T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
İMMÜNOLOJİ PROGRAMI
Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Mehmet SOY

BEHÇET HASTALIĞINDA APOPTOZİS

(Yüksek Lisans Tezi)

Elif YOLERİ

EDİRNE 2006

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
İMMÜNOLOJİ PROGRAMI
Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Mehmet SOY

BEHÇET HASTALIĞINDA APOPTOZİS

(Yüksek Lisans Tezi)

Elif YOLERİ

Tez No: 2003/141

EDİRNE 2006

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Doç.Dr.Mehmet SOY danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Elif YOLERİ tarafından tez başlığı "Behçet Hastalığında Apoptozis" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı ..../..../2006 tarihindeyapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **"Yüksek Lisans Tezi"** olarak kabul edilmiştir.

İmza
Unvanı Adı Soyadı
JÜRİ BAŞKANI

İmza
Unvanı Adı Soyadı
ÜYE

İmza
Unvanı Adı Soyadı
ÜYE

İmza
Unvanı Adı Soyadı
ÜYE

İmza
Unvanı Adı Soyadı
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışma hayatım ve eğitimim süresince büyük destek ve ilgisini gördüğüm sayın hocam Prof.Dr.Özden VURAL'a; Eğitim sürecim ve tezimin her aşamasında değerli zamanlarını benim için ayıran, destek ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım, hocam Doç.Dr.Mehmet SOY'a; Çalışma hayatım , eğitimim ve tez çalışmam sürecinde destek ve bilgilerini esirgemeyen Doç.Dr.Muzaffer DEMİR ve Yard.Doç.Dr.Burhan TURGUT'a;Tez çalışmamın laboratuar sürecinde sürekli desteğini aldığım arkadaşım Biyolog Şennur AZCAN'a ve hoşgörülerinden dolayı çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ……..1
GENEL BİLGİLER……2
BEHÇET HASTALIĞI……2
APOPTOZİS……8
GEREÇ VE YÖNTEMLER……12
BULGULAR……16
TARTIŞMA……23
SONUÇLAR……27
ÖZET……28
SUMMARY……29
KAYNAKLAR……30
RESİMLEMELER LİSTESİ……40
ÖZGEÇMİŞ……41
EKLER……42
Etik Kurul Raporu……42
Bilgilendirilmiş Olur Formu……43

SİMGE VE KISALTMALAR

AA: Arter Anevrizması

AICD: Activation induced celluler death (Aktivasyonun indüklediği hücresel ölüm)

Bcl: B Cell Lenfoma

BH: Behçet Hastalığı

DR: Death receptors (Ölüm reseptörleri)

EN: Eritema nodosum

ESH: Eritrosit Sedimantasyon Hızı

EŞ: Ekspresyon şiddeti

FasL: Fas ligandı

FITC: Fluorescein isothiocyanate

FS: Forward scatter

GÜ: Genital Ülser

HGB: Hemoglobin

IL : İnterlökin

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

NB : Nörobehçet

OA : Oral aft

OF : Osteofollikülit

PC5 : Phycoerythrin-cyanin

PE : Phicoerytrin

PLT: Platelet

SLE: Sistemik Lupus Eritematozus

SS: Side scatter

TB: Tromboflebit

Th: T helper

TNF: Tümör Nekroz Faktör

TNFR: Tümör Nekroz Faktör Reseptörü

WBC: White blood cell (Lökosit)

GİRİŞ VE AMAÇ

Behçet hastalığı (BH) etyolojisi henüz bilinmeyen, primer vaskülit sınıfında anılan, kronik inflamatuar bir hastalıktır. Hipokrat tarafından benzer yakınmaları olan hastalar yazılmıştır (1). Başlı başına bir hastalık olarak BH, ancak Ord. Prof. Dr. Hulusi Behçet tarafından 1937 yılında tanımlanmıştır (2). Türk İsmi ile literatürde yer alan ilk hastalık olması ve ülkemizde de sık görülmesi nedeni ile iyi bilinmesi gereken bir hastalıktır.

