

İREM COŞKUNTAN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2021

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**PERK VE HRI ARACILI ENTEGRE STRES YANITIN BEHÇET
HASTALIĞINDAKİ ROLÜ**

İREM COŞKUNTAN

**DANIŞMAN
PROF.DR. NESLİHAN ABACI**

**İKİNCİ DANIŞMAN
PROF.DR. AHMET GÜL**

**GENETİK ANABİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2021

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)

BEYAN

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

İrem COŞKUNTAN



ITHAF

Canım anneme / Neslihan Hocam'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve yüksek lisans eğitimimde gerek akademik gerekse kişisel gelişimimde katkılarıyla bilim yolunda istikrarla ilerlememe öncülük eden değerli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Neslihan Abacı'ya, hasta materyalleri ve bilgilerinin sağlanması dahil bu çalışmanın ilham kaynağı, ikinci tez danışmanım sayın Prof. Dr. Ahmet Gül'e, bilgi ve deneyimleriyle yanımda olan Prof. Dr. Sema Sırma Ekmekçi'ye,

Tez sürecimde tüm deneyimlerimdeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Ferda Paçal'a,

Lojistik desteğini esirgemeyen Öğr. Gör. Dr. Zeliha Emrence'ye, Dr. Aris Çakiris'e,

Kendisiyle tez sürecini birlikte yaşadığım, biricik arkadaşım Şebnem Yanık Pehlivanoglu'na,

Lisansüstü eğitim için beni cesaretlendiren, yol gösteren sevgili hocam ve dostum Arda Kebapçı'ya,

Bütün eğitim sürecimde ve hayatımda farklı dönemlerde birlikte aynı yolda yürüdüğüm sevgili arkadaşlarım M.Sc. Hazal Çelebioğlu, M.Sc. Elif Nur Özkaya, M.Sc. Burcu Salman Yalaz, Büşra Karaçam, Sibel Yoğuran, Timüçin Kürüm, Bora Çalış, Kübra Aydın, Sevgül Elmas, Çağlar Durmaz, Ozan Sarıgül ve Meltem Faika Sofugil'e,

Yeni tanıştığım ancak bilim yolunda ufkumu açan M.Sc. Mehmet Çalıseki'ye,

Yüksek lisans eğitimimde tüm akademik işlemleri gerçekleştiren İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü ve Aziz Sancar Deneysel Araştırma Tıp Enstitüsü çalışanlarına,

Bilginin ışığında yürümem için bıkmadan usanmadan beni destekleyen sevgili aileme çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36168

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------|
| TEZ ONAYI | İİ |
| BEYAN..... | İİİ |
| İTHAF..... | İV |
| TEŞEKKÜR..... | V |
| İÇİNDEKİLER | VI |
| TABLolar LİSTESİ..... | Vİİİ |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | İX |
| SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ | X |
| ÖZET | XİV |
| ABSTRACT..... | XV |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. BEHÇET HASTALIĞI..... | 3 |
| 2.1.1. Epidemiyoloji..... | 3 |
| 2.1.2. Etyopatogenez..... | 5 |
| 2.1.3. Genetik Yatkınlık..... | 5 |
| 2.1.4. Tetikleyici Etmenler..... | 11 |
| 2.1.4.1. Viral Ajanlar..... | 12 |
| 2.1.4.2. Bakteriyel Ajanlar | 12 |
| 2.1.4.3. Isı Şok Proteinleri ve Moleküler Mimik Proteinler..... | 12 |
| 2.1.4.4. Çevresel Etmenler | 13 |
| 2.1.4.5. Epigenetik Değişiklikler..... | 14 |
| 2.1.5. İmmünolojik Etmenler | 16 |
| 2.2. ENTEGRE STRES YANITI..... | 25 |
| 2.2.1. eIF2 α Fosforilasyonu | 27 |
| 2.2.2. PKR..... | 29 |
| 2.2.3. PERK | 29 |
| 2.2.4. GCN2 | 30 |
| 2.2.5. HRI..... | 31 |
| 2.2.6. HSPB8..... | 32 |

| | |
|--|-----|
| 2.2.7. ATF4 | 34 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 35 |
| 3.1. Gereç | 35 |
| 3.1.1. Kullanılan Kitler | 35 |
| 3.1.2. Kullanılan Gereçler | 35 |
| 3.2. Yöntemler | 36 |
| 3.2.1. Hasta ve Sağlıklı Kontrol Örnekleri..... | 36 |
| 3.2.2. Periferik kandan monosit ve lenfosit izolasyonu | 36 |
| 3.2.3. Mikro boncuklarla monosit izolasyonu..... | 37 |
| 3.2.4. RNA İzolasyonu..... | 37 |
| 3.2.5. RNA Miktarının ve Kalitesinin Ölçümlenmesi | 38 |
| 3.2.6. cDNA Sentezi | 38 |
| 3.2.7. Primer Tasarımı..... | 39 |
| 3.2.8. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PZR) | 40 |
| 3.3. İstatiksel Analiz | 43 |
| 4. BULGULAR..... | 44 |
| 5. TARTIŞMA | 51 |
| KAYNAKLAR | 56 |
| HAM VERİLER | 94 |
| FORMLAR | 95 |
| GÖNÜLLÜ ONAY FORMU | 100 |
| ETİK KURUL KARARI | 101 |
| PATENT HAKKI İZİNİ | 103 |
| İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI..... | 104 |
| ÖZGEÇMİŞ | 105 |

TABLolar LISTESi

| | |
|--|----|
| Tablo 3-1. RNA örnekleri için reaksiyon karışımı | 39 |
| Tablo 3-2. Hedef genler için primer çiftleri..... | 40 |
| Tablo 3-3. Gerçek zamanlı kantitatif PZR koşulları..... | 41 |
| Tablo 4-1. Behçet Hastalığı olan hastaların klinik özellikleri | 44 |
| Tablo 4-2. eIF2 α gen ifadesi analiz verileri..... | 45 |
| Tablo 4-3. PERK gen ifadesi analiz verileri | 45 |
| Tablo 4-4. HRI gen ifadesi analiz verileri | 46 |
| Tablo 4-5. HSPB8 gen ifadesi analiz verileri | 46 |
| Tablo 4-6. ATF4 gen ifade analiz verileri | 47 |
| Tablo 4-7. Hedef genlerin eklem örneklerindeki gen ifadesi analiz verileri | 49 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Şekil 2-1. Kromozom 6'nın kısa kolundaki MHC bölgesi ve Behçet Hastalığı ile ilişkili tanımlanmış HLA genleri | 6 |
| Şekil 2-2. Behçet Hastalığı ile ilişkili gen lokuslarının fonksiyonel genetik analiz sonuçları..... | 11 |
| Şekil 2-3. Behçet Hastalığı patogenezi şematik özeti..... | 25 |
| Şekil 2-4. Entegre stres yanıtı (ISR) aşağı akış sinyal yolağı..... | 27 |
| Şekil 2-5. Ökaryotlarda protein sentezinin başlatılması ve eIF2 α fosforilasyonu..... | 28 |
| Şekil 2-6. HRI/HSPB8 sinyal ekseni ve sitozolik NOD1 etkileşimi | 33 |
| Şekil 3-1. Hasta ve kontrol örneklerine ait amplifikasyon eğrileri ve standart eğri | 42 |
| Şekil 4-1. Kan örneklerindeki hedef gen ifadelerinin grafik özeti | 47 |
| Şekil 4-2. Behçet Hastalığı tanısı konmuş hasta örneklerinde hedef gen ifadelerindeki değişiklikler | 48 |
| Şekil 4-3. Eklem sıvısı örneklerindeki hedef gen ifadelerinin grafik özeti | 50 |

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

| | |
|-----------------|--|
| ADO: | 2-aminoetantiyol dioksijenaz |
| ATF: | Aktive edici transkripsiyon faktörü |
| BCR : | B hücre reseptörü |
| BiP: | Bağlanma immunoglobulin proteini |
| C19orf48: | Kromozom 19 açık okuma çerçevesi 48 |
| CCR: | C-C motif kemokin reseptörü |
| cDNA: | Komplementer DNA |
| CEBPB: | CCAAT / arttırıcı-bağlayıcı protein beta |
| CHOP: | C/ERB homolog protein |
| CREB: | cAMP-yanıt elemanı bağlayıcı protein |
| CVPL: | Karboksipeptidaz vitellogenik-benzeri |
| CXCR3: | C-X-C motif kemokin reseptörü |
| DNA: | Deoksiribonükleik asit |
| EGR2: | Erken büyüme yanıtı proteini 2 |
| eIF2 α : | Ökaryotik başlatma faktörü 2 alfa |
| EIF2AK: | eIF2 α kinaz |
| eNOS: | Endotelyal nitrik oksit sentaz |
| EPRS: | Glutamil-prolil-tRNA sentetaz |

| | |
|-------------------|--|
| ER: | Endoplasmik retikulum |
| ERAP-1: | Endoplasmik retikulum aminopeptidaz 1 |
| FUT2: | Fukosiltransferaz 2 |
| GADD34: | Büyüme durdurma ve DNA-hasar indüklenebilir protein 34 |
| GCN2: | Genel kontrol baskılanamaz 2 |
| GIMAP: | GTPaz immüno-ilişkili protein |
| GRP78: | Glikozla düzenlenen protein 78 |
| GTP: | Guanozin trifosfat |
| GWAS: | Genom çapında ilişkilendirme |
| HLA : | İnsan lökosit antijeni |
| HRI: | Hem düzenleyici inhibitör |
| HSPB8: | Isı şok proteini beta-8 |
| IBTK α : | Bruton tirozin kinaz inhibitörü alfa |
| ICAM: | İntersellüler Adezyon Molekülü |
| Ig: | İmmüoglobulin |
| IL: | İnterlökin |
| IL-23R: | İnterlökin-23 reseptörü |
| IL-12R β 2: | IL-23 reseptör-IL-12 reseptör beta 2 |
| IRF8: | İnterferon düzenleyici faktör 8 |
| ISR: | Entegre stres yanıtı |

| | |
|----------------|--|
| KLRC4: | Katil hücre lektin benzeri reseptör C4 |
| KIR3DL1: | Katil hücre immünoglobulin benzeri reseptör 3DL1 |
| KIR3DS1: | Katil hücre immünoglobulin benzeri reseptör 3DS1 |
| LACC1: | Lakkaz alanı içeren protein 1 |
| MEFV: | Akdeniz ateşi |
| MHC: | Büyük doku uygunluk kompleksi |
| MIC-A: | MHC sınıf I polipeptide bağlı sekans A |
| NF κ B: | Nüklear faktör kappa B |
| NOD: | Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı içeren protein |
| PDGF: | Trombosit kaynaklı büyüme faktörü |
| PERK: | Protein kinaz R-benzeri endoplazmik retikulum kinaz |
| PKR: | Protein kinaz R |
| PSORS1C1: | Sedef hastalığı duyarlılığı 1 aday 1 |
| PTPN1: | Protein tirozin fosfataz reseptör olmayan tip 1 |
| PZR: | Polimeraz zincir reaksiyonu |
| qRT-PZR: | Gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu |
| RIPK2: | Reseptörle etkileşen serin / treonin-protein kinaz 2 |
| SLC35A4: | Çözünen taşıyıcı ailesi 35 üye A4 |
| STAT4: | Sinyal transdüseri ve transkripsiyon aktivatörü 4 |
| TCR: | T-hücre reseptörü |

| | |
|-----------------|--|
| TLR: | Toll benzeri reseptör |
| TNF: | Tümör nekroz faktör |
| TNF- α : | TNF alfa |
| TNFAIP3: | TNF- α indüklenen protein 3 |
| UBAC2: | Ubikitin ile ilişkili alan içeren protein 2 |
| UBASH3B: | Ubikitin ile ilişkili ve SH3 domenini içeren protein B |
| VEGF: | Vasküler endotelyal büyüme faktörü |
| VEGFR: | Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü |
| XBP1: | X-kutusu bağlayıcı protein 1 |
| α : | Alfa |
| β : | Beta |
| γ : | Gama |
| δ : | Delta |
| κ : | Kappa |

ÖZET

Coşkun İ. PERK ve HRI Aracılı Entegre Stres Yanıtın Behçet Hastalığındaki Rolü. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2021

Behçet Hastalığı (BH) tekrarlayan oral ve genital ülserler, üveit ve deri lezyonları ile karakterize, sistemik bir inflamatuvar hastalıktır. BH etiyolojisi hala tam olarak bilinmemektedir; bu, varsayılandan çok daha kompleks bir hastalık olduğuna işaret etmektedir. Entegre stres yanıtı (ISR), çeşitli uyarılara karşı hücrel tepkilerin kontrolünde anahtar bir rol oynayan ökaryotik translasyon başlatma faktörü 2 alfa'nın (eIF2 α) fosforilasyonunu tetikleyen oldukça korunmuş bir yoldur. ISR yolağında streslerin tespiti dört kinazla gerçekleştirilir: Protein kinaz R (PKR), Genel kontrol baskılanamaz 2 (GCN2), PKR-benzeri endoplazmik retikulum kinaz (PERK) ve Hem düzenleyici inhibitör (HRI). ISR'deki ana mekanizma, eIF2 α 'nın, ISR kinaz ailesinin dört üyesinden biri ya da birkaçı tarafından fosforilasyonudur; bu, global protein sentezinde bir düşüşe neden olurken, aktive edici transkripsiyon faktör 4'ün (ATF4) dahil olduğu bir grup seçili genin ifadesinin yukarı düzenlenmesine yol açmaktadır. Tez çalışmamızın amacı, ISR yolağındaki eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8 ve ATF4'ün BH'deki gen ifadesi değişimlerini araştırmaktır. Tez çalışması için gerekli olan hasta örnekleri İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı'na başvuran BH tanısı konulmuş 83 hastadan ve 33 sağlıklı gönüllüden sağlandı. Çalışmada, kan ve eklem sıvısı örneklerinden izole edilmiş RNA materyalinde, hedef genlerin gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PZR) ile ifadeleri analiz edildi. Sonuçlarımız, eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8 ve ATF4 gen ifadelerinin BH hastalarında değiştiğini gösterdi. Bulgularımız doğrultusunda, ISR yolağının BH patogenezinde önemli bir rolü olduğu; bununla birlikte hastalık tanı ve tedavisinde yeni yaklaşımlar olarak hedeflenebileceği düşüncesindeyiz. Ayrıca ilgili genlerin ISR yolağında BH patogenezindeki rollerinin aydınlatılması için daha geniş çapta araştırmalara gereksinim olduğu kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Behçet Hastalığı, ISR, PERK, HRI, ATF4

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36168

ABSTRACT

Coskuntan, I. The Role of PERK and HRI Mediated Integrated Stress Response in Behçet's Disease. Istanbul University, Institute of Health Science, Genetics Master Thesis. İstanbul. 2021

Behçet's Disease (BD) is a systemic inflammatory disease characterized by recurrent oral and genital ulcers, uveitis and skin lesions. The etiology of BD is still unknown and it appears to be a more complex disease. The integrated stress response (ISR) pathway controls cellular responses to various stimuli. There are four kinases in the ISR pathway: PKR, GCN2, PERK and HRI. The main mechanism in ISR is phosphorylation of eIF2 α by one or more of the four members of the ISR kinase family; this leads to a decrease in global protein synthesis, while upregulating the expression of a group of selected genes including ATF4. The purpose of the thesis study was to investigate the changes in gene expressions of eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8 and ATF4 in the ISR pathway in BD. Patient samples were obtained from 83 BD patients diagnosed in Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Internal Diseases, Division of Rheumatology and 33 healthy control groups. In the study, expressions of target genes by qRT-PCR were analyzed in RNA material isolated from blood and synovial fluid samples. Our results showed that all targeted gene expression is altered in BD patients. In line with our findings, the ISR pathway has an important role in the pathogenesis of BD; however, we think that it can be targeted as new approaches in the diagnosis and treatment of the disease. We believe that further studies are needed to elucidate the role of the ISR pathway in the pathogenesis of BD.

Key Words: Behçet's Disease, ISR, PERK, HRI, ATF4

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 36168

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Behçet Hastalığı (BH) tekrarlayan oral ve genital ülserler, üveit ve deri lezyonları ile karakterize, sistemik bir inflamatuvar hastalıktır. BH'nin etyolojisi tam olarak bilinmemektedir; ancak genetik olarak yatkınlığı olan kişilerde, çeşitli mikroorganizmalarla veya diğer çevresel faktörlerle tetiklenen immünolojik bozuklukların hastalık patogeneğinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.

Yavaş/yanlış katlanan bir protein, endoplazmik retikulum (ER)'da ER stresine neden olabilmektedir. Yavaş katlanan bir molekül olduğu bilinen HLA-B51 ile BH arasında güçlü bir genetik ilişki bulunmuştur; ancak bu molekülün hastalığın gelişimindeki rolü halen tam olarak açıklanamamıştır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda hücrel stres durumlarında entegre stres yanıtının (ISR) devreye girdiği gösterilmiştir. ISR, çeşitli streslere karşı hücrel tepkilerin kontrolünde anahtar bir rol oynayan ökaryotik translasyon başlatma faktörü 2 alfa'nın (eIF2 α) fosforilasyonunu tetikleyen oldukça korunmuş bir yoldur. ISR ile çeşitli hücrel streslerin tespiti dört kinazla gerçekleştirilir: Protein kinaz R (PKR), Genel kontrol baskılanamaz 2 (general control nonderepressible 2, GCN2), PKR-benzeri endoplazmik retikulum kinaz (PERK), ve Hem düzenleyici inhibitör (HRI). PKR, viral çift sarmallı RNA'yı (dsRNA) tanır; GCN2, serbest aminoasitleri (AA) içermeyen hücrelerde biriken, yüklenmemiş tRNA'ları algılar; PERK, ER stresi olarak bilinen ER'de yanlış katlanmış protein birikimini tespit eder; HRI için sitozolik proteotoksisite genel bir tetikleyici olmasına rağmen demir eksikliği, oksidatif stres ve ısı şoku gibi çeşitli streslere cevap verir. Bu dört kinaz aracılığıyla Ser51'den eIF2 α fosforilasyonu yoluyla, translasyon (protein sentezi) ve transkripsiyon (yazılım) geçici olarak durdurulur. HRI; eIF2 α , ATF4 ve ısı şok protein B8'i (HSPB8) gerektiren bir sinyal yolağıyla nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alanı 1 (NOD1) sinyalizom katlanmasını ve aktivasyonunu kontrol eder. HRI, NOD1 sinyal yolağı ile sitoplazmik katlanmamış protein cevabın kontrolünde görev alarak aşağı akıştaki doğal bağışıklık (immün) sinyalini etkiler. HRI/eIF2 α /HSPB8 sinyal eksenini, ER streste protein katlanmasını düzenleyen katlanmamış protein yanıtı (UPR) PERK sinyal yolağı ile dikkate değer bir homoloji paylaşmaktadır. Aslında PERK, ER'de yanlış katlanmış proteinlerin birikimini algılar ve HSPA5 (BiP) ile ayrışmadan sonra aktive edilir. Bu

yol, BiP'i (GRP78) kodlayan ER şaperon HSPA5 gibi strese bağlı genlerin yukarı düzenlenmesini uyarır. Elde edilen veriler ışığında, HRI ve HSPB8'in sırasıyla PERK ve BiP'in fonksiyonel homologlarını temsil ettiği ve HRI/eIF2 α /HSPB8 sinyal ekseninin, işlevsel olarak UPR'ın PERK/eIF2 α /HSPA5 sinyal eksenini ile homoloji göstermesi nedeniyle doğal bağışıklık sinyali için gerekli olan yeni bir sitozolik katlanmamış protein yanıtı (cUPR) olabileceği önerilmiştir.

ISR'deki çekirdek olay, eIF2 α 'nın, eIF2 α kinaz ailesinin dört üyesinden biri ya da birkaçı tarafından fosforilasyonudur; bu, global protein sentezinde bir düşüşe neden olurken, aktive edici transkripsiyon faktör 4'ün (ATF4) dahil olduğu bir grup seçili genin indüklenmesine yol açar. eIF2 α fosforilasyonunun süresi ve seviyesinin yanı sıra ATF4 düzenlemesinin ve diğer proteinlerle etkileşimlerinin, farklı çevresel ve fizyolojik streslerden kaynaklanan nihai ISR sonucunu belirlemesi muhtemeldir. ATF4, ATF/CREB ailesine ait bir transkripsiyon faktörüdür. ATF4, gen transkripsiyonunun düzenlenmesini etkileyen ve hücrel sonuca yönlendiren birkaç dimerizasyon ortağına sahiptir. Aslında ATF4, ISR aktivasyonuna cevap olarak hücrel kaderde kilit bir karar faktörüdür. Transkripsiyonel, translasyonel ve post-translasyonel seviyede düzenlenir ve ayrıca, diğer transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girme kabiliyeti daha ileri düzeyde bir düzenlenme sağlar.

BH'de sistemik inflamasyon, hücrel stres durumunda katlanmamış proteinlerin tespitini gerçekleştiren PERK ve HRI sinyal yollarındaki bir anomaliden kaynaklanıyor olabilir. Daha önce yapılan bir çalışmada ER şaperon proteini BiP'in gen ifadesinin BH'de arttığı gösterilmiştir.

Bu tezin amacı; BH'de eIF2 α fosforilasyonu ile bağlantılı ER stres belirteçlerinden PERK ile ATF4, HSPB8, eIF2 α ve HRI'nin etkisinin araştırılmasıdır. Aktif ve inaktif durumdaki BH hastalarında bu genlerin ifadelerindeki değişimlerin ISR aracılığıyla inflamatuvar yanıtı neden olup olmadığı henüz bilinmemektedir. BH patogeneğinde ISR bugüne kadar araştırılmamıştır. Bu tez çalışmasında, tanı konulmuş veya tedavi ile gözlenen 83 Behçet Hastası ve 33 sağlıklı kişide PERK'in gen ifadesine paralel bir katlanmamış protein yanıtının olup olmadığını, HRI/eIF2 α /HSPB8 sinyal yolağı ve ISR'nin kilit faktörü ATF4 gen ifade düzeylerini gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PZR) ile analiz etmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BEHÇET HASTALIĞI

Behçet Hastalığı (BH), 1937 yılında bir Türk dermatoloğu olan Dr. Hulusi Behçet tarafından, daha sonra “üçlü belirti kompleksi” olarak adlandırılan, tekrarlayan oral ve genital ülserlerle birlikte görülen hipopyon üveit klinik bulgularıyla ilk kez yeni bir hastalık olarak bildirilmiştir (1-3). Günümüzde tanımı; mukokutanöz, oküler, kardiyovasküler, kas-iskelet sistemi, gastrointestinal, ürogenital, merkezi sinir ve pulmoner sistemlerin katılımı dahil olmak üzere çeşitli klinik belirtilerle karakterize, çoklu sistemlerin kronik inflamatuvar hastalığı şeklinde genişletilmiştir. Hastalık belirtileri, düzensiz aralıklarla tekrarlayabilmekte ve kendi kendini sınırlayan lezyonlardan, organ hasarına ve hatta yaşam kaybına yol açabilen ciddi klinik ataklara kadar değişebilmektedir. Bu bilgiler ışığında BH, bir takım genlerin çevresel etmenlerle etkileşimlerini içeren karmaşık ve multifaktöryel bir inflamatuvar hastalık olarak tanımlanabilmektedir (2,4). Bununla birlikte, tekrarlayan ataklar halinde seyreden sistemik bir vaskülit olduğu da ifade edilmektedir (5-7). BH, özgül bulgusu ya da laboratuvar testi olmayan, sadece klinik belirtilerin kombinasyonu ile teşhisi yapılan bir hastalıktır. Bundandır ki, gerek lezyonların tekrarlayan ataklar şeklinde gelişmesi gerekse heterojenliği BH’yi tanısı en zor kronik hastalıklar grubuna dahil etmektedir (8).

2.1.1. Epidemiyoloji

"İpek Yolu Hastalığı" olarak da bilinen BH’nin, Orta Asya, Akdeniz ve Uzak Doğu ülkelerinde görülme sıklığı, Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri’ne (ABD) kıyasla önemli ölçüde daha yüksektir ve ortalama prevalansı 1/1000 ile 1/10.000 arasında değişebilmektedir (9-13).

Türkiye, en yüksek hasta popülasyonuna sahip ülke olup, coğrafi bölgeye bağlı olarak hastalık görülme sıklığı 20-421/100.000’dir (14). Başka ülkelerde yapılan çalışmalarda hastalığın görülme sıklığı İran’da 68/100.000, Güney Kore’de 30,2/100.000, Almanya’da 4,87/100.000, Japonya’da 13,5/100.000, ABD’de 5,2/100.000 olarak bildirilmiştir (15). BH görülme sıklığındaki bölgesel çeşitlilik, İpek Yolu boyunca genel popülasyonda %20-%25 ve BH hastalarında %50-%80 arasında

değişen HLA-B51'in coğrafi dağılımı ile yakından ilişkilidir (16).

Ailesel kümelenme BH'nin önemli epidemiyolojik özelliklerinden biridir (17). Kararsız trinükleotid tekrarlarının genişlemesi, ailesel vakalardaki kusurun genetik temeli olarak önerilmiştir (18). BH'nin ailesel kümelenmesi değişken sıklıkta farklı etnik gruplarda gözlenmiştir. BH'nin Türklerde (%18,2), Korelilerde (%15,4) ve Yahudilerdeki (%13,2) görülme sıklığı, Çinliler (%2,6), Japonlar (%2,2) ve Avrupalılara (%0–4,5) göre daha yüksektir (13,19-23). Ailesel kümelenme, çocuklarda yetişkin hastalara kıyasla önemli ölçüde daha yaygındır. Fas'ta yapılan bir çalışmada, ailesel kümelenme sıklığı %30,7'ye ulaşmış ve böylece pediatrik BH tanımına aile öyküsünün de eklenmesi önerilmiştir (24). BH'nin ailesel kümelenmesi, bir Mendel modeli ile açıkça ilişkilendirilmemiştir; bununla birlikte, hastalıktan etkilenen ailelerin pediatrik olan ve olmayan grup olarak sınıflandırılması ile yapılmış bir ayırma analizi, sadece pediatrik alt grupta bir Mendel kalıtım (otozomal resesif) modu olabileceğine işaret etmiştir (25,26). Gül ve ark. Türk BH popülasyonunda yüksek kardeş rekürrensi (%4,2) bildirmiş ve kardeş rekürrens risk oranının (λ_s) 11,4-52,5 olduğunu raporlamıştır. Bu risk oranının, hastaların kardeşlerindeki etkilenme riski ile genel popülasyonda gözlenen risk arasında olduğu kabul edilmiş ve sıklıkla ailesel kümelenmeyi belirlemek için bir gösterge olarak kullanılmıştır (27,28).

BH genellikle yaşamın üçüncü ve dördüncü dekatlarında görülmekle birlikte 50 yaşından sonra veya çocukluk döneminde de ortaya çıkabilmektedir (29). BH'nin en iyi bilinen epidemiyolojik özelliği, hastalığın görülme sıklığı ve şiddetinin bölgesel değişiklik göstermesi olarak belirtilmiştir; ayrıca genel anlamda cinsiyet dağılımı eşit kabul edilmiştir. Ailesel kümelenme, etnik köken ve genetik faktörlere ek olarak çevresel faktörlerin de hastalığın görülme sıklığı ve seyri üzerine etkili olduğu düşünülmüştür. BH tanısı, dünya çapında kabul görmüş bir laboratuvar testinin olmaması nedeniyle tanı dışlanma yöntemini takiben tespit edilen klinik kriterlerin birlikteliğine dayandırılmıştır. Klinik kriterlerin çoğu mukokutanöz bulguları (oral ve genital ülserler) ve kutanöz vaskülitik lezyonları kapsamakla birlikte, deri paterji testinin de bulunduğu çeşitli tanı yöntemleri kullanılmıştır (14,30). BH tanısında kabul gören kriterler ilk kez 1990 yılında, "Behçet Hastalığı İçin Uluslararası Çalışma Grubu" (ISG) tarafından, tekrarlayan oküler ülserler, herhangi iki tekrarlayan genital ülser, tipik oküler lezyonlar, tipik kutanöz lezyonlar veya pozitif deri paterji testi (SPT) bulgularını

kapsayan bir algoritma şeklinde Lancet dergisinde yayımlanmıştır (31,32). Bu tanı kriterleri, 2006 yılında uluslararası bir ekip tarafından “Uluslararası Behçet Hastalığı Kriterleri” (ICBD) adıyla yeniden ele alınmıştır. ICBD, 2013 yılında revize edilerek BH için 17. set sınıflandırma/tanı kriterleri oluşturulmuştur. Yeni sette oküler ülserler, genital ülserler ve oküler belirtilerin her biri 2 puan, diğer belirtiler (deri lezyonları, nörolojik belirtiler, vasküler belirtiler ve pozitif SPT) 1 puan olarak değerlendirilmiştir. Bir hastanın 4 veya üzerinde puan almasının, BH teşhisi için yeterli olduğuna karar verilmiştir. Klinikte ICBD revize edilmiş kriterler ISG’ye göre daha duyarlı ancak daha az özgül olduklarından, klinisyenlere aşırı tanıdan kaçınmak için bulguları dikkatlice yorumlamaları önerilmiştir (30,33,34). BH seyri ile ilgili cinsiyet karşılaştırmalarında; erkeklerde göz bulguları, vasküler ve püstüler lezyonlar daha şiddetli iken kadınlarda genital ülserler ile eritema nodozumun daha sık olduğu görülmüş ve hastalığın erkeklerde daha ciddi seyrettiği bildirilmiştir (35-37).

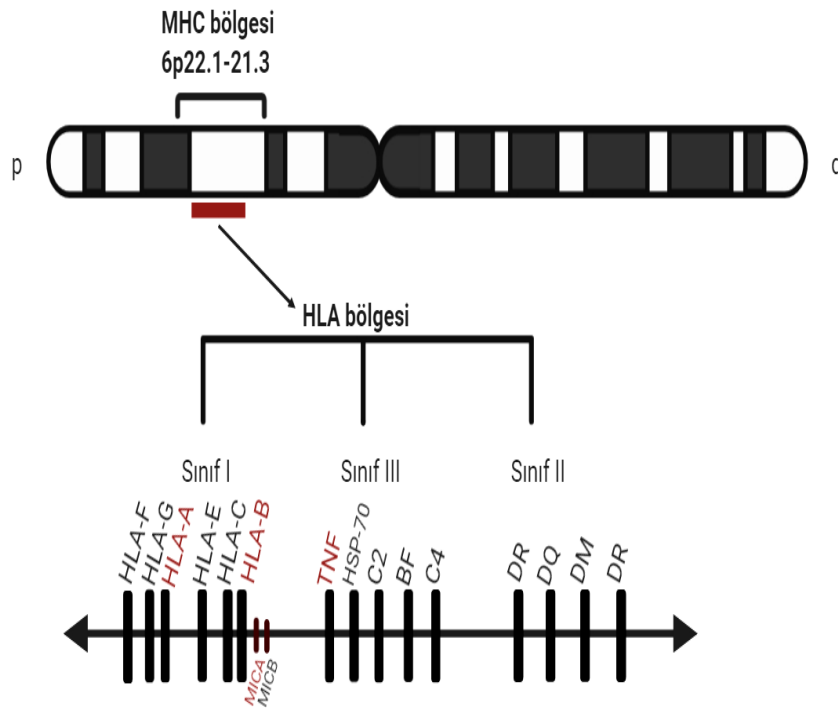
2.1.2. Etyopatogenez

Bir grup bilim insanı, BH’yi genetik olarak duyarlı bireylerde dışsal faktörlerin tetiklediği, otoinflamatuvar bir hastalık olarak tanımlamıştır (16,38,39). BH, otoimmün hastalıklarda olduğu gibi insan “Büyük Doku Uygunluk Kompleksi” (MHC) sınıf I molekülleri ile yakın ilişki göstermektedir. Ayrıca BH; artmış nötrofil aktivitesi, yüksek interlökin-1 beta (IL-1 β) seviyeleri, artmış inflamatuvar yanıt, pro-inflamatuvar sitokinlerin aşırı salınımı ve özgül otoantikörlerin yokluğunu içeren otoinflamatuvar hastalıklardaki bazı klinik ve patofizyolojik özellikleri de sergilemektedir. Elde edilen yeni bilgiler, BH’nin otoimmün ve otoinflamatuvar çeşitlilik (spektrum) arasında bir kavşak noktasında olduğu ve her ikisinin de özelliklerini paylaştığına işaret etmektedir (40-42). BH’nin patogenezi net bir şekilde aydınlatılamamıştır; ancak genetik duyarlılık kadar tetikleyici faktörler ve immünolojik anomalilerin hastalık gelişiminde belirleyici bir rol oynayabileceği ifade edilmiştir (43).

2.1.3. Genetik Yatkınlık

Antik "İpek Yolu" boyunca artan BH görülme sıklığı, ailesel kümelenme ve coğrafi dağılımın yanı sıra MHC bölgesi içindeki ve dışındaki genler ile konakçı genetik faktörlerinin, hastalığa yatkınlığın belirlenmesinde önemli rolleri olduğuna ve hastalığın karmaşık bir kalıtım modeline sahip olabileceğine işaret edilmiştir (15,27,44).

İnsanlarda kromozom 6'nın kısa kolu (p) üzerinde bulunan (GRCh38 koordinatları 6: 28,510,120-33,480,577) MHC bölgesi, antijen sunan “İnsan Lökosit Antijen” (HLA) proteinlerini kodlar ve birçoğu, bağışıklıkta temel rolleri olan insan genomundaki en yüksek gen yoğunluğuna sahiptir. MHC, klasik ve klasik olmayan sınıf I HLA genleri tarafından tanımlanan sınıf I bölgesi; sınıf II HLA genleri tarafından tanımlanan sınıf II bölgesi; hem sistemik hem de özgül inflamatuvar yanıtlarda rol alan genleri tanımlanan sınıf III bölgesi olmak üzere üç alt bölgeye ayrılmıştır (Şekil 2-1) (45,46).



Şekil 2-1. Kromozom 6'nın kısa kolundaki MHC bölgesi ve Behçet Hastalığı ile ilişkili tanımlanmış HLA genleri

Kaynak 46'dan uyarlanmıştır.

MHC sınıf I bölgesinde bulunan HLA-B51'in, BH ile bağlantılı en güçlü genetik duyarlılık faktörlerinden biri olarak hastalığın tipik fenotipinden sorumlu olduğu gösterilmiştir. BH'de, farklı HLA sınıf I molekülleri ile ilişkili fonksiyonlar ve/veya HLA-B51 ağır zincirinin yapısal özelliklerinin bir kombinasyonu yoluyla, MHC bölgesinde HLA-B51 aleli varlığının hastalık patogenezi ile yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir (25,28,47,48). HLA-B51:01, 250'den fazla HLA-B 51 alt tipi arasında, çeşitli ırklarda BH ile ilişkili en yaygın alt tip olmuştur. Türk, İran, Japon ve Ürdün

kökenli BH olgularında HLA-B51:01'in tüm gen bölgesini değerlendiren araştırmalar, vakaların hepsinin HLA-B51:01:01 içerdiğini göstermiştir. Bu sonuç, HLA-B51 ilişkisinin HLA-B51:01:01 ilişkisini temsil ettiği anlamına gelmektedir (28,49,50). Toplamda 4,800 BH hastası ve 16,289 sağlıklı kontrolü içeren 78 bağımsız çalışmanın sistematik olarak derlendiği bir meta-analizde, hastalığı geliştirmek için HLA-B5/B51 alellerine sahip olma olasılığı oranının (OR) 5,78 olduğu belirtilmiştir (%95 güven aralığı (CI) 5,00–6,67) (44). Bununla birlikte, HLA-B51, yüksek oranda BH klasik hastalık belirtileriyle ilişkili olmasına rağmen gastrointestinal komplikasyonlar ile düşük sıklıkta yakınlık göstermiştir (51,52); ancak BH ile inflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) arasındaki yakın genetik ilişkiye işaret eden olgular da bildirilmiştir (53,54). Kuranov ve arkadaşları, HLA-B51 negatif BH hastalarının B lokusundan türetilmiş proteinlerde bulunan bir epitop olan “HLA-Bw4-80I” ile hastalık arasındaki ilişkiyi, HLA-B04 α 1 sarmalında 80. amino asit pozisyonunda bir izolösün varlığı ile karakterize etmiştir (55). BH patogenezinde HLA-B51 katılımının rolü hakkında birkaç hipotez öne sürülmüştür. Bu hipotezlerde, patojenik antijen sunumu ile HLA-B51'in, HLA-Bw4 epitopu aracılığıyla CD8+ sitotoksik T lenfositleri (CTL'ler) ve gama delta ($\gamma\delta$) T hücrelerinde doğal öldürücü (NK) hücre reseptörleri (TCR; T hücre reseptörü ve KIR; öldürücü immunoglobülin benzeri reseptör) ile doğrudan etkileşime girebileceği ve bunları aktive edebileceği belirtilmiştir. Aktive edilmiş NK hücrelerinin CD8+ T hücrelerini interferon gama (IFN- γ) gibi sitokinler aracılığıyla etkinleştirebileceği ifade edilmiştir (28,56,57). HLA-B51, yavaş katlanan HLA moleküllerinden biridir. Geleneksel olmayan HLA sınıf I moleküllerinin ve bunların ağır zincirlerinin endoplazmik retikulumda (ER) yanlış katlanması, katlanmamış protein tepkilerini (UPR) ve ER stresini uyararak inflamatuvar yolları aktive edebilmektedir (28,58). Gür ve arkadaşları, BH hastalarında ER içinde bulunan peptidoma bağlı olarak, HLA-B51'in peptidlere düşük afinite bağlanması nedeniyle stabil bir duruma ulaşamadığını ve ER streste UPR ilişkili inflamasyon riskini artırabileceğini belirtmiştir (59). Yapılan bir dizi çalışmanın sonuçları, MHC sınıf I bölgesinde bulunan “HLA-A26” serotipini de BH ile ilişkili bir diğer risk faktörü olarak tanımlamıştır (60-62). Koreli BH popülasyonunda sırasıyla erken başlangıçlı üveit ve yüksek posterior üveit görülme sıklığı ile HLA-B51 ve HLA-A26 arasında ilişki kurulmuştur (63).

Hughes ve arkadaşları, HLA bölgesindeki diğer risk lokuslarının yanı sıra HLA-B51 ve BH arasındaki ilişkiyi inceledikleri çok merkezli çalışmalarında, 8.572 varyantı

genotiplendirmiş ve iki bağımsız BH hastası grubunda 24.834 varyantın atanması ve meta-analizini gerçekleştirmiştir. Elde edilen veriler ışığında en önemli ilişki, HLA-B ve “MHC Sınıf I Polipeptitle İlişkili Sekans A” (MICA) arasında yer alan *rs116799036* SNP’si arasında bulunmuştur; ancak HLA-B51’den daha zayıf bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Başka HLA genlerinin de (HLA-B15, HLA-B27, HLA-B57) BH riskine bağımsız olarak katkıda bulunduğu ya da hastalığa karşı koruduğu (HLA-A03,HLA-B49) gösterilmiş olsa da, bu genlerle ilgili doğrulayıcı çalışmalar yapılmamıştır (64).

Tümör nekroz faktörü (TNF), monositler (TNF- α) ve lenfositler (TNF- β) tarafından salgılanan çok işlevli bir sitokindir. MHC sınıf III bölgesinde yer alan (TNF) SNP’lerinin de BH ile ilişkisi birkaç çalışma ile doğrulanmıştır (46,65,66).

