2011;41(1):61-70.
189. Melikoglu M, Fresko I, Mat C, et al. Short-term trial of etanercept in Behcet's disease: a double blind, placebo controlled study. *J Rheumatol*. 2005; 32:98.
190. Curigliano V, Giovinale M, Fonnesu C, Cerquaglia C, Verrecchia E, Turco S. et al. Efficacy of etanercept in the treatment of a patient with Behcet's disease. *Clin Rheumatol*. 2008;27: 933–936.
191. Bawazeer A, Raffa L, Nizamuddin S. Clinical experience with adalimumab in the treatment of ocular Behcet disease. *Ocul İmmünol Inflamm*. 2010;18: 226–232.
192. Takase K, Ohno S, Ideguchi H, Uchio E, Takeno M, Ishigatsubo Y. Successful switching to adalimumab in an infliximab-allergic patient with severe Behcet disease-related üveitis. *Rheumatol Int*. 2011;31: 243–245
193. Atzeni F, Leccese P, D'Angelo S, Sarzi-Puttini P, Olivieri I. Successful treatment of leg ulcers in Behcet's disease using adalimumab plus methotrexate after the failure of infliximab. *Clin Exp Rheumatol*. 2010;28: 94.
194. Olivieri I, D'Angelo S, Padula A, Leccese P, Mennillo G. Successful treatment of recalcitrant genital ulcers of Behcet's disease with adalimumab after failure of infliximab and etanercept. *Clin Exp Rheumatol*. 2009; 27: 112.
195. Belzunegui J, Lopez L, Paniagua I, Intxausti J, Maiz O. Efficacy of infliximab and adalimumab in the treatment of a patient with severe neuro-Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2008;26: 133–134.

196. Lee S, Kim K, Jung J, Chung W. Adalimumab treatment for life threatening pulmonary artery aneurysm in Behçet disease: a case report. *Clin Rheumatol*. 2010;29: 91–93.
197. Sadreddini S, Noshad H, Molaeeefard M, Noshad R. Treatment of retinal vasculitis in Behçet's disease with rituximab. *Mod Rheumatol*. 2008;18: 306–308
198. Davatchi F, Shams H, Rezaipoor M, Sadeghi- Abdollahi B, Shahram F, Nadji A. et al. Rituximab in intractable ocular lesions of Behçet's disease; randomized single-blind control study (pilot study). *Int J Rheum Dis*. 2010; 13: 246–252.
199. Ugurlu S, Ucar D, Seyahi E, Hatemi G, Yurdakul S. Canakinumab in a patient with juvenile Behçet's syndrome with refractory eye disease. *Ann Rheum Dis*. 2012;71: 1589–1591.
200. Botsios C, Sfriso P, Furlan A, Punzi L, Dinarello C. Resistant Behçet disease responsive to anakinra. *Ann Intern Med*. 2008;149: 284–286.
201. Hirano T, Ohguro N, Hohki S. et al. A case of Behçet's disease treated with a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab. *Modern Rheumatology*. 2012; 22(2): 298–302.
202. Urbaniak P, Hasler P, Kretzschmar S. Refractory neuro-Behçet treated by tocilizumab: a case report. *Clinical and Experimental Rheumatology*. 2012;30(72);73– 75.
203. Richard Kelwick, Ines Desanlis, Grant N Wheeler and Dylan R Edwards. The ADAMTS (A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motifs) family. *Genome Biology*. 2015; 16:113.
204. Cömertoğlu İ, Sarıkaya E, Demirel M, Akyol S, Demircan K. ADAMTS Gen Ailesinin Obstetrik ve Jinekolojideki Yeri. *Jinekoloji -Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi* 2014;11(4):144 – 149.
205. Jungers KA, Le Goff C, Somerville RP, Apte SS. Adamts9 is widely expressed du-ring mouse embryo development. *Gene Expr Patterns*. 2005;5(5):609-17.