Patogenezinde hücresel ve hümoral immünite çeşitli düzeyde sorumlu tutulmuştur. Hem doku hem de periferik kanda T lenfositleri aktive olup CD4+, CD8+ ve γδ+ T hücrelerde artış saptanmıştır. Sitokin profili olarak, diğer birçok vaskülitte olduğu gibi, Th1 tipi sitokinlerde artma, Th2 lenfositler ve sitokinlerinde ise azalma saptanır (3).

Behçet Hastalığı lezyonlarında ve çevresel kan hücrelerinde programlanmış hücre ölümü olan apoptozis de çalışılmıştır. Nakamura ve ark (4) CD4+ T hücrelerinde *Fas* antijeni ekspresyonunda azalma saptamışlar ve Behçet Hastalığındaki kronik inflamasyondan bunun sorumlu olabileceğini iddia etmişlerdir. Yang ve ark. (5) Behçet hastalarının çevresel kan lenfositlerinin apoptozise dirençli olduklarını göstermişlerdir. Hamzaoui ve ark (6) ise aktif T lenfositlerde ve lezyonlu bölgelerde apoptozis inhibitörü olan *Bcl-2* ekspresyonunda artış saptamışlardır. Gerek *Fas* ekspresyonunda azalma gerekse *Bcl-2* ekspresyonunda artış Behçet hastalığındaki inflamasyonun sürekliliğinde rol alabilir.

Bu çalışmada Behçet Hastalarının periferik lenfositlerinde proapoptotik bir molekül olan *Fas*/APO-1 (CD95) ve antiapoptotik molekül olan *Bcl-2* ekspresyonu araştırılarak apoptotik mekanizmaların Behçet Hastalığındaki rolü araştırılmıştır.

GENEL BİLGİLER

BEHÇET HASTALIĞI

Behçet Hastalığı (BH) etyolojisi henüz bilinmeyen, primer vaskülit sınıfında anılan; deri, mukoza, göz, eklem, damar, merkezi sinir sistemi ve gastrointestinal sistemi tutabilen kronik inflamatuar bir hastalıktır. Hipokrat ve zaman içinde bir çok müellif tarafından benzer yakınmaları olan hastalar bildirilmiş ise de detaylı ve ayrı bir hastalık olarak ancak Ord.Prof. Dr. Hulusi Behçet tarafından 1937 yılında tanımlanmıştır (2).

Epidemiyoloji

Türkiye, Japonya, İran, Tunus başta olmak üzere Akdeniz Ülkeleri, daha az olarak İngiltere, Kuzey Avrupa ve Amerika'da görülmektedir. Türkiye'den yapılan çalışmalarda prevalans yılda yüz binde 80-370, Japonya'da 13.5, İngiltere'de 0.64 ABD'de 0.3 yeni olgu olarak bildirilmiştir(6-10). Almanya'da yaşayan Türkler arasında prevalans yüz binde 21 olarak saptanmıştır. Bu rakam Türkiye'deki sıklığından daha düşük ancak Alman'lara göre hayli yüksektir (11).

Erkek - kadın oranı yaklaşık eşittir, ancak erkeklerde daha ağır seyirlidir. Puberte öncesi ve 50 yaş sonrasında başlaması olağan değildir. En sık 2 ve 3. dekadlarda ortaya çıkar. Genç yaşta başlaması ve erkek cinsiyet kötü prognozun habercisidir (12).

Etyopatogenez

Etyolojisi henüz bilinmemektedir. Mikrobik, çevresel ve bazı genetik faktörlerin BH oluşumunda rol aldığı iddia edilmiştir. İlk kez Hulusi Behçet muhtemel viral etyolojiyi düşünmüştür. Yine bir Türk göz hekimi olan Sezer (13) viral etyolojiyi öne sürmüş, Denman ve ark. (14) Herpes Virus Tip 1 ile ilişkisini savunmuşlar ancak başka merkezlerden yapılan çalışmalarca desteklenmemiştir (15,16). Ağzın normal florasında da bulunan *Streptococcus sanguis'* in hem kolonizasyon hem de serum antikor düzeyinde artış saptanması, patogenezde muhtemel etkilerini düşündürmektedir (17-19). Yine penisilin gibi antibiyotiklerle bazı deri-mukoza belirtilerinde düzelme saptanması infeksiyöz ajanların rolünü kuvvetlendirmektedir (20). Ancak burada infeksiyon ajanının direkt hastalık yapmasından çok, genetik olarak yatkın bireyde bazı immünolojik mekanizmaları tetiklediği düşünülmektedir (3).