Gül ve arkadaşları, Türk ailelerinden oluşan BH çoklu vaka serisinde, HLA-A lokusuna yakın kromozom 6p'nin telomer bölgelerinde lokalize olan hastalık için yeni bir yatkınlık lokusu (6p22-23) tespit etmiştir (67). Takeuchi ve arkadaşları da ImmunoChip yöntemi ile 1900 Türk BH ve 1779 sağlıklı kontrolü genotiplendirerek, BH ile ilişkili majör polimorfizmin bir HLA-B51 gen varyantı olan *rs1050502* olduğunu göstermiştir (68). Ancak tüm bu çalışmalara rağmen, HLA-B51’in tek başına varlığı, genetik yatkınlık riskini ve BH'nin tüm klinik belirtilerini yalnızca kısmen açıklayabilmiştir (69). Fei ve arkadaşlarının araştırması dışındaki birkaç Genom Çapında İlişkilendirme Çalışma’sı (GWAS), BH ve HLA-B51 arasındaki ilişkiyi doğrulamıştır. Farklı etnik kökene sahip BH hastalarını kapsayan GWAS sonuçları, hem diğer HLA sınıf I bölgelerinde yeni duyarlılık lokuslarını ortaya koymuş hem de HLA olmayan “ERAP1, IL23R, IL-23R/IL-12R β 2, IL-10 ve STAT4” genleri ile BH arasındaki güçlü genetik ilişkiyi göstermiştir (70-77).

Endoplazmik retikulum aminopeptidaz 1 (ERAP1) geni, peptitlerin N-terminalini kırpmada kritik role sahip bir amino-peptidazı kodlamaktadır ve ERAP1 varyantları BH genetik yatkınlık için önemli tahmini belirteç lokusları olarak tanımlanmıştır. Bu varyantlar, güçlü HLA sınıf I birlikteliğine sahip Ankilozan Spondilit (AS), Sedef Hastalığı (Psoriasis) ve BH olmak üzere üç poligenik inflamatuvar hastalık ile ilişkilendirilmiştir. BH riski ile ilişkili olan ERAP1 varyantının (*rs17482078*) hem AS hem de Psoriasis için koruyucu olduğu ve bu etkinin, ERAP1 ile etkileşime giren HLA tipine bağlı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalarda, Hap10 adı verilen bir ERAP1 protein (p.Arg725Gln) allotipi, haplotip için homozigot olan

HLA-B51 taşıyıcılarında BH riski ile ilişkilendirilmiştir (78-84). Guasp ve arkadaşları da bu sonuca paralel olarak, ERAP1'in BH ilişkili varyantının, HLA-B51'e yüklenmek üzere mevcut peptit repertuarlarında kapsamlı değişiklikleri uyardığını ve bu durumun HLA-B51'in antijen sunma özelliğini değiştirerek daha düşük afiniteli bir peptidom oluşumu ile molekülü kararsız hale getirebileceğini ifade etmiştir. Bu değişikliklerin, HLA-B51'in hem CTL hem de NK hücreleri tarafından tanınmasını bozarak hastalığı doğrudan etkileyebileceği belirtilerek, ERAP1 ve HLA-B51 birlikteliğinin BH ile ilişkisinin temelleri ortaya konulmuştur (85).

İnterlökin-10 (IL-10), anti-inflamatuar bir sitokindir ve bağışıklık sistemini düzenleyen moleküllerden biridir. Türkiye, Orta Doğu, Avrupa ve Asya'dan toplam 2.430 BH hastası ve 2.660 sağlıklı kontrol içeren bir GWAS'da, Türk popülasyonunda IL-10 geni *rs1518111* polimorfizminin BH riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (76). Talaat ve arkadaşları da, IL-10 serum seviyesinin sağlıklı kontrollere göre BH hastalarında azaldığını bildirmiştir (86). Türk ve Japon popülasyonlarının GWAS sonuçları, IL-10'un BH ile genom çapında anlamlı bir ilişkisini tespit etmiştir. Genin intronik varyantı (*rs1518111*) ve promotör varyantları (*rs1800871* ve *rs1800872*), İran ve Japon popülasyonunda BH duyarlılığı ile ilgili varyantlar olarak tanımlanmıştır. IL-10 intronik varyantın, Yunan, İngiliz, Kore ve Orta Doğu Arap popülasyonlarında, *rs1800872* varyantının da Koreli ve Türk hastalarda BH ile tekrarlayan ilişkisi vurgulanmıştır (75,76,87).

IL-23 reseptörü, makrofajlar ve T yardımcı hücresi 17'de (Th-17) ifade edilmektedir. IL-23'ün Th-17 reseptörüne ligasyonu, bu hücreleri geliştirerek pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-1, IL-6, IL-17 vb.) salınımını uyarmaktadır. IL-23, biri IL-12 ile paylaşılan ve iki alt birimden oluşan heterodimerik reseptör kompleksine (IL-23R) bağlanmaktadır. Th-17'nin IL-17 salgılayarak, otoimmün hastalık patogenezinde rol aldığı bilinmektedir. Çalışmalar, bu hastalıklarla ilişkili alellerin, koruyucu olanlara kıyasla ya IL-23 reseptörünün Th-17 üzerinde aşırı ifadesine ya da sinyalleme artışına neden olduğunu göstermiştir. Otoimmün hastalıklarla ilişkili polimorfizmlerin BH yatkınlığını IL23R'nin kendisi veya yakındaki bir gen olan IL12Rβ2 aracılı etkileyebileceği öne sürülmüştür. IL12Rβ2, IL-12 reseptör (IL-12R) kompleksinin bir alt birimi olan IL-12 reseptörü beta 2'yi (IL-12Rβ2) kodlamaktadır. IL-12, Th-1 ile ilişkili bağışıklık tepkilerine katılarak inflamasyonda rol almaktadır (88,89). GWAS

çalışmaları, Türk ve Japon popülasyonlarında, IL23R/IL12R β 2 lokusunda tanımlanan SNP'lerin (*rs924080* ve *rs1495965*) BH yatkınlığı ile ilişkisini genom çapında bir anlamlılık ile göstermiştir (75,76). Kopen ve ark. GWAS çalışmalarında, daha önce aday gösterilen IL-12A lokusundaki *rs17810546* varyantı ile BH arasındaki ilişkiyi doğrulamıştır (90).

STAT4 (kodlama sinyali dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 4), bir transkripsiyon faktörüdür; ayrıca pro-inflamatuar sitokinler ile aktifleşirken, naif T hücrelerinin Th-1 ve Th-17 olarak kutuplaşmasında da rol oynamaktadır. BH'de *rs7574070*'in risk aleli A, artmış STAT4 gen ifadesi ile ilişkilidir. Benzer şekilde *rs897200* SNP'sinin de BH ile ilişkili A alelinin daha yüksek STAT4 ifadesine neden olduğu, bu durumun daha şiddetli bir hastalık seyri ve artan IL-17 üretimi ile ilişkisi belirtilmiştir (71-73).

GWAS sonuçları ayrıca, "PSORS1C1, UBAC2, CCR1-CCR3, KLRC4, GIMAP2/GIMAP4, TNFAIP3, FUT2" genleri ile BH arasında bir bağlantı olabileceğine işaret etmiştir. Hedeflenen genlerin derinlemesine yeniden sıralanması, TLR4, MEFV ve NOD2 genlerindeki nadir varyantlarla BH arasındaki ek bağlantıları ortaya koymuştur. Fei ve arkadaşlarının GWAS sonuçları, "KIAA1529, CPVL, LOC100129342, UBASH3B" genlerini de BH ile ilişkili genetik duyarlılık lokusları olarak önermiştir. Bunların dışında, IL-1, koagülasyon faktörü V, ICAM-1 ve eNOS, BH ekseninde araştırılan diğer genlerdir; ancak birkaç ilişki tanımlanmasına rağmen, hastalık patogenezindeki rolleri net bir biçimde belirlenememiştir (70-76,91). Takeuchi ve arkadaşları, genom çapında anlamlılık düzeyine sahip BH ile ilişkili MHC bölgesinde altı yeni lokus (IL-1 α /IL1 β , IRF8, CEBPB-PTPN1, ADO-EGR2, RIPK2,LACC1) daha tanımlanmıştır (68). Ortiz-Fernández ve Sawalha, şimdiye kadar yapılmış büyük ölçekli GWAS çalışmalarında BH ile ilişki gösterdiği belirlenen lokusların epigenetik model zenginleştirilme yöntemiyle fonksiyonel genetik analizini gerçekleştirmiştir (Şekil 2-2). Elde ettikleri veriler ışığında, bu gen lokuslarının BH patogenezinde genetik faktörlerin ~%60'ını temsil ettiği ve hastalığın en az %16'lık bir kalıtım gösterdiği öne sürülmüştür (92).



Şekil 2-2. Behçet Hastalığı ile ilişkili gen lokuslarının fonksiyonel genetik analiz sonuçları

Kaynak 92'den uyarlanmıştır.

2.1.4. Tetikleyici Etmenler

İnfeziyöz ajanlar, BH gelişiminde tetikleyici etmenler olarak yıllar önce önerilmiştir. Bunun nedeni, Herpes simplex virüs-1 (HSV-1) gibi virüslerden veya *Streptococcus sanguinis* gibi streptokok türlerine ait bakterilerden elde edilen antijenlerin, ısı şok proteinleri (HSP) gibi insan proteinleri ile yüksek homolojiye sahip olduğundan şüphelenilmesi ve genetik olarak yatkın kişilerde çapraz reaksiyon sonucu bir bağışıklık yanıtı yol açabileceği hipotezi olmuştur (30,93). Daha sonra bu hipotez; viral, streptokokal, HSP ve çapraz reaktif veya moleküler mimik protein etiyojisi olarak dört ana etmenden oluşacak şekilde düzenlenmiştir (69).

2.1.4.1. Viral Ajanlar

Dr. Hulusi Behçet, hastalığın bulaşıcı bir ajanla ilişkili olabileceğini düşünen ilk isimlerden biri olmuştur. 1937 yılında yayımlanan çalışmasında, BH ile ilişkili viral bir etiyolojiyi düşündüren aft ve hipopyon örneklerinde intra ve ektranükleer inklüzyonlar tanımlamıştır (94). *Herpesviridae* ailesine ait HSV-1, Sitomegalovirüs (CMV), Varicella-Zoster virüs (VZV) ve Epstein-Barr virüs (EBV) türlerinin BH ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda, sadece HSV-1, hastaların periferik kan mononükleer hücrelerinden (PBMC) ve oral/genital ülserlerinden izole edilmiştir. Bunların dışında olası viral ajanlar olarak düşünülen Parvovirus B19, Hepatit virüsü alt tipleri olan A, B, C, E ve G araştırılmış ancak bu çalışmalar düşük seviyeli kanıtlarla karakterize edilmiştir (95-99).

2.1.4.2. Bakteriyel Ajanlar

Streptokokal antijenlere karşı aşırı duyarlılık testlerinde BH ile ilişkili bazı klinik belirtilerin gelişimi, bakteriyel kaynaklı tetikleyiciler olarak bu mikroorganizmalar üzerinde daha ağırlıklı olarak durulmasına neden olmuştur. Yapılan çalışmalarda, *S. sanguinis* (*S.oral*) ve *S. pyogenes* antijenlerine karşı geliştirilen antikorlar, BH hastalarında sağlıklı kontrollere göre daha sık elde edilmiştir. Ayrıca, yaygın olmayan bir *S. sanguinis* serotipinden (KTH-1, suş BD113-20) elde edilen Streptokokal 65-kDa HSP'nin hastalık patogeneğinde önemli bir tetikleyici olduğu bildirilmiştir (100-102). *Mycoplasma fermentans*, *Helicobacter pylori*, *Mycobacteria* veya *Borrelia burgdorferi* gibi diğer bakteri türleri, varsayımsal BH'yi tetikleyici etmenler olarak araştırılmıştır; ancak hastalıkla güçlü bir ilişkileri bulunamamıştır (103).

2.1.4.3. Isı Şok Proteinleri ve Moleküler Mimik Proteinler

HSP'ler; infeksiyon, hipoksi, travma ve toksik ilaçlar gibi denatüre edici stres koşulları altında diğer hücre içi proteinler için yanıt olarak uyarılan (indüklenen) şaperon protein ailesidir. Bu moleküllerin infeksiyöz, otoimmün ve kötü huylu (malign) bozukluklardaki rolü için çeşitli bağışıklık mekanizmaları tanımlanmıştır. BH ile ilişkili olarak, memeli ve mikrobiyal HSP'lerin birbirleriyle (insan proteini HSP60 ile yüksek homolojiye sahip olan *Mycobacterium*'dan elde edilen HSP65 gibi) yüksek homolojiye sahip olması nedeniyle, bakteriyel HSP'ye yanıt veren T hücrelerinin çapraz reaksiyon

mekanizmaları ile otoreaktif T hücrelerini uyardığı önsavı, en kabul gören kuram olmuştur. Ergün ve arkadaşları, BH hastalarının cilt lezyonlarında HSP ifadesinin yukarı düzenlendiğini ve HSP peptidlerine yanıt verdiği bilinen “T hücre reseptörü gama-delta” (TCR $\gamma\delta$) pozitif hücre sayısının artış gösterdiğini raporlanmış ve sonuç, BH etiyojisinde HSP ilişkili teoriyi desteklemiştir. Ancak bu bulguların daha fazla araştırılması gerekliliği de belirtilmiştir (104,105). BH ile HSP70 arasındaki ilişkinin yüksek antikor seviyeleri ile gösterildiği bir çalışmada, HSP70'in aracılık ettiği doğal ve adaptif bağışıklık yanıtının hastalarda pro-inflamatuar sitokin aktivasyonuna ve doku yıkımına katılabileceği ifade edilmiştir (106). Direşkeneli ve arkadaşları tarafından, alfa-beta ($\alpha\beta$) kristalin adındaki küçük stres proteinine karşı, nörolojik tutulumlu BH hastalarının beyin omurilik sıvısı (BOS) ve serumunda yüksek antikor seviyeleri tespit edilmiştir. Bunların dışında, BH dahil olmak üzere çeşitli insan üveit tiplerinde, HLA-B51 ve HLA-B27 ile homoloji gösteren ve T hücre yanıtında rol oynayan retinal S antijeni (S-ag), hastalık için potansiyel moleküler mimik proteini olarak araştırılmış ve sadece üveiti takiben ortaya çıkabilen S-ag'ye karşı gelişen bağışıklık yanıtı, BH hastalarında doğrulanmıştır (57). Bir başka öz antijen olan tropomiyosin ile streptokokal hücre duvarı M proteinleri arasındaki dizi (sekans) homolojisinin incelenmesi yoluyla, paylaşılan immünolojik epitoplara ortaya çıkarılmıştır. Streptokokal yüzey proteini ile tropomiyosin arasındaki bu benzerliğin, moleküler mimik davranışı ile tropomiyosine karşı bir immünoreaksiyon aktivasyonuna ve böylece BH'de inflamasyona yol açabileceğine işaret edilmiştir (107).

2.1.4.4. Çevresel Etmenler

Klinik bulguları tetikleyen ajanlar olarak çevresel etmenler, multifaktöryel hastalıklar için her zaman ilgi odağı olmuştur. BH'de bağışıklık yanıtı ve hastalık aktivitesi çerçevesinde infeksiyöz ajanların dışında çevresel etmenler olarak, stres/yorgunluk, gıda tüketimi, sigara alışkanlığı, mekanik travma ve mikrobiyomun etkilerine dair çeşitli araştırmalar gerçekleştirilmiştir. BH hastalarında oral ülserler, genellikle ilk bulgu olarak değerlendirilmekte ve hastalığın seyrini ya da tedavi yaklaşımını belirlemede kilit bir rol oynamaktadır. Hasta beyanına dayalı bazı anket çalışmalarında, BH ile ilişkili, cinsiyetten bağımsız olarak oral ülser varlığı için en yaygın olarak stres ve yorgunluk bildirilmiştir (108,109). Scherrer ve arkadaşları, asidik, tuzlu, baharatlı veya sert besinler içeren bazı gıdaların tüketiminin BH'de oral

ülser oluşumunda rol oynayabileceğini belirtmiştir (110). Mekanik tahrişe (deri paterji, diş tedavileri gibi) bağlı oluşan travmaların BH hastalarında oral ülser gelişimine yatkınlık sağlayabileceği, birkaç çalışmada ifade edilmiştir (111-113). Sigara ve BH ilişkisi ile ilgili pek çok araştırma yapılmıştır. Bazı çalışmalarda oral ülser varlığı ve tekrarlayan aftöz stomatitte koruyucu etkisi olduğunu gösteren sonuçlar elde edilmiştir (114-116). Ancak buna karşın sigara kullanımının, özellikle HLA-B51 pozitif hastalarda kronik ilerleyici Nöro-BH için risk faktörü olduğu; glutatyon S-transferaz (GST) polimorfizmleri olan sigara kullanıcısı erkek hastalarda büyük damar vaskülit ve venöz yetmezlik riskini arttırdığı; geleneksel bir risk faktörü olarak ayrıca hastalıkta artmış ateroskleroz riski ile ilişkili olduğu bir dizi çalışma ile doğrulanmıştır (117-119).

BH ile mikrobiyom ilişkisi, yakın zamanda araştırılmaya başlanan bir alan olarak çok az veri içermektedir. Yapılan birkaç çalışmanın sonucunda, BH hastalarında sağlıklı kontrollere göre oral mikrobiyom çeşitliliğinin önemli ölçüde kısıtlandığı ve bu kompozisyonda *Haemophilus parainfluenza* türünün baskın, *Alloprevotella rava* ve *Leptotrichia sp.* türlerinin daha az bulunduğu; bağırsak mikrobiyomunda ise, hem bölgeye özel bir disbiyoz hem de bütirat üretiminde önemli bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar, bütirat üretimindeki bu azalmanın T-efektör hücrelerin farklılaşmasını etkileyebileceğini öne sürmüştür. Son olarak, BH hastalarında HLA-B51 genotipi ile mikrobiyom arasındaki patojenik ilişki hipotezi hala doğrulanamamıştır (84,120).

2.1.4.5. Epigenetik Değişiklikler

Genetik yatkınlığın yanı sıra, DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve kodlamayan RNA'lar (ncRNA) gibi epigenetik süreçlerin de BH patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Özellikle mesajcı RNA (mRNA) moleküllerinin translasyonel kontrolü yoluyla, transkripsiyon sonrası gen susturmayı düzenleyen farklı mikroRNA'lar (miRNA) ile BH arasında bağlantı çalışmaları yapılmıştır (121). TLR/IL-1 sinyal yolağını inhibe eden miR-155 ifadesinin, aktif üveitli BH hastalarının PBMC'lerinde ve dendritik hücrelerinde (DC) önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir. Araştırmacılar azalan miR-155 ifadesinin, DC'ler ve CD4+ T hücreleri tarafından pro-inflamatuar sitokinlerin üretimi ile ilgili kontrol kaybından dolayı BH patogenezinde yer alabileceğini öne sürmüştür (122). Qi ve arkadaşları, regülatör T hücrelerinin (T-reg) farklılaşmasında rol oynayan miR-23b'nin, aktif BH hastalarında azaldığını ve bu

durumun hastalarda Notch sinyal yolağının aktivasyonuna ve Th-1/Th-17 hücrelerinde bir artışa neden olabileceğini belirtmiştir (123). Tip I interferon (IFN-I) sinyal yolağının düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynayan miR-146a'da bulunan bir varyantın (*rs2910164*) BH ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, varyantın CC genotipi taşıyıcılarının, hastalarda daha sık gözlenen GG genotipine kıyasla PBMC'lerde protein düzeyinde olgun miR-146a transkriptlerinde ve IL-17, TNF- α ve IL-1 β 'de bir azalma gösterdiği belirtilmiştir. Araştırmacılar daha fazla çalışmaya ihtiyacın olduğuna da işaret ederek, BH'de varyantın GG genotipinin miR-146a ifadesini yukarı düzenleyebileceği sonucuna varmıştır. miR-196a-2 araştırılan bir diğer moleküldür ve pre-miRNA bölgesindeki bir varyantın (*rs11614913*) BH ve ayrıca BH'li hastalarda artrit ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bunların dışında, T-reg farklılaşmasında çok önemli bir role sahip IL-2 kaynaklı bir miRNA olan miR-182'nin pre-miRNA bölgesindeki varyant (*rs76481776*) ile BH arasındaki ilişki gösterilmiştir. Risk aleli olan normal kişilerde miR-182 ifadesi, CD3/CD28 ile uyarılan CD4+ T hücrelerinde artmıştır. Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalar, genel olarak BH immünopatolojisinde miRNA'ların önemini vurgulamış ve pro-inflamatuar sitokin üretimindeki düzensizliğin hastalıkta görülen aşırı duyarlılığa yol açabileceği öne sürülmüştür (121,124). Pucetti ve arkadaşlarının geniş kapsamlı miRNA ifadesi çalışmasında, aktif BH hastalarıyla ilişkili spesifik miRNA imzaları belirlenmiştir. Ağ analizi ile, BH transkriptomu içinde yüksek oranda ilgili genleri düzenleyen birkaç miRNA da tanımlanmıştır. Bu veri setlerinde, TNF, IFN- γ , VEGF-VEGFR, endotelinler, PDGF reseptörü, TNF reseptörü, IL-1 ile IL-6 aracılı TCR ve BCR yollarının dahil olduğu anlamlı sinyalleme ağlarının zenginleştirildiği bulunmuştur (125).

İlk defa yapılan BH ilişkili epigenom çapında bir çalışmada, hücre iskeleti ile ilgili genlerin epigenetik yeniden şekillenmesinin hastalık patogenezinde ve tedaviye yanıtta çok önemli bir role sahip olduğunu gösterilmiştir. Aktif ancak tedavi edilmemiş BH hastalarında, CD4+ T lenfositlerde ve monositlerde hücre iskeletinin yeniden şekillenmesi ve hücre adezyonu ile ilişkili genlerde DNA metilasyonundaki değişiklikler (birkaç farklı şekilde metillenmiş CpG bölgeleri) tanımlanmıştır. Ayrıca tedavi edilen hastalarda bu değişiklikler, özellikle mikrotübül yapısında (KIFA2 ve TPPP) yer alan genler için normale dönmüştür. Bazı araştırmacılar tarafından, metilasyon modellerinin BH için biyobelirteç veya terapötik hedefler olarak değerlendirilebileceği yönünde görüş bildirilmiştir (126). BH hastalarında LINE1 ve

Alu elementleri gibi serpiştirilmiş tekrarlı dizilerin (IRs) metilasyon durumunun analiz edildiği bir başka çalışmada, Alu elementlerinin hastaların PBMC'lerinde ve nötrofillerinde azalmış DNA metilasyonuna sahip olduğu, LINE elementlerinin ise normal olduğu bulunmuştur (127).

2.1.5. İmmünolojik Etmenler

Aktive edilmiş doğal bağışıklık, BH'nin patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Mikrobiyal tetikleyiciler, doğuştan gelen bağışıklık sistemi tarafından patojenle ilgili ve/veya tehlikeyle ilişkili moleküler modeller aracılığıyla algılanmakta ve bağışıklığın ilk yanıtları oluşturulmaktadır. Alarminler, doğal bağışıklık tepkisini başlatma (indükleme) kabiliyetine sahip bir grup proteindir ve Toll benzeri reseptörler (TLR) gibi örgü tanıma reseptörlerini (PRR) aktive ederek, homeostazı sağlamaktan sorumludur. Bu aileye ait yüksek hareketlilik grup kutusu 1 (HMGB1), sistemik hastalıklarda en çok araştırılan molekül olmuştur (128-133). Aktif fazda daha yüksek seviyede olmakla birlikte hastalık aktivitesinden bağımsız olarak, BH'de artan serum alarmin (S100A12) seviyelerini bildiren; BH hastalarında, özellikle gastrointestinal tutulumu olanlarda HMGB1 serum seviyelerinin arttığını gösteren; hastalık aktivitesi, hastalık bulguları veya gastrontestinal tedaviden bağımsız olarak BH hastalarında kontrollere kıyasla daha yüksek HMGB1 seviyeleri belirlenen bağlantı çalışmaları yapılmıştır (134-136).

Doğal bağışıklığın PRR'leri ile ilgili fonksiyonel anomaliler ve bunların aktivasyon kademeleri çokça araştırılmış ve bazıları BH gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. İnfeksiyon ve otoinflamatuvar veya otoimmün hastalık arasındaki bağlantılardan biri olduğu düşünülen TLR'ler, RIG-I benzeri reseptörler (RLR'ler) ve NOD benzeri reseptörler (NLR'ler) ile birlikte PRR ailesinin bir üyesidir. TLR'lerin gen kopya sayısı varyasyonlarının (CNV) Çin-Han populasyonunda oküler tutulumlu BH hastalarıyla ilişkisinin analiz edildiği bir çalışmada, sadece TLR-7 geninin yüksek kopya sayılarının varlığı ile karakterize, artmış bir hastalık riski olduğu bulunmuştur. Daha sonra yapılan SNP analizleri, TLR-2 polimorfizmleri ile oküler tutulumlu BH arasında bir ilişkinin varlığını ortaya koymuştur (137,138). Yavuz ve arkadaşları, BH'de nötrofiller ve monositler üzerindeki TLR'lerin gen ifade analizini yaparak, çeşitli antijenlerle uyarılmış granülositlerde, TLR-6 ifadesinin önemli ölçüde arttığını ve monositlerde düşük TLR-2 ifadesi sergilendiğini göstermiştir (139). Buna karşılık, nükseden, aktif ya

da oküler tutulumlu BH hastalarının PBMC'lerinde TLR-2 ve TLR-4'ün artmış ifadesi birkaç çalışmada ortak bir sonuç olarak elde edilmiştir (140-143). Kirino ve arkadaşlarının GWAS çalışması, 2.461 BH hastası ve 2.458 sağlıklı kontrolde TLR4 ve NOD2'nin hastalıkla ilişkili polimorfizmlerini tanımlamıştır (144). Yakın zamanda yayımlanan iki çalışma ise TLR ile BH ilişkisi çerçevesinde genişletilmiş bir profil sunmuştur. Albayrak ve arkadaşları, oküler tutulumlu BH hastalarında "TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-8 ve TLR-9"un CD4+ T lenfositleri ve monositler üzerindeki ifadesinin önemli ölçüde arttığını göstermiştir (145). van der Houwen ve arkadaşları da, paterji testi pozitif ve negatif BH hastalarının lenfoid ve miyeloid hücrelerinde, "TLR-1, TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-5, TLR-6"nın aşırı ifadesi ile birlikte, özellikle paterji testi pozitif hastalarda TLR-5'i olası bir belirteç olarak tanımlamış, doğal bağışıklık sisteminin öncülük ettiği bozulmuş bir inflamatuvar yanıtın hastalık patogenesinde rol oynayabileceğini belirtmiştir (146). Lektin yolağı, mikrobiyal oligosakkaritler tarafından aktive edilen, doğal bağışıklığın hümmoral yanıtlarından olan komplementer sistemine dahildir. Patojenlerin tanınmasında rol alan bir diğer PRR, C-tipi lektin reseptörlerinin (CLR) bir tür çözünür proteini olan mannan bağlayıcı lektindir (MBL) ve BH ile ilişkisi, çeşitli çalışmalarda irdelenmiştir; ancak elde edilen sonuçların birbiriyle örtüşmemesi daha geniş kapsamlı hasta gruplarında bağlantı analizlerinin gerekliliğini göstermiştir (147-149). Choi ve arkadaşları, birkaç PRR (CD11b, CD11c, CD32, CD206, CD209, Dectin-1) pozitif bağışıklık hücresinin frekans analizini içeren çalışmalarında, bu moleküllerin BH hastalarında hastalık şiddet skoru ile önemli ölçüde ilişkili olduklarını bildirmiştir (150). PRR uyarıları sonrası, inflamatuvar ve apoptotik yanıtlardan sorumlu bir transkripsiyon molekülü olan nükleer faktör kapp B'nin (NF- κ B) altüniteleri (p50/p65) aracılı klasik yolağın aktivasyonu gerçekleşmektedir. BH patogeneğinde NF- κ B'nin hiperaktivasyonunu düşündüren çalışmalar bulunmaktadır. NFKB1 geni promotöründeki polimorfizmler ile NF- κ B inhibitör alfanın (NFKBIA) Türk popülasyonunda BH riskini artırdığı gösterilmiştir (151,152). BH hastalarında inflamatuvar reaksiyonun uzamasının apoptoz direnci ile ilişkilisinin araştırıldığı bir çalışmada, hastaların T hücrelerinde yüksek oranda ifade edilen apoptoz ilişkili bir reseptör olan CD95'in, muhtemelen anti-apoptotik genlerin inhibitör etkisine ve NF- κ B'nin yukarı düzenlenmesine ithafen, molekül ile tetiklenen apoptozla karşı duyarlılığının azaldığı gösterilmiştir. Bu bulgular, NF- κ B'nin apoptozla ilişkili faktörlerin ve ölüm reseptörlerinin düzenlenmesine katkıda bulunduğu ve BH hastaları

T hücre alt kümelerinde apoptoz direncine yol açtığı şeklinde değerlendirilmiştir (153). BH hastalarında, özellikle NOD2 ve NLRP3 olmak üzere, NF-kB'nin yukarı akışındaki inflamazom bileşenlerinde rolleri net olmayan nadir genetik varyantlar da bulunmuştur. Ancak bu süreçlerin BH patogenezindeki rolünün anlaşılabilmesi için ek çalışmalara olan ihtiyaç da belirtilmiştir (154-156).

Doğal bağışıklığın hücrel yanıtları ile ilgili yapılan araştırmalar, nötrofiller, monositler, makrofajlar, NK hücreler ve $\gamma\delta$ T lenfositleri kapsamaktadır. Doğal ve adaptif bağışıklıkta rol oynayan $\gamma\delta$ T lenfositleri hem benzersiz bir TCR olarak γ ve δ zincirleri eksprese eden hem de geleneksel T hücrelerinin, NK hücrelerin ve miyeloid antijen sunan hücrelerin özelliklerini ifade edebilen küçük bir hücre popülasyonudur. 1990'ların başından beri BH ve $\gamma\delta$ T lenfositleri arasında ilişki çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bazı çalışmalarda aktif BH hastalarında sağlıklı kontrollere göre artmış $\gamma\delta$ T lenfosit seviyeleri gözlenmişken (157-160), birkaç çalışmada da önemli bir fark bulunamamıştır (161-163). Bu sonuçların derlendiği bir makalede, elde edilen tutarsız verilerin, $\gamma\delta$ T hücrelerinin ifadesinin lokal doku inflamasyonunun bir yansıması olarak BH'nin aktivasyon durumuna göre değişebileceği ve bu değişikliklerin, hastalık şiddeti, immünomodülatör terapötiklerin kullanımı ve belki de diğer değişkenlerin (yaş, cinsiyet, etnik köken ve/veya çevresel faktörler) dahil olduğu birkaç başka faktöre bağlı olabileceği ifade edilmiştir (164).

Nötrofiller, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin en önemli oyuncularından biridir. Nötrofil işlev bozuklukları, BH'de kapsamlı bir şekilde rapor edilmiştir. Takeno ve arkadaşları, insanlarda artmış nötrofil aktivasyonunun BH varlığına bakılmaksızın HLA-B51 fenotipi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (165). Birkaç çalışmada elde edilen sonuçlar, BH hastalarında nötrofiller tarafından üretilen lökosit reaktif oksijen türlerinde (ROS) önemli bir artış ile birlikte bu moleküllerin endotel disfonksiyonuna ve fibrinojen yapının modifikasyonu yoluyla tromboz gelişimine katkıda bulunduğunu vurgulamıştır (166-169). Nötrofil uyarımı ile tetiklenen miyeloperoksidaz, süperoksit dismutaz, nitrik oksit ve gelişmiş oksidasyon protein ürünleri (AOPP'ler) seviyelerinin, BH'nin aktif fazında yükseldiği raporlanmıştır. Çalışmalar nötrofil aktivasyonunun, oksidatif stres belirteçlerinin gelişiminde birincil bir rol oynayabileceğine ve AOPP'lerin BH aktivitesi için bir belirteç olarak kullanılabilmesine işaret etmiştir (168,170,171). Aktif BH hastalarının periferik kan ve deri nötrofillerinde, anormal derecede yüksek nötrofil göçü

(kemotaksis) (172); nötrofil hücre yüzeyindeki aktivasyon belirteçlerinin (CD11a, CD10, CD14) BH hastalarında daha yüksek gen ifadesi sonucu artmış nötrofil doku infiltrasyonu (173); nötrofil hücre dışı tuzaklarının (NET) BH hastalarında vasküler belirtilere katkıda bulunduğu (174,175) birkaç çalışmada gösterilmiştir. Bu sonuçlar, BH'de nötrofil hiperaktivasyonunun hastalık patogenezinde rol alabileceğini düşündürmüştür.

BH gelişimindeki rolü kapsamlı bir şekilde incelenen nötrofillerin aksine, hastalıkta monosit/makrofaj işleviyle ilgili daha az veri bulunmaktadır. Neves ve arkadaşları, BH hastalarından alınan monositlerin daha yüksek TLR-2 gen ifadesi sergilediğini (142); Do ve arkadaşları, aktif BH hastalarında, monositlerde daha yüksek TLR-2 ve TLR-4 ifadeleri ile birlikte sağlıklı kontrollere kıyasla periferik kanda daha yüksek pro-inflamatuar CD14+ CD16+ monosit sıklığı olduğunu göstermiştir (143). BH ve Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) hastalarından izole edilen monositlerin, özellikle sodyum monoürat kristalleri tarafından uyarıldığında, Romatoid Artrit (RA) hastalarından ve sağlıklı kontrollerden daha yüksek oksidatif patlama (oxidative burst) aktivitesi gösterdiğinin belirtildiği bir çalışma da mevcuttur (176). Slobodin ve arkadaşları, aktif BH hastalarında in-vitro lipopolisakkarid (LPS) ile uyarılmış monositlerin, daha yüksek in-vitro TNF- α ürettiğini gözlemiştir (177). Bir grup Türk hastada makrofaj migrasyon inhibitör faktörü (MIF) -173GC varyantı ile BH arasındaki olası ilişkiyi araştıran Nursal ve arkadaşları, bu varyantın CC genotipinin Türk hastalar için hastalık riski ile ilişkili olabileceğini vurgulamıştır (178). Mendes-Frias ve arkadaşları yakın zamanda, BH hastalarının dolaşımdaki monositlerinde, daha düşük mitokondriyal kitle ve artmış ROS üretimi aracılığıyla, mitokondriyal fonksiyonda kötüleşme bulguları ve hastalardaki gliserofosfolipid metabolizmasının düzensizliği ile birleşen serum inflamatuvar ortamın, dolaşımdaki monositlerin işlevsel bozukluğuna katkıda bulunabileceğini göstermiştir (179). Kristalize edilebilir fragman reseptörleri (FcR), hücrelerin yüzeyinde bulunan ve bağışıklık sistemine katkı sağlayan bir protein ailesidir. Fc-gama reseptörleri (Fc γ R) de çoğu bağışıklık hücresi üzerinde bulmakta ve antikorlarla etkileşime girmektedir. BH hastalarında birçok bağışıklık hücresiyle yapılan bir çalışmada, sadece monositlerde aşağı düzenlenmiş inhibitör Fc γ RIIb ve yukarı düzenlenmiş aktive edici Fc γ RIII anormal ifadesi gözlenmiş; ayrıca bu sonucun, hastalık aktivitesi ile ilişkili olan ve potansiyel olarak katkıda bulunan monosit hiperaktivasyonuna işaret edebileceği belirtilmiştir (180).

Doğal bağışıklığın bir başka üyesi olan NK hücreleri, doku homeostazını kontrol etmenin yanı sıra, mukozal ve yüzey bariyerlerinde inflamasyonu destekleme yeteneğine sahiptir. Yamaguchi ve arkadaşları, NK hücrelerinin NK2 polarizasyonu yoluyla, BH hastalarında hastalık remisyonunun indüksiyonu ve sürdürülmesinde aktif olarak yer aldığını bildirmiştir (181). Coşan ve arkadaşları, NK1 alt kümesinin bir avantajını belirlemiş, BH hastalarında sağlıklı kontrollere göre NK2, NK17 ve IL-10 salgılayan hücrelerin oranlarını daha düşük bulmuştur; ayrıca mukozal deri tutulumu olan BH hastalarında benzer sitokin profilleri gözlemiştir. Araştırmacılar, IFN- γ 'nın inhibitör etkisi nedeniyle, NK1 hücrelerinin işlevini artırması ile paralel olarak IFN- γ 'nın aşırı salgılanmasının hastalarda, NK2, NK17 ve NK-reg hücrelerini inhibe ettiği ve böylece NK1/NK2 paradigmasının patojenik Th-1 veya Th-2 aracılı bağışıklık yanıtlarını kontrol ettiğini göstermiştir (182). Takeno ve arkadaşları, NK hücrelerinde öldürücü Ig benzeri reseptörlerinin (KIR) anormal ifadesinin, BH gelişimi ile ilişkili olabileceğini belirtmiştir (183). Bazı HLA sınıf I molekülleri, NK hücrelerinde ifade edilen KIR moleküllerinin ligandlarıdır. KIR3DL1 polimorfik inhibitör reseptör, KIR3DS1 ise korunmuş bir aktivatör reseptördür. Middleton ve arkadaşları, Türk BH hastalarında KIR3DL1/S1'in varlığı/yokluğu analizinde, reseptörlerin HLA-B51 ile ilişkisi dışında bir bağlantı bulamamıştır (184). Erer ve arkadaşları, 1.799 Türk BH hastasından oluşan büyük ve dikkatlice derlenmiş bir veri setinin analizini gerçekleştirerek, KIR3DS1 ile oküler hastalık arasında bir ilişki olabileceğini, ancak KIR3DL1/S1'in genel olarak hastalık riski üzerinde bir etkisinin olmadığını bildirmiştir (185). Mohammad-Ebrahim ve arkadaşları, 397 İranlı BH hastasını değerlendirmiş ancak BH ile ilişkili spesifik bir KIR geni tespit edememiştir (186). KIR3DL1/S1 allotiplerinin İngiliz BH hastalarında analiz edildiği yeni yayımlanan bir çalışmada, KIR3DL1^{düşük}/KIR3DS1 fonksiyonel genotipinin hastalık patogenezinde rol oynadığı ve KIR3DL1^{yüksek}/KIR3DL1^{boş} genotipinin hastalık için koruyucu olduğu gösterilmiştir. Çalışma sonuçları, KIR3DL1 allotiplerinin BH gelişimini etkilediği, bu ilişkinin HLA-B51'in etkisinden bağımsız olarak gerçekleştiği ve farklı KIR3DL1 allotiplerinin, hastalarda mukokutanöz ve oftalmik tutulumla ilişkili olduğu şeklinde ifade edilmiştir (187). Bunların dışında, BH hastalarının periferik kanındaki NK hücre sayısının önemli ölçüde azaldığını, bunun da hastalık aktivitesine bağlı bir değişiklik olduğunu bildiren (188) ve NK hücrelerinin BH hastalarında Th-1 hücre baskınlığında önemli bir rol oynadığı gösteren çalışmalar da gerçekleştirilmiştir (189).

Adaptif bağışıklığın BH patogenezindeki rolünü destekleyen birkaç kanıt bulunmaktadır. Th hücreleri, BH'deki bağışıklık tepkilerine ana katkıda bulunan lenfositlerden biridir. BH'de antijen sunan hücreler (APC) veya T hücreleri aracılığıyla nötrofil hiperaktivasyonunun gerçekleşebileceği ileri sürülmüştür. Nötrofil aktivasyonunun, Th-1 hücre yanıtına ve artan sitokin salınımına neden olabileceği belirtilmiştir. APC'ler, Th-1 lenfositler ve nötrofiller arasındaki bu ilişkiler, BH'deki anormal bağışıklık yanıtları için potansiyel bir temel oluşturmaktadır (38). TNF- α , IFN γ , IL-8, IL-12, CCR5, Kemokin C-X-C motif reseptörü 3 (CXCR3) ve makrofaj kemoatraktan protein 1 (MCP-1) üreten Th-1 hücreleri, oral ve genital ülser, psödofolikülit, paterji püstülleri ve bağırsak ülserlerini de kapsayan çeşitli BH lezyonlarında bildirilmiştir (190,191). Çalışmalar, Th-1 hücrelerinin, bunların sitokinlerinin ve transkripsiyon faktörü T-bet frekanslarının, aktif BH hastalarında, inaktif hastalara göre önemli ölçüde daha yüksek olduğuna işaret etmiştir. Aktif BH hastalarının PBMC'lerinde IL-2, IL-12, IL-18 ve IFN- γ gibi artan Th-1 sitokin seviyeleri de bildirilmiştir (192,193).