206. Tortorella MD, Malfait F, Barve RA, Shieh HS, Malfait AM. A review of the ADAMTS family pharmaceutical targets of the future. *Curr Pharm Des* 2009;15(20):2359-74.
207. Wagstaff, R. Kelwick, J. Decock, and D. R. Edwards. The roles of ADAMTS metalloproteinases in tumorigenesis and metastasis. *Frontiers in Bioscience*. 2011;16(5):1861–1872.
208. Levy GG, Motto DG, Ginsburg D. ADAMTS13 turns 3. *Blood* 2005 ;106(1): 11-7.
209. Bondeson J, Wainwright S, Hughes C, Caterson B. “The regulation of the ADAMTS4 and ADAMTS5 aggrecanases in osteoarthritis: a review”, *Clinical and Experimental Rheumatology*. 2008; 26: 139-145.
210. Malfait AM, Liu RQ, Ijiri K, Komiya S, Tortorella MD. Inhibition of ADAM-TS4 and ADAM-TS5 prevents aggrecan degradation in osteoarthritic cartilage. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002;277: 22201-8.
211. Glasson SS, Askew R, Sheppard B, Carito B, Blanchet T, Ma HL, et al. Deletion of active ADAMTS5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis. *Nature*. 2005;434(7033):644-8.
212. Ishiguro N. Cartilage degradation in rheumatoid arthritis, *Clinical calcium*. 19, 347-354.
213. Wågsäter D, Björk H, Zhu C, Björkegren J, Valen G, Hamsten A, Eriksson P. ADAMTS-4 and -8 are inflammatory regulated enzymes expressed in macrophage-rich areas of human atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis*. 2008; 196, 514-522.
214. Tian Y, Yuan W, Fujita N, Wang J, Wang H, Shapiro IM, Risbud MV. Inflammatory cytokines associated with degenerative disc disease control aggrecanase-1 (ADAMTS-4) expression in nucleus pulposus cells through MAPK and NF- κ B. *The American Journal of Pathology*. 2013;182: 2310-2321

215. Pratta MA, Scherle PA, Yang G, Liu RQ, Newton RC. Induction of aggrecanase 1 (ADAM-TS4) by interleukin-1 occurs through activation of constitutively produced protein. *Arthritis and Rheumatism*. 2003;48: 119-133.
216. Luan Y, Kong L, Howell DR, Ilalov K, Fajardo M, Bai XH, Di Cesare PE, Goldring MB, Abramson SB, Liu CJ. Inhibition of ADAMTS-7 and ADAMTS-12 degradation of cartilage oligomeric matrix protein by alpha-2-macroglobulin. *Osteoarthritis Cartilage*. 2008; 16:1413–1420.
217. McCulloch DR, Nelson CM, Dixon LJ, Silver DL, Wylie JD, Lindner V, et al. ADAMTS metalloproteases generate active versican fragments that regulate interdigital web regression. *Dev Cell*. 2009;17(5): 687-98.
218. Demircan K, Akyol S, Armutcu F. Artritten Kansere ADAMTS Metalloproteinazlar. *J Clin Anal Med*. 2013;4(5): 429-34.
219. Lawton G, Bhakta BB, Chamberlain MA, Tennant A. The Behcet's Disease activity index. *Rheumatol*. 2004; 43:73–8.
220. Oktayoglu P, Mete N, Caglayan M, Bozkurt M, Bozan T, Em S, Nas K. Elevated serum levels of calprotectin (MRP8/MRP14) in patients with Behçet's disease and its association with disease activity and quality of life. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigati*. 2015; 75: 106–112.
221. Cetin EA, Cosan U, Kucuksezer UC. Behcet's disease: immunological relevance with arthritis of ankylosing spondilitis. *Rheumatology Internation*. 2013;33:733-41.
222. Tortorella MD, Malfait AM, Deccico C, Arner E. The role of ADAM-TS4 (aggrecanase-1) and ADAM-TS5 (aggrecanase-2) in a model of cartilage degradation. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2001; 9: 539–552.
223. Kevorkian L, Young DA, Darrah C, Donell ST, Shepstone L, Porter S, Brockbank SM, Edwards DR, Parker AE, Clark IM. Expression profiling of metalloproteinases and their inhibitors in cartilage. *Arthritis Rheum*. 2004; 50:131-141.