BH oluşumuna yol açtığı bilinen bir gen gösterilememiştir. Ailesel olgular sıklıkla ancak homojen olmayarak bildirilir. Ülkemizde % 2-18, Kore'de %15.4, Japonya'da %2.2-2.6 ve Avrupa'da ise %0-4.5 olgunun ailesel olduğu saptanmıştır (21). Birçok romatolojik hastalıkta olduğu gibi HLA antijenleri BH 'da da hastalığa yatkınlığı belirler. HLA B5+ bireylerde BH gelişme rölatif riski Japonya'da %6 (22) Türkiye'de %13.3 (23,24) , İsrail'de %18.2 (25) olarak bildirilmiştir. Yeni çalışmalar HLA B5' in alt tipi olan HLA B*5101' in esas risk grubu olduğunu düşündürmektedir (26). Yine son zamanlarda müsküler distrofi ve bazı psikozlar gibi Mendel kurallarına uymayan geçiş gösteren hastalıklar için öne sürülen genetik öngörü (genetic anticipation) BH'da da gösterilmiştir (27). Bunun anlamı ebeveynlerinden en az birinde BH olup ta çocuklarında da BH gelişirse, bu belirtiler daha erken yaşta ortaya çıkar ve daha ağır seyreder. Kuzey Avrupa ve Amerika'lılarda HLA ile ilgisi gösterilememiştir (28).

Püstüler follikülit, paterji reaksiyonu, hipopiyonlu üveit gibi bir çok Behçet lezyonunda yoğun nötrofil infiltrasyonu saptanır. Nötrofiller doğal immün sistemde anahtar rolleri olan kısa ömürlü matür hücrelerdir. BH'da nötrofiller konusunda yapılan çalışmalar çelişkili sonuçlar vermiştir. Nötrofil aktivasyonu sonucunda beklenen süperoksit ve lizozomal enzim salınımı, fagositoz yetenekleri, kemotaktik aktiviteleri ve endotele yapışabilme yeteneklerinde artış, normal ve azalma şeklinde sonuçlar bildirilmiştir (29-32). HLA B51 transgenik farede nötrofil fonksiyonlarında artış saptanmıştır (33). Aynı çalışmada HLAB51 pozitif sağlıklı ve Behçet hastalarında da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Behçet hastalarının çevresel kan ve dokularında T hücre aktivasyonu saptanmıştır. Oral ülser, eritema nodosum ve paterji reaksiyonun geç dönemlerinde karışık ya da mononükleer hücre infiltrasyonu saptanır . CD4/CD8 oranında ve γδ+T hücre sayısı ile bir

çok inflamatuar hastalıkta olduğu gibi BH' da da sitotoksik hücre tipi olan CD4+CD16+ ve CD4+CD56+ T hücre alt tiplerinde de artış saptanmıştır (34-38).