Son zamanlarda yapılan prospektif çalışmalarda Th-17'nin de patogeneizde rol oynadığı gözlenmiş ve bu rol, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları ile desteklenmiştir (194). “TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-18, IL-17, IL-21,IL-23” serum seviyelerinin BH ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (39,195-202). Th-17 hücrelerinin, özellikle granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) aracılığıyla nötrofilleri toplayarak, BH patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir (203). T-reg hücrelerine ilişkin veriler azdır ve çelişkilidir. Bazı çalışmalarda, BH hastalarından alınan periferik kan ve beyin omurilik sıvısında (BOS) yüksek sayıda T-reg hücresi (CD4+ CD25^{yüksek} Foxp3+) olduğu bulunmuştur (204-206). Öte yandan Nanke ve arkadaşları, BH hastalarının periferik kanında azalmış bir T-reg sıklığı bildirmiş (207); Geri ve arkadaşları, BH hastaları ile sağlıklı kontroller arasında T-reg sıklığında bir fark olmadığını göstermiştir; bununla birlikte, BH hastalarında aktive T-reg hücrelerinin (CD45RA+ CD25⁺⁺⁺) sıklığında azalma gözlemiştir (196). Albayrak ve arkadaşları, üveitli BH hastalarında IFN- α -2a tedavisinin T-reg hücreleri, Th-17 hücreleri ve TLR'lerdeki gen ifadeleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, konvansiyonel immünomodülatör terapiler sırasında akut üveit atağı olan hastalarda periferik kan Foxp3+ T-reg ve IL-17A+ Th-17 hücrelerinde ve Th-17 retinoid asit reseptörü ile ilişkili orphan reseptör gama t (ROR γ T) mRNA ifadesinde

artış tespit etmiştir. Ayrıca, CD4+CD25+ T-reg hücre kültürlerinin süpernatantlarındaki in-vitro IL-10 konsantrasyonunun, kontrollerle karşılaştırıldığında üveitli BH hastalarında önemli ölçüde daha düşük olduğu gözlenmiştir. T-reg ve Th-17 hücre frekansları ve Th17 RORct gen ifadeleri ile “Th17, IL-6, IL-17, IL-21, IL-22, IL-23, IFN- γ ve TNF- α ” konsantrasyonları önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. T-reg hücrelerinde görece bir artışa rağmen, bozulmuş IL-10 üretimi, T-reg disfonksiyonunun BH üveitinin gelişiminde bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (145).

Th-2 hücreleri ile ilişkili sitokinler ve bunların BH patogeneze katkılarını üzerine yapılan çalışma sonuçları oldukça çelişkilidir. Birkaç çalışma, BH hastalarında ilgili sitokinlerde sağlıklı kontrollere kıyasla daha düşük veya anlamlı farklılıklar tanımlayamamıştır (208-212). Hamzaoui ve arkadaşları, BH hastalarında Th-2 hücre (IL-4 ve IL-13) sitokinlerinin serum seviyelerinde artış olduğunu (199); Takeuchi ve arkadaşları, IL-4 ve IL-10 seviyelerinin yükseldiğini gösterirken (213); diğer çalışmalar, aktif BH hastalarında yüksek IL-4, IL-10 ve IL-13 seviyelerine işaret etmiştir (192,214). Farklı yıllarda, BH'li üveit hastalarında anlamlı düzeyde daha yüksek IL-10 seviyeleri gösterilen çalışmalar yapılmıştır (215,216). Dalghous ve arkadaşları, tekrarlayan aftöz stomatit (RAS) hastalarına kıyasla sadece BH hastalarındaki oral lezyonlarda IL-4 sitokinlerinin varlığını gözlemlerken (190); Ben Ahmed ve arkadaşları, BH hastalarının aktif lezyonlarında artmış IFN- γ seviyelerine kıyasla yüksek IL-10 seviyelerini göstermiştir (217). Th-22 hücreleri, Th-1, Th-2 ve Th-17 hücrelerinden farklı olarak CD4+ efektör T hücrelerinin bir alt kümesidir ve TNF- α salgılamak dışında kemokin reseptörleri CCR4, CCR6 ve CCR10'u ifade etmektedir (218). IL-22, IL-10 sitokin ailesinin bir üyesidir ve IL-22 reseptör kompleksi, IL-22R1 ve IL-10R2'den oluşmaktadır (219). Sugita ve arkadaşları, aktif BH hastalarından alınan oküler örneklerde Th-22 T hücre klonlarının, Th-22 ile ilişkili sitokin ürettiğini ve IL-22, TNF- α ve CCR10'un aşırı ifadesini gözlemlemiştir. Ek olarak, BH hastalarından alınan taze T hücreleri, yüksek düzeyde Th-22 ile ilişkili molekülleri ifade etmiştir (220). Cai ve arkadaşları, aktif üveiti olan BH hastalarında uyarılmış PBMC'lerin süpernatantındaki IL-22 seviyesinin, üveiti olmayanlara veya normal kontrollere göre daha yüksek olduğunu göstermiş; ayrıca sitokin seviyesinin retinal vaskülit ve ön kamarada inflamasyon şiddeti ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüştür (221). Çetin ve arkadaşları, mukokutanöz lezyonları olan BH hastalarında artmış IL-22 seviyeleri tespit ederek, bu

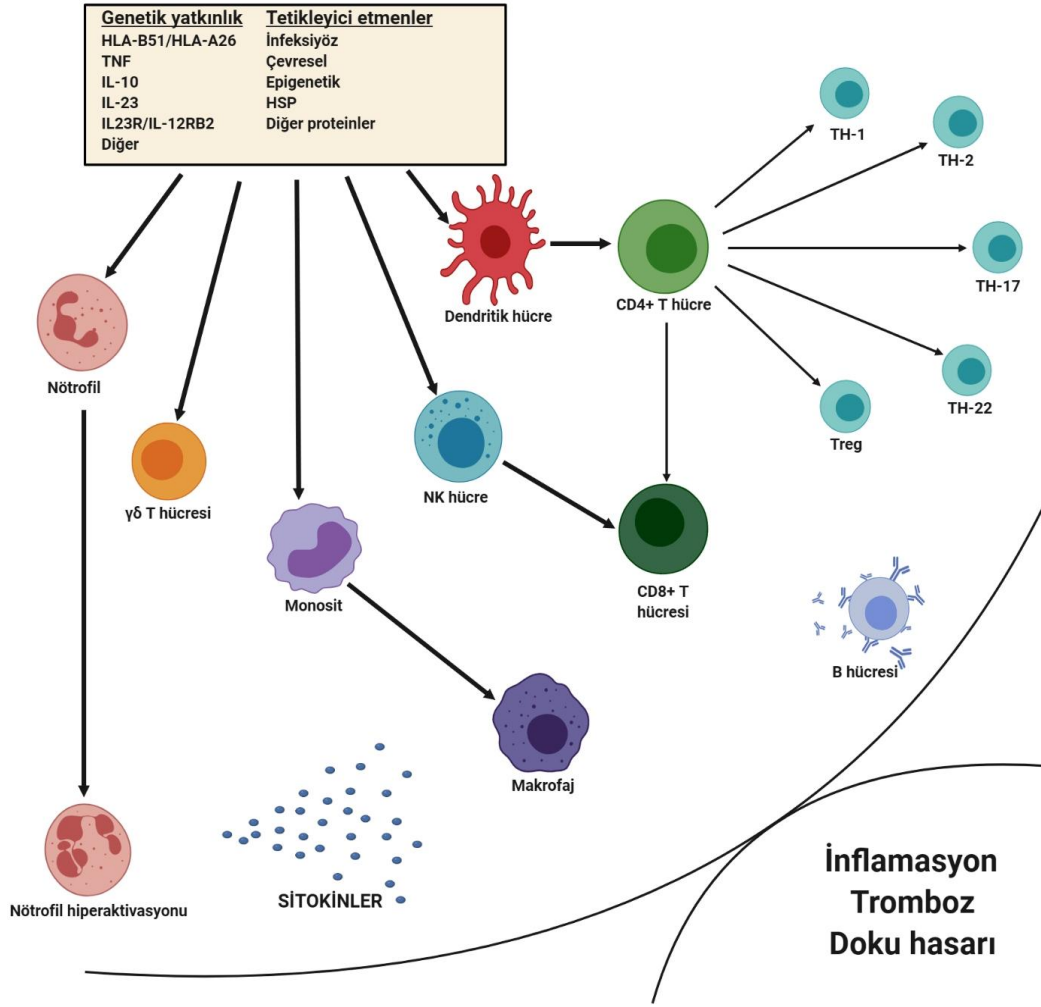
sonucun cilt ve mukozadaki ülserlerin nüksetmesinde rol oynayabileceğini belirtmiştir (222).

IL-37, IL-1 ailesinin bir üyesidir ve doğuştan gelen bağışıklığın bir inhibitörü olarak ortaya çıkmıştır (223). Aktif BH hastalarında, IL-37 seviyelerinin önemli ölçüde daha düşük olduğu gösterilmiştir ve LPS ile uyarılan PBMC'lerde artmış IL-1 β , IL-6 ve TNF- α üretimi ile ilişkilendirilmiştir (224,225). Ayrıca, BH ile IL-15 ve IL-27 gibi diğer sitokinler arasındaki ilişkilere dair öneriler bulunmaktadır; ancak, veriler hala yetersiz ve seyrek olarak nitelendirilmiştir (226-228).

IL-1 ailesinin bir diğer üyesi olan IL-33, bağışıklık tepkilerinin ve inflamatuvar vasküler bozuklukların düzenlenmesinde önem arz etmektedir (229). Endotel hücre kaynaklı bu sitokin, çeşitli bağışıklık hücreleri üzerinde ST2 reseptörü (IL1RL1) ile etkileşime girerek ve ardından hücre içi NF- κ B ve mitojenle aktive edilmiş protein (MAP) kinazları tetikleyerek biyolojik işlevlerini yerine getirmektedir (230). Koca ve arkadaşları, aktif BH hastalarında serum IL-33 düzeylerinin inaktif BH hastalarına göre daha düşük olduğunu göstermiş olmalarına karşın (231); Çerçi ve arkadaşları, BH hastalarında IL-33 serum düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğuna işaret etmiştir (232). Fawzy ve arkadaşları, IL-33 seviyelerini cilt lezyonları (akneiform nodüller ve eritema nodozum) ve retinal vaskülitli olan BH hastalarında dikkat çekici derecede yüksek bulmuş ve “Behçet Hastalığı Mevcut Aktivite Formu” (BDCAF) skoru ile serum IL-33 konsantrasyonları arasında olumlu bir ilişki olduğunu ileri sürmüştür (233). Cingu ve arkadaşları, aktif ve inaktif oküler BH hastalarında birkaç sitokini analiz ederek, IL-33 seviyelerinin aktif oküler BH hastalarında yükseldiğini ve hastalık aktivitesi parametreleriyle pozitif korelasyon gösterdiğini raporlamıştır (234). IL-33 gen polimorfizmi ve bunun BH ile ilişkisinin incelendiği genetik çalışmalarda, bazı SNP'lerin (*rs1157505* ve *rs1929992*) genotipik ve allelik dağılımlar açısından anlamlı farklılığı bulunamazken, bazılarının da (*rs11792633* ve *rs7044343*) hastalık riskine karşı koruyucu rol oynayabileceği bildirilmiştir (231). Talei ve arkadaşları da, IL-33 geninin *rs1342326* polimorfizmini BH ile ilişkilendirmiş, bu varyantın artan IL-33 ifadesinin düzenlenmesi yoluyla kısmi de olsa hastalıkta genetik yatkınlığa katkıda bulunabileceğini vurgulamıştır (235). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, IL-33/ST2 etkileşiminde *rs3821204*, *rs2210463*, *rs7044343*, *rs1048274* SNP'lerinin BH üveit gelişimde rol oynayabileceği gösterilmiştir (236).

BH ile ilişkili olabilecek belirli otoantikörleri gösteren birkaç çalışma yapılmıştır; ancak sınırlı klinik öneme sahip oldukları belirtilmiştir. Bunların arasında en çok incelenenler olarak, anti-*Saccharomyces cerevisiae* antikörleri (ASCA) (237-240) ve anti-endotelial hücre antikörleri (AECA) bulunmaktadır (241-244). Bazı çalışmalar, BH'nin α -enolaza karşı özgülüğünü doğrudan tanımlamıştır (244-246). Bunların dışında, anti-kardiolipin (247-250), anti-heparan sülfat (251), anti-kinectin (252, 253), anti α -tropomiyosin (107, 254), anti-SIP1 (255), antianneksin-V (256), anti PTEN ile indüklenen kinaz 1 (PINK1) ve anti switch ilişkili protein 70 (257) antikörleri de incelenmiştir. Hep birlikte ele alındığında, otoantikörlerin BH patogenezindeki etkisine dair kanıt seviyesi düşük bulunmuş ve daha fazla araştırılmaları gerekliliği vurgulanmıştır.

Bazı aktif BH hastalarında artan serum immünoglobulin (IG) seviyeleri, dolaşımdaki otoantikörlerin ve immün komplekslerin üretiminin, anormal B hücresi işlevi ile bağlantılı olabileceğine işaret etmektedir. BH'de B hücresi işlevi, özgül ve özgül olmayan mitojenlere yanıt olarak değerlendirilmiş ve hastalarda B hücrelerinin, T hücresinden bağımsız B hücresi mitojeni olan *Staphylococcus aureus* Cowan 1'e (SAC) karşı azalan yanıtla birlikte, T hücresine bağlı poliklonal aktivatör olan *Phytolacca americana* (şekeriboyası) mitojenine yanıt vermediği gösterilmiştir (72,144). Suzuki ve arkadaşları da, aktif BH hastalarında spontan antikör üreten B hücresi sayısının artarak anormal fonksiyon gösterdiğini bildirmiştir (258). Ekşioğlu-Demiralp ve arkadaşları, BH hastalarında CD19+ B hücresi sayılarının normal olmasına rağmen, "CD13, CD33, CD80, CD45RO" olarak işaretlenen alt kategorilerin, hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğunu bulmuştur (259). TNF- α , BH immünopatogenezinde rol oynayan bir pro-inflamatuar sitokindir. B hücre aktive edici faktör (BAFF) ve homologu A proliferasyonunu indükleyen ligand (APRIL), tümör nekroz faktör ailesinin üyeleridir. BAFF, B hücreleri tarafından ifade edilen üç reseptöre; B hücresi aktive edici faktör reseptörüne (BAFF-R), transmembran aktivatör ve kalsiyum modülatör ligand interaktörüne (TACI) ve B hücresi olgunlaşma antijenine (BCMA) bağlanmaktadır. TNF ailesinin B hücresi ile ilgili üyelerini araştıran Schaker ve arkadaşları, BH hastalarında otoantikörler ve yüksek hafıza B hücrelerinin varlığı nedeniyle, BAFF, APRIL ve BCMA reseptörlerinin serum seviyelerinde sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı bir artış olduğunu bildirmiştir (260).



Şekil 2-3. Behçet Hastalığı patogenezi şematik özeti

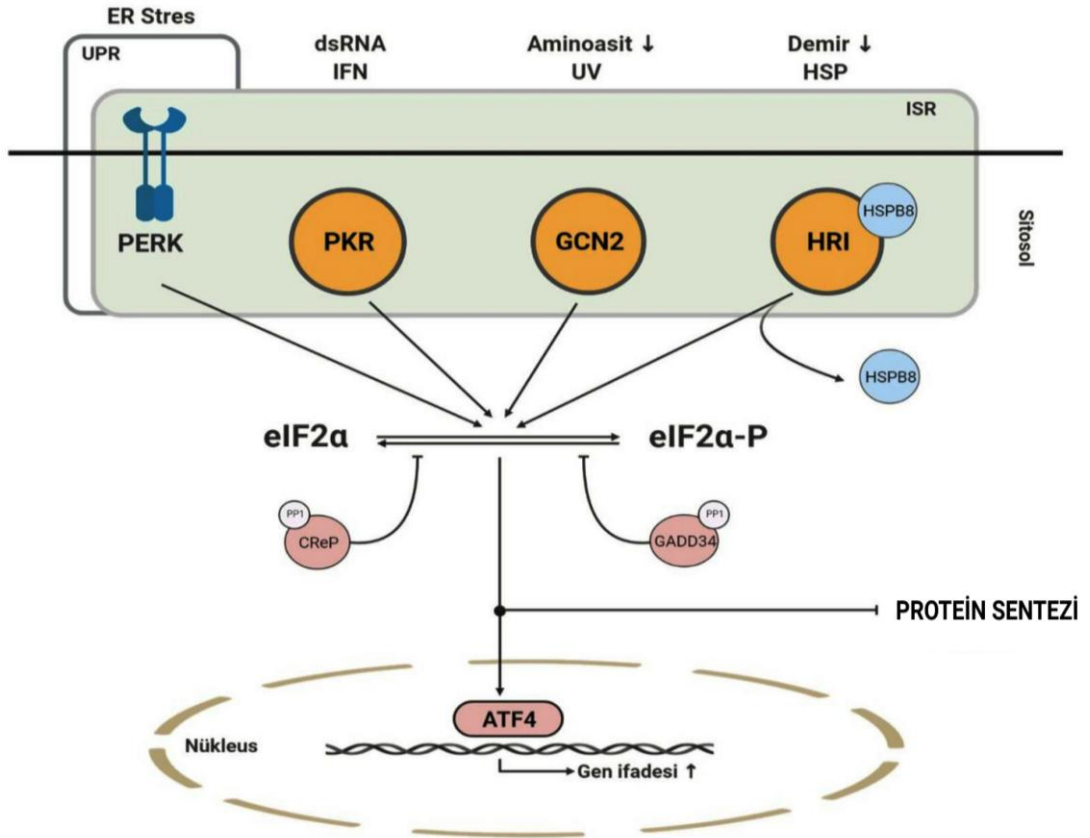
Kaynak 47'den uyarlanmıştır.

2.2. ENTEGRE STRES YANITI

Ökaryotik hücreler, çeşitli uyarılara yanıt olarak aktive olan karmaşık stres sinyal yollarını geliştirmiştir. Bu yollar, çok çeşitli adaptasyon mekanizmalarını veya programlanmış hücre ölümünü (apoptoz) başlatmaktadır. Entegre stres yanıtı (ISR), bu hücrelerde bulunan, bir dizi fizyolojik değişiklik ve farklı patolojik koşullara yanıt olarak oluşan, ayrıntılı ve evrimsel olarak korunmuş bir sinyal yolağıdır (261-266). ISR aktivasyonu, ökaryotik translasyon başlatma faktörü 2 alfa ($eIF2\alpha$) alt birimindeki Ser51 kalıntısının fosforilasyonunu takiben, şaperonlar ve transkripsiyon faktörü 4 (ATF4) gibi koruyucu proteinlerin translasyonunun seçici olarak yukarı düzenlenmesi,

buna karşın global translasyonun azatılması ile sonuçlanmaktadır (Şekil 2-4) (267,268). Bu bilgiler ışığında ISR, ökaryotik hücrelerin homeostaz kaybını algılamasını ve bunlara yanıt vermesini sağlayan, eIF2 α /ATF4 sinyal ağının aracılık ettiği, karmaşık, uyarlanabilir, kısa ömürlü bir sitoprotektif süreç olarak tanımlanmıştır. ISR'nin temel özelliği olarak, çeşitli hücrel streslerin, düzenleyici işlev gören bir protein kinaz ailesi tarafından algılanması gösterilmiştir. Memelilerde, hücrel stresi algılayan eIF2 α kinaz ailesine ait dört üye bulunmaktadır: protein kinaz R (PKR), PKR benzeri endoplazmik retikulum kinaz (PERK), genel kontrol baskılanamaz 2 (GCN2) ve hem düzenleyici inhibitör (HRI) (269).

ER stres, oksidatif stres, viral enfeksiyon, inflamasyon ve amino asit (AA) yoksunluğu gibi belirli stres koşulları aracılığıyla uyarılan bu kinazlar, gen ifadesinin ve hücre içi sinyalleşmenin yeniden programlanması için ISR aşağı akış sinyal yolağını başlatmaktadır (270,271). ISR'nin, kanser, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere, insan stresiyle ilgili bir dizi patolojide rol oynadığı gösterilmiştir (272-276). Maternal bağışıklık yanıtı (MIA) katılan sinyal yolaklarının fare fetal beynindeki transkripsiyonel değişiklikler aracılığıyla araştırıldığı yakın zamanda yayımlanan bir çalışmada, ISR'nin cinsiyete özgü olarak (erkek) MIA'yı, IL-17a bağımlı bir şekilde aktive ettiği ve bu etkinin MIA yavrularında nörogelişimsel değişikliklerde rol oynadığı tespit edilmiştir (277). ISR, ayrıca doğal bağışıklığı düzenleyen sinyal yolaklarından biridir ve bu sistemdeki herhangi bir bozukluk doğal bağışıklığı etkileyerek hastalıklara neden olabilmektedir (278). COVID-19 pandemisi patojeninde dahil olduğu koronavirüs ailesi ile ilgili yapılmış çalışmalar, bu virüslerin ISR aktivasyonunu baskılayarak ya da bu mekanizmadan kaçarak viral replikasyon avantajı sağladıklarını göstermiştir (279).



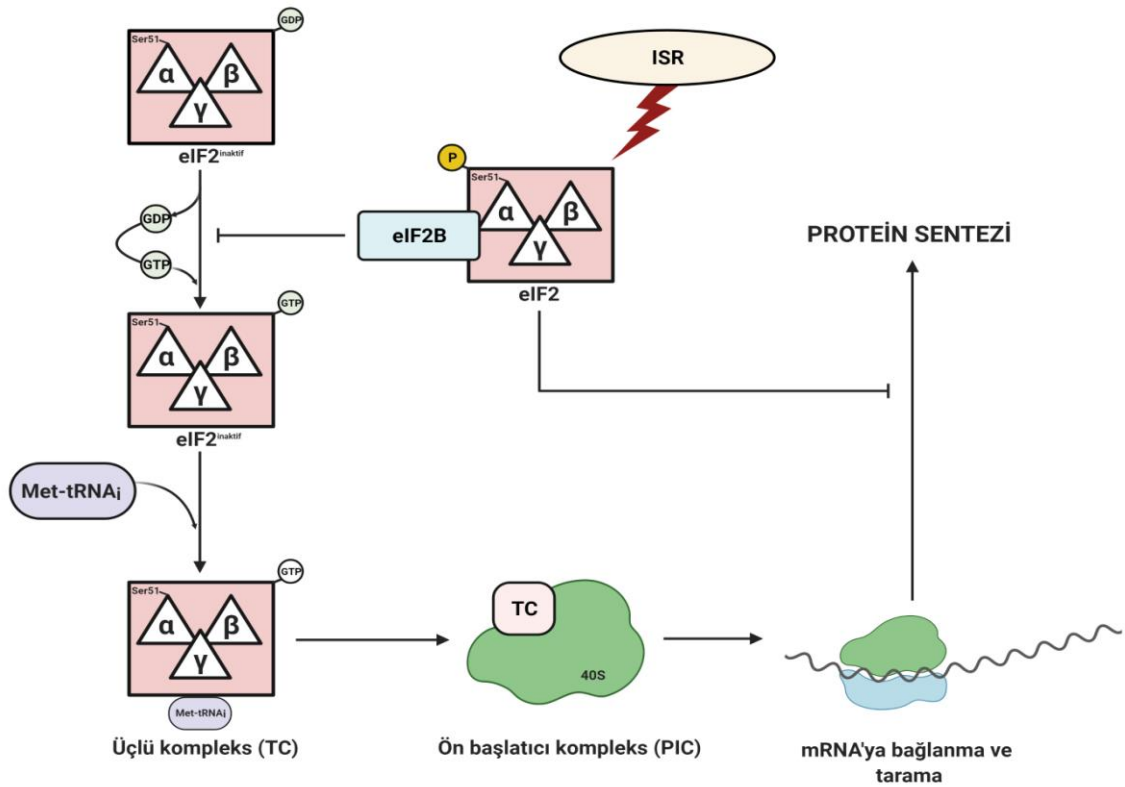
Şekil 2-4. Entegre stres yanıtı (ISR) aşağı akış sinyali yolağı

Kaynak 266 ve 271'den uyarlanmıştır.

2.2.1. eIF2 α Fosforilasyonu

Ökaryotlarda protein sentezinin başlatılması, 30'dan fazla polipeptit zinciri içeren, 12'den fazla farklı başlatma faktörünü (eIF) gerektiren karmaşık bir süreç olarak tanımlanmıştır (280-285). Ökaryotik hücresel mRNA'ların çoğu için translasyon başlangıcı, 3 farklı alt birimden (α , β , γ) oluşan ökaryotik başlatma faktörü 2'nin (eIF2), ribozomun 40S alt birimine başlatıcı metiyonil tRNA'yı ($\text{Met-tRNA}^{\text{Met}}$) ilemesi ve 43S önbaşlatıcı kompleksin oluşmasına katkıda bulunması ile olmaktadır (286). eIF2'nin genel translasyondaki en önemli rolü, serin 51'de molekülün α alt birimi olan eIF2 α 'nın çeşitli kinazlarla fosforilasyonu (eIF2 α -P) aracılığıyla, stres koşullarına adaptasyon sağlanıncaya kadar, genel mRNA translasyonunda önemli bir zayıflamaya neden olmasıdır (264,287,288). eIF2 α -P, eIF2'nin GDP/GTP değişimini inhibe eden, kendisi için bir guanin nükleotid değişim faktörü (GEF) olan eIF2B ile üretken olmayan bir protein kompleksine girerek hücrelerin eIF2'yi geri dönüştürme ve $\text{Met-tRNA}^{\text{Met}}$ 'i ribozomlara ileme kabiliyetini azaltmaktadır (Şekil 2-5) (289). Bu dönüşümsel

zayıflama mekanizmasının, hücrel protein katlanma sistemi üzerindeki yükü hafifleterek ve sınırlı AA havuzlarını koruyarak hücrelerin stresten kurtulmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir. eIF2 α -P ile bağlantılı bu ilk dönüşümsel inhibisyon düğümü geçicidir. Strese karşı oluşan gen ve protein düzeyindeki yanıt, GADD34'e veya CREP'e bağlı katalitik alt birim protein fosfataz 1'den (PP1c) oluşan iki holo-fosfataz kompleksinin etkisiyle azalmaktadır (290-293). eIF2 α -P'ye hücrel yanıt yalnızca dönüşümsel zayıflama ile sonlanmamakta, az sayıda özel molekül genel etkiye maruz kalmadan, transkripsiyonları uyarılmaktadır. Bu kategoride transkripsiyon faktörleri ATF4, ATF5, CHOP ve bunların maya eşdeğeri GCN4 bulunmaktadır. Bu gruba ayrıca, bir negatif geri besleme döngüsünün parçası olarak GADD34 de dahil edilmiştir (264,294-299). eIF2 α -P'ye yanıt olarak transkripsiyonlarını seçici olarak geliştiren, ancak ISR'deki rolleri açısından zayıf bir şekilde karakterize edilen diğer moleküller arasında SLC35A4, C19orf48, EPRS ve IBTK α bulunmaktadır (299-301). Bu transkriptlerin çoğu, geleneksel mRNA'lardan farklı olarak 5'-UTR bölgelerinde çoklu yukarı akış açık okuma çerçevelerine (uORFs) sahiptir ve gecikmeli yeniden programlama mekanizması bahsi geçen bu transkriptler üzerinde etki göstermemektedir (296,298).



Şekil 2-5. Ökaryotlarda protein sentezinin başlatılması ve eIF2 α fosforilasyonu

Kaynak 266'dan uyarlanmıştır.

2.2.2. PKR

İnterferon ile indüklenbilir protein kinaz R (PKR), konakçı doğal bağışıklığında ISR'nin önemli bir bileşenidir ve viral replikasyonla birlikte yayılmayı kısıtlamaktadır. eIF2 α kinaz 2 (EIF2AK2) olarak da anılan PKR, amino terminal düzenleyici bir alan olan iki adet çift sarmallı RNA (dsRNA) bağlama motifi (dsRBM'ler) ve bir karboksi terminal efektör/katalitik kinaz alanı (KD) ile modüler bir organizasyona sahiptir ve inaktif halde sentezlenip, dsRNA varlığında otofosforilasyona uğrayarak aktive edilmektedir (302, 303). Bu aktivasyon, eIF2 α 'nın fosforilasyonu için gereklidir (304). Oksidatif stres, serum yoksunluğu, ısı şoku ve ER stresi gibi uyarılara yanıt olarak da kinaz aktivasyonu gerçekleşmektedir (305-307). PKR'nin enfeksiyona, çevresel streslere ve metabolik strese yanıt olarak, NF- κ B ve MAPK sinyal yollarında, TLR'ler, RIG-I benzeri reseptörler (RLR) ve inflamazom tarafından sinyalleşmeye aracılık edebileceği belirtilmiştir (308-314). dsRNA, PKR'yi doğrudan bağlanıp uyarabilirken, diğer birçok stres indükleyici uyarana yanıt olarak PKR'nin aktivasyonu, PKR protein aktivatörü (PACT) ile etkileşimi sonucu da oluşabilmektedir (315). dsRNA'ya PKR ile bağlanma, sadece viral kaynaklı dsRNA'lar ile sınırlı değildir; Alu RNA'lar ve mitokondriyal RNA'lar gibi endojen intramoleküler dsRNA'lar da çeşitli hücrel süreçleri düzenlemek için PKR'yi bağlamakta ve aktive edebilmektedir (316,317). Vasküler, nörodejeneratif ve metabolik sendrom hastalıklarında oluşabilen inflamatuvar süreçte, PKR aktivasyonunun potansiyel rolü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (318). PKR, uyarılara ve hücrel durumlara bağlı olarak homeostaz üzerinde olumlu veya olumsuz etkiler göstermektedir. İnfeksiyonun ardından uygun bir antiviral yanıt oluşturmak için molekülün aktivasyonu gereklidir; ayrıca hematopoietik ve mezenkimal kök hücrelerin çoğalması da bu aktivasyon ile başlatılabilmektedir; bununla birlikte uzun süreli PKR aktivasyonunun, inflamatuvar sinyalleşmeyi, apoptozu ve hastalık patolojisini teşvik edebileceği belirtilmiştir (319,320).

2.2.3. PERK

PKR-benzeri endoplazmik retikulum kinaz (PERK), ER'de yanlış katlanmış ya da katlanmamış protein yanıtı (UPR) sinyal yolağını, inositol gerektiren enzim 1 (IRE1) ve ATF6 ile birlikte başlatan kinazlardan biridir (58,287,288). UPR, proteinlere zarar veren, protein katlanmasını ve ER işlevini bozan uyarılara yanıt olarak etkinleştirilmektedir. EIF2AK3 ismiyle de bilinen PERK'in N-terminal alanı ER

lumeninde Hsp70 ailesine ait bir şaperon olan bağlanma immünoglobulin proteini (BiP, HSPA5 ya da GRP78) ile kompleks halinde bulunmaktadır. PERK aktivasyonu, uyarın varlığında BiP'in kompleksten ayrılmasıyla gerçekleşmektedir (321-323). PERK'in sitozolde bulunan C-terminal bölgesi, kinaz alanını ve otofosforilasyon bölgelerini içermektedir ve hem eIF2 α kinazlarına hem de ER stres sensörü IRE1'e homoloji göstermektedir (288). PERK'in bu olağan dışı işlevi aracılığıyla, ISR'nin PERK/eIF2 α sinyal ekseninin UPR ile çakıştığı bildirilmiştir (271). PERK aktivasyonu, eIF2 α dışında, transkripsiyon faktörleri olan nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2) ve forkhead box protein O1'i (FOXO1) fosforile edebilirken, fosfatidik asit üretmek için diasilgliserolü (DAG) fosforile ederek bir lipit kinaz görevi de görmektedir (324). PERK ayrıca nükleer faktör kappa B inhibitörünün (I κ B α) transkripsiyonunu azaltarak ve böylece NF- κ B'yi aktive ederek otofajiye katkıda bulunabilmektedir (325). PERK'in önemi ilk olarak, resesif mutasyonlarının erken başlangıçlı diyabet ile karakterize edildiği Wolcott-Rallison Sendromu'na neden olmasıyla anlaşılmıştır (326). Kanserli bireylerde, tümör ilerlemesi sırasında PERK kinaz aktivasyonunu gösteren, fosforile edilmiş eIF2 α 'nın artmış bir seviyesi rapor edilmiştir (327). Yakın zamanlı bir çalışmada, PERK aracılı ISR ve ateroskleroz gelişimi arasındaki ilişki bir fare modellemesinde tanımlanmıştır (328). ISR sinyal yolağının uzaysal aktivitesinin incelendiği bir in-vivo fare modellemesinde de, kimyasallarla indüklenmiş hepatik fibrozun PERK aktivasyonu ile ilişkisi gösterilmiştir (329). Bazı virüsler için PERK kaynaklı otofajinin viral replikasyonda gerekli olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte birçok durumda PERK, viral replikasyonu inhibe eden etkilere sahiptir. PERK'in bu patojenlere karşı aktivasyonunun, virüs tipine veya enfeksiyon aşamasına bağlı olarak farklılık gösterebileceği belirtilmiştir (330).

2.2.4. GCN2

GCN2, ilk olarak mayada AA açlığının saptanması ve çözülmesinden sorumlu olduğu keşfedilen bir eIF2 α (EIF2AK4) kinazdır. Şu anda GCN2'nin, hipoksi, DNA hasarı, viral enfeksiyon ve ultraviyole (UV) radyasyon gibi farklı uyarıcı türlerini de saptayabildiği ve bunlara yanıt verebildiği kabul edilmektedir; ancak bu yanıtın hangi mekanizmalarca düzenlendiği bilinmemektedir. GCN2'nin moleküler yapısı diğer EIF2AK'lara göre daha karmaşıktır. Kinaz alanının C terminalinde yer alan histidil-tRNA sentetaza (HisRS) homolog bir bölgeye, yüksüz tRNA'nın bağlanması yoluyla

AA'dan yoksun hücrelerde aktive edilmektedir. GCN2'nin, küçük RNA transkriptleriyle etkileşime girmek için hücre çekirdeğinde de bulunabildiği gösterilmiştir. GCN2'nin, AA yetersizliği durumları sırasında artmış küçük RNA üretimini baskılamak için nükleolustaki polimeraz-III aracılı RNA transkripsiyonunu modüle ederek aşırı protein çevirisini engelleyebildiği çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (331-335). Crohn hastalığı (CD) hastalarının bağırsak mukozasında yapışkan-invazif *Escherichia coli*'nin (AIEC) anormal kolonizasyonunun ve ağırlaşan inflamasyonun, GCN2/eIF2 α /ATF4 sinyal eksenindeki bir bozuktan kaynaklı olabileceğini de bir başka çalışmada vurgulanmıştır (336).

2.2.5. HRI

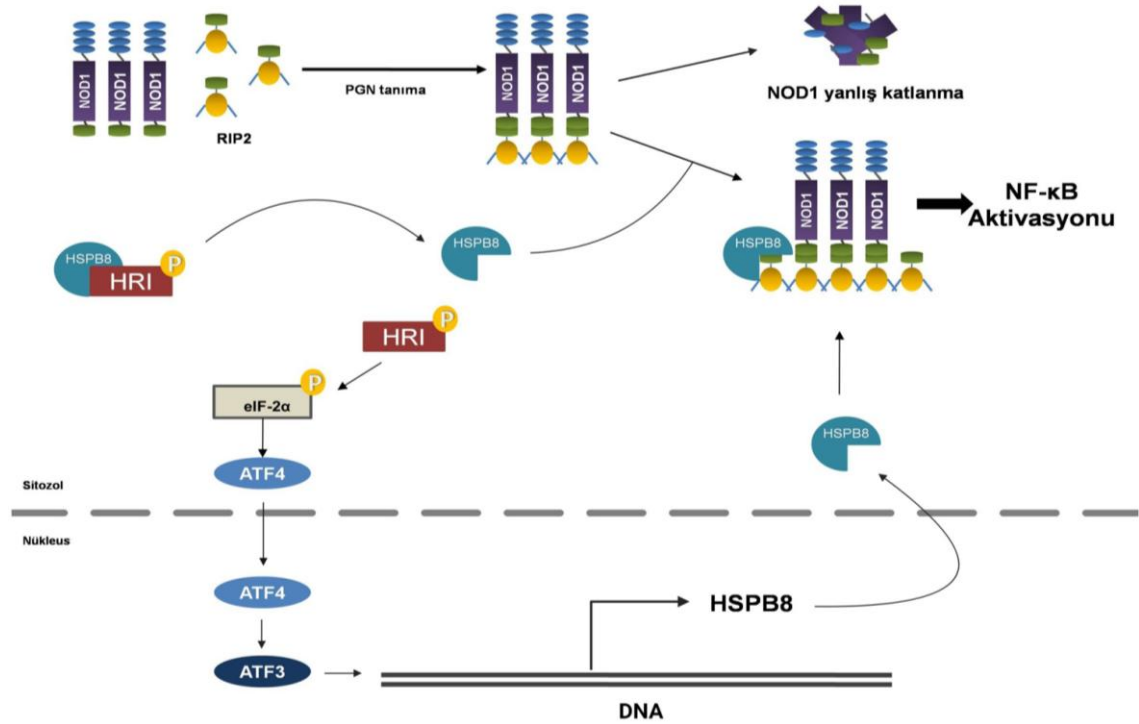
eIF2 α kinaz 1 (EIF2AK1) olarak da adlandırılan HRI, düşük hem (hemoglobinde bulunan bir demir-bağlı kofaktör) seviyelerini tespit edebilen ve retikülositlerin hayatta kalmasını artırabilen bir proteindir (315). HRI, hem'i bağlayan bir N-terminal alanına sahiptir. Hem seviyeleri düşük olduğunda, HRI dimerler otofosforilasyona uğrayarak HRI kinaz alanını aktive etmektedir; böylelikle eIF2 α -P ile global protein sentezinin inhibisyonuna katılmaktadır. HRI'nin eritroid hücrelerde özel bir role sahip olduğu düşünülse de, çeşitli hücre tiplerinde ve organlarda geniş çapta eksprese edildiği ve oksidatif/mitokondriyal stres, ısı şoku proteinleri (HSP70/90), arsenit ve sitozolik protein agregasyonu gibi birçok başka hücresel stres formuna yanıt verdiği farklı çalışmalarda gösterilmiştir (337-340). HRI, globin proteinlerinin aşırı sentezini azaltmak ve demir eksikliğinden kaynaklanan anemiyi iyileştirmek için çok önemlidir ve kırmızı kan hücresi (RBC) bozukluklarında da rol oynamaktadır (341). HRI^{-/-} fare modellemesinde, molekülün makrofajlarda yüksek oranda ifade edildiği ve HRI eksikliğinin makrofajların olgunlaşmasında bozukluğa neden olduğu tespit edilmiştir. TLR4 ve CD11b belirteçlerinin ifade analizi sonucunda, HRI'nin makrofaj aktivasyon reseptörlerini pozitif olarak düzenlediği gösterilmiş ve aktive makrofajlardan TLR4 aracılı pro-inflamatuar sitokin (IL-6,TNF- α) salgısına katıldığı düşünülmüştür. Stres kaynaklı HRI'nin, anemi ile ilişkili inflamasyonda potansiyel bir rolü olduğu ve enfeksiyon aracılı enflamasyon ile birlikte karsinogenez tedavisi için de yeni bir terapötik hedef olabileceği belirtilmiştir (342-344). Yapılan çalışmalar, bakteriyel enfeksiyon sırasında ISR aracılı inflamatuvar yanıtlar için HRI/eIF2 α ekseninin gerekliliğini göstermiştir (345-347). HRI sinyali, doğuştan gelen bağışıklık reseptörleri

(PRR) olan NOD1 ve NOD2 aracılı inflamatuvar yanıtlar için çok önemlidir. NOD1/NOD2 kaynaklı inflamasyonla HRI'nın ilişkisi IL-6 ve CD11+ makrofajlara ithafen, in-vivo olarak gösterilmiştir; ayrıca bu enfeksiyon modeli, meydana gelen inflamasyonun kısmen NOD1/NOD2 tarafından uyarıldığı bir model olarak tanımlanmıştır (348,349). NFkB yolağını aktive eden NOD1 ve NOD2 sinyalizasyonu, HRI/eIF2 α /HSPB8 döngüsünü gerektirmektedir. Hücre sitoplasmasında patojen peptidoglikanın (PGN) varlığında, NOD1 ve RIP2 bir sinyalizom kompleksi oluşturarak HSPB8'in HRI'den NOD1 sinyalizomlarına doğru yer değiştirmesine neden olmaktadır; bununla birlikte NF-kB aktivasyonuna yol açan konformasyonel değişikliklere uğramaktadır. Aynı zamanda, HSPB8'in HRI'den ayrılması, eIF2 α 'nın fosforilasyonuna ve sinyalleme için HSPB8 ekspresyonunu uyaran ATF4 ve ATF3'ün sentezini takiben *de novo* HSPB8 gen ifadesinin ortaya çıkmasıyla inflamasyon sürecine katılım sağlamaktadır (Şekil 2-6). Bakteriyel enfeksiyonlara karşı HRI eksikliği olan hücrelerde NOD1 sinyalizomlarının kontrol hücrelerine kıyasla daha az düzgün katlanmış olduğu ve HSPB8'in spesifik olarak HRI/eIF2 α /ATF4 sinyalizasyonuna bağımlı bir şekilde yukarı düzenlendiği keşfedilmiştir. HRI'nın, PRR sinyalizomlarının katlanmasını ve birleştirilmesini, adaptörlerinin in-vitro amiloid benzeri fibriller oluşturabilmesi özelliği (NOD1/2 için RIP2, TLR4/TLR3 için TRIF, RIG-I/MDA-5 için MAVS veya NLRP3/AIM2 için ASC) ile düzenleyebildiği gösterilmiştir. vISR'nin aracılık ettiği bu sonuçlar, ER katlanmamış stres yanıtı sinyallerinden PERK/HSPA5 yolağıyla benzerlik taşımaktadır ve bu yüzden HRI'nın, doğuştan gelen bağışıklık sinyalini kontrol eden sitosolik bir protein yanlış katlanma sensörü (cUPR) olabileceği ifade edilmiştir (345,350-353). Ayrıca nörodejeneratif hastalıklarda rol oynayan α -sükleinin agregasyonu HSPB8 ifadesi dahil olmak üzere aktive edilmiş HRI'ye bağımlı bir yanıt olarak gözlenmiştir (354). Viral enfeksiyonlarda HRI'nin rolü, yakın zamanlı çalışmalarda, balık homologları için rapor edilmiş ve HRI'nın balıklarda PKR'ye benzer bir işleve sahip olabileceği ileri sürülmüştür (355,356).