224. Malfait AM, Liu RQ, Ijiri K, Komiya S, Tortorella MD. Inhibition of ADAM-TS4 and ADAM-TS5 prevents aggrecan degradation in osteoarthritic cartilage. 2002. *The Journal of Biological Chemistry*. 277;22201-08.
225. Yamanishi Y, Boyle DL, Clark M, Maki RA, Tortorella MD, Arner EC, Firestein GS. Expression and regulation of aggrecanase in arthritis: the role of TGF-beta. *J Immunol*. 2002;168: 1405–1412.
226. Mimata Y, Kamataki A, Oikawa S, Murakami K, Uzuki M, Shimamura T, Sawai T. Interleukin-6 upregulates expression of ADAMTS-4 in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *International Journal of Rheumatic Diseases*. 2012;15: 36-44.
227. Zhou ZY, Chen SL, Shen N, Lu Y. Cytokines and Behcet's disease. *Autoimmunity Reviews*. 2012;11: 609-704.
228. Ertenli I, Kiraz S, Calguneri M et al. Synovial fluid cytokine levels in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2001;19(24):37–41.
229. Rogerson FM, Stanton H, East CJ, Golub SB, Tutolo L, Farmer PJ, Fosang AJ. Evidence of a Novel Aggrecan-Degrading Activity in Cartilage: Studies of mice deficient in both ADAMTS-4 and ADAMTS-5. *Arthritis & Rheumatism*. 2008; 58: 1664–1673.
230. Lemarchant S, Dunghana H, Pomeschchik Y, Leinonen H, Kolosowska N, Korhonen P, Kanninen K, Garcia-Berrocoso T, Montaner J, Malm T, Koistinaho J. Anti-inflammatory effects of ADAMTS-4 in a mouse model of ischemic stroke. *GLIA*. 2016;64:1492–1507
231. Rodríguez-Manzaneque JC, Fernández-Rodríguez R, Rodríguez-Baena FJ, Iruela-Arispe ML. ADAMTS proteases in vascular biology. *Matrix Biol*. 2015;44-46:38–45.
232. Nam E J, Han S W, Kim S U, Cho J H, Sa K H, Lee W K, Park J Y, Kang Y M. association of vascular endothelial growth factor gene polymorphisms with

- Behcet Disease in a Korean population. *Human Immunology*. 2005;66:1068–1073.
233. Ren P, Zhang L, Xu G, Palmero LC, Albini PT, Coselli JS, Shen YH, LeMaire SA. ADAMTS-1 and ADAMTS-4 levels are elevated in thoracic aortic aneurysms and dissections. *Ann Thorac Surg*. 2013;95:570 – 8.
234. Aksoy Y, Ercan A, Dalmizrak O, Canpinar H, Kartal Durmazlar SP, Bayazit M. The determination of matrix metalloproteinase 9 activity and gene expression levels in Behcet's disease patients with aneurysmal complications. *Clin Rheumatol*. 2011;30:515–519.
235. Lee YJ, Kang SW, Baek HJ, Choi HJ, Bae YD, Kang EH, Lee EY, Lee EB, Song YW. Association between matrix metalloproteinase 9 promoter polymorphisms and Behcet's disease. *Human Immunology*. 71 (2010) 717–722.
236. Pay S, Abbasov T, Erdem H, Musabak U, Simsek I, Pekel A, et al. Serum MMP-2 and MMP-9 in patients with Behçet's disease: do their higher levels correlate to vasculo-Behçet's disease associated with aneurysm formation? *Clin Exp Rheumatol*. 2007;25:70–5.
237. Park KS, Min Y, Park SR, Kim EH, Lee DJ, Bang D, Lee ES. Matrix metalloproteinase-2, -9, -12, and tissue inhibitor of metalloproteinase 2 gene polymorphisms and cutaneous expressions in patients with Behçet's disease. *Tissue Antigens*. 2012; 79: 333–339.