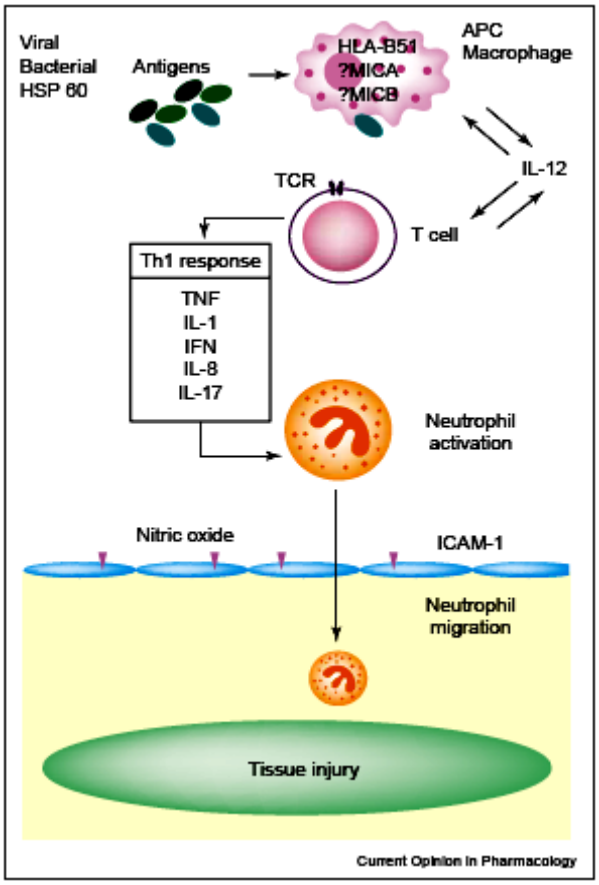
BH' da birçok inflamatuar hastalık gibi Th1/Th2 dengesinde bozulma bildirilmiştir. Th1 hücreler bir çok organ spesifik hastalığın patogenezinde rol almaktadır. Genel olarak Th2 tipi immün yanıt ise hastalığın başlamasını ya da ilerlemesini, makrofaj fonksiyonlarını ve gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarını baskılayan antiinflamatuar sitokinler salgılayarak, engeller (39). Th1 ya da Th2 yönünde polarizasyon birçok genetik ve çevresel faktör, özellikle de naiv T hücresinin maruz kaldığı sitokinler tarafından belirlenmektedir. Eğer ortamda IL-12 varsa naiv T hücresi Th1; IL-4 var ise Th2 yönüne polarize olur (40,41). Behçet hastalarının serumlarında IL-12 ve Th1 hücre tipi sitokin düzeylerinde artma saptanmıştır (42). Öte yandan IL-12, T lenfositleri *Fas* ilişkili apoptozisden koruyucu rol almaktadır (43). BH patogenezi şekil 1' de kısaca özetlenmiştir.

Klinik Özellikleri

Klinik bulgular başlıca tekrarlayan ağız içi aftlar (OA), genital ülserler (GÜ), ostiofollikülit (OF), eritema nodozum (EN), göz tutulumu, eklem tutulumu, tromboflebit (TB), arter anevrizması (AA), ve nörolojik tutulumdur (NB)' dur.

Genellikle hastalığın en erken ve en sık (yaklaşık %100) bulgusu ağız içi aftlardır. Normal popülasyonun % 10-20 kadarında görülen tekrarlayıcı aftöz stomatitten ayrılamayan, tek veya gruplar halinde dil, yanak mukozası, dişeti ve nazofarenkste yerleşen kirli beyaz renkli 2-12 mm çapında olabilen, bir-iki haftada geçen ağrılı ülserlerdir. Sigarayı bırakan hastalarda aftlarda artış saptanır (44). Tek başına tekrarlayan aftların varlığı BH tanısı koydurmaz, mutlaka diğer belirtilerle beraber değerlendirilmelidir. GÜ, ikinci sıklıktaki bulgudur (%70-100). Kadınlarda labya majör ve minörlerde, erkekte daha ziyade skrotum ve bazen peniste yerleşen, nedbe bırakarak iyileşen ülserlerdir (45,46).

Hastaların yaklaşık % 90'nında deri bulguları vardır. OF, % 65-80 olguda görülen ve en çok yüz, ense, sırt, göğüs, kalça ve ekstremitelerde görülen papülo-püstüler lezyonlardır. Ergenlik çağındaki ve kortikosteroid kullanan insanlardaki sivilceler BH için tanı ölçütü olarak alınmamalıdır. EN, % 30 kadar olguda bildirilir ve kadınlarda daha sık görülen tek lezyonudur (45). Paterji (patolojik "ergy" den) testi derinin duyarlılığının arttığını gösterir.



Şekil 1. Behçet Hastalığının patogenezi (42).

Ön kol iç yüzünde kılsız alanın alkol ile silinmesinden sonra steril sarı uçlu iğnenin cilt içine batırılması ve 24-48 saat sonra, 2 mm'den büyük, steril, eritemli nodül veya püstül saptanması, pozitif olarak değerlendirilir. Reaksiyon alanında erken dönemde nötrofil infiltrasyonu daha geç dönemde mononükleer hücre infiltrasyonu saptanır. BH dışında Sweet sendromu ve piyoderma gangrenosum'da da pozitif saptanabilir (47).