2.2.6. HSPB8

HSPB8 (ayrıca HSP22, H11, E2IG1 olarak da adlandırılır), çok çeşitli olumsuz fizyolojik ve çevresel koşullara yanıt olarak gen ifadesi uyarılabilen, küçük ısı şoku protein (sHSP) ailesinin bir üyesidir. HSPB8, yapısal esneklik ve plastisite ile

karakterize olan ve yapısal olarak düzensiz proteinler (IDP'ler) olarak adlandırılan bir grubun üyesidir (357). HSPB8'in, C-terminal alanının şaperon aktivitesi gösterdiği ve stres koşullarında yukarı düzenlendiği bilinmektedir (358). Direkt ya da indirekt olarak, RA'da apoptoz, ribonükleoprotein işleme, hücre farklılaşması ve proliferasyonu, karsinojeniz, kardiyak hücre hipertrofisi ve inflamatuvar sürecin düzenlenmesinde rol oynadığı belirtilmiştir (359-362). HSPB8'in en önemli rollerinden olarak, hücrede kümelenmiş proteinlerin birikmesini önlemesi ve katlanmamış proteinlerin proteolizinin düzenlenmesine katılması olduğu ifade edilmiştir (358). HSPB8'in nokta mutantlarının ifadesinin farklı nöromusküler hastalıkların gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca küçük moleküler kütleli oligomerleri oluşturma eğiliminde olduğu; biyolojik membranlar ve aralarında glikolitik enzimler ile farklı protein kinazlar bulunan birçok farklı protein ile etkileşime girebildiği gösterilmiştir (363). HRI'nın, şaperon destekli seçici otofajinin iki temel bileşeni olan HSPB8 ve kofaktörü B hücreli lenfoma-2 ilişkili atanojen 3 (BAG3) gen ifadesini düzenlediği ve doğal bağışıklık reseptör iskeletlerinin HRI'ya bağımlı kontrolünde HSPB8'in katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (364). Bununla birlikte, HSPB8'in bakteriyel infeksiyonlarda NOD-bağımlı sinyallemede anahtar HSP olduğu ve ISR kinazlarından HRI ile ilişkisi doğrulanmıştır (Şekil 2-6) (345).



Şekil 2-6. HRI/HSPB8 sinyal eksenini ve sitozolik NOD1 etkileşimi

Kaynak 345'ten uyarlanmıştır.

2.2.7. ATF4

ATF4, ATF/CREB alt ailesine ait temel bir lösün fermuar (bZip) transkripsiyon faktörüdür (365). Stres sinyalleri ile ATF4 aktivasyonuna, ISR sinyal yolağı aracılık etmektedir (296, 366-368). ATF4 gen ifadesi, hem transkripsiyonel hem de translasyonel mekanizmalar tarafından kontrol edilmekte ve bazı stresler molekülün transkripsiyonunu baskılayarak, hücresele seviyelerini azaltabilmektedir (369). Birkaç yıl önce ATF4 yolağının memelilerde mitokondriyal stres düzenlenmesindeki rolü tanımlanmıştır (370). Bununla birlikte ATF4, hücresele homeostazda yer alan genlerin ifadesini düzenlemesi dolayısıyla ISR'nin anahtar medyatörü olarak nitelenmiştir. Ayrıca, uzun süreli ATF4 aktivasyonu, hücre ölümü öncesi hedef gen ifadelerini de başlatabilmektedir. Bunun bir örneğı, Parkinson hastalığında görülmüştür. ATF4 aktivasyonu hastalık nörotoksinlerinin ve α -sinüklein kümelerinin neden olduğı nöronal ölümü desteklemiştir (371). ATF4'ün ISR yolağı aracılığıyla pro-tümorojenik etkisi de çeşitli çalışmalarla bildirilmiştir (372,373). Ek olarak, hücre içi patojenlere yanıtta NF- κ B aktivasyonu, önemli ölçüde HRI ile ilişkilidir. Ancak, bu transkripsiyon faktörü ile ilgili ISR yolağında, HSPB8'in örgü tanıma reseptörleri NOD1/2'ye bağlanması ve büyük inflamazom kompleksleri halinde birleşmesi her ne kadar HSPB8 şaperonunun otofosforile edilmiş HRI'dan ayrılması ile başlatılsa da, ATF4'ün aşağı akışta HSPB8 mRNA'sını transkripsiyonel olarak yukarı düzenlenmesi sayesinde tamamlanmaktadır (345). İnflamatuar yanıtta pro-inflamatuar sitokinlerden biri olan IL-6'nın da, ATF4 tarafından transkripsiyonel olarak yukarı düzenlendiğı ve bu nedenle doğrudan bir ISR hedef geni tarafından kodlandığı belirtilmiştir (374).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Kitler

- “High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, 4368814)”
- “Integrated DNA Technologies Primer (Sentebiolab)”
- “QuantiNova SYBR Green PCR Kit (Qiagen, 208054)”
- “RNeasy Mini Kit (Qiagen, 74106)”

3.1.2. Kullanılan Gereçler

- “Buzdolabı -80 °C (Thermo Scientific)”
- “Buzdolabı +4 °C / -20 °C (Beko)”
- “Buz Makinası (Cornelius)”
- “CCD Kameralı Jel Görüntüleme Sistemi (UVP)”
- “Çeker Ocak”
- “Distile Su Cihazı (Milipore)”
- “Elektroforez Cihazı”
- “Elektroforez Güç Kaynağı”
- “Hassas Terazî”
- “İnkübatör (Thermo Electron Corporation)”
- “Laminar Akışlı Steril Kabin (Nuanre)”
- “Mikrosantrifuj (Beckman Coulter)”
- “Otoklav”
- “PZR Cihazı (Techne TC-412, Eppendorf)”
- “Pipet Seti (Gilson)”
- “qRT-PZR cihazı (LightCycler, Roche Diagnostic)”
- “Santrifüj (Hettich/ Thermo/ Beckman Coulter)”
- “Soğuk Blok”
- “Spektrofotometre (Nanodrop – Thermo Scientific)”
- “Vorteks (Stuart)”

3.2. Yöntemler

3.2.1. Hasta ve Sağlıklı Kontrol Örnekleri

Bu çalışmada kullanılan hasta örnekleri (n=83) daha önceki bir araştırmadan elde edilmiş olup “İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı” tarafından sağlanmıştır (375). İnflamatuvar hastalık veya tekrarlayan oral ülser öyküsü olmayan sağlıklı kontroller (n=33) dahil edilmiştir. Çalışma protokolü “İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu” (24.10.2019, No.: 1221) tarafından onaylanmıştır. Tüm katılımcılara çalışma için yazılı bilgilendirilmiş onam formu açıklanarak, imzaları alınmıştır. Çalışma “İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Genetik Anabilim Dalı” laboratuvarlarında yapılmıştır.

3.2.2. Periferik kandan monosit ve lenfosit izolasyonu

Periferik kandan monosit ve lenfosit izolasyonu için aşağıdaki adımlar gerçekleştirilmiştir :

1. Behçet hastalığı tanısı konulan olguların periferik kanları EDTA'lı tüpe alındı.
2. Kan örneklerinden öncelikle fikol (Ficoll-Hypaque yoğunluğu=1,070g/ml) kullanılarak mononükleer hücreler ayrıştırıldı.
3. 10ml fikol 15ml'lik santrifüj tüpüne konuldu. Kan örnekleri ½ oranında PBS'le karıştırıldıktan sonra fikol üzerine yavaşça bir tabaka oluşturacak şekilde eklendi.
4. Ardından 400 g'de (~3000 rpm) 40 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda sırasıyla en altta eritrosit, üstünde fikol, mononükleer hücre tabakası ve en üstte serum tabakasına ayrıldı.
5. Ortadaki mononükleer hücre tabakası tranfer pipeti ile temiz tüpe alınarak, PBS ile 5ml'ye tamamlandı. 1:1 oranında PBS/sitrat ile Percoll (yoğunluğu=1,064 g/ml) karıştırıldı (1,49mM NaH₂PO₄, 9,15mM Na₂HPO₄, 139,97mM NaCl, 13mM C₆H₅Na₃O₇.2H₂O, pH=7,2).
6. 10ml perkol (percoll) 15ml'lik santrifüj tüpüne alınarak, üzerine yavaşça perkol ile karışmayacak şekilde mononükleer hücreler eklendi.
7. 35 dakika 400 g'de oda ısısında santrifüj edildi. Aradaki monosit hücre tabakası alındı.
8. PBS ile 5ml'ye tamamlandı ve 400g'de 15 dakika santrifüj edilerek üst sıvı atıldı.

3.2.3. Mikro boncuklarla monosit izolasyonu

Mikro boncuklarla monosit izolasyonu için aşağıdaki adımlar gerçekleştirilmiştir:

1. Fikol yöntemi ile ayrılan mononükleer hücreler CD3, CD7, CD16, CD19, CD56, CD123 ve Glycophorin A'ya karşı Biotinle işaretlenmiş monoklonal antikolarla inkübe edildi. Bu amaçla her 100 hücre için 10 µl FcR blocking reagent ve 10µl Biotin-antikor kokteyli eklenerek ve iyice karıştırıldıktan sonra 10 dakika +4°C'de inkübe edildi. 100 hücre için 30µl buffer ile 20ul anti-Biotin micro boncuk eklenerek, karıştırıldıktan sonra 5 dakika +4°C'de inkübe edildi. 1-2 ml buffer eklenerek hücreler 10 dakika 300xg'de santrifüj edildi.
2. Manyetik ayrıştırma: 500µl MS buffer ve 3ml LS buffer ile yıkanan kolonlara hücreler aktararak manyetik alanda boncuklarla işaretlenmemiş monositler izole edildi. Ayrılan monositlerin % saflığı akım sitometresinde anti-CD14-PE antikorla işaretlenerek saptandı.

3.2.4. RNA İzolasyonu

RNA izolasyonu için "RNeasy Mini Kit (Qiagen, 74106)" kullanılmış ve aşağıdaki adımlar gerçekleştirilmiştir:

1. Örneklerden izole edilen monosit hücreleri, 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne pipetlendi. 350 µl etanol üzerine eklendi, vortekslenerek 500 rpm'de 1-2 saniye santrifüj edildi.
2. Elde edilen karışım 700 µl spin kolonu tüpüne pipetlendi ve 1 dakika boyunca 8000 rpm'de santrifüj edildi. Spin kolonu yeni 2 ml'lik tüp içerisine yerleştirildi.
3. RNA spin kolonuna 350 µl RW1 tamponu eklenerek 1 dakika boyunca 8000 rpm'de santrifüj edildi.
4. 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpünde, 70 µl RDD tamponu üzerine 10 µl DNase I stok solüsyonu eklendi. Tüp mekanik (vurarak) olarak karıştırıldı ve 1-2 saniye santrifüj edildi.
5. İşlemler sonrası oluşan 80 µl inkübasyon karışımı, RNA spin kolonu membranına pipetlenerek 15 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.

6. RNA spin kolonuna tekrar 350 µl RW1 tamponu eklendi ve 8000 rpm'de santrifüj edildi. Spin kolonu yeni 2 ml'lik tüp içerisine aktarıldı.
7. RNA spin kolonuna 500 µl RW1 tamponu eklenerek 8000 rpm'de yeniden santrifüj edildi ve kolon yine yeni bir 2 ml'lik tüpe aktarıldı.
8. Başka bir RNA spin kolonuna 500 µl RPE tamponu eklendi ve 3 dakika boyunca 8000 rpm'de santrifüj edildi.
9. RNA spin kolonu yeni bir 2 ml'lik tüpe aktarıldı ve 1 dakika boyunca 8000 rpm'de santrifüj edildi.
10. Sonrasında RNA spin kolonu 1,5 ml'lik yeni bir tüpe aktarıldı. RNA spin kolon membranına 40 µl RPE tamponu eklenerek, 1 dakika boyunca 8000 rpm'de santrifüj edildi.
11. Dereceli elüsyon işlemleri sonrasında elde edilen ürün 5 dakika boyunca 65°C'de inkübe edilerek bekletmeden buz üzerine aktarıldı.
12. İzolasyonu gerçekleştirilen RNA örnekleri -80 °C'de saklandı.

3.2.5. RNA Miktarının ve Kalitesinin Ölçülmesi

Monositlerden izole edilmiş ve -80°C'de muhafaza edilmiş RNA örneklerinden, "NanoDrop 2000 (ThermoScientific)" spektrofotometre ile saflık ve konsantrasyonları ölçüldü. A260/280 nm dalga boylarında, RNA örneklerinin absorbans değerleri hesaplandı.

3.2.6. cDNA Sentezi

RNA örneklerinden cDNA sentezi için "High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems)" kullanıldı. Aşağıdaki adımlar gerçekleştirilmiştir:

1. Reaksiyon hacmi 30 µl olarak tasarlandı.
2. Örneklerin her biri, miktarı 20,8 µl olacak şekilde distile su (dH₂O) ile seyreltildi.
3. Daha sonra hazırlanan karışım, örneklere 9,2 µl olarak dağıtıldı (Tablo 3-1). Elde edilen ana karışım, vortekslendikten sonra mini spin santrifüje aktarıldı.

4. cDNA sentezi “PZR Cihazı (Techne TC-412)” ile 25 °C’de 10 dakika, 37 °C’de 120 dakika, 85 °C’de 5 saniye olmak üzere tek döngüde gerçekleştirildi ve örnekler -20 °C’de saklandı

Tablo 3-1. RNA örnekleri için reaksiyon karışımı

| Karışım | Hacim |
|----------------------|---------------|
| 10x RT Tampon | 3µl |
| dNTP | 1,2µl |
| Random primer | 3µl |
| RNaz inhibitör | 0,5µl |
| Reverse transkriptaz | 1,5µl |
| Toplam | 9,2 µl |

3.2.7. Primer Tasarımı

Hedef gen bölgelerinde kullanılan primerler, genomik DNA (gDNA) kontaminasyonunu önlemek için intron içerecek şekilde, “NCBI ve ENSEMBL” gen bankaları kullanılarak *Homo sapiens* için özel olarak tasarlandı. “NCBI primer designing tool” aracılığıyla forward (F) ve reverse (R) yönlü özgül primer adayları oluşturuldu. “NCBI Nucleotid-BLAST” hizalama aracı ile tasarlanan primerlerin özgüllüğü kontrol edildi. “Beacon Designer, Integrated DNA Oligo Analyzer, UCSC in silico PCR” programları kullanılarak primerlerin erime sıcaklığı (T_m), GC içeriği, katlanma düzeyleri (hairpin, self-dimer, hetero-dimer) incelendi ve adaylar arasından uygun primerler seçildi (Tablo 3-2).

Tablo 3-2. Hedef genler için primer çiftleri

| GEN | Primer yönü | 5'-Primer Dizisi-3' | Uzunluk (bç) | Ürün boyu (bç) |
|---------------|-------------|------------------------|--------------|----------------|
| eIF2 α | Forward | AGGATGGGACCTTGTTTGCC | 20 bp | 137 bp |
| | Reverse | TGCCAGGACAGTATTTTTGGGT | 22 bp | |
| PERK | Forward | ATGAGACAGAGTTGCGACCG | 20 bp | 141 bp |
| | Reverse | TGGATGACACCAAGGAACCG | 20 bp | |
| HRI | Forward | AAGGAACTCATCGCAGAGACCA | 22 bp | 183 bp |
| | Reverse | TCCTTTCCGTCATCCCTCACC | 21 bp | |
| HSPB8 | Forward | CAGCAAGAAGGTGGCATTGTT | 21 bp | 96 bp |
| | Reverse | TGGGGAAAGTGAGGCAAATACT | 22 bp | |
| ATF4 | Forward | GGCTGTGGATGGGTGGTCA | 20 bp | 116 bp |
| | Reverse | CCAACAGGGCATCCAAGTCG | 20 bp | |

3.2.8. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PZR)

Gen ifadesi araştırmalarında qRT-PZR veri normalizasyonu için kullanılan housekeeping genlerin (HKG) psödogen amplifikasyonundan etkilenmemesi, analiz sonuçlarının güvenilirliği için elzemdir (376). Bu yüzden çalışma için standart kontrol geni olarak, psödogen içermeyen β -2 mikroglobulin (B2M) seçildi ve kullanıldı.

RNA örneklerinden elde edilen cDNA'larda qRT-PZR "LightCycler 480" cihazı ve "QuantiNova SYBR Green PCR Kit"i kullanılarak, eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8 ve ATF4 genlerinin ifade düzeyleri belirlendi. qRT-PCR reaksiyon karışımı her bir gen ve örnek için; 5 μ l SYBR Green mastermix, 1 μ l dH₂O, 1 μ l primer F, 1 μ l primer R içeriğiyle hazırlandı. Reaksiyon karışımı vorteksledikten sonra, soğuk blok üzerindeki 96 kuyuluk PZR plaklarda, standart kontrol ile her gen ve örnek senkronize çalışıldı. Standart kontroller, seri dilusyonlar şeklinde hazırlandı Her kuyuya önce 8 μ l reaksiyon karışımı, sonra 2 μ l cDNA eklenerek kuyu hacmi 10 μ l'ye tamamlandı. Negatif kontrol

olarak her PZR reaksiyonu için cDNA yerine su kullanıldı. Kapatılan plaklar santrifüjlendi. qRT-PZR protokolü Tablo 3-3.'te gösterildiği gibi gerçekleştirildi.

Tablo 3-3. Gerçek zamanlı kantitatif PZR koşulları

| Program adı | PRE- İNKÜBASY ON | AMPLİFİKASYON | | ERİME EĞRİSİ | | | SOĞUTMA |
|--------------------------------|------------------------|---------------|----------|----------------|----------|----------|----------|
| Analiz modu | - | Kantifikasyon | | Erime Eğrileri | | | - |
| Döngü sayısı | 1 | 40 | | 1 | | | 1 |
| Hedef sıcaklık (°C) | 95 | 95 | 60 | 95 | 65 | 97 | 4 |
| Süre (s) | 00:02:00 | 00:00:05 | 00:00:10 | 00:00:05 | 00:01:00 | 00:00:00 | 00:00:30 |
| Sıcaklık artış oranı (°C/s) | 4,40 | 4,40 | 2,20 | 4,40 | 2,20 | 0,11 | 2,20 |
| Okuma modu | - | - | Tek | - | - | Sürekli | - |

Hedef genlerin ifade değerlerinin normalizasyonu, Delta Delta Ct ($\Delta\Delta Ct$) hesaplaması ile gerçekleştirildi. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarına ait örneklerin Ct değerleri, qRT-PZR “LightCycler 480” cihazından elde edildi. Elde edilen verilerde gen ifadelerinin nispi (rölatif) miktarının belirlenmesi için $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanıldı. Hedef gen Ct değerleri bu yöntemle B2M ile normalize edildi. Normalize değerler kontrol grupları ile karşılaştırılarak kat değişim (fold change) değerleri bulundu.

$\Delta\Delta Ct$ yönteminde aşağıdaki adımlar gerçekleştirildi (377):

1. Hem hasta hem de kontroller için ΔCt değerleri elde edildi.

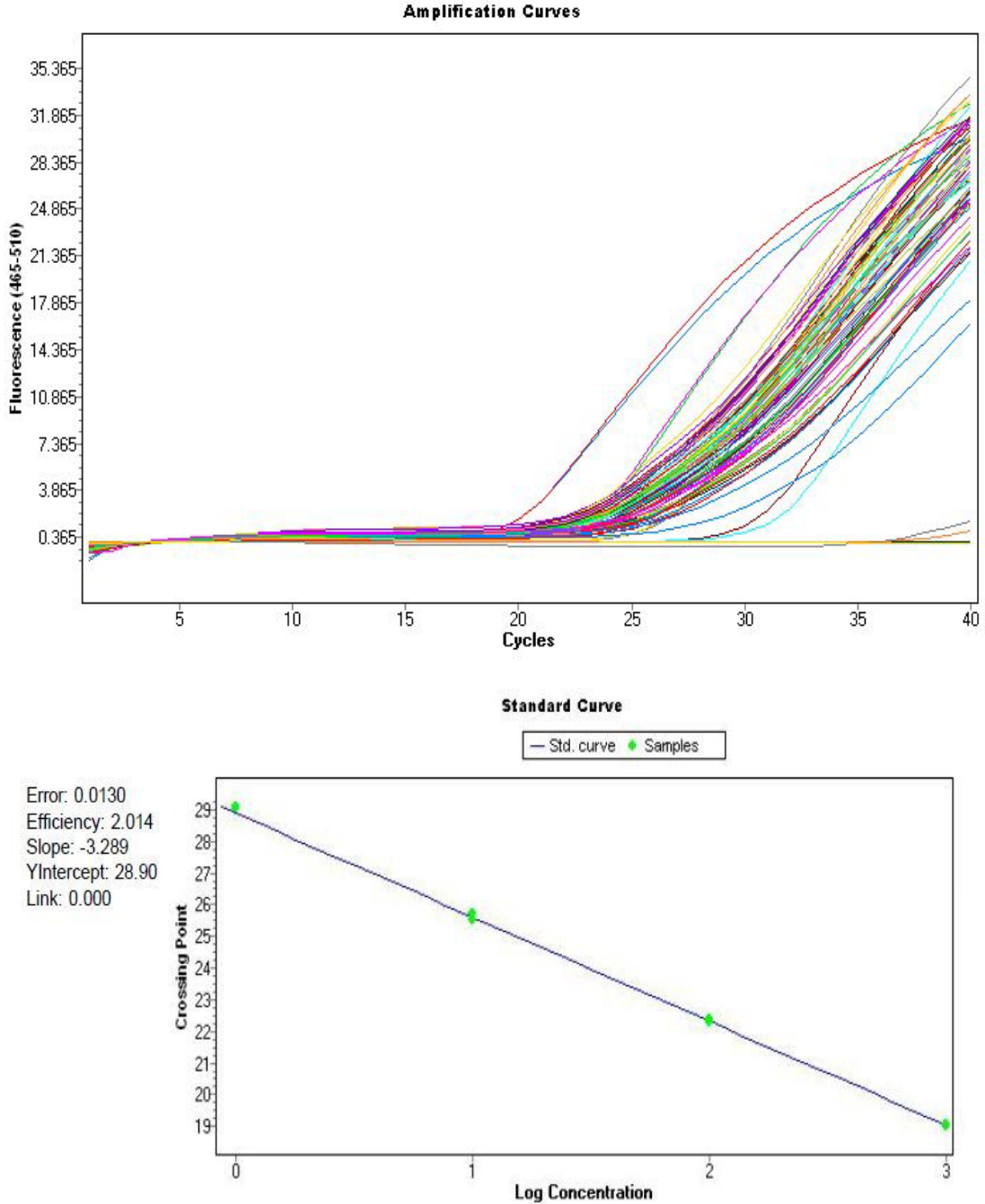
$$\Delta Ct = Ct_{\text{hedef gen}} - Ct_{\text{referans gen}}$$

2. $\Delta\Delta Ct$ değerleri elde edildi.

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{hasta}} - \Delta Ct_{\text{kontrol}}$$

3. Kat değişim ifadesi ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) değerleri elde edildi.

Hastaların eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8 ve ATF4 gen ifade değerleri belirlendi ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldı. Hedef genler ile referans (B2M) gene ait amplifikasyon eğrileri ve referans gene ait standart eğri Şekil 3-1’de verilmiştir.



Şekil 3-1. Hasta ve kontrol örneklerine ait amplifikasyon eğrileri ve standart eğri

3.3. İstatiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler GraphPad Prism 8.0.2 istatistik programı ile analiz edildi. Her gen ve örnek için hesaplanan $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerlerinin normal/lognormal dağılım karakterizasyonu için, Gaussian, Anderson-Darling, D'Agostino-Pearson, Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov normallik sınamaları yapıldı. Verilerin karşılaştırmasında, non-parametrik test yöntemlerinden Mann Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$ değeri kabul edildi. Analiz sonuçları tablo ve grafik halinde gösterilmiştir.

4. BULGULAR

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Örnek toplanması sırasında "Moleküler Araştırmalar İçin Bilgilendirilmiş Olur Formu" alınmış olan BH tanısı konulmuş hastalardan elde edilen kan ve eklem sıvısı ile sağlıklı kontrollerden elde edilen kandan izole edilen RNA örnekleri kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen 83 BH hastasında eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8 ve ATF4 genlerinin ifade düzeyleri analiz edilmiştir. Hastaların ~%37,35'si (n=31) kadın, ~%62,65'ü (n=52) erkektir (Tablo 4-1).

Tablo 4-1. Behçet Hastalığı olan hastaların klinik özellikleri

| | n=83 | % |
|---------------------------------------|-------------|--------------|
| Tekrarlayan oral ülserasyonlar | 83 | 100 |
| Genital ülserasyon | 61 | 73,5 |
| Folikülit | 76 | 91,6 |
| Eritema nodosum | 38 | 45,8 |
| Deri lezyonu | 76 | 91,6 |
| Artrit | 44 | 53 |
| Paterji (n=68) | 59 | 71,1 |
| Uveit | 31 | 37,3 |
| Vaskülit | 27 | 32,5 |
| Arteriyel | 4 | 4,8 |
| Venöz | 18 | 21,6 |
| Arteriyel ve venöz | 5 | 6 |
| Nörolojik tutulum | 6 | 7,2 |
| Vasküler | 4 | 4,8 |
| Parenkimal | 2 | 2,4 |
| Bağırsak tutulumu | 1 | 1,2 |
| Belirtilerin şiddeti | | |
| Hafif | 43 | 51,8 |
| Orta | 17 | 20,5 |
| Ciddi | 24 | 28,9 |
| Aile Geçmişi | | |
| Behçet Hastalığı | 11 | 13,3 |
| Tekrarlayan oral ülserasyonlar | 49 | 59 |
| Cinsiyet | | |
| Erkek | 52 | 62,65 |
| Kadın | 31 | 37,35 |

Kan örneklerinden elde edilen eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8 ve ATF4 genlerinin ifade değerleri normal dağılıma uymadığı için parametrik olmayan *Mann-Whitney U* testi ile analiz yapılmıştır. Hasta (n=83) ve sağlıklı kontroller (n=33) arasında cinsiyetten bağımsız olarak hedef genlerin tümünde anlamlı değişiklikler tespit edilmiştir (sırasıyla, $p<0,0001$; $p=0,0222$; $p=0,0097$; $p<0,0001$; $p<0,0001$) (şekil 4-1).

eIF2 α gen ifadesinin Mann-Whitney U testi analiz verileri Tablo 4-2’de gösterilmiştir.

Tablo 4-2. eIF2 α gen ifadesi analiz verileri

| eIF2 α | Sayı (N) | En az (min) | En çok (max) | Ortalama | Std. sapma \pm | Std. Ort. Hata \pm | Ortanca (median) | P değeri (anlamlılık) |
|----------------|----------|-------------|--------------|----------|------------------|----------------------|------------------|-----------------------|
| Kontrol | 33 | 0,2026 | 1,940 | 1,113 | 0,4493 | 0,07821 | 1,122 | <0,0001 |
| Hasta | 83 | 0,002717 | 3,241 | 0,6906 | 0,8159 | 0,08955 | 0,2654 | |

PERK gen ifadesinin Mann-Whitney U testi analiz verileri Tablo 4-3’te gösterilmiştir.

Tablo 4-3. PERK gen ifadesi analiz verileri

| PERK | Sayı (N) | En az (min) | En çok (max) | Ortalama | Std. sapma \pm | Std. Ort. Hata \pm | Ortanca (median) | P değeri (anlamlılık) |
|----------------|----------|-------------|--------------|----------|------------------|----------------------|------------------|-----------------------|
| Kontrol | 33 | 0,1205 | 3,751 | 1,291 | 0,8812 | 0,1534 | 1,085 | 0,0222 |
| Hasta | 83 | 0,003819 | 13,24 | 2,181 | 2,241 | 0,2460 | 1,588 | |

HRI gen ifadesinin Mann-Whitney U testi analiz verileri Tablo 4-4'te gösterilmiştir.

Tablo 4-4. HRI gen ifadesi analiz verileri

| HRI | Sayı (N) | En az (min) | En çok (max) | Ortalama | Std. sapma \pm | Std. Ort. Hata\pm | Ortanca (median) | P değeri (anlamlılık) |
|----------------|-----------------|--------------------|---------------------|-----------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------|------------------------------|
| Kontrol | 33 | 0,09695 | 20,30 | 3,347 | 4,811 | 0,8376 | 0,9096 | 0,0097 |
| Hasta | 83 | 0,004405 | 106,4 | 8,173 | 16,99 | 1,865 | 2,400 | |

HSPB8 gen ifadesinin Mann-Whitney U testi analiz verileri Tablo 4-5'te gösterilmiştir.

Tablo 4-5. HSPB8 gen ifadesi analiz verileri

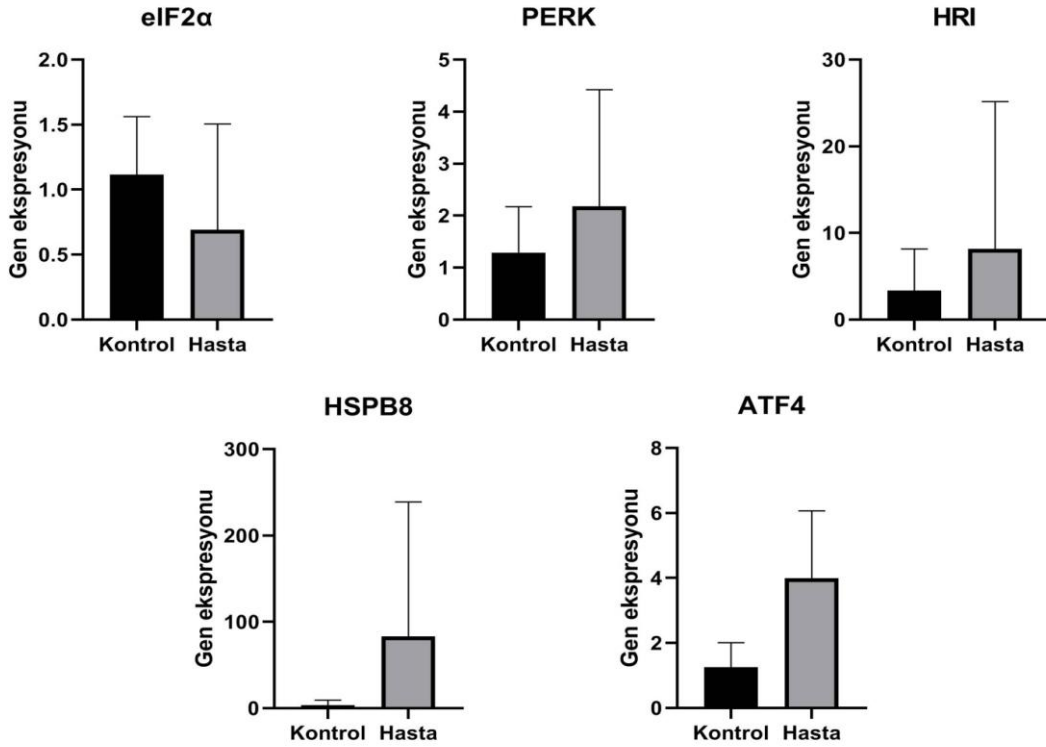
| HSPB8 | Sayı (N) | En az (min) | En çok (max) | Ortalama | Std. sapma \pm | Std. Ort. Hata\pm | Ortanca (median) | P değeri (anlamlılık) |
|----------------|-----------------|--------------------|---------------------|-----------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------|------------------------------|
| Kontrol | 33 | 0,1630 | 19,87 | 3,498 | 5,839 | 1,017 | 0,5009 | <0,0001 |
| Hasta | 83 | 0,08856 | 893,1 | 83,08 | 155,7 | 17,09 | 24,30 | |

ATF4 gen ifadesinin Mann-Whitney U testi analiz verileri Tablo 4-6'da gösterilmiştir.

Tablo 4-6. ATF4 gen ifade analiz verileri

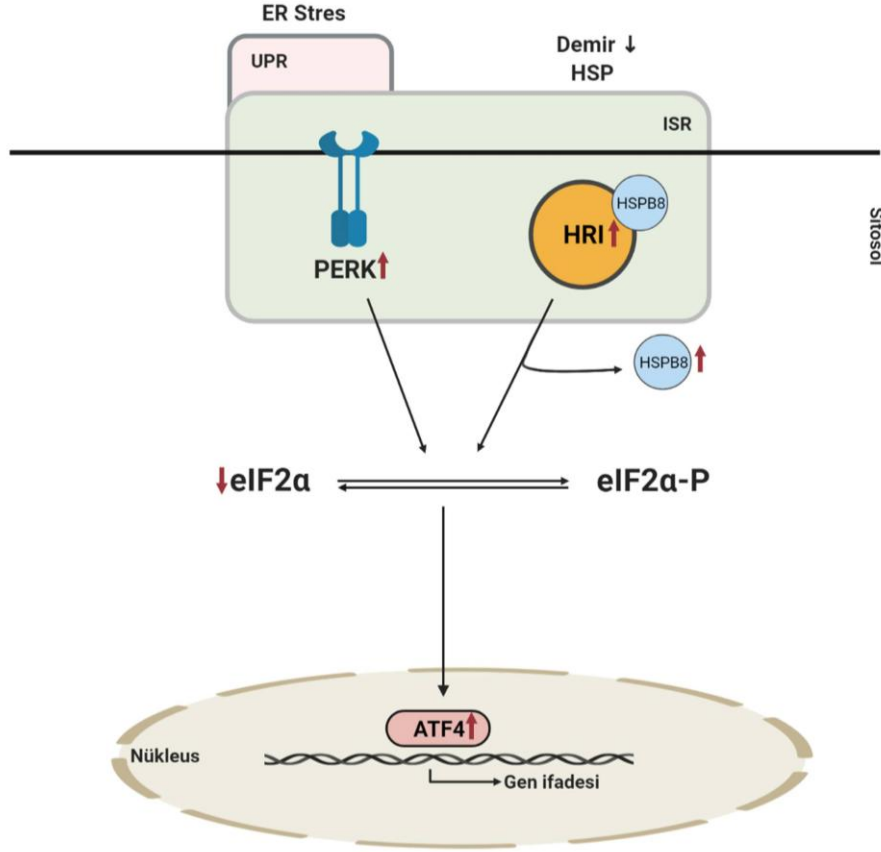
| ATF4 | Sayı (N) | En az (min) | En çok (max) | Ortalama | Std. sapma ± | Std. Ort. Hata± | Ortanca (median) | P değeri (anlamlılık) |
|----------------|----------|-------------|--------------|----------|--------------|-----------------|------------------|-----------------------|
| Kontrol | 33 | 0,2016 | 2,789 | 1,247 | 0,7608 | 0,1324 | 1,094 | <0,0001 |
| Hasta | 83 | 0,5508 | 9,511 | 3,989 | 2,081 | 0,2284 | 3,604 | |

Hedef genlerin standart sapma ile birlikte rölatif ifade seviyeleri Şekil 4-1'de gösterilmiştir.



Şekil 4-1. Kan örneklerindeki hedef gen ifadelerinin grafik özeti

Hedef gen ifadelerindeki değişiklikler ISR sinyal yolağı üzerinde Şekil 4-2’de gösterilmiştir.

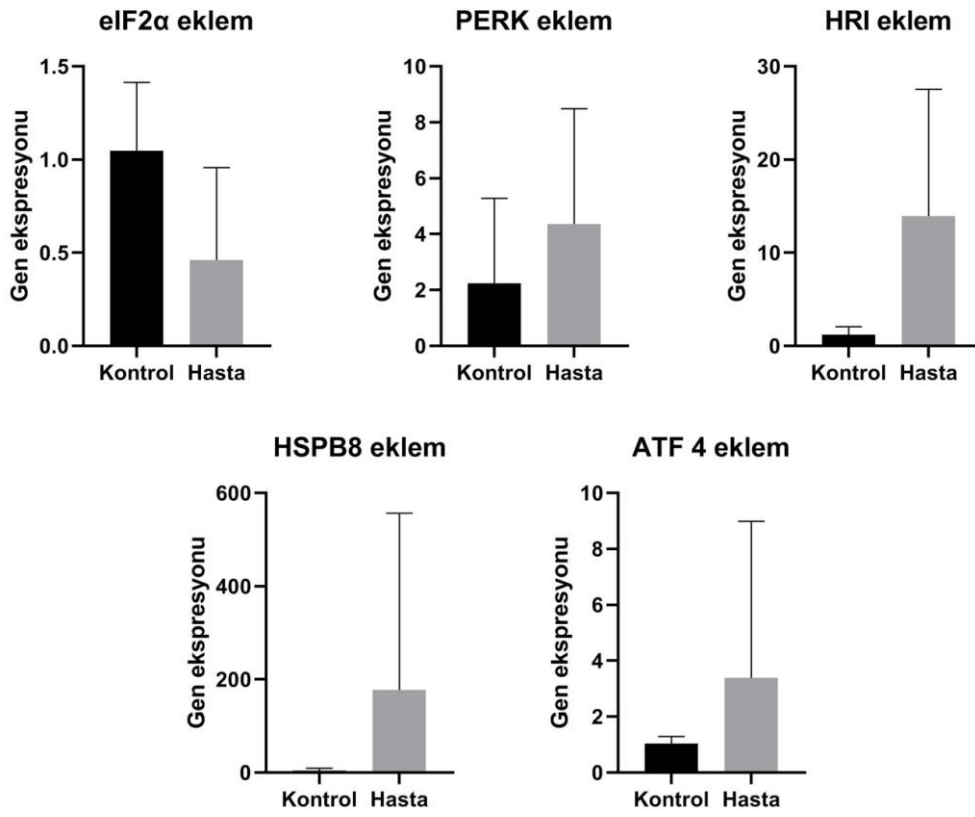


Şekil 4-2. Behçet Hastalığı tanısı konmuş hasta örneklerinde hedef gen ifadelerindeki değişiklikler

Eklem sıvısı örneklerinde eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8 ve ATF4 genlerinin ifade değerleri normal dağılıma uymadığı için parametrik olmayan *Mann-Whitney U* testi ile analiz yapılmıştır. Eklem sıvısı alınan hastalar (n=5) ile rastgele seçilmiş sağlıklı kontroller (n=5) arasında cinsiyetten bağımsız olarak hedef genlerin tümünde anlamlı değişiklikler tespit edilememiştir ($p=0,0952$, $p=0,2222$, $p=0,1508$, $p=0,5873$, $p>0,9999$). Hedef genlerin analiz sonuçları Tablo 4-7’de gösterilmiştir. Gen ifadelerinin grafik özeti Şekil 4-2’de verilmiştir.

Tablo 4-7. Hedef genlerin eklem örneklerindeki gen ifadesi analiz verileri

| Genler | Örnek | Sayı (N) | En az (min) | En çok (max) | Ortalama | Std. sapma \pm | Std. Ort. Hata \pm | Ortanca (median) | P değeri (anlamlılık) |
|---------------|---------|----------|-------------|--------------|----------|------------------|----------------------|------------------|-----------------------|
| eIF2 α | Kontrol | 5 | 0,7100 | 1,670 | 1,048 | 0,3668 | 0,1640 | 0,9400 | 0,0952 |
| | Hasta | 5 | 0,06000 | 1,310 | 0,4620 | 0,4947 | 0,2213 | 0,2900 | |
| PERK | Kontrol | 5 | 0,2400 | 7,450 | 2,236 | 3,041 | 1,360 | 0,8200 | 0,2222 |
| | Hasta | 5 | 0,7600 | 9,900 | 4,362 | 4,127 | 1,846 | 2,530 | |
| HRI | Kontrol | 5 | 0,7000 | 2,770 | 1,176 | 0,8947 | 0,4001 | 0,7700 | 0,1508 |
| | Hasta | 5 | 0,1000 | 34,73 | 13,94 | 13,60 | 6,082 | 14,10 | |
| HSPB8 | Kontrol | 5 | 0,1500 | 11,89 | 3,838 | 5,264 | 2,354 | 0,3700 | 0,5873 |
| | Hasta | 5 | 0,1500 | 856,3 | 177,2 | 379,7 | 169,8 | 11,49 | |
| ATF4 | Kontrol | 5 | 0,6600 | 1,310 | 1,028 | 0,2630 | 0,1176 | 1,000 | >0,9999 |
| | Hasta | 5 | 0,6400 | 13,40 | 3,384 | 5,607 | 2,508 | 0,8300 | |



Şekil 4-3. Eklem sıvısı örneklerindeki hedef gen ifadelerinin grafik özeti

5. TARTIŞMA

Behçet Hastalığı (BH), ilk kez 1937 yılında, Türk dermatoloğu Dr. Hulusi Behçet tarafından, tekrarlayan oral ve genital ülserlerle birlikte görülen hipopyon üveit klinik bulguları ile karakterize, yeni bir hastalık olarak tanımlanmıştır (3). Tıp dünyası, tam 10 yıl sonra, 1947 yılında Cenevre'de düzenlenen Uluslararası Dermatoloji Kongresi'nde Dr. Hulusi Behçet'in gözlemleri, yeni bir hastalık için patognomonik (karakteristik) olarak kabul edilmiştir (94). BH'nin, ayırıcı bir hastalık belirtisi veya rutin yapılan laboratuvar testlerinde hastalığa işaret edebilen bir belirteç bulunmaması dolayısıyla belirli klinik bulguların birlikteliğine göre tanısı konulmaktadır (8).

BH, coğrafi özellikler, nükslerin sıklığı ve şiddeti, hastalığın seyri, farklı organ tutulumları ve tedavilere verilen yanıt açısından hastalar arasında heterojenliğe sahip karmaşık bir hastalıktır. BH'nin etyopatogenezi tam olarak bilinmemektedir; ancak genetik faktörlerle birlikte çeşitli etmenlerin farklı mekanizmalarla etkileşimlerini içeren multifaktöryel bir inflamatuvar hastalık olduğu düşünülmektedir (30,102). Antik "İpek Yolu" boyunca dağılım gösteren BH'nin en sık görüldüğü ülke Türkiye'dir. Coğrafi dağılımdaki çeşitlilik, İpek Yolu boyunca genel popülasyonda %20-%25 ve BH hastalarında %50-%80 arasında değişen HLA-B51'in dağılımı ile yakından ilişkilidir (14,16). Ailesel kümelenme, BH'nin bir diğer önemli epidemiyolojik özelliğidir. Türk BH popülasyonunda bildirilen yüksek kardeş rekürrensi risk oranı, ailesel kümelenmeyi belirlemek için sıklıkla bir gösterge olarak kullanılmaktadır (17,27,28).

BH'de genetik yakınlıkla ilgili en iyi bilinen molekül olan HLA-B51, MHC sınıf I bölgesinde bulunmaktadır; ayrıca hastalığın tipik fenotipinden de sorumludur (44,51). HLA-B51, yavaş katlanan HLA moleküllerinden biridir; bununla birlikte ER'de yanlış katlanması, ER strese ve daha sonrasında UPR oluşumuyla inflamatuvar yolların aktive olması sonucunu da beraberinde getirmektedir (28,58). HLA-B51'in tek başına varlığı, BH ile ilgili genetik ve klinik çerçeveyi yalnızca kısmen açıklayabilmektedir. BH'nin etyopatogenezinde HLA-B51 katılımının rolü ile ilgili en olası model ERAP1 ve HLA-B51 birlikteliğine dayalı bir genetik yakınlığın olduğu yönündedir (69,85). Büyük ölçekli GWAS çalışmalarında belirlenen BH ile ilişkili lokuslara ait fonksiyonel genetik analiz, ilgili genleri, IFN- γ üretiminin yukarı düzenlenmesi, lenfosit aracılı bağışıklık yanıtın düzenlenmesi, IL-12'ye yanıt ve

JAK/STAT sinyalizasyonu, sitoksin reseptörleri arasındaki etkileşimler, doğal bağışıklık yanıtın düzenlenmesi, lökosit aktivasyonu/otofaji/IL-12 düzenlenmesi ve kemotaksisdeki etkilerine göre sınıflandırmıştır. Bu sınıflandırma BH'nın genetik faktörleri ile ilgili karmaşıklığı ayrıntıları ile göz önüne koymaktadır (92). BH gelişimini tetikleyici etmenler genetik yatkınlık kadar önem arz etmektedir. Bu etmenler, genel olarak infeksiyöz ajanlar, HSP, moleküler mimik proteinler olarak ele alınmaktadır; ayrıca bunların genetik etmenlerle çapraz reaksiyona girmesi sonucu bir bozulmuş bir bağışıklık yanıtına yol açabileceği hipotezi günümüzde de geçerliliğini korumaktadır (30,69,93). BH ilişkili genlerle ilgili ağ analizi çalışmaları, bu genleri düzenleyen epigenetik faktörlerin varlığını da göstermektedir (125). BH etyopatogenezindeki çözülmemiş denklemler, varsayılandan çok daha kompleks bir hastalık olduğunu göstermektedir. Doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık yanıtlarındaki değişiklikler, BH'de hastalık sürecini tetikleyebilir ve bu, ilgili faktörlerin karmaşık bir etkileşimine işaret etmektedir (47).

Entegre stres yanıtı (ISR), ökaryotik hücrelerde stres oluşturan uyarılara karşı hücreSEL koruma amaçlı devreye giren evrimsel olarak korunmuş bir sinyal kaskadıdır (271). ISR aktivasyonu, çeşitli kinazlar tarafından ökaryotik translasyon başlatma faktörü 2 alfa (eIF2 α) fosforilasyonunu takiben, transkripsiyon faktörü 4 (ATF4) gibi koruyucu proteinlerin translasyonunun seçici olarak yukarı düzenlenmesi, buna karşın global translasyonun azatılması ile sonuçlanmaktadır (266). Protein kinaz R (PKR), Genel kontrol baskılanamaz 2 (GCN2), PKR-benzeri endoplazmik retikulum kinaz (PERK), ve Hem düzenleyici inhibitör (HRI), bilinen ISR kinazlarıdır (269). PKR, viral çift sarmallı RNA'nın (dsRNA) tespiti; GCN2, serbest aminoasitleri (AA) içermeyen hücrelerde biriken, yüklenmemiş tRNA'ların algılanması; PERK, ER stresi olarak bilinen ER'de yanlış katlanmış protein birikiminin tanınması; HRI, sitozolik proteotoksisite genel bir tetikleyici olmasına rağmen demir eksikliği, oksidatif stres ve ısı şoku gibi çeşitli streslerin tespitine yanıt olarak eIF2 α 'yı fosforile etmektedir (268). Birkaç kanıt dizisi, ISR'nin hücrenin doğuştan gelen bağışıklık yanıtına yakın ilişkisini tanımlamıştır. Ek olarak, düzensiz ISR sinyalini bilişsel bozukluklar, nörodejenerasyon, kanser, diyabet ve metabolik bozukluklar dahil olmak üzere karmaşık hastalıkların patogenezinde araştırılmıştır (266).

Bu bilgiler ışığında bir ilke imza atarak, çalışmamızda; BH patogenezinde düzenleyici bir sinyal kaskadı olarak ISR'nin rolünü tanımlamak için, sinyalizasyonu başlatan kinazlardan olan PERK ve şaperonu HSPB8 ile birlikte HRI; ayrıca aşağı akışta eIF2 α ve fosforilasyonu takiben ATF4 genlerindeki ifade değişimlerine odaklandık. ISR'yi bütün bir organizma seviyesinde inceleyen bir in-vivo model olmamasından dolayı bu yolağın BH patogenezindeki rolünü ve olası bir biyobelirteç veya tedavi yaklaşımı potansiyelini, hedeflenen genlerin ifade düzeyleri aracılığıyla araştırdık.

Projemiz kapsamında BH tanısı konulmuş 83 hasta ve 33 sağlıklı kontrolde eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8 ve ATF4 gen ifadeleri aracılığıyla ISR'nin rolü gösterilmiştir. Hastalardan alınan kan ve eklem sıvısı örneklerinin sağlıklı kontrolere ait kan örnekleri ile karşılaştırmasına dayalı çalışmamızda, ISR sinyal kaskadının PERK ve HRI aracılı kolları ile BH arasında anlamlı bir ilişki kurulmuştur.

eIF2 α , ökaryotik başlatma faktörü 2'nin (eIF2) alt birimlerinden biridir ve translasyon kontrolünde görev almaktadır (268). Çeşitli uyanlarla oluşan hücrel strese ISR kinazları tarafından fosforile edilen eIF2 α , genel translasyonun geçici olarak duraklatılmasına ve seçici olarak da ATF4 gibi bazı transkripsiyon faktörlerinin gen ifadesinin yukarı düzenlenmesine neden olmaktadır. eIF2 α , GDP/GTP değişimini inhibe eden eIF2B ile üretken olmayan bir kompleks oluşturmaktadır; bununla birlikte bu kompleksten geri dönüşemeyen eIF2 α seviyeleri azalırken, fosforile eIF2 α seviyeleri artmaktadır. eIF2 α fosforilasyonunun düzensizliği ile çeşitli hastalık patolojileri arasında nedensel bir ilişkisi kuran çalışmalar bulunmaktadır (266,285). Ancak şimdiye kadar BH hastalarında eIF2 α gen ifadesindeki değişiklikler araştırılmamıştır. Çalışmamızda hasta grubuna ait kan örneklerinde sağlıklı kontrolere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmış eIF2 α gen ifadesi saptanmıştır ($p < 0,0001$). Sonuçlarımız, BH'da çeşitli kinazlarla eIF2 α fosforilasyonunu takiben, azalan eIF2 α gen ifadesi ile ISR yolağının devreye girdiğini göstermiştir.

BH ekseninde ISR sinyalizasyonunda hedeflediğimiz bir diğer molekül olan PERK, ER strese de UPR aktivasyonuna neden olmakta ve UPR sinyal yolağını inositol gerektiren enzim 1 (IRE1) ve ATF6 ile birlikte başlatmaktadır (58,288). Yanlış ya da yavaş katlanmış proteinleri tanıyarak UPR'de rol oynayan PERK, aynı zamanda ISR yolağının

kinazlarından biridir ve PERK/eIF2 α /HSPA5 sinyal eksenini ile her iki yanıtın oluşumuna katılmaktadır (323,345). HLA-B51, BH ile ilişkisi en iyi bilinen moleküldür; ayrıca HLA-B51'in yapısal analizleri ERAP1'in de dahil olduğu peptidomlarda gevşek affinite gösteren bölgeler tanımlamıştır (59,85). Bu yapısal organizasyonun, HLA-B51'in yanlış ya da yavaş katlanmasına neden olabileceği ve hastalık patogeneğinde rol oynayabileceği hipoteziyle, çalışmamızda BH hastalarında PERK ifadesindeki değişimler incelenmiştir. Projemizde, araştırma grubumuzda istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış PERK ifadesi olduğu gösterilmiştir ($p=0,0222$). Elde edilen sonuçlar, ISR'nin PERK aracılı aktivasyonuna işaret etmektedir.

Çalışmamıza dahil ettiğimiz bir diğer gen olan HRI, düşük hem seviyelerini tespit edebilmesinin yanı sıra oksidatif stres, denatüre sitoplazmik proteinler ve ısı şoku gibi çeşitli uyarılar tarafından da aktive edilebilmektedir (271,315,337). HRI/eIF2 α /HSPB8 sinyal ekseninin, işlevsel olarak PERK/eIF2 α /HSPA5 sinyal eksenini ile homoloji gösterdiğine işaret eden çalışmalar, HRI'nın doğal bağışıklıkta NOD1 ve NOD2 aracılı inflamatuvar yanıtlar için önemi belirtilmiş ve doğal bağışıklık sinyali için gerekli olan yeni bir sitozolik katlanmamış protein yanıtı (cUPR) olabileceğini öne sürmüştür (345,353,364). Projemizin ISR ve doğal bağışıklık sinyalinde bir kavşak noktası olarak gördüğümüz HRI ile ilgili kısmında, BH hastalarında hedef gen ifadesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı bulunmuştur ($p=0,0097$). Çalışmamız, HRI'nın BH hastalarındaki gen ifadesini inceleyen ilk çalışmadır; bununla birlikte sonuçlarımız, HRI aracılı ISR yolağının BH'deki rolü açısından önemini göstermiştir.

Çalışmamızda hedeflediğimiz diğer bir gen olan HSPB8, çeşitli uyarılar varlığında HRI'dan ayrılarak aktive olan ve ISR aşağı akışında ATF4 tarafından da düzenlenen bir HRI şaperonudur (345,354,364). Araştırmamıza katılan hasta olgularında sağlıklı kontrollere göre HSBP8 gen ifadesinin arttığı ve bu sonucun istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir ($p<0,0001$). Bununla birlikte BH hasta grubundaki standart sapma'nın (*std. sapma* $\pm 155,7$) doğal bağışıklıkla ilgili heterojen faktörlere bağlı olarak şekillendiği düşünmekteyiz. BH hasta grubundaki olguların bazılarında HSPB8 ifadesinin diğer hastalara kıyasla çok yüksek seviyelerde ifade edilmesi, bu hastalarda

farklı yollarla uyarılan aktif bir bağışıklık yanıtına işaret ediyor olabilir kanaatindeyiz.

ATF4, çalışmamızda ISR sinyal yolağının aşağı akışında son olarak hedeflediğimiz bir transkripsiyon faktörüdür. ATF4, eIF2 α fosforilasyonunu takiben genel translasyonun geçici olarak durdurulmasından etkilenmeyen ve gen ifadesi yukarı düzenlenen ISR'nin kilit faktörü olarak tanımlanabilmektedir (369). Bununla birlikte HSP8'in transkripsiyonel yukarı düzenlenmesini de kontrol etmektedir (345). BH ile ISR arasındaki ilişkiyi tanımlamak amacıyla gerçekleştirilen projemizde, hastalardaki ATF4 gen ifadesinin yukarı düzenlendiği gösterilmiş ve sonuçlarımız istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,0001$).

Çalışmamıza katılan 5 BH hastasından ayrıca toplanan eklem sıvısında, eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8, ATF4 hedef genlerinin hiçbirinde istatistiksel olarak ISR aktivasyonu ile ilişkili anlamlı bir sonuç gözlenmemiştir (sırasıyla, $p=0,0952$; $p=0,2222$; $p=0,1508$; $p=0,5873$; $p>0,9999$). Örnek grubunun sayısal azlığı ve BH hasta grubunda eklem sıvısı ile sağlıklı kontrollerdeki kan örneklerinden izole edilen mikro-çevrenin dokuya özgü özellikler gösterebileceği göz önünde bulundurularak daha ileri araştırmalarla BH ve ISR arasındaki ilişkinin eklem sıvısı materyalinde değerlendirilebileceğini düşünmekteyiz.

Özet olarak; tez projemizde BH hastaları ve sağlıklı kontroller arasında, ISR sinyal yolağının olası rolünü belirlemek amacıyla, ISR'nin yukarı ve aşağı akışında bulunan eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8 ve ATF4 gen ifadelerini karşılaştırdık. Bu tez çalışması, hedeflenen tüm genlerin BH patogenezinde araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızda, BH patogenezi ile ISR yolağı arasındaki ilişkiyi araştırdık. eIF2 α , PERK, HRI, HSPB8 ve ATF4 hedef gen ifadelerinin BH hastalarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı seviyede değiştiğini belirledik. Bulgularımız sonucunda; eIF2 α /ATF4 sinyal akışının, PERK ve HRI aracılı ISR aktivasyonunun ve HSPB8'in HRI aracılı doğal bağışıklık sinyalindeki etkinliğinin, BH patogenezinde önemli bir rolü olduğu, hastalık tanı ve tedavisinde yeni yaklaşımlar olarak hedeflenebilecekleri düşüncesindeyiz. Bununla birlikte ilgili genlerin ISR yolağında BH patogenezindeki rollerinin aydınlatılması için daha geniş çapta araştırmalara ihtiyaç duyulduğu kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Mendes D, Correia M, Barbedo M, Vaio T, Mota M, Goncalves O, et al. Behcet's disease--a contemporary review. *J Autoimmun.* 2009;32(3-4):178-88. Epub 2009/03/28. doi: 10.1016/j.jaut.2009.02.011. PubMed PMID: 19324519.
2. Akkoc N. Update on the epidemiology, risk factors and disease outcomes of Behcet's disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2018;32(2):261-70. Epub 2018/12/12. doi: 10.1016/j.berh.2018.08.010. PubMed PMID: 30527431.
3. Turgut YB, Sargin G. A study of the use of Behcet/Behcet's disease or syndrome with or without Adamantiades in the medical literature during the past two decades. *Eur J Rheumatol.* 2020. Epub 2020/11/24. doi: 10.5152/eurjrheum.2020.20095. PubMed PMID: 33226329; PubMed Central PMCID: PMC8133883.
4. Sallakci N, Bacanli A, Coskun M, Yavuzer U, Alpsoy E, Yegin O. CTLA-4 gene 49A/G polymorphism in Turkish patients with Behcet's disease. *Clin Exp Dermatol.* 2005;30(5):546-50. Epub 2005/07/28. doi: 10.1111/j.1365-2230.2005.01846.x. PubMed PMID: 16045690.
5. Bettiol A, Prisco D, Emmi G. Behcet: the syndrome. *Rheumatology (Oxford).* 2020;59(Suppl 3):iii101-iii7. Epub 2020/04/30. doi: 10.1093/rheumatology/kez626. PubMed PMID: 32348523.
6. Ksiazia I, Abroug N, Kechida M, Zina S, Jelliti B, Khochtali S, et al. Eye and Behcet's disease. *J Fr Ophtalmol.* 2019;42(4):e133-e46. Epub 2019/03/10. doi: 10.1016/j.jfo.2019.02.002. PubMed PMID: 30850197.
7. Marshall SE. Behcet's disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2004;18(3):291-311. Epub 2004/05/26. doi: 10.1016/j.berh.2004.02.008. PubMed PMID: 15158742.
8. Kirino Y, Nakajima H. Clinical and Genetic Aspects of Behcet's Disease in Japan. *Intern Med.* 2019;58(9):1199-207. Epub 2019/01/11. doi: 10.2169/internalmedicine.2035-18. PubMed PMID: 30626832; PubMed Central PMCID: PMC6543215.
9. Azizlerli G, Kose AA, Sarica R, Gul A, Tutkun IT, Kulac M, et al. Prevalence of Behcet's disease in Istanbul, Turkey. *Int J Dermatol.* 2003;42(10):803-6. Epub 2003/10/03. doi: 10.1046/j.1365-4362.2003.01893.x. PubMed PMID: 14521694.
10. Cakir N, Dervis E, Benian O, Pamuk ON, Sonmezates N, Rahimoglu R, et al. Prevalence of Behcet's disease in rural western Turkey: a preliminary report. *Clin Exp Rheumatol.* 2004;22(4 Suppl 34):S53-5. Epub 2004/11/02. PubMed PMID: 15515786.
11. Idil A, Gurler A, Boyvat A, Caliskan D, Ozdemir O, Isik A, et al. The prevalence of Behcet's disease above the age of 10 years. The results of a pilot study conducted at the Park Primary Health Care Center in Ankara, Turkey. *Ophthalmic Epidemiol.* 2002;9(5):325-31. Epub 2003/01/17. doi: 10.1076/opep.9.5.325.10338. PubMed PMID: 12528917.

12. Yurdakul S, Gunaydin I, Tuzun Y, Tankurt N, Pazarli H, Ozyazgan Y, et al. The prevalence of Behcet's syndrome in a rural area in northern Turkey. *J Rheumatol.* 1988;15(5):820-2. Epub 1988/01/01. PubMed PMID: 3172095.
13. Zouboulis CC, Kotter I, Djawari D, Kirch W, Kohl PK, Ochsendorf FR, et al. Epidemiological features of Adamantiades-Behcet's disease in Germany and in Europe. *Yonsei Med J.* 1997;38(6):411-22. Epub 1998/03/24. doi: 10.3349/ymj.1997.38.6.411. PubMed PMID: 9509911.
14. Esatoglu SN, Kutlubay Z, Ucar D, Hatemi I, Uygunoglu U, Siva A, et al. Behcet's syndrome: providing integrated care. *J Multidiscip Healthc.* 2017;10:309-19. Epub 2017/09/02. doi: 10.2147/JMDH.S93681. PubMed PMID: 28860798; PubMed Central PMCID: PMC5565245.
15. Adeeb F, Stack AG, Fraser AD. Knitting the Threads of Silk through Time: Behcet's Disease- Past, Present, and Future. *Int J Rheumatol.* 2017;2017:2160610. Epub 2017/10/31. doi: 10.1155/2017/2160610. PubMed PMID: 29081805; PubMed Central PMCID: PMC5610876.
16. Dalvi SR, Yildirim R, Yazici Y. Behcet's Syndrome. *Drugs.* 2012;72(17):2223-41. Epub 2012/11/17. doi: 10.2165/11641370-000000000-00000. PubMed PMID: 23153327.
17. Nishiyama M, Nakae K, Kuriyama T, Hashimoto M, Hsu ZN. A study among related pairs of Japanese patients with familial Behcet's disease: group comparisons by interval of disease onsets. *J Rheumatol.* 2002;29(4):743-7. Epub 2002/04/13. PubMed PMID: 11950016.
18. Fresko I, Soy M, Hamuryudan V, Yurdakul S, Yavuz S, Tumer Z, et al. Genetic anticipation in Behcet's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 1998;57(1):45-8. Epub 1998/04/16. doi: 10.1136/ard.57.1.45. PubMed PMID: 9536823; PubMed Central PMCID: PMC1752455.
19. Fietta P. Behcet's disease: familial clustering and immunogenetics. *Clin Exp Rheumatol.* 2005;23(4 Suppl 38):S96-105. Epub 2005/11/09. PubMed PMID: 16273774.
20. Zouboulis CC. Epidemiology of Adamantiades-Behcet's disease. *Ann Med Interne (Paris).* 1999;150(6):488-98. Epub 2000/01/01. PubMed PMID: 10615535.
21. Akpolat T, Koc Y, Yeniay I, Akpek G, Gullu I, Kansu E, et al. Familial Behcet's disease. *Eur J Med.* 1992;1(7):391-5. Epub 1992/11/01. PubMed PMID: 1341477.
22. Davatchi F, Shahram F, Chams-Davatchi C, Shams H, Nadji A, Akhlaghi M, et al. Behcet's disease in Iran: analysis of 6500 cases. *Int J Rheum Dis.* 2010;13(4):367-73. Epub 2011/01/05. doi: 10.1111/j.1756-185X.2010.01549.x. PubMed PMID: 21199472.
23. Nishiura K, Kotake S, Ichiishi A, Matsuda H. Familial occurrence of Behcet's disease. *Jpn J Ophthalmol.* 1996;40(2):255-9. Epub 1996/01/01. PubMed PMID: 8876396.

24. Laghmari M, Karim A, Allali F, Elmadani A, Ibrahimy W, Hajjaj Hassouni N, et al. [Childhood Behcet's disease: clinical and evolutive aspects. About 13 cases]. *J Fr Ophtalmol*. 2002;25(9):904-8. Epub 2003/01/08. PubMed PMID: 12515934.
25. Kaya TI. Genetics of Behcet's Disease. *Patholog Res Int*. 2012;2012:912589. Epub 2011/10/21. doi: 10.1155/2012/912589. PubMed PMID: 22013548; PubMed Central PMCID: PMC3195436.
26. Molinari N, Kone Paut I, Manna R, Demaille J, Daures JP, Touitou I. Identification of an autosomal recessive mode of inheritance in paediatric Behcet's families by segregation analysis. *Am J Med Genet A*. 2003;122A(2):115-8. Epub 2003/09/05. doi: 10.1002/ajmg.a.20136. PubMed PMID: 12955762.
27. Gul A, Inanc M, Ocal L, Aral O, Konice M. Familial aggregation of Behcet's disease in Turkey. *Ann Rheum Dis*. 2000;59(8):622-5. Epub 2000/07/27. doi: 10.1136/ard.59.8.622. PubMed PMID: 10913059; PubMed Central PMCID: PMC1753203.
28. Gul A, Ohno S. HLA-B*51 and Behcet Disease. *Ocul Immunol Inflamm*. 2012;20(1):37-43. Epub 2011/12/23. doi: 10.3109/09273948.2011.634978. PubMed PMID: 22188278.
29. Yazici H, Tuzun Y, Pazarli H, Yurdakul S, Ozyazgan Y, Ozdogan H, et al. Influence of age of onset and patient's sex on the prevalence and severity of manifestations of Behcet's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 1984;43(6):783-9. Epub 1984/12/01. doi: 10.1136/ard.43.6.783. PubMed PMID: 6524980; PubMed Central PMCID: PMC1001536.
30. Alpsoy E. Behcet's disease: A comprehensive review with a focus on epidemiology, etiology and clinical features, and management of mucocutaneous lesions. *J Dermatol*. 2016;43(6):620-32. Epub 2016/04/15. doi: 10.1111/1346-8138.13381. PubMed PMID: 27075942.
31. Criteria for diagnosis of Behcet's disease. International Study Group for Behcet's Disease. *Lancet*. 1990;335(8697):1078-80. Epub 1990/05/05. PubMed PMID: 1970380.
32. Evaluation of diagnostic ('classification') criteria in Behcet's disease--towards internationally agreed criteria. The International Study Group for Behcet's disease. *Br J Rheumatol*. 1992;31(5):299-308. Epub 1992/05/01. PubMed PMID: 1581771.
33. Davatchi F, Sadeghi Abdollahi B, Shahram F, Nadji A, Chams-Davatchi C, Shams H, et al. Validation of the International Criteria for Behcet's disease (ICBD) in Iran. *Int J Rheum Dis*. 2010;13(1):55-60. Epub 2010/04/09. doi: 10.1111/j.1756-185X.2009.01455.x. PubMed PMID: 20374385.
34. International Team for the Revision of the International Criteria for Behcet's D. The International Criteria for Behcet's Disease (ICBD): a collaborative study of 27 countries on the sensitivity and specificity of the new criteria. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014;28(3):338-47. Epub 2013/02/28. doi: 10.1111/jdv.12107. PubMed PMID: 23441863.

35. Davatchi F, Shahram F, Chams C, Chams H, Nadji A, Jamshidi AR, et al. The influence of gender on the frequency of clinical symptoms in Behcet's disease. *Adv Exp Med Biol.* 2003;528:65-6. Epub 2003/08/16. doi: 10.1007/0-306-48382-3_11. PubMed PMID: 12918662.
36. Bang DS, Oh SH, Lee KH, Lee ES, Lee SN. Influence of sex on patients with Behcet's disease in Korea. *J Korean Med Sci.* 2003;18(2):231-5. Epub 2003/04/15. doi: 10.3346/jkms.2003.18.2.231. PubMed PMID: 12692421; PubMed Central PMCID: PMC3055031.
37. Tursen U, Gurler A, Boyvat A. Evaluation of clinical findings according to sex in 2313 Turkish patients with Behcet's disease. *Int J Dermatol.* 2003;42(5):346-51. Epub 2003/05/21. doi: 10.1046/j.1365-4362.2003.01741.x. PubMed PMID: 12755969.
38. Pay S, Simsek I, Erdem H, Dinc A. Immunopathogenesis of Behcet's disease with special emphasize on the possible role of antigen presenting cells. *Rheumatol Int.* 2007;27(5):417-24. Epub 2006/12/16. doi: 10.1007/s00296-006-0281-6. PubMed PMID: 17171346.
39. Kulaber A, Tugal-Tutkun I, Yentur SP, Akman-Demir G, Kaneko F, Gul A, et al. Pro-inflammatory cellular immune response in Behcet's disease. *Rheumatol Int.* 2007;27(12):1113-8. Epub 2007/06/06. doi: 10.1007/s00296-007-0367-9. PubMed PMID: 17549482.
40. McGonagle D, McDermott MF. A proposed classification of the immunological diseases. *PLoS Med.* 2006;3(8):e297. Epub 2006/09/01. doi: 10.1371/journal.pmed.0030297. PubMed PMID: 16942393; PubMed Central PMCID: PMC1564298.
41. Hedayatfar A. Behcet's Disease: Autoimmune or Autoinflammatory? *J Ophthalmic Vis Res.* 2013;8(3):291-3. Epub 2013/12/19. PubMed PMID: 24349676; PubMed Central PMCID: PMC3853784.
42. Gul A. Pathogenesis of Behcet's disease: autoinflammatory features and beyond. *Semin Immunopathol.* 2015;37(4):413-8. Epub 2015/06/13. doi: 10.1007/s00281-015-0502-8. PubMed PMID: 26068404.
43. Direskeneli H. Autoimmunity vs autoinflammation in Behcet's disease: do we oversimplify a complex disorder? *Rheumatology (Oxford).* 2006;45(12):1461-5. Epub 2006/09/26. doi: 10.1093/rheumatology/kel329. PubMed PMID: 16998234.
44. de Menthon M, Lavalley MP, Maldini C, Guillevin L, Mahr A. HLA-B51/B5 and the risk of Behcet's disease: a systematic review and meta-analysis of case-control genetic association studies. *Arthritis Rheum.* 2009;61(10):1287-96. Epub 2009/10/01. doi: 10.1002/art.24642. PubMed PMID: 19790126; PubMed Central PMCID: PMC3867978.
45. Dilthey AT. State-of-the-art genome inference in the human MHC. *Int J Biochem Cell Biol.* 2020;105882. Epub 2020/11/16. doi: 10.1016/j.biocel.2020.105882. PubMed PMID: 33189874.

46. Song YW, Kang EH. Behcet's disease and genes within the major histocompatibility complex region. *Mod Rheumatol.* 2012;22(2):178-85. Epub 2011/11/02. doi: 10.1007/s10165-011-0542-4. PubMed PMID: 22042097.
47. Tong B, Liu X, Xiao J, Su G. Immunopathogenesis of Behcet's Disease. *Front Immunol.* 2019;10:665. Epub 2019/04/16. doi: 10.3389/fimmu.2019.00665. PubMed PMID: 30984205; PubMed Central PMCID: PMC6449449.
48. Gul A, Hajeer AH, Worthington J, Barrett JH, Ollier WE, Silman AJ. Evidence for linkage of the HLA-B locus in Behcet's disease, obtained using the transmission disequilibrium test. *Arthritis Rheum.* 2001;44(1):239-40. Epub 2001/02/24. doi: 10.1002/1529-0131(200101)44:1<239::AID-ANR31>3.0.CO;2-X. PubMed PMID: 11212166.
49. Takemoto Y, Naruse T, Namba K, Kitaichi N, Ota M, Shindo Y, et al. Re-evaluation of heterogeneity in HLA-B*510101 associated with Behcet's disease. *Tissue Antigens.* 2008;72(4):347-53. Epub 2008/08/15. doi: 10.1111/j.1399-0039.2008.01111.x. PubMed PMID: 18700875.
50. Piga M, Mathieu A. Genetic susceptibility to Behcet's disease: role of genes belonging to the MHC region. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(2):299-310. Epub 2010/11/10. doi: 10.1093/rheumatology/keq331. PubMed PMID: 21059670.
51. Maldini C, Lavalley MP, Cheminant M, de Menthon M, Mahr A. 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(5):887-900. Epub 2012/01/14. doi: 10.1093/rheumatology/ker428. PubMed PMID: 22240504.
52. Gul A, Uyar FA, Inanc M, Ocal L, Tugal-Tutkun I, Aral O, et al. Lack of association of HLA-B*51 with a severe disease course in Behcet's disease. *Rheumatology (Oxford).* 2001;40(6):668-72. Epub 2001/06/27. doi: 10.1093/rheumatology/40.6.668. PubMed PMID: 11426025.
53. Chin AB, Kumar AS. Behcet colitis. *Clin Colon Rectal Surg.* 2015;28(2):99-102. Epub 2015/06/03. doi: 10.1055/s-0035-1547336. PubMed PMID: 26034406; PubMed Central PMCID: PMC4442727.
54. Kim DH, Cheon JH. Intestinal Behcet's Disease: A True Inflammatory Bowel Disease or Merely an Intestinal Complication of Systemic Vasculitis? *Yonsei Med J.* 2016;57(1):22-32. Epub 2015/12/04. doi: 10.3349/ymj.2016.57.1.22. PubMed PMID: 26632379; PubMed Central PMCID: PMC4696957.
55. Kuranov AB, Kotter I, Henes JC, Abisheva ST, Steiert I, Riewerts F, et al. Behcet's disease in HLA-B*51 negative Germans and Turks shows association with HLA-Bw4-80I. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(3):R116. Epub 2014/06/03. doi: 10.1186/ar4569. PubMed PMID: 24887019; PubMed Central PMCID: PMC4075409.

56. Yasuoka H, Okazaki Y, Kawakami Y, Hirakata M, Inoko H, Ikeda Y, et al. Autoreactive CD8+ cytotoxic T lymphocytes to major histocompatibility complex class I chain-related gene A in patients with Behcet's disease. *Arthritis Rheum.* 2004;50(11):3658-62. Epub 2004/11/06. doi: 10.1002/art.20597. PubMed PMID: 15529349.
57. Direskeneli H. Behçet's disease: infectious aetiology, new autoantigens, and HLA-B51. *Annals of the Rheumatic Diseases.* 2001;60(11):996-1002. doi: 10.1136/ard.60.11.996.
58. Colbert RA, Tran TM, Layh-Schmitt G. HLA-B27 misfolding and ankylosing spondylitis. *Mol Immunol.* 2014;57(1):44-51. Epub 2013/09/03. doi: 10.1016/j.molimm.2013.07.013. PubMed PMID: 23993278; PubMed Central PMCID: PMC3857088.
59. Gur M, Golcuk M, Gul A, Erman B. Molecular dynamics simulations provide molecular insights into the role of HLA-B51 in Behcet's disease pathogenesis. *Chem Biol Drug Des.* 2020;96(1):644-58. Epub 2020/07/22. doi: 10.1111/cbdd.13658. PubMed PMID: 32691964.
60. Nakamura J, Meguro A, Ishii G, Mihara T, Takeuchi M, Mizuki Y, et al. The association analysis between HLA-A*26 and Behcet's disease. *Sci Rep.* 2019;9(1):4426. Epub 2019/03/16. doi: 10.1038/s41598-019-40824-y. PubMed PMID: 30872678; PubMed Central PMCID: PMC6418292.
61. Meguro A, Inoko H, Ota M, Katsuyama Y, Oka A, Okada E, et al. Genetics of Behcet disease inside and outside the MHC. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(4):747-54. Epub 2009/08/18. doi: 10.1136/ard.2009.108571. PubMed PMID: 19684014.
62. Kang EH, Kim JY, Takeuchi F, Kim JW, Shin K, Lee EY, et al. Associations between the HLA-A polymorphism and the clinical manifestations of Behcet's disease. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(2):R49. Epub 2011/03/25. doi: 10.1186/ar3292. PubMed PMID: 21429233; PubMed Central PMCID: PMC3132038.
63. Kang EH, Park JW, Park C, Yu HG, Lee EB, Park MH, et al. Genetic and non-genetic factors affecting the visual outcome of ocular Behcet's disease. *Hum Immunol.* 2013;74(10):1363-7. Epub 2013/07/09. doi: 10.1016/j.humimm.2013.06.036. PubMed PMID: 23831258.
64. Hughes T, Coit P, Adler A, Yilmaz V, Aksu K, Duzgun N, et al. Identification of multiple independent susceptibility loci in the HLA region in Behcet's disease. *Nat Genet.* 2013;45(3):319-24. Epub 2013/02/12. doi: 10.1038/ng.2551. PubMed PMID: 23396137.
65. Ates O, Dalyan L, Hatemi G, Hamuryudan V, Topal-Sarikaya A. Analyses of functional IL10 and TNF-alpha genotypes in Behcet's syndrome. *Mol Biol Rep.* 2010;37(7):3637-41. Epub 2010/03/02. doi: 10.1007/s11033-010-0015-4. PubMed PMID: 20191386.
66. Arayssi TK, Hamdan AR, Touma Z, Shamseddeen W, Uthman IW, Hourani HB, et al. TNF polymorphisms in Lebanese patients with Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2008;26(4 Suppl 50):S130-1. Epub 2008/11/26. PubMed PMID: 19026135.