Göz tutulumu, % 50 olguda ve genelde genç erkeklerde, hastalığın ilk dönemlerinde ortaya çıkar. Morbiditeyi belirleyen ana lezyondur. Bazı yazarlara göre ilk yıllarda göz tutulumu olmazsa diğer yıllarda ortaya çıkma şansı azalır. Türkiye'de olguların %17 kadarı körlükle sonuçlanmaktadır (48).

Mono veya simetrik oligo-artiküler tipte artrit/artalji şeklinde eklem tutulması, % 50-66, artrit ise %39 olguda bildirilir. Eklem tutulumu simetrik ya da asimetrik olabilir. En çok dizler, ayak bilekleri el bilekleri tutulur. Çoğunlukla deformite bırakmaz ve ataklar halinde seyreder, sakroileit nadirdir (49).

Behçet hastalığının birçok belirtisinden sorumlu küçük damar vaskülitine ilaveten olguların %25 kadarında venöz ve/veya arteryel lezyonlar görülür. Yüzeyel tromboflebit, majör ven tutulumu ve arterlerde anevrizma ya da tromboz biçiminde olmak üzere üç tip

damar tutulumu olabilir. Yüzeysel ven trombozu olguların %50'sinde görülmekte ve bazen derin ven trombozuna öncelik etmektedir. Tromboflebit % 80 alt ekstremitelerde olur. Alt ekstremitesinde TB gelişen olguların %32 kadarında zamanla süperior veya inferior vena cavada tromboz olabilmektedir. Tromboze venden emboli atılmasının oldukça nadir olması önemli bir özelliğidir. Arter tutulması % 1.5 oranındadır. Genellikle genç erkeklerde ve sıklık sırasına göre aort, pulmoner, femoral, subklavya gibi elastik arterlerde olmaktadır. Pulmoner arter anevrizması rüptüre olup hemoptiziye ve bazen masif kanama ile ölüme neden olabilir Türkiye'de yapılan bir çalışmaya göre majör damar hastalıkları hemen daima erkeklerde olmaktadır(50). Tromboza eğilimin gerçek nedeni tam açıklanamamıştır. İlk çalışmalarda Faktör V Leiden ve Protrombin 20210GA mutasyonları BH' da sağlıklı olgulara göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ancak sonraki çalışmalarda bu desteklenmemiştir (51-53).

Merkezi sinir sistemi tutulumu (NöroBehçet:NB), %5 oranında bildirilmiştir. Kafa içi basınç artışı, meningo-ensefalit, konvülsiyon, hemiparezi, hemipleji, kafa çifti tutulumu, kişilik değişiklikleri, duyusal değişiklikler, ve ekstra piramidal bulgulara neden olabilir. Periferik sinir tutulumu nadirdir, genellikle ilk bulgu olarak ortaya çıkmaz. (54).

Türkiye'de nadir (% 0-5) olarak bildirilen gastrointestinal tutulum, Japonlar arasında %50'ye kadar varan sıklıkta bildirilir. Ağızdan anüse kadar herhangi bir bölgede aftlar ve ülserli lezyon ana özelliğidir. Tutulum alanı daha çok distal ince barsaklarda olmaktadır. Karın ağrısı, distansiyon, diyare, kanama, nadiren malabsorbsiyon ve delinmeye neden olabilir. Histopatolojik özellikler ülseratif kolitten farksızdır. Granülomatöz reaksiyon olmayışı ile Crohn Hastalığından ayırt edilir (55).

Böbrek tutulumu nadirdir. Glomerulonefritli bir Behçet olgusu bildirilmiştir Amiloidoz ilk zamanlar yüksek oranda bildirilmişse de kapsamlı çalışmalar bunu desteklememiştir, 1130 olgunun beşinde AA tipinde amilodozis saptanmıştır (56-57).

Laboratuvar Bulguları

Hastalığa özgü bir laboratuar testi olmadığı gibi aktif hastalığı bildirecek özgün bir test de yoktur. Klasik akut faz göstergeleri olan ESR yükselmesi ve lökositoz; oküler, vasküler ve nörolojik atak sırasında genelde olmamaktadır. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda EN ve TB'li hastalarda CRP; EN, TB ve eklem tutulumlu olgularda ESR anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (58).

Tanı

Hastalığın tanısı klinik bulgulara dayanılarak konur. Uluslararası Behçet Çalışma grubunun 1990 yılında belirlediği kriterler Tablo 1' de gösterilmiştir(59).