67. Gul A, Hajeer AH, Worthington J, Ollier WE, Silman AJ. Linkage mapping of a novel susceptibility locus for Behcet's disease to chromosome 6p22-23. *Arthritis Rheum.* 2001;44(11):2693-6. Epub 2001/11/17. doi: 10.1002/1529-0131(200111)44:11<2693::aid-art449>3.0.co;2-m. PubMed PMID: 11710725.
68. Takeuchi M, Mizuki N, Meguro A, Ombrello MJ, Kirino Y, Satorius C, et al. Dense genotyping of immune-related loci implicates host responses to microbial exposure in Behcet's disease susceptibility. *Nat Genet.* 2017;49(3):438-43. Epub 2017/02/07. doi: 10.1038/ng.3786. PubMed PMID: 28166214; PubMed Central PMCID: PMC5369770.
69. Zierhut M, Mizuki N, Ohno S, Inoko H, Gul A, Onoe K, et al. Immunology and functional genomics of Behcet's disease. *Cell Mol Life Sci.* 2003;60(9):1903-22. Epub 2003/10/03. doi: 10.1007/s00018-003-2333-3. PubMed PMID: 14523551.
70. Lee YJ, Horie Y, Wallace GR, Choi YS, Park JA, Choi JY, et al. Genome-wide association study identifies GIMAP as a novel susceptibility locus for Behcet's disease. *Ann Rheum Dis.* 2013;72(9):1510-6. Epub 2012/10/09. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-200288. PubMed PMID: 23041938.
71. Gul A. Genetics of Behcet's disease: lessons learned from genomewide association studies. *Curr Opin Rheumatol.* 2014;26(1):56-63. Epub 2013/11/22. doi: 10.1097/BOR.0000000000000003. PubMed PMID: 24257369.
72. Kirino Y, Bertsias G, Ishigatsubo Y, Mizuki N, Tugal-Tutkun I, Seyahi E, et al. Genome-wide association analysis identifies new susceptibility loci for Behcet's disease and epistasis between HLA-B*51 and ERAP1. *Nat Genet.* 2013;45(2):202-7. Epub 2013/01/08. doi: 10.1038/ng.2520. PubMed PMID: 23291587; PubMed Central PMCID: PMC3810947.
73. Hou S, Yang Z, Du L, Jiang Z, Shu Q, Chen Y, et al. Identification of a susceptibility locus in STAT4 for Behcet's disease in Han Chinese in a genome-wide association study. *Arthritis Rheum.* 2012;64(12):4104-13. Epub 2012/09/25. doi: 10.1002/art.37708. PubMed PMID: 23001997.
74. Fei Y, Webb R, Cobb BL, Direskeneli H, Saruhan-Direskeneli G, Sawalha AH. Identification of novel genetic susceptibility loci for Behcet's disease using a genome-wide association study. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(3):R66. Epub 2009/05/16. doi: 10.1186/ar2695. PubMed PMID: 19442274; PubMed Central PMCID: PMC2714112.
75. Mizuki N, Meguro A, Ota M, Ohno S, Shiota T, Kawagoe T, et al. Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behcet's disease susceptibility loci. *Nat Genet.* 2010;42(8):703-6. Epub 2010/07/14. doi: 10.1038/ng.624. PubMed PMID: 20622879.
76. Remmers EF, Cosan F, Kirino Y, Ombrello MJ, Abaci N, Satorius C, et al. Genome-wide association study identifies variants in the MHC class I, IL10, and IL23R-IL12RB2 regions

- associated with Behcet's disease. *Nat Genet.* 2010;42(8):698-702. Epub 2010/07/14. doi: 10.1038/ng.625. PubMed PMID: 20622878; PubMed Central PMCID: PMCPMC2923807.
77. Salmaninejad A, Gowhari A, Hosseini S, Aslani S, Yousefi M, Bahrami T, et al. Genetics and immunodysfunction underlying Behcet's disease and immunomodulant treatment approaches. *J Immunotoxicol.* 2017;14(1):137-51. Epub 2017/07/12. doi: 10.1080/1547691X.2017.1346008. PubMed PMID: 28693405.
 78. Takeuchi M, Ombrello MJ, Kirino Y, Erer B, Tugal-Tutkun I, Seyahi E, et al. A single endoplasmic reticulum aminopeptidase-1 protein allotype is a strong risk factor for Behcet's disease in HLA-B*51 carriers. *Ann Rheum Dis.* 2016;75(12):2208-11. Epub 2016/05/25. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-209059. PubMed PMID: 27217550; PubMed Central PMCID: PMCPMC5106293.
 79. Padula MC, Leccese P, Padula AA, D'Angelo S, Martelli G. ERAP1 molecular characterization: Identification of a de novo allelic variant. *HLA.* 2018. Epub 2018/03/27. doi: 10.1111/tan.13262. PubMed PMID: 29577660.
 80. Lopez de Castro JA, Alvarez-Navarro C, Brito A, Guasp P, Martin-Esteban A, Sanz-Bravo A. Molecular and pathogenic effects of endoplasmic reticulum aminopeptidases ERAP1 and ERAP2 in MHC-I-associated inflammatory disorders: Towards a unifying view. *Mol Immunol.* 2016;77:193-204. Epub 2016/08/16. doi: 10.1016/j.molimm.2016.08.005. PubMed PMID: 27522479.
 81. Ombrello MJ, Kastner DL, Remmers EF. Endoplasmic reticulum-associated amino-peptidase 1 and rheumatic disease: genetics. *Curr Opin Rheumatol.* 2015;27(4):349-56. Epub 2015/05/24. doi: 10.1097/BOR.0000000000000189. PubMed PMID: 26002026; PubMed Central PMCID: PMCPMC4565054.
 82. Reeves E, Edwards CJ, Elliott T, James E. Naturally occurring ERAP1 haplotypes encode functionally distinct alleles with fine substrate specificity. *J Immunol.* 2013;191(1):35-43. Epub 2013/06/05. doi: 10.4049/jimmunol.1300598. PubMed PMID: 23733883; PubMed Central PMCID: PMCPMC3785127.
 83. Kochan G, Krojer T, Harvey D, Fischer R, Chen L, Vollmar M, et al. Crystal structures of the endoplasmic reticulum aminopeptidase-1 (ERAP1) reveal the molecular basis for N-terminal peptide trimming. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(19):7745-50. Epub 2011/04/22. doi: 10.1073/pnas.1101262108. PubMed PMID: 21508329; PubMed Central PMCID: PMCPMC3093473.
 84. Giza M, Koftori D, Chen L, Bowness P. Is Behcet's disease a 'class 1-opathy'? The role of HLA-B*51 in the pathogenesis of Behcet's disease. *Clin Exp Immunol.* 2018;191(1):11-8. Epub 2017/09/13. doi: 10.1111/cei.13049. PubMed PMID: 28898393; PubMed Central PMCID: PMCPMC5721257.

85. Guasp P, Barnea E, Gonzalez-Escribano MF, Jimenez-Reinoso A, Regueiro JR, Admon A, et al. The Behcet's disease-associated variant of the aminopeptidase ERAP1 shapes a low-affinity HLA-B*51 peptidome by differential subpeptidome processing. *J Biol Chem*. 2017;292(23):9680-9. Epub 2017/04/28. doi: 10.1074/jbc.M117.789180. PubMed PMID: 28446606; PubMed Central PMCID: PMC5465491.
86. Talaat RM, Ashour ME, Bassyouni IH, Raouf AA. Polymorphisms of interleukin 6 and interleukin 10 in Egyptian people with Behcet's disease. *Immunobiology*. 2014;219(8):573-82. Epub 2014/04/08. doi: 10.1016/j.imbio.2014.03.004. PubMed PMID: 24703990.
87. Afkari B, Babaloo Z, Dolati S, Khabazi A, Jadidi-Niaragh F, Talei M, et al. Molecular analysis of interleukin-10 gene polymorphisms in patients with Behcet's disease. *Immunol Lett*. 2018;194:56-61. Epub 2018/01/03. doi: 10.1016/j.imlet.2017.12.008. PubMed PMID: 29294320.
88. Takeuchi M, Kastner DL, Remmers EF. The immunogenetics of Behcet's disease: A comprehensive review. *J Autoimmun*. 2015;64:137-48. Epub 2015/09/09. doi: 10.1016/j.jaut.2015.08.013. PubMed PMID: 26347074; PubMed Central PMCID: PMC4628864.
89. Deng Y, Zhu W, Zhou X. Immune Regulatory Genes Are Major Genetic Factors to Behcet Disease: Systematic Review. *Open Rheumatol J*. 2018;12:70-85. Epub 2018/08/03. doi: 10.2174/1874312901812010070. PubMed PMID: 30069262; PubMed Central PMCID: PMC6040213.
90. Kappen JH, Medina-Gomez C, van Hagen PM, Stolk L, Estrada K, Rivadeneira F, et al. Genome-wide association study in an admixed case series reveals IL12A as a new candidate in Behcet disease. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119085. Epub 2015/03/24. doi: 10.1371/journal.pone.0119085. PubMed PMID: 25799145; PubMed Central PMCID: PMC4370488.
91. Zeidan MJ, Saadoun D, Garrido M, Klatzmann D, Six A, Cacoub P. Behcet's disease physiopathology: a contemporary review. *Auto Immun Highlights*. 2016;7(1):4. Epub 2016/02/13. doi: 10.1007/s13317-016-0074-1. PubMed PMID: 26868128; PubMed Central PMCID: PMC4751097.
92. Ortiz-Fernandez L, Sawalha AH. Genetics of Behcet's Disease: Functional Genetic Analysis and Estimating Disease Heritability. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:625710. Epub 2021/03/02. doi: 10.3389/fmed.2021.625710. PubMed PMID: 33644100; PubMed Central PMCID: PMC7907152.
93. Lehner T. The role of heat shock protein, microbial and autoimmune agents in the aetiology of Behcet's disease. *Int Rev Immunol*. 1997;14(1):21-32. Epub 1997/01/01. doi: 10.3109/08830189709116842. PubMed PMID: 9203024.
94. Saylan T. Life story of Dr. Hulusi Behçet. *Yonsei Med J*. 1997;38(6):327-32.

95. Tojo M, Zheng X, Yanagihori H, Oyama N, Takahashi K, Nakamura K, et al. Detection of herpes virus genomes in skin lesions from patients with Behcet's disease and other related inflammatory diseases. *Acta Derm Venereol.* 2003;83(2):124-7. Epub 2003/05/09. doi: 10.1080/00015550310007472. PubMed PMID: 12735641.
96. Eglin RP, Lehner T, Subak-Sharpe JH. Detection of RNA complementary to herpes-simplex virus in mononuclear cells from patients with Behcet's syndrome and recurrent oral ulcers. *Lancet.* 1982;2(8312):1356-61. Epub 1982/12/18. doi: 10.1016/s0140-6736(82)91268-5. PubMed PMID: 6129461.
97. Sun A, Chang JG, Kao CL, Liu BY, Wang JT, Chu CT, et al. Human cytomegalovirus as a potential etiologic agent in recurrent aphthous ulcers and Behcet's disease. *J Oral Pathol Med.* 1996;25(5):212-8. Epub 1996/05/01. doi: 10.1111/j.1600-0714.1996.tb01374.x. PubMed PMID: 8835817.
98. Sun A, Chang JG, Chu CT, Liu BY, Yuan JH, Chiang CP. Preliminary evidence for an association of Epstein-Barr virus with pre-ulcerative oral lesions in patients with recurrent aphthous ulcers or Behcet's disease. *J Oral Pathol Med.* 1998;27(4):168-75. Epub 1998/05/01. doi: 10.1111/j.1600-0714.1998.tb01935.x. PubMed PMID: 9563572.
99. Akdeniz S, Harman M, Atmaca S, Akpolat N. The seroprevalence of varicella zoster antibodies in Behcet's and other skin diseases. *Eur J Epidemiol.* 2003;18(1):91-3. Epub 2003/04/23. doi: 10.1023/a:1022537209948. PubMed PMID: 12705629.
100. Togashi A, Saito S, Kaneko F, Nakamura K, Oyama N. Skin prick test with self-saliva in patients with oral aphthoses: a diagnostic pathergy for Behcet's disease and recurrent aphthosis. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2011;10(3):164-70. Epub 2011/03/25. doi: 10.2174/187152811795564109. PubMed PMID: 21428910; PubMed Central PMCID: PMC3228232.
101. Yokota K, Hayashi S, Fujii N, Yoshikawa K, Kotake S, Isogai E, et al. Antibody response to oral streptococci in Behcet's disease. *Microbiol Immunol.* 1992;36(8):815-22. Epub 1992/01/01. doi: 10.1111/j.1348-0421.1992.tb02083.x. PubMed PMID: 1474932.
102. Cho SB, Cho S, Bang D. New insights in the clinical understanding of Behcet's disease. *Yonsei Med J.* 2012;53(1):35-42. Epub 2011/12/22. doi: 10.3349/ymj.2012.53.1.35. PubMed PMID: 22187230; PubMed Central PMCID: PMC3250322.
103. Bulur I, Onder M. Behcet disease: New aspects. *Clin Dermatol.* 2017;35(5):421-34. Epub 2017/09/17. doi: 10.1016/j.clindermatol.2017.06.004. PubMed PMID: 28916023.
104. Ergun T, Ince U, Eksioglu-Demiralp E, Direskeneli H, Gurbuz O, Gurses L, et al. HSP 60 expression in mucocutaneous lesions of Behcet's disease. *J Am Acad Dermatol.* 2001;45(6):904-9. Epub 2001/11/17. doi: 10.1067/mjd.2001.117728. PubMed PMID: 11712037.

105. Shaker O, Ay El-Deen MA, El Hadidi H, Grace BD, El Sherif H, Abdel Halim A. The role of heat shock protein 60, vascular endothelial growth factor and antiphospholipid antibodies in Behcet disease. *Br J Dermatol.* 2007;156(1):32-7. Epub 2007/01/04. doi: 10.1111/j.1365-2133.2006.07536.x. PubMed PMID: 17199563.
106. Birtas-Atesoglu E, Inanc N, Yavuz S, Ergun T, Direskeneli H. Serum levels of free heat shock protein 70 and anti-HSP70 are elevated in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2008;26(4 Suppl 50):S96-8. Epub 2008/11/26. PubMed PMID: 19026123.
107. Mahesh SP, Li Z, Buggage R, Mor F, Cohen IR, Chew EY, et al. Alpha tropomyosin as a self-antigen in patients with Behcet's disease. *Clin Exp Immunol.* 2005;140(2):368-75. Epub 2005/04/06. doi: 10.1111/j.1365-2249.2005.02760.x. PubMed PMID: 15807864; PubMed Central PMCID: PMCPMC1809367.
108. Iris M, Ozcikmak E, Aksoy A, Alibaz-Oner F, Inanc N, Ergun T, et al. The assessment of contributing factors to oral ulcer presence in Behcet's disease: Dietary and non-dietary factors. *Eur J Rheumatol.* 2018;5(4):240-3. Epub 2018/12/07. doi: 10.5152/eurjrheum.2018.18094. PubMed PMID: 30501850; PubMed Central PMCID: PMCPMC6267742.
109. Volle G, Fraison JB, Gobert D, Goulenok T, Dhote R, Fain O, et al. Dietary and Nondietary Triggers of Oral Ulcer Recurrences in Behcet's Disease. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2017;69(9):1429-36. Epub 2016/11/20. doi: 10.1002/acr.23155. PubMed PMID: 27863145.
110. Scherrer MAR, Rocha VB, Garcia LC. Behcet's disease: review with emphasis on dermatological aspects. *An Bras Dermatol.* 2017;92(4):452-64. Epub 2017/09/28. doi: 10.1590/abd1806-4841.20177359. PubMed PMID: 28954091; PubMed Central PMCID: PMCPMC5595589.
111. Karacayli U, Mumcu G, Simsek I, Pay S, Kose O, Erdem H, et al. The close association between dental and periodontal treatments and oral ulcer course in behcet's disease: a prospective clinical study. *J Oral Pathol Med.* 2009;38(5):410-5. Epub 2009/03/27. doi: 10.1111/j.1600-0714.2009.00765.x. PubMed PMID: 19320802.
112. van de Ree-Pellikaan C, Kiewiet-Kemper RM, Tchvetverikov I, Westerweel PE. Oral ulcerations after placement of orthodontic braces and skin pustules after laser hair removal: novel inducers of pathergy reactions in new-onset Behcet's disease. *BMJ Case Rep.* 2016;2016. Epub 2016/03/10. doi: 10.1136/bcr-2014-209208. PubMed PMID: 26951437; PubMed Central PMCID: PMCPMC4785505.
113. Dilsen N, Konice M, Aral O, Ocal L, Inanc M, Gul A. Comparative study of the skin pathergy test with blunt and sharp needles in Behcet's disease: confirmed specificity but decreased sensitivity with sharp needles. *Ann Rheum Dis.* 1993;52(11):823-5. Epub 1993/11/01. doi: 10.1136/ard.52.11.823. PubMed PMID: 8250614; PubMed Central PMCID: PMCPMC1005196.

114. Soy M, Erken E, Konca K, Ozbek S. Smoking and Behcet's disease. *Clin Rheumatol*. 2000;19(6):508-9. Epub 2001/01/09. doi: 10.1007/s100670070020. PubMed PMID: 11147770.
115. Ciancio G, Colina M, La Corte R, Lo Monaco A, De Leonardis F, Trotta F, et al. Nicotine-patch therapy on mucocutaneous lesions of Behcet's disease: a case series. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(3):501-4. Epub 2009/12/18. doi: 10.1093/rheumatology/kep401. PubMed PMID: 20015973.
116. Tuzun B, Wolf R, Tuzun Y, Serdaroglu S. Recurrent aphthous stomatitis and smoking. *Int J Dermatol*. 2000;39(5):358-60. Epub 2000/06/10. doi: 10.1046/j.1365-4362.2000.00963.x. PubMed PMID: 10849126.
117. Aramaki K, Kikuchi H, Hirohata S. HLA-B51 and cigarette smoking as risk factors for chronic progressive neurological manifestations in Behcet's disease. *Mod Rheumatol*. 2007;17(1):81-2. Epub 2007/02/06. doi: 10.1007/s10165-006-0541-z. PubMed PMID: 17278029.
118. Ozer HT, Gunesacar R, Dinkci S, Ozbalkan Z, Yildiz F, Erken E. The impact of smoking on clinical features of Behcet's disease patients with glutathione S-transferase polymorphisms. *Clin Exp Rheumatol*. 2012;30(3 Suppl 72):S14-7. Epub 2012/07/07. PubMed PMID: 22766250.
119. Pandey A, Garg J, Krishnamoorthy P, Palaniswamy C, Doshi J, Lanier G, et al. Predictors of coronary artery disease in patients with Behcet's disease. *Cardiology*. 2014;129(4):203-6. Epub 2014/10/25. doi: 10.1159/000365139. PubMed PMID: 25342118.
120. Consolandi C, Turroni S, Emmi G, Severgnini M, Fiori J, Peano C, et al. Behcet's syndrome patients exhibit specific microbiome signature. *Autoimmun Rev*. 2015;14(4):269-76. Epub 2014/12/02. doi: 10.1016/j.autrev.2014.11.009. PubMed PMID: 25435420.
121. Coit P, Direskeneli H, Sawalha AH. An update on the role of epigenetics in systemic vasculitis. *Curr Opin Rheumatol*. 2018;30(1):4-15. Epub 2017/09/29. doi: 10.1097/BOR.0000000000000451. PubMed PMID: 28957963; PubMed Central PMCID: PMC5805392.
122. Zhou Q, Xiao X, Wang C, Zhang X, Li F, Zhou Y, et al. Decreased microRNA-155 expression in ocular Behcet's disease but not in Vogt Koyanagi Harada syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(9):5665-74. Epub 2012/07/21. doi: 10.1167/iops.12-9832. PubMed PMID: 22815348.
123. Qi J, Yang Y, Hou S, Qiao Y, Wang Q, Yu H, et al. Increased Notch pathway activation in Behcet's disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53(5):810-20. Epub 2014/01/22. doi: 10.1093/rheumatology/ket438. PubMed PMID: 24446471.
124. Muhammad JS, Ishaq M, Ahmed K. Genetics and Epigenetics Mechanism in the Pathogenesis of Behcet's Disease. *Curr Rheumatol Rev*. 2019;15(1):7-13. Epub 2018/05/22. doi: 10.2174/1573397114666180521090335. PubMed PMID: 29779484.

125. Puccetti A, Pelosi A, Fiore PF, Patuzzo G, Lunardi C, Dolcino M. MicroRNA Expression Profiling in Behcet's Disease. *J Immunol Res.* 2018;2018:2405150. Epub 2018/06/02. doi: 10.1155/2018/2405150. PubMed PMID: 29854829; PubMed Central PMCID: PMC5964440.
126. Hughes T, Ture-Ozdemir F, Alibaz-Oner F, Coit P, Direskeneli H, Sawalha AH. Epigenome-wide scan identifies a treatment-responsive pattern of altered DNA methylation among cytoskeletal remodeling genes in monocytes and CD4+ T cells from patients with Behcet's disease. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(6):1648-58. Epub 2014/02/28. doi: 10.1002/art.38409. PubMed PMID: 24574333; PubMed Central PMCID: PMC4096298.
127. Yuksel S, Kucukazman SO, Karatas GS, Ozturk MA, Prombhul S, Hirankarn N. Methylation Status of Alu and LINE-1 Interspersed Repetitive Sequences in Behcet's Disease Patients. *Biomed Res Int.* 2016;2016:1393089. Epub 2016/04/29. doi: 10.1155/2016/1393089. PubMed PMID: 27123441; PubMed Central PMCID: PMC4829674.
128. Harris HE, Raucci A. Alarmin(g) news about danger: workshop on innate danger signals and HMGB1. *EMBO Rep.* 2006;7(8):774-8. Epub 2006/07/22. doi: 10.1038/sj.embor.7400759. PubMed PMID: 16858429; PubMed Central PMCID: PMC1525157.
129. Wibisono D, Csernok E, Lamprecht P, Holle JU, Gross WL, Moosig F. Serum HMGB1 levels are increased in active Wegener's granulomatosis and differentiate between active forms of ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(10):1888-9. Epub 2010/06/15. doi: 10.1136/ard.2009.119172. PubMed PMID: 20542962.
130. Hayashi A, Nagafuchi H, Ito I, Hirota K, Yoshida M, Ozaki S. Lupus antibodies to the HMGB1 chromosomal protein: epitope mapping and association with disease activity. *Mod Rheumatol.* 2009;19(3):283-92. Epub 2009/02/14. doi: 10.1007/s10165-009-0151-7. PubMed PMID: 19214652.
131. de Souza A, Westra J, Bijzet J, Limburg PC, Stegeman CA, Bijl M, et al. Is serum HMGB1 a biomarker in ANCA-associated vasculitis? *Arthritis Res Ther.* 2013;15(5):R104. Epub 2013/09/07. doi: 10.1186/ar4284. PubMed PMID: 24007972; PubMed Central PMCID: PMC3978820.
132. Shi Y, Sandoghchian Shotorbani S, Su Z, Liu Y, Tong J, Zheng D, et al. Enhanced HMGB1 expression may contribute to Th17 cells activation in rheumatoid arthritis. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:295081. Epub 2011/11/24. doi: 10.1155/2012/295081. PubMed PMID: 22110531; PubMed Central PMCID: PMC3205666.
133. Maugeri N, Rovere-Querini P, Baldini M, Baldissera E, Sabbadini MG, Bianchi ME, et al. Oxidative stress elicits platelet/leukocyte inflammatory interactions via HMGB1: a candidate for microvessel injury in systemic sclerosis. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(7):1060-74. Epub 2013/09/28. doi: 10.1089/ars.2013.5298. PubMed PMID: 24070090.

134. Han EC, Cho SB, Ahn KJ, Oh SH, Kim J, Kim DS, et al. Expression of Pro-inflammatory Protein S100A12 (EN-RAGE) in Behcet's Disease and Its Association with Disease Activity: A Pilot Study. *Ann Dermatol.* 2011;23(3):313-20. Epub 2011/09/13. doi: 10.5021/ad.2011.23.3.313. PubMed PMID: 21909201; PubMed Central PMCID: PMC3162260.
135. Ahn JK, Cha HS, Bae EK, Lee J, Koh EM. Extracellular high-mobility group box 1 is increased in patients with Behcet's disease with intestinal involvement. *J Korean Med Sci.* 2011;26(5):697-700. Epub 2011/05/03. doi: 10.3346/jkms.2011.26.5.697. PubMed PMID: 21532866; PubMed Central PMCID: PMC3082127.
136. de Souza AW, Perazzio SF, de Franca NR, Andrade LE, Bijl M, Westra J, et al. High mobility group box 1 serum levels are increased in Behcet's disease, but not associated with disease activity or disease manifestations. *Rheumatology (Oxford).* 2015;54(12):2151-5. Epub 2015/07/15. doi: 10.1093/rheumatology/kev202. PubMed PMID: 26170374.
137. Fang J, Chen L, Tang J, Hou S, Liao D, Ye Z, et al. Association Between Copy Number Variations of TLR7 and Ocular Behcet's Disease in a Chinese Han Population. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(3):1517-23. Epub 2015/02/05. doi: 10.1167/iovs.14-15030. PubMed PMID: 25650422.
138. Fang J, Hu R, Hou S, Ye Z, Xiang Q, Qi J, et al. Association of TLR2 gene polymorphisms with ocular Behcet's disease in a Chinese Han population. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(13):8384-92. Epub 2013/11/21. doi: 10.1167/iovs.13-12878. PubMed PMID: 24255044.
139. Yavuz S, Elbir Y, Tulunay A, Eksioglu-Demiralp E, Direskeneli H. Differential expression of toll-like receptor 6 on granulocytes and monocytes implicates the role of microorganisms in Behcet's disease etiopathogenesis. *Rheumatol Int.* 2008;28(5):401-6. Epub 2007/10/16. doi: 10.1007/s00296-007-0470-y. PubMed PMID: 17934735.
140. Seoudi N, Bergmeier LA, Hagi-Pavli E, Bibby D, Curtis MA, Fortune F. The role of TLR2 and 4 in Behcet's disease pathogenesis. *Innate Immun.* 2014;20(4):412-22. Epub 2013/08/14. doi: 10.1177/1753425913498042. PubMed PMID: 23940075.
141. Kolahi S, Rashtchizadeh N, Mahdavi AM, Farhadi J, Khabbazi A, Sakhinia E, et al. Evaluation of DNA methylation status of toll-like receptors 2 and 4 promoters in Behcet's disease. *J Gene Med.* 2020;22(10):e3234. Epub 2020/05/26. doi: 10.1002/jgm.3234. PubMed PMID: 32449979.
142. Neves FS, Carrasco S, Goldenstein-Schainberg C, Goncalves CR, de Mello SB. Neutrophil hyperchemotaxis in Behcet's disease: a possible role for monocytes orchestrating bacterial-induced innate immune responses. *Clin Rheumatol.* 2009;28(12):1403-10. Epub 2009/08/25. doi: 10.1007/s10067-009-1261-5. PubMed PMID: 19701803.

143. Do JE, Kwon SY, Park S, Lee ES. Effects of vitamin D on expression of Toll-like receptors of monocytes from patients with Behcet's disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(6):840-8. Epub 2008/04/16. doi: 10.1093/rheumatology/ken109. PubMed PMID: 18411217.
144. Kirino Y, Zhou Q, Ishigatsubo Y, Mizuki N, Tugal-Tutkun I, Seyahi E, et al. Targeted resequencing implicates the familial Mediterranean fever gene MEFV and the toll-like receptor 4 gene TLR4 in Behcet disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(20):8134-9. Epub 2013/05/02. doi: 10.1073/pnas.1306352110. PubMed PMID: 23633568; PubMed Central PMCID: PMC3657824.
145. Albayrak O, Oray M, Can F, Uludag Kirimli G, Gul A, Tugal-Tutkun I, et al. Effect of Interferon alfa-2a Treatment on Adaptive and Innate Immune Systems in Patients With Behcet Disease Uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019;60(1):52-63. Epub 2019/01/03. doi: 10.1167/iovs.18-25548. PubMed PMID: 30601931.
146. van der Houwen TB, Dik WA, Goeijenbier M, Hayat M, Nagtzaam NMA, van Hagen M, et al. Leukocyte toll-like receptor expression in pathergy positive and negative Behcet's disease patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2020;59(12):3971-9. Epub 2020/08/07. doi: 10.1093/rheumatology/keaa251. PubMed PMID: 32756992; PubMed Central PMCID: PMC7733715.
147. Inanc N, Birtas E, Yavuz S, Ergun T, Direskeneli H. Low serum mannose-binding lectin levels in Behcet's disease. *Adv Exp Med Biol*. 2003;528:287-9. Epub 2003/08/16. doi: 10.1007/0-306-48382-3_58. PubMed PMID: 12918709.
148. Kim J, Im CH, Kang EH, Lee EY, Lee YJ, Park KS, et al. Mannose-binding lectin gene-2 polymorphisms and serum mannose-binding lectin levels in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27(2 Suppl 53):S13-7. Epub 2009/11/17. PubMed PMID: 19796526.
149. Wang H, Nakamura K, Inoue T, Yanagihori H, Kawakami Y, Hashimoto S, et al. Mannose-binding lectin polymorphisms in patients with Behcet's disease. *J Dermatol Sci*. 2004;36(2):115-7. Epub 2004/11/03. doi: 10.1016/j.jdermsci.2004.07.011. PubMed PMID: 15519144.
150. Choi B, Suh CH, Kim HA, Sayeed HM, Sohn S. The Correlation of CD206, CD209, and Disease Severity in Behcet's Disease with Arthritis. *Mediators Inflamm*. 2017;2017:7539529. Epub 2017/04/06. doi: 10.1155/2017/7539529. PubMed PMID: 28377641; PubMed Central PMCID: PMC5362722 publication of this paper.
151. Yalcin B, Atakan N, Alli N. The functional role of nuclear factor kappa-kappaB1 -94 ins/del ATTG promotor gene polymorphism in Behcet's disease: an exploratory study. *Clin Exp Dermatol*. 2008;33(5):629-33. Epub 2008/07/12. doi: 10.1111/j.1365-2230.2008.02786.x. PubMed PMID: 18616724.

152. Yenmis G, Oner T, Cam C, Koc A, Kucuk OS, Yakicier MC, et al. Association of NFKB1 and NFKBIA polymorphisms in relation to susceptibility of Behcet's disease. *Scand J Immunol.* 2015;81(1):81-6. Epub 2014/11/05. doi: 10.1111/sji.12251. PubMed PMID: 25367031.
153. Todaro M, Zerilli M, Triolo G, Iovino F, Patti M, Accardo-Palumbo A, et al. NF-kappaB protects Behcet's disease T cells against CD95-induced apoptosis up-regulating antiapoptotic proteins. *Arthritis Rheum.* 2005;52(7):2179-91. Epub 2005/06/30. doi: 10.1002/art.21145. PubMed PMID: 15986355.
154. Padula MC, Leccese P, Lascaro N, Padula AA, Carbone T, Martelli G, et al. Identification of a de novo NLRP3 gene variation in an Italian Behcet syndrome patient. *Int J Immunogenet.* 2019;46(5):339-41. Epub 2019/06/12. doi: 10.1111/iji.12442. PubMed PMID: 31183983.
155. Burillo-Sanz S, Montes-Cano MA, Garcia-Lozano JR, Olivas-Martinez I, Ortego-Centeno N, Garcia-Hernandez FJ, et al. Behcet's disease and genetic interactions between HLA-B*51 and variants in genes of autoinflammatory syndromes. *Sci Rep.* 2019;9(1):2777. Epub 2019/02/28. doi: 10.1038/s41598-019-39113-5. PubMed PMID: 30808881; PubMed Central PMCID: PMC6391494.
156. Burillo-Sanz S, Montes-Cano MA, Garcia-Lozano JR, Ortiz-Fernandez L, Ortego-Centeno N, Garcia-Hernandez FJ, et al. Mutational profile of rare variants in inflammasome-related genes in Behcet disease: A Next Generation Sequencing approach. *Sci Rep.* 2017;7(1):8453. Epub 2017/08/18. doi: 10.1038/s41598-017-09164-7. PubMed PMID: 28814775; PubMed Central PMCID: PMC6391494.
157. Fortune F, Walker J, Lehner T. The expression of gamma delta T cell receptor and the prevalence of primed, activated and IgA-bound T cells in Behcet's syndrome. *Clin Exp Immunol.* 1990;82(2):326-32. Epub 1990/11/01. doi: 10.1111/j.1365-2249.1990.tb05447.x. PubMed PMID: 2122934; PubMed Central PMCID: PMC1535141.
158. Suzuki Y, Hoshi K, Matsuda T, Mizushima Y. Increased peripheral blood gamma delta+ T cells and natural killer cells in Behcet's disease. *J Rheumatol.* 1992;19(4):588-92. Epub 1992/04/01. PubMed PMID: 1534375.
159. Freysdottir J, Lau S, Fortune F. Gammadelta T cells in Behcet's disease (BD) and recurrent aphthous stomatitis (RAS). *Clin Exp Immunol.* 1999;118(3):451-7. Epub 1999/12/14. doi: 10.1046/j.1365-2249.1999.01069.x. PubMed PMID: 10594567; PubMed Central PMCID: PMC1905456.
160. Bank I, Duvdevani M, Livneh A. Expansion of gammadelta T-cells in Behcet's disease: role of disease activity and microbial flora in oral ulcers. *J Lab Clin Med.* 2003;141(1):33-40. Epub 2003/01/09. doi: 10.1067/mlc.2003.1. PubMed PMID: 12518166.
161. Triolo G, Accardo-Palumbo A, Dieli F, Ciccia F, Ferrante A, Giardina E, et al. Vgamma9/Vdelta2 T lymphocytes in Italian patients with Behcet's disease: evidence for

- expansion, and tumour necrosis factor receptor II and interleukin-12 receptor beta1 expression in active disease. *Arthritis Res Ther.* 2003;5(5):R262-8. Epub 2003/08/23. doi: 10.1186/ar785. PubMed PMID: 12932289; PubMed Central PMCID: PMCPMC193723.
162. Parlakgul G, Guney E, Erer B, Kilicaslan Z, Direskeneli H, Gul A, et al. Expression of regulatory receptors on gammadelta T cells and their cytokine production in Behcet's disease. *Arthritis Res Ther.* 2013;15(1):R15. Epub 2013/01/23. doi: 10.1186/ar4147. PubMed PMID: 23336215; PubMed Central PMCID: PMCPMC3672743.
163. Verjans GM, van Hagen PM, van der Kooi A, Osterhaus AD, Baarsma GS. Vgamma9Vdelta2 T cells recovered from eyes of patients with Behcet's disease recognize non-peptide prenyl pyrophosphate antigens. *J Neuroimmunol.* 2002;130(1-2):46-54. Epub 2002/09/13. doi: 10.1016/s0165-5728(02)00208-4. PubMed PMID: 12225887.
164. Hasan MS, Bergmeier LA, Petrushkin H, Fortune F. Gamma Delta (gammadelta) T Cells and Their Involvement in Behcet's Disease. *J Immunol Res.* 2015;2015:705831. Epub 2015/11/06. doi: 10.1155/2015/705831. PubMed PMID: 26539557; PubMed Central PMCID: PMCPMC4619955.
165. Takeno M, Kariyone A, Yamashita N, Takiguchi M, Mizushima Y, Kaneoka H, et al. Excessive function of peripheral blood neutrophils from patients with Behcet's disease and from HLA-B51 transgenic mice. *Arthritis Rheum.* 1995;38(3):426-33. Epub 1995/03/01. doi: 10.1002/art.1780380321. PubMed PMID: 7880197.
166. Kose K, Yazici C, Cambay N, Ascioğlu O, Dogan P. Lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzymes in patients with Behcet's disease. *Tohoku J Exp Med.* 2002;197(1):9-16. Epub 2002/08/16. doi: 10.1620/tjem.197.9. PubMed PMID: 12180795.
167. Becatti M, Emmi G, Silvestri E, Bruschi G, Ciucciarelli L, Squatrito D, et al. Neutrophil Activation Promotes Fibrinogen Oxidation and Thrombus Formation in Behcet Disease. *Circulation.* 2016;133(3):302-11. Epub 2015/11/21. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017738. PubMed PMID: 26585672.
168. Yazici C, Kose K, Calis M, Demir M, Kirnap M, Ates F. Increased advanced oxidation protein products in Behcet's disease: a new activity marker? *Br J Dermatol.* 2004;151(1):105-11. Epub 2004/07/24. doi: 10.1111/j.1365-2133.2004.06003.x. PubMed PMID: 15270878.
169. Emmi G, Becatti M, Bettiol A, Hatemi G, Prisco D, Fiorillo C. Behcet's Syndrome as a Model of Thrombo-Inflammation: The Role of Neutrophils. *Front Immunol.* 2019;10:1085. Epub 2019/05/30. doi: 10.3389/fimmu.2019.01085. PubMed PMID: 31139195; PubMed Central PMCID: PMCPMC6527740.
170. Gunduz K, Ozturk G, Sozmen EY. Erythrocyte superoxide dismutase, catalase activities and plasma nitrite and nitrate levels in patients with Behcet disease and recurrent aphthous stomatitis.

- Clin Exp Dermatol. 2004;29(2):176-9. Epub 2004/02/28. doi: 10.1111/j.1365-2230.2004.01488.x. PubMed PMID: 14987277.
171. Sancak B, Onder M, Oztas MO, Bukan N, Gurer MA. Nitric oxide levels in Behcet's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2003;17(1):7-9. Epub 2003/02/27. doi: 10.1046/j.1468-3083.2003.t01-1-00574.x. PubMed PMID: 12602959.
172. Carletto A, Pacor ML, Biasi D, Caramaschi P, Zeminian S, Bellavite P, et al. Changes of neutrophil migration without modification of in vitro metabolism and adhesion in Behcet's disease. *J Rheumatol.* 1997;24(7):1332-6. Epub 1997/07/01. PubMed PMID: 9228133.
173. Eksioglu-Demiralp E, Direskeneli H, Kibaroglu A, Yavuz S, Ergun T, Akoglu T. Neutrophil activation in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2001;19(5 Suppl 24):S19-24. Epub 2002/01/05. PubMed PMID: 11760393.
174. Le Joncour A, Martos R, Loyau S, Lelay N, Dossier A, Cazes A, et al. Critical role of neutrophil extracellular traps (NETs) in patients with Behcet's disease. *Ann Rheum Dis.* 2019;78(9):1274-82. Epub 2019/05/31. doi: 10.1136/annrheumdis-2018-214335. PubMed PMID: 31147357.
175. Chen J, Liu T, He J, Liu Y. Correspondence on 'Critical role of neutrophil extracellular traps (NETs) in patients with Behcet's disease'. *Ann Rheum Dis.* 2020. Epub 2020/12/29. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-219472. PubMed PMID: 33361101.
176. Gogus F, Fresko I, Elbir Y, Eksioglu-Demiralp E, Direskeneli H. Oxidative burst response to monosodium urate crystals in patients with Behcet's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2005;23(4 Suppl 38):S81-5. Epub 2005/11/09. PubMed PMID: 16273771.
177. Slobodin G, Toukan Y, Rosner I, Rozenbaum M, Boulman N, Pavlotzky E, et al. LPS-stimulated production of TNF-alpha by peripheral blood monocytes in patients with Behcet's disease. *Clin Rheumatol.* 2007;26(5):764-7. Epub 2006/08/10. doi: 10.1007/s10067-006-0371-6. PubMed PMID: 16897113.
178. Nursal AF, Yigit S, Tural E, Kalkan G, Tumer MK, Tekcan A. Macrophage Migration Inhibitory Factor -173GC Variant Might Increase the Risk of Behcet's Disease. *Med Princ Pract.* 2018;27(3):285-9. Epub 2018/04/19. doi: 10.1159/000489340. PubMed PMID: 29669352; PubMed Central PMCID: PMC6062730.
179. Mendes-Frias A, Santos-Lima B, Furtado DZS, Ruperez FJ, Assuncao NA, Matias MJ, et al. Dysregulation of glycerophospholipid metabolism during Behcet's disease contributes to a pro-inflammatory phenotype of circulating monocytes. *J Transl Autoimmun.* 2020;3:100056. Epub 2020/08/04. doi: 10.1016/j.jtauto.2020.100056. PubMed PMID: 32743536; PubMed Central PMCID: PMC607388368.
180. Huang L, Yu X, Li L, Liu J, Wu X, Zeng Y, et al. Aberrant FcgammaRIIb and FcgammaRIII expression on monocytes from patients with Behcet's disease. *Clin Immunol.* 2020;219:108549. Epub 2020/08/03. doi: 10.1016/j.clim.2020.108549. PubMed PMID: 32739412.

181. Yamaguchi Y, Takahashi H, Satoh T, Okazaki Y, Mizuki N, Takahashi K, et al. Natural killer cells control a T-helper 1 response in patients with Behcet's disease. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(3):R80. Epub 2010/05/13. doi: 10.1186/ar3005. PubMed PMID: 20459787; PubMed Central PMCID: PMC2911862.
182. Cosan F, Aktas Cetin E, Akdeniz N, Emrence Z, Cefle A, Deniz G. Natural Killer Cell Subsets and Their Functional Activity in Behcet's Disease. *Immunol Invest*. 2017;46(4):419-32. Epub 2017/04/08. doi: 10.1080/08820139.2017.1288240. PubMed PMID: 28388249.
183. Takeno M, Shimoyama Y, Kashiwakura J, Nagafuchi H, Sakane T, Suzuki N. Abnormal killer inhibitory receptor expression on natural killer cells in patients with Behcet's disease. *Rheumatol Int*. 2004;24(4):212-6. Epub 2003/07/25. doi: 10.1007/s00296-003-0352-x. PubMed PMID: 12879269.
184. Middleton D, Meenagh A, Sleator C, Gourraud PA, Ayna T, Tozki H, et al. No association of KIR genes with Behcet's disease. *Tissue Antigens*. 2007;70(5):435-8. Epub 2007/09/18. doi: 10.1111/j.1399-0039.2007.00929.x. PubMed PMID: 17868255.
185. Erer B, Takeuchi M, Ustek D, Tugal-Tutkun I, Seyahi E, Ozyazgan Y, et al. Evaluation of KIR3DL1/KIR3DS1 polymorphism in Behcet's disease. *Genes Immun*. 2016;17(7):396-9. Epub 2016/10/07. doi: 10.1038/gene.2016.36. PubMed PMID: 27708262; PubMed Central PMCID: PMC5590678.
186. Mohammad-Ebrahim H, Kamali-Sarvestani E, Mahmoudi M, Beigy M, Karami J, Ahmadzadeh N, et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genes and their HLA ligands with susceptibility to Behcet's disease. *Scand J Rheumatol*. 2018;47(2):155-63. Epub 2017/09/02. doi: 10.1080/03009742.2017.1340510. PubMed PMID: 28862099.
187. Petrushkin H, Norman PJ, Lougee E, Parham P, Wallace GR, Stanford MR, et al. KIR3DL1/S1 Allotypes Contribute Differentially to the Development of Behcet Disease. *J Immunol*. 2019;203(6):1629-35. Epub 2019/08/14. doi: 10.4049/jimmunol.1801178. PubMed PMID: 31405953; PubMed Central PMCID: PMC6731450.
188. Hasan MS, Ryan PL, Bergmeier LA, Fortune F. Circulating NK cells and their subsets in Behcet's disease. *Clin Exp Immunol*. 2017;188(2):311-22. Epub 2017/02/09. doi: 10.1111/cei.12939. PubMed PMID: 28170096; PubMed Central PMCID: PMC5383445.
189. Kucuksezer UC, Aktas-Cetin E, Bilgic-Gazioglu S, Tugal-Tutkun I, Gul A, Deniz G. Natural killer cells dominate a Th-1 polarized response in Behcet's disease patients with uveitis. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33(6 Suppl 94):S24-9. Epub 2015/05/06. PubMed PMID: 25937098.
190. Dalghous AM, Freysdottir J, Fortune F. Expression of cytokines, chemokines, and chemokine receptors in oral ulcers of patients with Behcet's disease (BD) and recurrent aphthous stomatitis is Th1-associated, although Th2-association is also observed in patients with BD. *Scand J*

- Rheumatol. 2006;35(6):472-5. Epub 2007/03/09. doi: 10.1080/03009740600905380. PubMed PMID: 17343257.
191. Houman H, Hamzaoui A, Ben Ghorbal I, Khanfir M, Feki M, Hamzaoui K. Abnormal expression of chemokine receptors in Behcet's disease: relationship to intracellular Th1/Th2 cytokines and to clinical manifestations. *J Autoimmun.* 2004;23(3):267-73. Epub 2004/10/27. doi: 10.1016/j.jaut.2004.07.005. PubMed PMID: 15501397.
 192. Aridogan BC, Yildirim M, Baysal V, Inaloz HS, Baz K, Kaya S. Serum Levels of IL-4, IL-10, IL-12, IL-13 and IFN-gamma in Behcet's disease. *J Dermatol.* 2003;30(8):602-7. Epub 2003/08/21. doi: 10.1111/j.1346-8138.2003.tb00442.x. PubMed PMID: 12928529.
 193. Ahn JK, Yu HG, Chung H, Park YG. Intraocular cytokine environment in active Behcet uveitis. *Am J Ophthalmol.* 2006;142(3):429-34. Epub 2006/08/29. doi: 10.1016/j.ajo.2006.04.016. PubMed PMID: 16935587.
 194. Hamzaoui K. Th17 cells in Behcet's disease: a new immunoregulatory axis. *Clin Exp Rheumatol.* 2011;29(4 Suppl 67):S71-6. Epub 2011/11/02. PubMed PMID: 21968241.
 195. Musabak U, Pay S, Erdem H, Simsek I, Pekel A, Dinc A, et al. Serum interleukin-18 levels in patients with Behcet's disease. Is its expression associated with disease activity or clinical presentations? *Rheumatol Int.* 2006;26(6):545-50. Epub 2005/10/06. doi: 10.1007/s00296-005-0029-8. PubMed PMID: 16205927.
 196. Geri G, Terrier B, Rosenzweig M, Wechsler B, Touzot M, Seilhean D, et al. Critical role of IL-21 in modulating TH17 and regulatory T cells in Behcet disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128(3):655-64. Epub 2011/07/05. doi: 10.1016/j.jaci.2011.05.029. PubMed PMID: 21724243.
 197. Chi W, Zhu X, Yang P, Liu X, Lin X, Zhou H, et al. Upregulated IL-23 and IL-17 in Behcet patients with active uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(7):3058-64. Epub 2008/06/27. doi: 10.1167/iovs.07-1390. PubMed PMID: 18579762.
 198. Kim ES, Kim SW, Moon CM, Park JJ, Kim TI, Kim WH, et al. Interactions between IL17A, IL23R, and STAT4 polymorphisms confer susceptibility to intestinal Behcet's disease in Korean population. *Life Sci.* 2012;90(19-20):740-6. Epub 2012/04/10. doi: 10.1016/j.lfs.2012.03.017. PubMed PMID: 22483685.
 199. 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(4):205-10. Epub 2002/10/09. doi: 10.1080/030097402320318387. PubMed PMID: 12369651.
 200. Zarembek KA, Godowski PJ. Tissue expression of human Toll-like receptors and differential regulation of Toll-like receptor mRNAs in leukocytes in response to microbes, their products,

- and cytokines. *J Immunol.* 2002;168(2):554-61. Epub 2002/01/05. doi: 10.4049/jimmunol.168.2.554. PubMed PMID: 11777946.
201. Oztas MO, Onder M, Gurer MA, Bukan N, Sancak B. Serum interleukin 18 and tumour necrosis factor-alpha levels are increased in Behcet's disease. *Clin Exp Dermatol.* 2005;30(1):61-3. Epub 2005/01/25. doi: 10.1111/j.1365-2230.2004.01684.x. PubMed PMID: 15663506.
202. Deniz R, Tulunay-Virlan A, Ture Ozdemir F, Unal AU, Ozen G, Alibaz-Oner F, et al. Th17-Inducing Conditions Lead to in vitro Activation of Both Th17 and Th1 Responses in Behcet's Disease. *Immunol Invest.* 2017;46(5):518-25. Epub 2017/04/18. doi: 10.1080/08820139.2017.1306865. PubMed PMID: 28414558.
203. Mills KH. Induction, function and regulation of IL-17-producing T cells. *Eur J Immunol.* 2008;38(10):2636-49. Epub 2008/10/30. doi: 10.1002/eji.200838535. PubMed PMID: 18958872.
204. Hamzaoui K, Borhani Haghighi A, Ghorbel IB, Houman H. RORC and Foxp3 axis in cerebrospinal fluid of patients with neuro-Behcet's disease. *J Neuroimmunol.* 2011;233(1-2):249-53. Epub 2011/03/04. doi: 10.1016/j.jneuroim.2011.01.012. PubMed PMID: 21367463.
205. Pekiner FN, Aytugan E, Demirel GY, Borahan MO. Interleukin-2, interleukin-6 and T regulatory cells in peripheral blood of patients with Behcet's disease and recurrent aphthous ulcerations. *J Oral Pathol Med.* 2012;41(1):73-9. Epub 2011/07/09. doi: 10.1111/j.1600-0714.2011.01061.x. PubMed PMID: 21736625.
206. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Houman H. CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24(5 Suppl 42):S71-8. Epub 2006/10/28. PubMed PMID: 17067431.
207. Nanke Y, Kotake S, Goto M, Ujihara H, Matsubara M, Kamatani N. Decreased percentages of regulatory T cells in peripheral blood of patients with Behcet's disease before ocular attack: a possible predictive marker of ocular attack. *Mod Rheumatol.* 2008;18(4):354-8. Epub 2008/04/23. doi: 10.1007/s10165-008-0064-x. PubMed PMID: 18427720.
208. Pay S, Erdem H, Pekel A, Simsek I, Musabak U, Sengul A, et al. Synovial proinflammatory cytokines and their correlation with matrix metalloproteinase-3 expression in Behcet's disease. Does interleukin-1beta play a major role in Behcet's synovitis? *Rheumatol Int.* 2006;26(7):608-13. Epub 2005/10/06. doi: 10.1007/s00296-005-0040-0. PubMed PMID: 16205926.
209. Sugita S, Kawazoe Y, Imai A, Yamada Y, Horie S, Mochizuki M. Inhibition of Th17 differentiation by anti-TNF-alpha therapy in uveitis patients with Behcet's disease. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(3):R99. Epub 2012/05/02. doi: 10.1186/ar3824. PubMed PMID: 22546542; PubMed Central PMCID: PMC3446476.

210. Sugi-Ikai N, Nakazawa M, Nakamura S, Ohno S, Minami M. Increased frequencies of interleukin-2- and interferon-gamma-producing T cells in patients with active Behcet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39(6):996-1004. Epub 1998/05/14. PubMed PMID: 9579479.
211. Teng MW, Bowman EP, McElwee JJ, Smyth MJ, Casanova JL, Cooper AM, et al. IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases. *Nat Med.* 2015;21(7):719-29. Epub 2015/06/30. doi: 10.1038/nm.3895. PubMed PMID: 26121196.
212. Koarada S, Haruta Y, Tada Y, Ushiyama O, Morito F, Ohta A, et al. Increased entry of CD4+ T cells into the Th1 cytokine effector pathway during T-cell division following stimulation in Behcet's disease. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43(7):843-51. Epub 2004/05/20. doi: 10.1093/rheumatology/keh195. PubMed PMID: 15150429.
213. Takeuchi M, Karasawa Y, Harimoto K, Tanaka A, Shibata M, Sato T, et al. Analysis of Th Cell-related Cytokine Production in Behcet Disease Patients with Uveitis Before and After Infliximab Treatment. *Ocul Immunol Inflamm.* 2017;25(1):52-61. Epub 2016/04/14. doi: 10.3109/09273948.2016.1158276. PubMed PMID: 27070371; PubMed Central PMCID: PMC5061625.
214. Raziuddin S, al-Dalaan A, Bahabri S, Siraj AK, al-Sedairy S. Divergent cytokine production profile in Behcet's disease. Altered Th1/Th2 cell cytokine pattern. *J Rheumatol.* 1998;25(2):329-33. Epub 1998/03/07. PubMed PMID: 9489829.
215. Liu X, Yang P, Wang C, Li F, Kijlstra A. IFN-alpha blocks IL-17 production by peripheral blood mononuclear cells in Behcet's disease. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(2):293-8. Epub 2010/11/10. doi: 10.1093/rheumatology/keq330. PubMed PMID: 21059671.
216. Guenane H, Hartani D, Chachoua L, Lahlou-Boukoffa OS, Mazari F, Touil-Boukoffa C. [Production of Th1/Th2 cytokines and nitric oxide in Behcet's uveitis and idiopathic uveitis]. *J Fr Ophthalmol.* 2006;29(2):146-52. Epub 2006/03/09. doi: 10.1016/s0181-5512(06)73762-7. PubMed PMID: 16523155.
217. Ben Ahmed M, Houman H, Miled M, Dellagi K, Louzir H. Involvement of chemokines and Th1 cytokines in the pathogenesis of mucocutaneous lesions of Behcet's disease. *Arthritis Rheum.* 2004;50(7):2291-5. Epub 2004/07/13. doi: 10.1002/art.20334. PubMed PMID: 15248229.
218. Duhon T, Geiger R, Jarrossay D, Lanzavecchia A, Sallusto F. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat Immunol.* 2009;10(8):857-63. Epub 2009/07/07. doi: 10.1038/ni.1767. PubMed PMID: 19578369.
219. Yang X, Zheng SG. Interleukin-22: a likely target for treatment of autoimmune diseases. *Autoimmun Rev.* 2014;13(6):615-20. Epub 2014/01/15. doi: 10.1016/j.autrev.2013.11.008. PubMed PMID: 24418299; PubMed Central PMCID: PMC3966954.

220. Sugita S, Kawazoe Y, Imai A, Kawaguchi T, Horie S, Keino H, et al. Role of IL-22- and TNF-alpha-producing Th22 cells in uveitis patients with Behcet's disease. *J Immunol.* 2013;190(11):5799-808. Epub 2013/05/01. doi: 10.4049/jimmunol.1202677. PubMed PMID: 23630362; PubMed Central PMCID: PMC3659956.
221. Cai T, Wang Q, Zhou Q, Wang C, Hou S, Qi J, et al. Increased expression of IL-22 is associated with disease activity in Behcet's disease. *PLoS One.* 2013;8(3):e59009. Epub 2013/03/26. doi: 10.1371/journal.pone.0059009. PubMed PMID: 23527071; PubMed Central PMCID: PMC3602549.
222. Aktas Cetin E, Cosan F, Cefle A, Deniz G. IL-22-secreting Th22 and IFN-gamma-secreting Th17 cells in Behcet's disease. *Mod Rheumatol.* 2014;24(5):802-7. Epub 2014/02/07. doi: 10.3109/14397595.2013.879414. PubMed PMID: 24498963.
223. Nold MF, Nold-Petry CA, Zepp JA, Palmer BE, Bufler P, Dinarello CA. IL-37 is a fundamental inhibitor of innate immunity. *Nat Immunol.* 2010;11(11):1014-22. Epub 2010/10/12. doi: 10.1038/ni.1944. PubMed PMID: 20935647; PubMed Central PMCID: PMC3537119.
224. Bouali E, Kaabachi W, Hamzaoui A, Hamzaoui K. Interleukin-37 expression is decreased in Behcet's disease and is associated with inflammation. *Immunol Lett.* 2015;167(2):87-94. Epub 2015/08/09. doi: 10.1016/j.imlet.2015.08.001. PubMed PMID: 26253248.
225. Ye Z, Wang C, Kijlstra A, Zhou X, Yang P. A possible role for interleukin 37 in the pathogenesis of Behcet's disease. *Curr Mol Med.* 2014;14(4):535-42. Epub 2014/04/16. doi: 10.2174/1566524014666140414210831. PubMed PMID: 24730521.
226. Wang C, Tian Y, Ye Z, Kijlstra A, Zhou Y, Yang P. Decreased interleukin 27 expression is associated with active uveitis in Behcet's disease. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(3):R117. Epub 2014/06/03. doi: 10.1186/ar4570. PubMed PMID: 24887071; PubMed Central PMCID: PMC4095700.
227. Curnow SJ, Pryce K, Modi N, Knight B, Graham EM, Stewart JE, et al. Serum cytokine profiles in Behcet's disease: is there a role for IL-15 in pathogenesis? *Immunol Lett.* 2008;121(1):7-12. Epub 2008/08/19. doi: 10.1016/j.imlet.2008.07.009. PubMed PMID: 18706446.
228. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Ghorbel I, Khanfir M, Houman H. Levels of IL-15 in serum and cerebrospinal fluid of patients with Behcet's disease. *Scand J Immunol.* 2006;64(6):655-60. Epub 2006/11/07. doi: 10.1111/j.1365-3083.2006.01844.x. PubMed PMID: 17083622.
229. Liew FY, Pitman NI, McInnes IB. Disease-associated functions of IL-33: the new kid in the IL-1 family. *Nat Rev Immunol.* 2010;10(2):103-10. Epub 2010/01/19. doi: 10.1038/nri2692. PubMed PMID: 20081870.
230. Hamzaoui K, Bouali E, Hamzaoui A. Interleukin-33 and Behcet disease: Another cytokine among others. *Hum Immunol.* 2015;76(5):301-6. Epub 2015/03/31. doi: 10.1016/j.humimm.2015.03.011. PubMed PMID: 25814446.

231. Koca SS, Kara M, Deniz F, Ozgen M, Demir CF, Ilhan N, et al. Serum IL-33 level and IL-33 gene polymorphisms in Behcet's disease. *Rheumatol Int.* 2015;35(3):471-7. Epub 2014/08/15. doi: 10.1007/s00296-014-3111-2. PubMed PMID: 25119832.
232. Cerci P, Altiner S, Inal A, Kose K, Keskin G, Olmez U. Investigating the role of IL-33 in the pathogenesis of Behcet's Disease. *Acta Clin Belg.* 2017;72(6):434-8. Epub 2017/04/18. doi: 10.1080/17843286.2017.1314241. PubMed PMID: 28412856.
233. Fawzy RM, Said EA, Mohamed SM, Fouad NA, Akl EM. Serum Interleukin-33 in Behcet's Disease: Its Relation to Disease Activity and Clinical Manifestations. *Egypt J Immunol.* 2015;22(2):1-8. Epub 2015/06/01. PubMed PMID: 28502139.
234. Cingu AK, Turkcu FM, Aktas S, Sahin A, Ayyildiz O. Serum IL-4, IL-12, IL-13, IL-27, and IL-33 levels in active and inactive ocular Behcet's disease. *Int Ophthalmol.* 2020;40(12):3441-51. Epub 2020/07/31. doi: 10.1007/s10792-020-01530-1. PubMed PMID: 32729061.
235. Talei M, Abdi A, Shanebandi D, Jadidi-Niaragh F, Khabazi A, Babaie F, et al. Interleukin-33 gene expression and rs1342326 polymorphism in Behcet's disease. *Immunol Lett.* 2019;212:120-4. Epub 2018/11/18. doi: 10.1016/j.imlet.2018.11.005. PubMed PMID: 30447310.
236. Pei M, Liu X, Yang P, Zhao C, Gao F, Qu Y, et al. Genetic Association of Interleukin 33/ST2 Polymorphisms With Behcet's Uveitis. *Front Immunol.* 2021;12:589639. Epub 2021/04/17. doi: 10.3389/fimmu.2021.589639. PubMed PMID: 33859633; PubMed Central PMCID: PMC8043080.
237. Krause I, Monselise Y, Milo G, Weinberger A. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies--a novel serologic marker for Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2002;20(4 Suppl 26):S21-4. Epub 2002/10/10. PubMed PMID: 12371630.
238. Fresko I, Ugurlu S, Ozbakir F, Celik A, Yurdakul S, Hamuryudan V, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) in Behcet's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2005;23(4 Suppl 38):S67-70. Epub 2005/11/09. PubMed PMID: 16273768.
239. Choi CH, Kim TI, Kim BC, Shin SJ, Lee SK, Kim WH, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibody in intestinal Behcet's disease patients: relation to clinical course. *Dis Colon Rectum.* 2006;49(12):1849-59. Epub 2006/11/03. doi: 10.1007/s10350-006-0706-z. PubMed PMID: 17080284.
240. Monselise A, Weinberger A, Monselise Y, Fraser A, Sulkes J, Krause I. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in Behcet's disease--a familial study. *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24(5 Suppl 42):S87-90. Epub 2006/10/28. PubMed PMID: 17067434.
241. Aydintug AO, Tokgoz G, D'Cruz DP, Gurler A, Cervera R, Duzgun N, et al. Antibodies to endothelial cells in patients with Behcet's disease. *Clin Immunol Immunopathol.* 1993;67(2):157-62. Epub 1993/05/01. doi: 10.1006/clin.1993.1059. PubMed PMID: 8519091.

242. Cervera R, Navarro M, Lopez-Soto A, Cid MC, Font J, Esparza J, et al. Antibodies to endothelial cells in Behcet's disease: cell-binding heterogeneity and association with clinical activity. *Ann Rheum Dis*. 1994;53(4):265-7. Epub 1994/04/01. doi: 10.1136/ard.53.4.265. PubMed PMID: 8203957; PubMed Central PMCID: PMCPMC1005307.
243. Direskeneli H, Keser G, D'Cruz D, Khamashta MA, Akoglu T, Yazici H, et al. Anti-endothelial cell antibodies, endothelial proliferation and von Willebrand factor antigen in Behcet's disease. *Clin Rheumatol*. 1995;14(1):55-61. Epub 1995/01/01. doi: 10.1007/BF02208085. PubMed PMID: 7743745.
244. Lee KH, Chung HS, Kim HS, Oh SH, Ha MK, Baik JH, et al. Human alpha-enolase from endothelial cells as a target antigen of anti-endothelial cell antibody in Behcet's disease. *Arthritis Rheum*. 2003;48(7):2025-35. Epub 2003/07/09. doi: 10.1002/art.11074. PubMed PMID: 12847697.
245. Lee JH, Cho SB, Bang D, Oh SH, Ahn KJ, Kim J, et al. Human anti-alpha-enolase antibody in sera from patients with Behcet's disease and rheumatologic disorders. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27(2 Suppl 53):S63-6. Epub 2009/11/17. PubMed PMID: 19796536.
246. Ooka S, Nakano H, Matsuda T, Okamoto K, Suematsu N, Kurokawa MS, et al. Proteomic surveillance of autoantigens in patients with Behcet's disease by a proteomic approach. *Microbiol Immunol*. 2010;54(6):354-61. Epub 2010/06/12. doi: 10.1111/j.1348-0421.2010.00215.x. PubMed PMID: 20536734.
247. Kang HJ, Lee YW, Han SH, Cho HC, Lee KM. Anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibodies in Behcet's disease. *J Korean Med Sci*. 1998;13(4):400-4. Epub 1998/09/19. doi: 10.3346/jkms.1998.13.4.400. PubMed PMID: 9741545; PubMed Central PMCID: PMCPMC3054427.
248. Tokay S, Direskeneli H, Yurdakul S, Akoglu T. Anticardiolipin antibodies in Behcet's disease: a reassessment. *Rheumatology (Oxford)*. 2001;40(2):192-5. Epub 2001/03/21. doi: 10.1093/rheumatology/40.2.192. PubMed PMID: 11257156.
249. Kawakami T, Yamazaki M, Mizoguchi M, Soma Y. Antiphosphatidylserine-prothrombin complex antibodies in 3 patients with Behcet disease involving superficial vein thrombophlebitis. *Arch Dermatol*. 2009;145(2):171-5. Epub 2009/02/18. doi: 10.1001/archdermatol.2008.570. PubMed PMID: 19221262.
250. Musabak U, Baylan O, Cetin T, Yesilova Z, Sengul A, Saglam K, et al. Lipid profile and anticardiolipin antibodies in Behcet's disease. *Arch Med Res*. 2005;36(4):387-92. Epub 2005/06/14. doi: 10.1016/j.arcmed.2005.03.019. PubMed PMID: 15950080.
251. Briani C, Doria A, Marcolongo R, Tognon S, Ruggero S, Toffanin E, et al. Increased titres of IgM anti-heparan sulfate antibody in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2006;24(5 Suppl 42):S104-7. Epub 2006/10/28. PubMed PMID: 17067438.

252. Feng XG, Ye S, Lu Y, Xu XJ, Gu YY, Shen N, et al. Antikinectin autoantibody in Behcet's disease and several other autoimmune connective tissue diseases. *Clin Exp Rheumatol*. 2007;25(4 Suppl 45):S80-5. Epub 2007/11/14. PubMed PMID: 17949557.
253. Lu Y, Ye P, Chen SL, Tan EM, Chan EK. Identification of kinectin as a novel Behcet's disease autoantigen. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(5):R1133-9. Epub 2005/10/07. doi: 10.1186/ar1798. PubMed PMID: 16207330; PubMed Central PMCID: PMCPMC1257442.
254. Mor F, Weinberger A, Cohen IR. Identification of alpha-tropomyosin as a target self-antigen in Behcet's syndrome. *Eur J Immunol*. 2002;32(2):356-65. Epub 2002/01/25. doi: 10.1002/1521-4141(200202)32:2<356::AID-IMMU356>3.0.CO;2-9. PubMed PMID: 11807775.
255. Delunardo F, Conti F, Margutti P, Alessandri C, Priori R, Siracusano A, et al. Identification and characterization of the carboxy-terminal region of Sip-1, a novel autoantigen in Behcet's disease. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(3):R71. Epub 2006/04/14. doi: 10.1186/ar1940. PubMed PMID: 16611372; PubMed Central PMCID: PMCPMC1526626.
256. Aslan H, Pay S, Gok F, Baykal Y, Yilmaz MI, Sengul A, et al. Antiannexin V autoantibody in thrombophilic Behcet's disease. *Rheumatol Int*. 2004;24(2):77-9. Epub 2003/12/06. doi: 10.1007/s00296-002-0274-z. PubMed PMID: 14658002.
257. Vural B, Demirkan A, Ugurel E, Kalaylioglu-Wheeler Z, Esen BA, Gure AO, et al. Seroreactivity against PTEN-induced putative kinase 1 (PINK1) in Turkish patients with Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27(2 Suppl 53):S67-72. Epub 2009/11/17. PubMed PMID: 19796537.
258. Suzuki N, Sakane T, Ueda Y, Tsunematsu T. Abnormal B cell function in patients with Behcet's disease. *Arthritis Rheum*. 1986;29(2):212-9. Epub 1986/02/01. doi: 10.1002/art.1780290209. PubMed PMID: 3485432.
259. Eksioglu-Demiralp E, Kibaroglu A, Direskeneli H, Yavuz S, Karsli F, Yurdakul S, et al. Phenotypic characteristics of B cells in Behcet's disease: increased activity in B cell subsets. *J Rheumatol*. 1999;26(4):826-32. Epub 1999/05/06. PubMed PMID: 10229403.
260. Shaker OG, Tawfic SO, El-Tawdy AM, El-Komy MH, El Menyawi M, Heikal AA. Expression of TNF-alpha, APRIL and BCMA in Behcet's disease. *J Immunol Res*. 2014;2014:380405. Epub 2014/01/01. doi: 10.1155/2014/380405. PubMed PMID: 25759827; PubMed Central PMCID: PMCPMC4236893.
261. Ron D. Translational control in the endoplasmic reticulum stress response. *J Clin Invest*. 2002;110(10):1383-8. Epub 2002/11/20. doi: 10.1172/JCI16784. PubMed PMID: 12438433; PubMed Central PMCID: PMCPMC151821.
262. Harding HP, Zhang Y, Zeng H, Novoa I, Lu PD, Calfon M, et al. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol Cell*. 2003;11(3):619-33. Epub 2003/04/02. doi: 10.1016/s1097-2765(03)00105-9. PubMed PMID: 12667446.

263. Brostrom CO, Prostko CR, Kaufman RJ, Brostrom MA. Inhibition of translational initiation by activators of the glucose-regulated stress protein and heat shock protein stress response systems. Role of the interferon-inducible double-stranded RNA-activated eukaryotic initiation factor 2alpha kinase. *J Biol Chem.* 1996;271(40):24995-5002. Epub 1996/10/04. doi: 10.1074/jbc.271.40.24995. PubMed PMID: 8798781.
264. Dever TE, Feng L, Wek RC, Cigan AM, Donahue TF, Hinnebusch AG. Phosphorylation of initiation factor 2 alpha by protein kinase GCN2 mediates gene-specific translational control of GCN4 in yeast. *Cell.* 1992;68(3):585-96. Epub 1992/02/07. doi: 10.1016/0092-8674(92)90193-g. PubMed PMID: 1739968.
265. Wek RC, Jiang HY, Anthony TG. Coping with stress: eIF2 kinases and translational control. *Biochem Soc Trans.* 2006;34(Pt 1):7-11. Epub 2005/10/26. doi: 10.1042/BST20060007. PubMed PMID: 16246168.
266. Costa-Mattioli M, Walter P. The integrated stress response: From mechanism to disease. *Science.* 2020;368(6489). Epub 2020/04/25. doi: 10.1126/science.aat5314. PubMed PMID: 32327570.
267. Way SW, Popko B. Harnessing the integrated stress response for the treatment of multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2016;15(4):434-43. Epub 2016/02/14. doi: 10.1016/S1474-4422(15)00381-6. PubMed PMID: 26873788; PubMed Central PMCID: PMC4792730.
268. Bond S, Lopez-Lloreda C, Gannon PJ, Akay-Espinoza C, Jordan-Sciutto KL. The Integrated Stress Response and Phosphorylated Eukaryotic Initiation Factor 2alpha in Neurodegeneration. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2020;79(2):123-43. Epub 2020/01/09. doi: 10.1093/jnen/nlz129. PubMed PMID: 31913484; PubMed Central PMCID: PMC6970450.
269. Manga P, Choudhury N. The unfolded protein and integrated stress response in melanoma and vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2021;34(2):204-11. Epub 2020/11/21. doi: 10.1111/pcmr.12947. PubMed PMID: 33215847.
270. Wek RC. Role of eIF2alpha Kinases in Translational Control and Adaptation to Cellular Stress. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2018;10(7). Epub 2018/02/15. doi: 10.1101/cshperspect.a032870. PubMed PMID: 29440070; PubMed Central PMCID: PMC6028073.
271. Pakos-Zebrucka K, Koryga I, Mnich K, Ljubic M, Samali A, Gorman AM. The integrated stress response. *EMBO Rep.* 2016;17(10):1374-95. Epub 2016/09/16. doi: 10.15252/embr.201642195. PubMed PMID: 27629041; PubMed Central PMCID: PMC5048378.
272. Oliveira MM, Lourenco MV. Integrated Stress Response: Connecting ApoE4 to Memory Impairment in Alzheimer's Disease. *J Neurosci.* 2016;36(4):1053-5. Epub 2016/01/29. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4110-15.2016. PubMed PMID: 26818496; PubMed Central PMCID: PMC6604828.

273. van 't Wout EF, Hiemstra PS, Marciniak SJ. The integrated stress response in lung disease. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014;50(6):1005-9. Epub 2014/03/13. doi: 10.1165/rcmb.2014-0019TR. PubMed PMID: 24605820.
274. McConkey DJ. The integrated stress response and proteotoxicity in cancer therapy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;482(3):450-3. Epub 2017/02/19. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.11.047. PubMed PMID: 28212730; PubMed Central PMCID: PMC5319732.
275. Abdulkarim B, Nicolino M, Igoillo-Esteve M, Daures M, Romero S, Philippi A, et al. A Missense Mutation in PPP1R15B Causes a Syndrome Including Diabetes, Short Stature, and Microcephaly. *Diabetes.* 2015;64(11):3951-62. Epub 2015/07/15. doi: 10.2337/db15-0477. PubMed PMID: 26159176; PubMed Central PMCID: PMC54713904.
276. Eyries M, Montani D, Girerd B, Perret C, Leroy A, Lonjou C, et al. EIF2AK4 mutations cause pulmonary veno-occlusive disease, a recessive form of pulmonary hypertension. *Nat Genet.* 2014;46(1):65-9. Epub 2013/12/03. doi: 10.1038/ng.2844. PubMed PMID: 24292273.
277. Kalish BT, Kim E, Finander B, Duffy EE, Kim H, Gilman CK, et al. Maternal immune activation in mice disrupts proteostasis in the fetal brain. *Nat Neurosci.* 2020. Epub 2020/12/29. doi: 10.1038/s41593-020-00762-9. PubMed PMID: 33361822.
278. Tsalikis J, Croitoru DO, Philpott DJ, Girardin SE. Nutrient sensing and metabolic stress pathways in innate immunity. *Cell Microbiol.* 2013;15(10):1632-41. Epub 2013/07/10. doi: 10.1111/cmi.12165. PubMed PMID: 23834352.
279. Emanuelli G, Nassehzadeh-Tabriz N, Morrell NW, Marciniak SJ. The integrated stress response in pulmonary disease. *Eur Respir Rev.* 2020;29(157). Epub 2020/10/03. doi: 10.1183/16000617.0184-2020. PubMed PMID: 33004527; PubMed Central PMCID: PMC7116220.
280. Jackson RJ, Hellen CU, Pestova TV. The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11(2):113-27. Epub 2010/01/23. doi: 10.1038/nrm2838. PubMed PMID: 20094052; PubMed Central PMCID: PMC4461372.
281. Voigts-Hoffmann F, Klinge S, Ban N. Structural insights into eukaryotic ribosomes and the initiation of translation. *Curr Opin Struct Biol.* 2012;22(6):768-77. Epub 2012/08/15. doi: 10.1016/j.sbi.2012.07.010. PubMed PMID: 22889726.
282. Hinnebusch AG. The scanning mechanism of eukaryotic translation initiation. *Annu Rev Biochem.* 2014;83:779-812. Epub 2014/02/07. doi: 10.1146/annurev-biochem-060713-035802. PubMed PMID: 24499181.
283. Hinnebusch AG, Ivanov IP, Sonenberg N. Translational control by 5'-untranslated regions of eukaryotic mRNAs. *Science.* 2016;352(6292):1413-6. Epub 2016/06/18. doi: 10.1126/science.aad9868. PubMed PMID: 27313038; PubMed Central PMCID: PMC5422601.

284. Kong J, Lasko P. Translational control in cellular and developmental processes. *Nat Rev Genet.* 2012;13(6):383-94. Epub 2012/05/10. doi: 10.1038/nrg3184. PubMed PMID: 22568971.
285. Chu J, Cargnello M, Topisirovic I, Pelletier J. Translation Initiation Factors: Reprogramming Protein Synthesis in Cancer. *Trends Cell Biol.* 2016;26(12):918-33. Epub 2016/07/19. doi: 10.1016/j.tcb.2016.06.005. PubMed PMID: 27426745.
286. Sonenberg N, Hinnebusch AG. Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets. *Cell.* 2009;136(4):731-45. Epub 2009/02/26. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.042. PubMed PMID: 19239892; PubMed Central PMCID: PMC3610329.
287. Shi Y, Vattem KM, Sood R, An J, Liang J, Stramm L, et al. Identification and characterization of pancreatic eukaryotic initiation factor 2 alpha-subunit kinase, PEK, involved in translational control. *Mol Cell Biol.* 1998;18(12):7499-509. Epub 1998/11/20. doi: 10.1128/mcb.18.12.7499. PubMed PMID: 9819435; PubMed Central PMCID: PMC109330.
288. Harding HP, Zhang Y, Ron D. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. *Nature.* 1999;397(6716):271-4. Epub 1999/02/04. doi: 10.1038/16729. PubMed PMID: 9930704.
289. Gomez E, Mohammad SS, Pavitt GD. Characterization of the minimal catalytic domain within eIF2B: the guanine-nucleotide exchange factor for translation initiation. *EMBO J.* 2002;21(19):5292-301. Epub 2002/10/03. doi: 10.1093/emboj/cdf515. PubMed PMID: 12356745; PubMed Central PMCID: PMC129037.
290. Novoa I, Zhang Y, Zeng H, Jungreis R, Harding HP, Ron D. Stress-induced gene expression requires programmed recovery from translational repression. *EMBO J.* 2003;22(5):1180-7. Epub 2003/02/28. doi: 10.1093/emboj/cdg112. PubMed PMID: 12606582; PubMed Central PMCID: PMC150345.
291. Marciniak SJ, Yun CY, Oyadomari S, Novoa I, Zhang Y, Jungreis R, et al. CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes Dev.* 2004;18(24):3066-77. Epub 2004/12/17. doi: 10.1101/gad.1250704. PubMed PMID: 15601821; PubMed Central PMCID: PMC150345.
292. Lee YY, Cevallos RC, Jan E. An upstream open reading frame regulates translation of GADD34 during cellular stresses that induce eIF2alpha phosphorylation. *J Biol Chem.* 2009;284(11):6661-73. Epub 2009/01/10. doi: 10.1074/jbc.M806735200. PubMed PMID: 19131336; PubMed Central PMCID: PMC2652341.
293. Koromilas AE. M(en)TORship lessons on life and death by the integrated stress response. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2019;1863(3):644-9. Epub 2018/12/21. doi: 10.1016/j.bbagen.2018.12.009. PubMed PMID: 30572003.

294. Zhou D, Palam LR, Jiang L, Narasimhan J, Staschke KA, Wek RC. Phosphorylation of eIF2 directs ATF5 translational control in response to diverse stress conditions. *J Biol Chem.* 2008;283(11):7064-73. Epub 2008/01/16. doi: 10.1074/jbc.M708530200. PubMed PMID: 18195013.
295. Harding HP, Novoa I, Zhang Y, Zeng H, Wek R, Schapira M, et al. Regulated translation initiation controls stress-induced gene expression in mammalian cells. *Mol Cell.* 2000;6(5):1099-108. Epub 2000/12/07. doi: 10.1016/s1097-2765(00)00108-8. PubMed PMID: 11106749.
296. Palam LR, Baird TD, Wek RC. Phosphorylation of eIF2 facilitates ribosomal bypass of an inhibitory upstream ORF to enhance CHOP translation. *J Biol Chem.* 2011;286(13):10939-49. Epub 2011/02/03. doi: 10.1074/jbc.M110.216093. PubMed PMID: 21285359; PubMed Central PMCID: PMC3064149.
297. Baird TD, Palam LR, Fusakio ME, Willy JA, Davis CM, McClintick JN, et al. Selective mRNA translation during eIF2 phosphorylation induces expression of IBTKalpha. *Mol Biol Cell.* 2014;25(10):1686-97. Epub 2014/03/22. doi: 10.1091/mbc.E14-02-0704. PubMed PMID: 24648495; PubMed Central PMCID: PMC4019499.
298. Young SK, Willy JA, Wu C, Sachs MS, Wek RC. Ribosome Reinitiation Directs Gene-specific Translation and Regulates the Integrated Stress Response. *J Biol Chem.* 2015;290(47):28257-71. Epub 2015/10/09. doi: 10.1074/jbc.M115.693184. PubMed PMID: 26446796; PubMed Central PMCID: PMC4653682.
299. Andreev DE, O'Connor PB, Fahey C, Kenny EM, Terenin IM, Dmitriev SE, et al. Translation of 5' leaders is pervasive in genes resistant to eIF2 repression. *Elife.* 2015;4:e03971. Epub 2015/01/27. doi: 10.7554/eLife.03971. PubMed PMID: 25621764; PubMed Central PMCID: PMC4383229.
300. Willy JA, Young SK, Mosley AL, Gawrieh S, Stevens JL, Masuoka HC, et al. Function of inhibitor of Bruton's tyrosine kinase isoform alpha (IBTKalpha) in nonalcoholic steatohepatitis links autophagy and the unfolded protein response. *J Biol Chem.* 2017;292(34):14050-65. Epub 2017/07/16. doi: 10.1074/jbc.M117.799304. PubMed PMID: 28710282; PubMed Central PMCID: PMC5572902.
301. Young SK, Baird TD, Wek RC. Translation Regulation of the Glutamyl-prolyl-tRNA Synthetase Gene EPRS through Bypass of Upstream Open Reading Frames with Noncanonical Initiation Codons. *J Biol Chem.* 2016;291(20):10824-35. Epub 2016/03/24. doi: 10.1074/jbc.M116.722256. PubMed PMID: 27002157; PubMed Central PMCID: PMC4865927.
302. Dar AC, Dever TE, Sicheri F. Higher-order substrate recognition of eIF2alpha by the RNA-dependent protein kinase PKR. *Cell.* 2005;122(6):887-900. Epub 2005/09/24. doi: 10.1016/j.cell.2005.06.044. PubMed PMID: 16179258.