Tedavi

Oral aftların kontrolu için topikal tetrasiklin solüsyonları ve topikal steroidler, ağrıyı azaltmak için lokal anestezikli topikal jel ve solüsyonlar yararlı olabilir. Kolşisinin (1-2mg/gün), oral aftlar, genital ülserler ve eritema nodozum da yararı gösterilmiştir. Kolşisin ve lokal tedaviye dirençli aftlarda oral prednisolon denenebilir. Eskiden sıkça kullanılmış olan levamizol bazı olgularda yararlı olabilir. Talidomid, 100-300 mg/gün dozunda dirençli oral ve genital ülserlerde yararı olan ancak teratojenik olması ve nöropati yapması nedeni ile kullanımı sınırlanan bir ilaçtır Genital ülserler topikal steroid ve kolşisin ile kontrol altına alınabilir. Dirençli olgulara steroid veya azatiyoprin (2.5 mg/kg/gün) verilebilir. Eritema nodozum da kolşisin dışında, Dapson (100mg/gün) denenebilir. Eklem için NSAID'lar, kolşisin, lokal steroid enjeksiyonu, dirençli kronik olgularda salazopirin ve son zamanların popüler ilacı interferon yararlı bulunmuştur. Göz tutulumu için topikal steroidler her olguda, özellikle üveitli olgularda azatiyoprin ve/veya siklosporin-A bugün için en çok önerilen tedavilerdir. Tromboflebit için akut dönemde istirahat önerilir, emboli atma riskinin oldukça düşük olması nedeni ile heparinizasyon ve uzun dönem antikoagülasyona gerek yoktur, düşük doz aspirin yeterlidir. Yine medikal tedavi ile trombozların gerileyebileceği hatta kaybolabileceği unutulmamalıdır. Arter anevrizmaları için siklofosfamid, azatiyoprin gibi immün-supressif tedavi yanı sıra cerrahi girişim yapılabilir. Ancak damarlara yönelik her türlü girişimin tromboz ya da anevrizmaya yol açabileceği unutulmamalıdır. Bir çok hastalıkta olduğu gibi BH' da da alfa interferon tedavisi göz, mukokutanöz ve artrit gibi belirtilerde yararlı bulunmuştur. Merkezi sinir sistemi tutulumu için akut dönemde pulse steroid veya siklofosfamid ile başlanır ve ağızdan idame tedavisi verilir. MSS tutulumu olan hastalarda siklosporin-A verilmemelidir. Bu ilacın kullanılması muhtemelen MSS'nde damar geçirgenliğini artırıp klinik gidişi ağırlaştırabilir(60).

Tablo 1. Uluslararası Tanı Kriterleri (59)

-Rekurran oral ülserasyon

Hekim tarafından saptanan ya da hasta tarafından güvenilir olarak tarif edilen minör aftöz, majör aftöz veya herpetiform ülserasyonlar,

Rekürrens bir yılda en az üç defa olmalıdır.

Ve aşağıdakilerin en az ikisinin mevcudiyeti:

-Rekurran genital ülserasyon

Özellikle erkeklerde, hekim tarafından tespit edilen veya hasta tarafından güvenilir olarak tanımlanan, rekürran genital aftöz ülserasyon veya skar,

-Göz lezyonları

Anterior üveitis,

Posterior üveitis,

Slit lamba ile vitreada hücreler

veya

Oftalmolog tarafından tespit edilen retinal vaskülit

-Cilt lezyonları

Hekim tarafından saptanan veya hasta tarafından güvenilir olarak tanımlanan eritema nodozum,

Psödofollikülit,

Papülo-püstüler lezyonlar

veya

Steroid almamış, adolesan sonrası dönemdeki hastada hekimin saptadığı akne benzeri nodüler lezyonlar,

-Pozitif Paterji testi

Tekniğine uygun olarak yapılan test, hekim tarafından 24 - 48 saatte okunacak.

Sonuç olarak BH ülkemizde oldukça sık görülen ancak henüz birçok yönü bilinmeyen, tedavi edilmediğinde morbiditesi yüksek hatta ölümcül olabilen bir hastalıktır.