303. Su Q, Wang S, Baltzis D, Qu LK, Wong AH, Koromilas AE. Tyrosine phosphorylation acts as a molecular switch to full-scale activation of the eIF2alpha RNA-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(1):63-8. Epub 2005/12/24. doi: 10.1073/pnas.0508207103. PubMed PMID: 16373505; PubMed Central PMCID: PMCPMC1324992.
304. Dey M, Cao C, Dar AC, Tamura T, Ozato K, Sicheri F, et al. Mechanistic link between PKR dimerization, autophosphorylation, and eIF2alpha substrate recognition. *Cell*. 2005;122(6):901-13. Epub 2005/09/24. doi: 10.1016/j.cell.2005.06.041. PubMed PMID: 16179259.
305. Chukwurah E, Patel RC. Stress-induced TRBP phosphorylation enhances its interaction with PKR to regulate cellular survival. *Sci Rep*. 2018;8(1):1020. Epub 2018/01/20. doi: 10.1038/s41598-018-19360-8. PubMed PMID: 29348664; PubMed Central PMCID: PMCPMC5773696.
306. Marques JT, White CL, Peters GA, Williams BR, Sen GC. The role of PACT in mediating gene induction, PKR activation, and apoptosis in response to diverse stimuli. *J Interferon Cytokine Res*. 2008;28(8):469-76. Epub 2008/08/30. doi: 10.1089/jir.2007.0006. PubMed PMID: 18729737; PubMed Central PMCID: PMCPMC2965581.
307. Li S, Peters GA, Ding K, Zhang X, Qin J, Sen GC. Molecular basis for PKR activation by PACT or dsRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(26):10005-10. Epub 2006/06/21. doi: 10.1073/pnas.0602317103. PubMed PMID: 16785445; PubMed Central PMCID: PMCPMC1502496.
308. Cabanski M, Steinmuller M, Marsh LM, Surdziel E, Seeger W, Lohmeyer J. PKR regulates TLR2/TLR4-dependent signaling in murine alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2008;38(1):26-31. Epub 2007/08/11. doi: 10.1165/rcmb.2007-0010OC. PubMed PMID: 17690330.
309. Lu B, Nakamura T, Inouye K, Li J, Tang Y, Lundback P, et al. Novel role of PKR in inflammasome activation and HMGB1 release. *Nature*. 2012;488(7413):670-4. Epub 2012/07/18. doi: 10.1038/nature11290. PubMed PMID: 22801494; PubMed Central PMCID: PMCPMC4163918.
310. Goh KC, deVeer MJ, Williams BR. The protein kinase PKR is required for p38 MAPK activation and the innate immune response to bacterial endotoxin. *EMBO J*. 2000;19(16):4292-7. Epub 2000/08/16. doi: 10.1093/emboj/19.16.4292. PubMed PMID: 10944112; PubMed Central PMCID: PMCPMC302024.
311. Hsu LC, Park JM, Zhang K, Luo JL, Maeda S, Kaufman RJ, et al. The protein kinase PKR is required for macrophage apoptosis after activation of Toll-like receptor 4. *Nature*. 2004;428(6980):341-5. Epub 2004/03/19. doi: 10.1038/nature02405. PubMed PMID: 15029200.
312. Pham AM, Santa Maria FG, Lahiri T, Friedman E, Marie IJ, Levy DE. PKR Transduces MDA5-Dependent Signals for Type I IFN Induction. *PLoS Pathog*. 2016;12(3):e1005489. Epub

- 2016/03/05. doi: 10.1371/journal.ppat.1005489. PubMed PMID: 26939124; PubMed Central PMCID: PMC4777437.
313. Vivarini Ade C, Pereira Rde M, Barreto-de-Souza V, Temerozo JR, Soares DC, Saraiva EM, et al. HIV-1 Tat protein enhances the intracellular growth of *Leishmania amazonensis* via the ds-RNA induced protein PKR. *Sci Rep.* 2015;5:16777. Epub 2015/11/27. doi: 10.1038/srep16777. PubMed PMID: 26608746; PubMed Central PMCID: PMC4660360.
 314. Onomoto K, Jogi M, Yoo JS, Narita R, Morimoto S, Takemura A, et al. Critical role of an antiviral stress granule containing RIG-I and PKR in viral detection and innate immunity. *PLoS One.* 2012;7(8):e43031. Epub 2012/08/23. doi: 10.1371/journal.pone.0043031. PubMed PMID: 22912779; PubMed Central PMCID: PMC3418241.
 315. Donnelly N, Gorman AM, Gupta S, Samali A. The eIF2alpha kinases: their structures and functions. *Cell Mol Life Sci.* 2013;70(19):3493-511. Epub 2013/01/29. doi: 10.1007/s00018-012-1252-6. PubMed PMID: 23354059.
 316. Kim Y, Lee JH, Park JE, Cho J, Yi H, Kim VN. PKR is activated by cellular dsRNAs during mitosis and acts as a mitotic regulator. *Genes Dev.* 2014;28(12):1310-22. Epub 2014/06/19. doi: 10.1101/gad.242644.114. PubMed PMID: 24939934; PubMed Central PMCID: PMC4066401.
 317. Kim Y, Park J, Kim S, Kim M, Kang MG, Kwak C, et al. PKR Senses Nuclear and Mitochondrial Signals by Interacting with Endogenous Double-Stranded RNAs. *Mol Cell.* 2018;71(6):1051-63 e6. Epub 2018/09/04. doi: 10.1016/j.molcel.2018.07.029. PubMed PMID: 30174290.
 318. Gal-Ben-Ari S, Barrera I, Ehrlich M, Rosenblum K. PKR: A Kinase to Remember. *Front Mol Neurosci.* 2018;11:480. Epub 2019/01/29. doi: 10.3389/fnmol.2018.00480. PubMed PMID: 30686999; PubMed Central PMCID: PMC6333748.
 319. Crop MJ, Baan CC, Korevaar SS, Ijzermans JN, Pescatori M, Stubbs AP, et al. Inflammatory conditions affect gene expression and function of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol.* 2010;162(3):474-86. Epub 2010/09/18. doi: 10.1111/j.1365-2249.2010.04256.x. PubMed PMID: 20846162; PubMed Central PMCID: PMC3026550.
 320. Liu X, Bennett RL, Cheng X, Byrne M, Reinhard MK, May WS, Jr. PKR regulates proliferation, differentiation, and survival of murine hematopoietic stem/progenitor cells. *Blood.* 2013;121(17):3364-74. Epub 2013/02/14. doi: 10.1182/blood-2012-09-456400. PubMed PMID: 23403623; PubMed Central PMCID: PMC3637012.
 321. Kopp MC, Larburu N, Durairaj V, Adams CJ, Ali MMU. UPR proteins IRE1 and PERK switch BiP from chaperone to ER stress sensor. *Nat Struct Mol Biol.* 2019;26(11):1053-62. Epub 2019/11/07. doi: 10.1038/s41594-019-0324-9. PubMed PMID: 31695187; PubMed Central PMCID: PMC6858872.

322. Bertolotti A, Zhang Y, Hendershot LM, Harding HP, Ron D. Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol.* 2000;2(6):326-32. Epub 2000/06/15. doi: 10.1038/35014014. PubMed PMID: 10854322.
323. Wang P, Li J, Tao J, Sha B. The luminal domain of the ER stress sensor protein PERK binds misfolded proteins and thereby triggers PERK oligomerization. *J Biol Chem.* 2018;293(11):4110-21. Epub 2018/02/02. doi: 10.1074/jbc.RA117.001294. PubMed PMID: 29386355; PubMed Central PMCID: PMC5857997.
324. Bu Y, Diehl JA. PERK Integrates Oncogenic Signaling and Cell Survival During Cancer Development. *J Cell Physiol.* 2016;231(10):2088-96. Epub 2016/02/13. doi: 10.1002/jcp.25336. PubMed PMID: 26864318; PubMed Central PMCID: PMC54912452.
325. Deng J, Lu PD, Zhang Y, Scheuner D, Kaufman RJ, Sonenberg N, et al. Translational repression mediates activation of nuclear factor kappa B by phosphorylated translation initiation factor 2. *Mol Cell Biol.* 2004;24(23):10161-8. Epub 2004/11/16. doi: 10.1128/MCB.24.23.10161-10168.2004. PubMed PMID: 15542827; PubMed Central PMCID: PMC529034.
326. Julier C, Nicolino M. Wolcott-Rallison syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5:29. Epub 2010/11/06. doi: 10.1186/1750-1172-5-29. PubMed PMID: 21050479; PubMed Central PMCID: PMC2991281.
327. Rozpedek W, Pytel D, Mucha B, Leszczynska H, Diehl JA, Majsterek I. The Role of the PERK/eIF2alpha/ATF4/CHOP Signaling Pathway in Tumor Progression During Endoplasmic Reticulum Stress. *Curr Mol Med.* 2016;16(6):533-44. Epub 2016/05/24. doi: 10.2174/1566524016666160523143937. PubMed PMID: 27211800; PubMed Central PMCID: PMC5008685.
328. Onat UI, Yildirim AD, Tufanli O, Cimen I, Kocaturk B, Veli Z, et al. Intercepting the Lipid-Induced Integrated Stress Response Reduces Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2019;73(10):1149-69. Epub 2019/03/16. doi: 10.1016/j.jacc.2018.12.055. PubMed PMID: 30871699; PubMed Central PMCID: PMC6424590.
329. Chaveroux C, Carraro V, Canaple L, Averous J, Maurin AC, Jousse C, et al. In vivo imaging of the spatiotemporal activity of the eIF2alpha-ATF4 signaling pathway: Insights into stress and related disorders. *Sci Signal.* 2015;8(374):rs5. Epub 2015/04/30. doi: 10.1126/scisignal.aaa0549. PubMed PMID: 25921292.
330. Eiermann N, Haneke K, Sun Z, Stoecklin G, Ruggieri A. Dance with the Devil: Stress Granules and Signaling in Antiviral Responses. *Viruses.* 2020;12(9). Epub 2020/09/10. doi: 10.3390/v12090984. PubMed PMID: 32899736; PubMed Central PMCID: PMC7552005.
331. Castilho BA, Shanmugam R, Silva RC, Ramesh R, Himme BM, Sattlegger E. Keeping the eIF2 alpha kinase Gcn2 in check. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1843(9):1948-68. Epub 2014/04/16. doi: 10.1016/j.bbamcr.2014.04.006. PubMed PMID: 24732012.

332. Liu Y, Laszlo C, Liu Y, Liu W, Chen X, Evans SC, et al. Regulation of G(1) arrest and apoptosis in hypoxia by PERK and GCN2-mediated eIF2alpha phosphorylation. *Neoplasia*. 2010;12(1):61-8. Epub 2010/01/15. doi: 10.1593/neo.91354. PubMed PMID: 20072654; PubMed Central PMCID: PMCPMC2805884.
333. Menacho-Marquez M, Perez-Valle J, Arino J, Gadea J, Murguia JR. Gcn2p regulates a G1/S cell cycle checkpoint in response to DNA damage. *Cell Cycle*. 2007;6(18):2302-5. Epub 2007/09/25. doi: 10.4161/cc.6.18.4668. PubMed PMID: 17890903.
334. Berlanga JJ, Ventoso I, Harding HP, Deng J, Ron D, Sonenberg N, et al. Antiviral effect of the mammalian translation initiation factor 2alpha kinase GCN2 against RNA viruses. *EMBO J*. 2006;25(8):1730-40. Epub 2006/04/08. doi: 10.1038/sj.emboj.7601073. PubMed PMID: 16601681; PubMed Central PMCID: PMCPMC1440839.
335. Deng J, Harding HP, Raught B, Gingras AC, Berlanga JJ, Scheuner D, et al. Activation of GCN2 in UV-irradiated cells inhibits translation. *Curr Biol*. 2002;12(15):1279-86. Epub 2002/08/15. doi: 10.1016/s0960-9822(02)01037-0. PubMed PMID: 12176355.
336. Bretin A, Carriere J, Dalmaso G, Bergougnoux A, B'Chir W, Maurin AC, et al. Activation of the EIF2AK4-EIF2A/eIF2alpha-ATF4 pathway triggers autophagy response to Crohn disease-associated adherent-invasive Escherichia coli infection. *Autophagy*. 2016;12(5):770-83. Epub 2016/03/18. doi: 10.1080/15548627.2016.1156823. PubMed PMID: 26986695; PubMed Central PMCID: PMCPMC4854551.
337. Chen JJ. Translational control by heme-regulated eIF2alpha kinase during erythropoiesis. *Curr Opin Hematol*. 2014;21(3):172-8. Epub 2014/04/10. doi: 10.1097/MOH.0000000000000030. PubMed PMID: 24714526; PubMed Central PMCID: PMCPMC4124034.
338. Tabula Muris C, Overall c, Logistical c, Organ c, processing, Library p, et al. Single-cell transcriptomics of 20 mouse organs creates a Tabula Muris. *Nature*. 2018;562(7727):367-72. Epub 2018/10/05. doi: 10.1038/s41586-018-0590-4. PubMed PMID: 30283141; PubMed Central PMCID: PMCPMC6642641.
339. Guo X, Aviles G, Liu Y, Tian R, Unger BA, Lin YT, et al. Mitochondrial stress is relayed to the cytosol by an OMA1-DELE1-HRI pathway. *Nature*. 2020;579(7799):427-32. Epub 2020/03/07. doi: 10.1038/s41586-020-2078-2. PubMed PMID: 32132707; PubMed Central PMCID: PMCPMC7147832.
340. Lu L, Han AP, Chen JJ. Translation initiation control by heme-regulated eukaryotic initiation factor 2alpha kinase in erythroid cells under cytoplasmic stresses. *Mol Cell Biol*. 2001;21(23):7971-80. Epub 2001/11/02. doi: 10.1128/MCB.21.23.7971-7980.2001. PubMed PMID: 11689689; PubMed Central PMCID: PMCPMC99965.

341. Chen JJ, Zhang S. Heme-regulated eIF2alpha kinase in erythropoiesis and hemoglobinopathies. *Blood*. 2019;134(20):1697-707. Epub 2019/09/27. doi: 10.1182/blood.2019001915. PubMed PMID: 31554636; PubMed Central PMCID: PMC6856985.
342. Liu S, Suragani RN, Han A, Zhao W, Andrews NC, Chen JJ. Deficiency of heme-regulated eIF2alpha kinase decreases hepcidin expression and splenic iron in HFE^{-/-} mice. *Haematologica*. 2008;93(5):753-6. Epub 2008/03/28. doi: 10.3324/haematol.12175. PubMed PMID: 18367482; PubMed Central PMCID: PMC621076.
343. Liu S, Suragani RN, Wang F, Han A, Zhao W, Andrews NC, et al. The function of heme-regulated eIF2alpha kinase in murine iron homeostasis and macrophage maturation. *J Clin Invest*. 2007;117(11):3296-305. Epub 2007/10/13. doi: 10.1172/JCI32084. PubMed PMID: 17932563; PubMed Central PMCID: PMC2000811.
344. Chen T, Ozel D, Qiao Y, Harbinski F, Chen L, Denoyelle S, et al. Chemical genetics identify eIF2alpha kinase heme-regulated inhibitor as an anticancer target. *Nat Chem Biol*. 2011;7(9):610-6. Epub 2011/07/19. doi: 10.1038/nchembio.613. PubMed PMID: 21765405; PubMed Central PMCID: PMC3684262.
345. Abdel-Nour M, Carneiro LAM, Downey J, Tsalikis J, Outlioua A, Prescott D, et al. The heme-regulated inhibitor is a cytosolic sensor of protein misfolding that controls innate immune signaling. *Science*. 2019;365(6448). Epub 2019/07/06. doi: 10.1126/science.aaw4144. PubMed PMID: 31273097.
346. Bahnan W, Boucher JC, Gayle P, Shrestha N, Rosen M, Aktas B, et al. The eIF2alpha Kinase Heme-Regulated Inhibitor Protects the Host from Infection by Regulating Intracellular Pathogen Trafficking. *Infect Immun*. 2018;86(3). Epub 2018/01/10. doi: 10.1128/IAI.00707-17. PubMed PMID: 29311243; PubMed Central PMCID: PMC5820965.
347. Shrestha N, Boucher J, Bahnan W, Clark ES, Rosqvist R, Fields KA, et al. The host-encoded Heme Regulated Inhibitor (HRI) facilitates virulence-associated activities of bacterial pathogens. *PLoS One*. 2013;8(7):e68754. Epub 2013/07/23. doi: 10.1371/journal.pone.0068754. PubMed PMID: 23874749; PubMed Central PMCID: PMC3707855.
348. Geddes K, Rubino SJ, Magalhaes JG, Streutker C, Le Bourhis L, Cho JH, et al. Identification of an innate T helper type 17 response to intestinal bacterial pathogens. *Nat Med*. 2011;17(7):837-44. Epub 2011/06/15. doi: 10.1038/nm.2391. PubMed PMID: 21666695.
349. Kim YG, Kamada N, Shaw MH, Warner N, Chen GY, Franchi L, et al. The Nod2 sensor promotes intestinal pathogen eradication via the chemokine CCL2-dependent recruitment of inflammatory monocytes. *Immunity*. 2011;34(5):769-80. Epub 2011/05/14. doi: 10.1016/j.immuni.2011.04.013. PubMed PMID: 21565531; PubMed Central PMCID: PMC3103637.

350. Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science*. 2011;334(6059):1081-6. Epub 2011/11/26. doi: 10.1126/science.1209038. PubMed PMID: 22116877.
351. Philpott DJ, Sorbara MT, Robertson SJ, Croitoru K, Girardin SE. NOD proteins: regulators of inflammation in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(1):9-23. Epub 2013/12/18. doi: 10.1038/nri3565. PubMed PMID: 24336102.
352. Girardin SE, Boneca IG, Carneiro LA, Antignac A, Jehanno M, Viala J, et al. Nod1 detects a unique muropeptide from gram-negative bacterial peptidoglycan. *Science*. 2003;300(5625):1584-7. Epub 2003/06/07. doi: 10.1126/science.1084677. PubMed PMID: 12791997.
353. Minton K. Stress response to innate immune signalosomes. *Nat Rev Immunol*. 2019;19(9):534-5. Epub 2019/07/18. doi: 10.1038/s41577-019-0201-0. PubMed PMID: 31312049.
354. Pierre P. Integrating stress responses and immunity. *Science*. 2019;365(6448):28-9. Epub 2019/07/06. doi: 10.1126/science.aay0987. PubMed PMID: 31273112.
355. Zhu R, Zhang YB, Chen YD, Dong CW, Zhang FT, Zhang QY, et al. Molecular cloning and stress-induced expression of paralichthys olivaceus heme-regulated initiation factor 2alpha kinase. *Dev Comp Immunol*. 2006;30(11):1047-59. Epub 2006/03/28. doi: 10.1016/j.dci.2006.02.001. PubMed PMID: 16563505.
356. Zang S, Zhang X, Li C, Wang L, Wei J, Qin Q. HRI of *Epinephelus coioides* is a critical factor in the grouper immune response to RGNNV infection. *Fish Shellfish Immunol*. 2019;87:659-68. Epub 2019/02/13. doi: 10.1016/j.fsi.2019.02.011. PubMed PMID: 30753915.
357. Kasakov AS, Bukach OV, Seit-Nebi AS, Marston SB, Gusev NB. Effect of mutations in the beta5-beta7 loop on the structure and properties of human small heat shock protein Hsp22 (HspB8, H11). *FEBS J*. 2007;274(21):5628-42. Epub 2007/10/10. doi: 10.1111/j.1742-4658.2007.06086.x. PubMed PMID: 17922839.
358. Carra S, Sivilotti M, Chavez Zobel AT, Lambert H, Landry J. HspB8, a small heat shock protein mutated in human neuromuscular disorders, has in vivo chaperone activity in cultured cells. *Hum Mol Genet*. 2005;14(12):1659-69. Epub 2005/05/10. doi: 10.1093/hmg/ddi174. PubMed PMID: 15879436.
359. Mymrikov EV, Seit-Nebi AS, Gusev NB. Large potentials of small heat shock proteins. *Physiol Rev*. 2011;91(4):1123-59. Epub 2011/10/21. doi: 10.1152/physrev.00023.2010. PubMed PMID: 22013208.
360. Sun X, Fontaine JM, Hoppe AD, Carra S, DeGuzman C, Martin JL, et al. Abnormal interaction of motor neuropathy-associated mutant HspB8 (Hsp22) forms with the RNA helicase Ddx20 (gemin3). *Cell Stress Chaperones*. 2010;15(5):567-82. Epub 2010/02/17. doi: 10.1007/s12192-010-0169-y. PubMed PMID: 20157854; PubMed Central PMCID: PMC3006614.

361. Badri KR, Modem S, Gerard HC, Khan I, Bagchi M, Hudson AP, et al. Regulation of Sam68 activity by small heat shock protein 22. *J Cell Biochem.* 2006;99(5):1353-62. Epub 2006/06/24. doi: 10.1002/jcb.21004. PubMed PMID: 16795043.
362. Roelofs MF, Boelens WC, Joosten LA, Abdollahi-Roodsaz S, Geurts J, Wunderink LU, et al. Identification of small heat shock protein B8 (HSP22) as a novel TLR4 ligand and potential involvement in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Immunol.* 2006;176(11):7021-7. Epub 2006/05/20. doi: 10.4049/jimmunol.176.11.7021. PubMed PMID: 16709864.
363. Shemetov AA, Seit-Nebi AS, Gusev NB. Structure, properties, and functions of the human small heat-shock protein HSP22 (HspB8, H11, E2IG1): a critical review. *J Neurosci Res.* 2008;86(2):264-9. Epub 2007/08/28. doi: 10.1002/jnr.21441. PubMed PMID: 17722063.
364. Mukherjee T, Ramaglia V, Abdel-Nour M, Bianchi AA, Tsalikis J, Chau HN, et al. The eIF2alpha kinase HRI triggers the autophagic clearance of cytosolic protein aggregates. *J Biol Chem.* 2020. Epub 2020/11/11. doi: 10.1074/jbc.RA120.014415. PubMed PMID: 33168630.
365. Karpinski BA, Morle GD, Huggenvik J, Uhler MD, Leiden JM. Molecular cloning of human CREB-2: an ATF/CREB transcription factor that can negatively regulate transcription from the cAMP response element. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(11):4820-4. Epub 1992/06/01. doi: 10.1073/pnas.89.11.4820. PubMed PMID: 1534408; PubMed Central PMCID: PMC49179.
366. Dang Do AN, Kimball SR, Cavener DR, Jefferson LS. eIF2alpha kinases GCN2 and PERK modulate transcription and translation of distinct sets of mRNAs in mouse liver. *Physiol Genomics.* 2009;38(3):328-41. Epub 2009/06/11. doi: 10.1152/physiolgenomics.90396.2008. PubMed PMID: 19509078; PubMed Central PMCID: PMC3171828.
367. Fernandez J, Yaman I, Sarnow P, Snider MD, Hatzoglou M. Regulation of internal ribosomal entry site-mediated translation by phosphorylation of the translation initiation factor eIF2alpha. *J Biol Chem.* 2002;277(21):19198-205. Epub 2002/03/06. doi: 10.1074/jbc.M201052200. PubMed PMID: 11877448.
368. Powley IR, Kondrashov A, Young LA, Dobbyn HC, Hill K, Cannell IG, et al. Translational reprogramming following UVB irradiation is mediated by DNA-PKcs and allows selective recruitment to the polysomes of mRNAs encoding DNA repair enzymes. *Genes Dev.* 2009;23(10):1207-20. Epub 2009/05/20. doi: 10.1101/gad.516509. PubMed PMID: 19451221; PubMed Central PMCID: PMC2685536.
369. Dey S, Baird TD, Zhou D, Palam LR, Spandau DF, Wek RC. Both transcriptional regulation and translational control of ATF4 are central to the integrated stress response. *J Biol Chem.* 2010;285(43):33165-74. Epub 2010/08/25. doi: 10.1074/jbc.M110.167213. PubMed PMID: 20732869; PubMed Central PMCID: PMC2963398.
370. Quiros PM, Prado MA, Zamboni N, D'Amico D, Williams RW, Finley D, et al. Multi-omics analysis identifies ATF4 as a key regulator of the mitochondrial stress response in mammals. *J*

- Cell Biol. 2017;216(7):2027-45. Epub 2017/06/02. doi: 10.1083/jcb.201702058. PubMed PMID: 28566324; PubMed Central PMCID: PMC5496626.
371. Demmings MD, Tennyson EC, Petroff GN, Tarnowski-Garner HE, Cregan SP. Activating transcription factor-4 promotes neuronal death induced by Parkinson's disease neurotoxins and alpha-synuclein aggregates. *Cell Death Differ.* 2020. Epub 2020/12/06. doi: 10.1038/s41418-020-00688-6. PubMed PMID: 33277577.
372. Dey S, Sayers CM, Verginadis, II, Lehman SL, Cheng Y, Cerniglia GJ, et al. ATF4-dependent induction of heme oxygenase 1 prevents anoikis and promotes metastasis. *J Clin Invest.* 2015;125(7):2592-608. Epub 2015/05/27. doi: 10.1172/JCI78031. PubMed PMID: 26011642; PubMed Central PMCID: PMC4563676.
373. Tameire F, Verginadis, II, Leli NM, Polte C, Conn CS, Ojha R, et al. ATF4 couples MYC-dependent translational activity to bioenergetic demands during tumour progression. *Nat Cell Biol.* 2019;21(7):889-99. Epub 2019/07/03. doi: 10.1038/s41556-019-0347-9. PubMed PMID: 31263264; PubMed Central PMCID: PMC6608727.
374. Iwasaki Y, Suganami T, Hachiya R, Shirakawa I, Kim-Saijo M, Tanaka M, et al. Activating transcription factor 4 links metabolic stress to interleukin-6 expression in macrophages. *Diabetes.* 2014;63(1):152-61. Epub 2013/08/31. doi: 10.2337/db13-0757. PubMed PMID: 23990363.
375. Abaci N, Cosan F, Azakli H, Sirma-Ekmekci S, Ermence Z, Cakiris A, et al. AB0003 XBP1 splicing and reduced XBP1 expression in behçet's disease. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2013. p. 367.
376. Balaji S, Vanniarajan A. Implication of Pseudo Reference Genes in Normalization of Data from Reverse Transcription-Quantitative PCR. *Gene.* 2020;757:144948. Epub 2020/07/12. doi: 10.1016/j.gene.2020.144948. PubMed PMID: 32652106.
377. Rao X, Huang X, Zhou Z, Lin X. An improvement of the $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostat Bioinforma Biomath.* 2013;3(3):71-85. Epub 2013/08/01. PubMed PMID: 25558171; PubMed Central PMCID: PMC4280562.

HAM VERILER

FORMLAR

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER ARAŞTIRMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı: PERK ve HRI Aracılı Entegre Stres Yanıtın Behçet Hastalığındaki Rolü

Hastalık Adı: Behçet Hastalığı

Araştırmanın süresi: 1 yıl

Versiyon no:1

Tarih:17.10.2019

Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı: 150

"PERK ve HRI Aracılı Entegre Stres Yanıtın Behçet Hastalığındaki Rolü" adını verdiğimiz çalışmaya katılma üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla ve nasıl yapılacağını anlamanız ve katılıp katılmama doğrultusundaki kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Araştırma hakkında sözlü olarak size aktaracağım bilgiler yazılı olarak da bir sonraki bölümde sunulacaktır. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz. Bu belgedeki son bölüm onay işlemleri ile ilgilidir. Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz lütfen bu bölümü imzalayınız. Okuma ve yazma konusunda engelleriniz olduğu takdirde bir tanığın gözetiminde bu belgeyi onaylamanız istenecek ve gerektiğinde parmak iziniz alınacaktır.

Araştırmanın Konusu:

Behçet Hastalığı, ilk kez Prof.Dr. Hulusi Behçet tarafından, ağızda ve cinsel bölgede tekrarlayıcı yaralar (tıbbi olarak ülser veya aft) ve gözde iltihap (üveit) ile giden üçlü bulgusuyla tanımlanmıştır.. Sonraki çalışmalarda Behçet hastalığının çeşitli belirti ve bulgularla birçok sistemi etkileyebilen bir hastalık olduğu gösterilmiştir. Behçet hastalığı hemen hemen tüm dünyada görülmekle birlikte, Türkiye, İsrail, Yunanistan ve Kıbrıs gibi Akdeniz ülkeleri, Irak ve İran gibi Ortadoğu ülkeleri ve Japonya, Kore, Çin gibi Uzakdoğu ülkelerinde diğer ülkelere göre daha sık görülmektedir. Hastalığın yukarıda belirtilen ve tarihi "İpek Yolu" 'nun geçtiği bu ülkelerde daha sık görülmesi, gelişiminde genetik ve/veya çevresel faktörlerin etkili olabileceğine işaret etmektedir. Tarihi "İpek Yolu" üzerindeki ülkelere Behçet hastalığının en sık görüldüğü yer

Türkiye’dir. Ülkemizin çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmalarda hastalığın sıklığının 100.000 erişkinde 20 ile 421 arasında olduğu bildirilmiştir. Behçet hastalığı erkek ve kadınlarda yaklaşık eşit oranda görülür. Ancak, özellikle göz ve damar tutulumu gibi önemli sistem tutulumları genç erkek hastalarda daha sık ortaya çıkmaktadır. Behçet hastalığı en sık 20–40 yaşları arasında başlar. Bununla birlikte daha az sıklıkta olmak üzere çocuklarda ve ileri yaşta kişilerde de Behçet hastalığı gelişebilmektedir. Behçet hastalığından sıkça etkilenen alanlar: ağız, deri, cinsel organlar, gözler, eklemler, kan damarları, sindirim sistemi, beyindir.

Behçet hastalığı önceden kestirilemeyen ataklar ve iyilik dönemleri ile uzun süreli bir seyir izlemektedir. Hastalığın belirtileri ve şiddeti kişiden kişiye değişebilir. Hastalığın kesin tanısını koyan bir laboratuvar belirteci bulunmamaktadır. Bugün için tanı klinik bulgularla konulmaktadır. Deri ve mukoza bulguları sıklıkla hastalığın ilk bulguları olarak karşımıza çıkarlar. Bu nedenle hastalığın erken tanısında büyük önem taşırlar.

Behçet hastalığında doğal ve kazanılmış bağışıklıkta çok sayıda bozukluk saptanmıştır. Hastalığın nedeni tam olarak bilinmemektedir. Gelişiminde bağışıklık sistemi değişikliklerinin yanı sıra genetik ve bazı çevresel faktörlerin (bakteri ve virüs gibi) etkili olabileceği düşünülmektedir. Genetik ve çevresel etmenlerin birlikte rol oynadığı bu hastalık tipinde inflamasyon (iltihap) üzerinde etkisi olduğu düşünülen genler araştırmamızın konusunu oluşturmaktadır.

Araştırmanın Amacı:

Yapacağımız genetik çalışmada Behçet hastalığında iltihap (inflamasyon) üzerine etkisi olduğu düşünülen genlerdeki değişimleri Türk hastalarda moleküler yöntemlerle incelemek istiyoruz. Ulaşacağımız sonucun hastalık oluşumunda etkili olacak genlerdeki değişimlerin keşfi ile etkili olacağını düşünmekteyiz. Böylesi bir çalışmaya katılma kararı vermeden önce sizleri çalışmanın amacı, riskleri ve yararları konusunda bilgilendirmek istiyoruz. Aşağıdaki **Moleküler Araştırmalar için Bilgilendirilmiş Olur Formunu** okuduktan sonra çalışmaya katılma kararı verirseniz formu lütfen imzalayınız.

Behçet Hastalığı Hasta Grubu DNA Materyali İçin Bilgilendirme Onamı

“PERK ve HRI Aracılı Entegre Stres Yanıtın Behçet Hastalığındaki Rolü ” başlıklı yüksek lisans tez projesinde Behçet hastalığının gelişiminde rol oynadığı düşünülen aday genlerin İstanbul Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı’na başvuranlardan toplanan Behçet hastası ve sağlıklı kan örneklerinden genetik yöntemler kullanılarak

hastalığın moleküler ilerleyişinde doğrudan ya da dolaylı ilişkileri ortaya çıkarmak amaçlanmaktadır.

Bu amaçla geriye dönük toplanan bu projede kullanılan hasta ve kontrol grubundaki kişiler bilgilendirilerek, bilgilendirilmiş onamları alınacaktır.

Yapılan genetik çalışmalar, bu hastalığa genetik faktörlerin yol açabileceğini düşündürmektedir. Hastalığa neden olduğu düşünülen gen ve bu genlerdeki değişimlerin tayini amacı ile rutin analiz için elimizde olan DNA materyalinden yapılacak analizler için sizden herhangi bir ücret ve kan materyali istenmeyecektir. Çalışmada gönüllü katılım esas alınmıştır.

1.Yapılacak işlemin tanımı ve izlenecek yöntem:

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı'na başvuran 100 Behçet Hastalığı tanılı hasta ve kan alınan hastalarla akrabalık ilişkisi olmayan 50 sağlıklı kişiden kontrol (donör) grubu olarak kullanılmak üzere kolunuzdan 10 (1 tüp) ml. kan alınması gerekmektedir. Bu kandan, genetik materyal (DNA/RNA/Serum) ve/veya hücre elde edilecektir. Araştırmanın amacı size yukarıda belirtildiği gibi Behçet hastalığına yol açtığı düşünülen genlerdeki değişimlerin profilini tanımlamaktır. Bu çalışma Doç. Dr. Neslihan Abacı tarafından Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nde yürütülecektir.

Eldeki örneklerin yetersiz olması ya da kullanılamaması durumunda sizden yeniden kan örneği istenmeyecektir, sadece rutin analiz için gönderilecek olan materyalde araştırmalar yapılacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmada gönüllü katılım esas alınmıştır. Sizden alınan kemik iliğinden ve kanlardan elde edilecek biyoloji materyal (DNA/RNA/ Serum) örnekleri yukarıda bahsi geçen başka bir çalışma için kullanılmayacaktır.

2. Olası riskler ve faydalar:

Yapılacak genetik çalışmada getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilgi kesinlikle gizli kalacaktır. Ancak yaptığımız testlerin sizin veya ailenizin bir bireyinin gelecekte bu genetik hastalıktan etkileneceğini ortaya çıkarabileceğini belirtmek isteriz. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizde psikolojik sorun da yaratabilir. Sizde böyle bir varyasyon bulunduğunu saptadığımızda bulgularımızı istediğiniz takdirde size bildireceğiz. Ancak bu bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin iznimize bağlı olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne ya da babanın biyolojik kimliğinin saptanmasıdır. Bu durumlarda da gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

Olası yararlar: Bu çalışmanın esas amacı Behçet hastalığına neden olduğu düşünülen veya ortaya çıkmasını kolaylaştıran genetik değişimlerin Türk toplumundaki dağılımını öğrenmektir. Biz bu aşamada size doğrudan ya da dolaylı bir yararının olup olmayacağını henüz bilmemekteyiz. Fakat kesin olan bu hastalığın nedenleri konusunda daha çok şey öğrenebileceğimiz ve böylece gelecekte diğer hastalara daha çok yardımcı olabileceğimizeyizdir.

Diğer seçenekler: Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahiptir.

Uygulanacak işlemin yapısı ve amacı hakkında, olası riskleri ve yararları tarafımdan,

(Doktor Adı)

hastaya, -----

(Gönüllü Adı)

anlatılmıştır. Sorulan sorular tarafımdan cevaplandırılmış ve cevaplandırılmaya devam edilecektir. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek yeni riskler ve/veya yararlar tarafımdan katılımcıya iletilecektir.

Tarih :

Doktorun imzası:

Araştırma süresince 24 saat ulaşılabilir kişiler: Doç. Dr. Neslihan Abacı
Yüksek Lisans Öğrencisi İrem Coşkun

Ulaşılabilir Tel. No.' ları: Dahili hat: (0212) 414 20 00 - 31316
Doç. Dr. Neslihan Abacı: 05359680862
Yüksek Lisans Öğrencisi İrem Coşkun:05327956700

Ulaşım Adresi: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Aziz Sancar Deneysel Tıp
Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı Lab II
Vakıf Gureba Caddesi Şehremini 34093 - İSTANBUL

Elektronik Posta Adresi: neslihanabaci@gmail.com / iremcoskuntan@gmail.com

İzin: Sayın Dr tarafından (kurum adı) (anabilim dalı adı, ünite adı vb.)’ da tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

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

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

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. (Doktor ismi),

..... (telefon ve adres)’ ten arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersen, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

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

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

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

Gönüllünün Adı-Soyadı-İmzası-Tarih -----

İletişim Bilgileri

Tanık olan kişinin Adı-Soyadı-İmzası-Tarih -----

İletişim Bilgileri

Araştırmacının Adı-Soyadı-İmzası-Tarih -----

İletişim Bilgileri

ETİK KURUL KARARI

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



Sayı : 1221
Konu: Doç. Dr. Neslihan ABACI hk.

Tarih : 24.10.2019

Sayın Doç. Dr. Neslihan ABACI
Genetik

İlgi : Genetik Anabilim Dalının 17/10/2019 gün ve 213254 sayılı yazı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Yüksek Lisans Öğrencisi İrem COŞKUNTAN' ın yürüteceği 2019/1211 dosya numaralı "PERK ve HRI Aracılı Entegre Stress Yanıtın Behçet Hastalığındaki Rolü" başlıklı çalışma, kurulumuzun 18/10/2019 tarih ve 17 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


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

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

PATENT HAKKI IZNI

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

PERK VE HRI ARACILI ENTEGRE STRES YANITIN BEHÇET HASTALIĞINDAKİ ROLÜ

ORIJİNALLIK RAPORU

| | | | |
|-------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|------------------------------------|
| 5 %5 BENZERLİK ENDEKSİ | 5 %5 İNTERNET KAYNAKLARI | 1 %1 YAYINLAR | 3 %3 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ |
|-------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|------------------------------------|

BİRİNCİL KAYNAKLAR

| | | |
|----------|---|-----|
| 1 | Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi | %1 |
| 2 | nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı | %1 |
| 3 | Submitted to Batman University Öğrenci Ödevi | <%1 |
| 4 | studylibtr.com İnternet Kaynağı | <%1 |
| 5 | www.istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı | <%1 |
| 6 | Submitted to Ankara University Öğrenci Ödevi | <%1 |
| 7 | adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı | <%1 |
| 8 | ar.scribd.com İnternet Kaynağı | <%1 |
| 9 | www.embopress.org İnternet Kaynağı | <%1 |

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

| | | | |
|-----------------|-------------------------|-----------------|------------|
| Adı | İrem | Soyadı | Coşkuntan |
| Doğ.Yeri | İstanbul | Doğ.Tar. | 07.07.1978 |
| Email | iremcoskuntan@gmail.com | Uyruğu | T.C. |

Eğitim Düzeyi

| | Mezun Olduğu Kurumun Adı | Mez. Yılı |
|-----------------|---|------------------|
| Yük.Lis. | İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü- Genetik | 2021 |
| Lisans | Uludağ Üniversitesi-Fen Edebiyat Fakültesi-Biyoloj | 1998 |
| Önlisans | T.C. Şişli Meslek Yüksekokulu- Radyoterapi | 2017 |
| Lise | Kurtuluş Lisesi | 1994 |

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

| | Görevi | Kurum | Süre (Yıl - Yıl) |
|-----------|------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| 1. | Tıbbi Satış Temsilcisi | Interpharm İlaç | 2016- Halen |
| 2. | Bölge Sorumlusu | Optimer Sağlık (BABE) | 2015-2016 |
| 3. | Uzman danışman | Denizay Eczanesi | 2014-2015 |
| 4. | Tıbbi Satış Temsilcisi | İstanbul Kozmetik | 2012-2014 |
| 5. | Tıbbi Satış Temsilcisi | Assos Pharmaceuticals | 2010-2012 |
| 6. | Tıbbi Satış Temsilcisi | Taymed Sağlık Ürünleri | 2006-2008 |
| 7. | Tıbbi Satış Temsilcisi | İbrahim Etem – Menarini | 2005-2006 |
| 8. | Tıbbi Satış Temsilcisi | Aventis / Hoechst Marion Roussel | 1999-2004 |
| 9. | Tıbbi Satış Temsilcisi | BIOFARMA İlaç San. ve Tic. A.Ş. | 1998-1999 |

| Yabancı Dilleri | Okuduğunu Anlama* | Konuşma* | Yazma* | KPDS/ÜDS Puanı | (Diğer) Puanı |
|------------------------|--------------------------|-----------------|---------------|-----------------------|----------------------|
| İngilizce | İyi | Orta | İyi | | 72.500 |

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

| | Sayısal | Eşit Ağırlık | Sözel |
|-------------------|----------------|---------------------|--------------|
| ALES Puanı | 77.25730 | 74.22561 | 76.15445 |

Bilgisayar Bilgisi

| Program | Kullanma becerisi |
|----------------|--------------------------|
| MS OFFICE | Çok iyi |

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Sinema, Müzik, El işleri, Kitaplar, Kore mutfağı