APOPTOZİS

Apoptozis, infeksiyon, kromozomal anomali gibi bir çok nedenle zarar görmüş seçilmiş hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlayan bir fizyolojik işlemdir. Bu işlem hücre içi virüs gibi parazitlere karşı bir korunma mekanizması olarak ortaya çıkmış ve evrimsel süreç

içinde hayli korunmuş olan, başlatıcı bir çok sinyali bir çok canlı da hatta bazı bitkilerde homoloji gösteren bir süreçtir.(61). Nonspesifik toksik ya da incitici uyarı neticesinde oluşan nekrozun aksine apoptozis ligand-reseptör etkileşimi ile oluşan ve enerji gerektiren bir süreçtir (46). Bu süreçte *Fas* (CD95), tümör nekroz faktör reseptör süper familyası (TNF-R),*Bcl-2* ailesi ve ölüm reseptörleri (death receptors: DR) DR3, DR4, DR5, DR6 gibi apoptozisi uyaran ya da baskılayan bir çok molekül görev almaktadır (1).

Apoptozis, ligand- reseptör etkileşimi ile başlar ve hücre morfolojisinde değişikliklerle sonuçlanır. Erken evrelerde hücre ve çekirdek volümünde azalma dikkati çeker. Membranda ışık mikroskobu ile görülebilen blebler oluşumu gözlenir. Apoptotik ölümün ana ayırt edici özelliklerinden biri de kromozomal DNA'nın endonükleazlarca çok sayıda baz çifti içeren oligomerlere yıkımıdır. Bu yıkım şekli DNA'nın, apoptozisi tayinde kullanılan bir yöntem olan jelde, analizine olanak tanır. Çekirdekte yoğunlaşma ve parçalanma mikroskobik olarak görülebilir. Her ne kadar *in vitro* apoptozis hücresel parçalanma ile sonlansa da *in vivo* olarak bu hücrelerin makrofajlarca ortamdan temizlenmesi ile sonlanır. Bu, çok önemlidir çünkü örneğin SLE' de bu hücrelerin makrofajlarca temizlenmesi sorunludur. Apoptozis işlemi bir saat içinde biten bir süreç olduğundan periferde tüm aşamaları takip edilemeyebilir ama makrofajlar içinde kalıntıları saptanabilir. Gerçekte apoptozis bir hücresel kendi kendine sindirmedir (62) (Şekil 2).

Apoptozisin önemli bir işlevi bağışıklık sisteminde gerçekleşir. Gerek bağışıklık sisteminin gelişimi esnasında, gerek normal fonksiyonu sırasında ve yaşlanmış hücrelerin ortamdan yok edilmesi sürecinde apoptozis oldukça önemli rol alır. Örneğin genç bir insanda timositlerin ancak %2 kadarı olgunlaşma sürecine girer; diğer %98'i apoptozis yolu ile elimine edilir. Bu işlem bağışıklık sisteminin sağlıklı gelişimi için gereklidir. Öte yandan normal bir immün yanıttan sonra oluşan aktivasyon ve proliferasyon sonrasında bu hücrelerin ortamdan çekilmesi de apoptozis yolu ile gerçekleşir; bu işlem aktivasyonun indüklediği hücresel ölüm (AICD) olarak adlandırılır. Bu işlem sayesinde aktive olup proinflamatuar sitokin üreten hücreler etkin biçimde ortamdan çekilirler. Eğer bu gerçekleşmezse sürekli aktif immün hücreler oto immün hastalıkların oluşumuna yol açar. Yaşlanmış bağışıklık sistemi hücreleri de apoptozis yolu ile ortamdan uzaklaştırılır. Bu süreçteki bir bozukluk da sürekli inflamasyon ve sonuçta oto immün hastalıkların oluşumuna yol açar. Bu süreçlerin çoğu *Fas* ve TNFR aracılığı ile sağlanır (2).

Fas, apoptozisi 90 aminoasitlik bir domaini aracılığı ile tetikler. Trimerik *Fas, Fas* ligandı *(FasL)* tarafından bağlanır ve hedef hücre yüzeyinde *Fas* reseptörü toplanmasını sağlar. *Fas*'ın hücre yüzeyinde toplanması apoptozis için ilk adımdır. *Fas* associated death

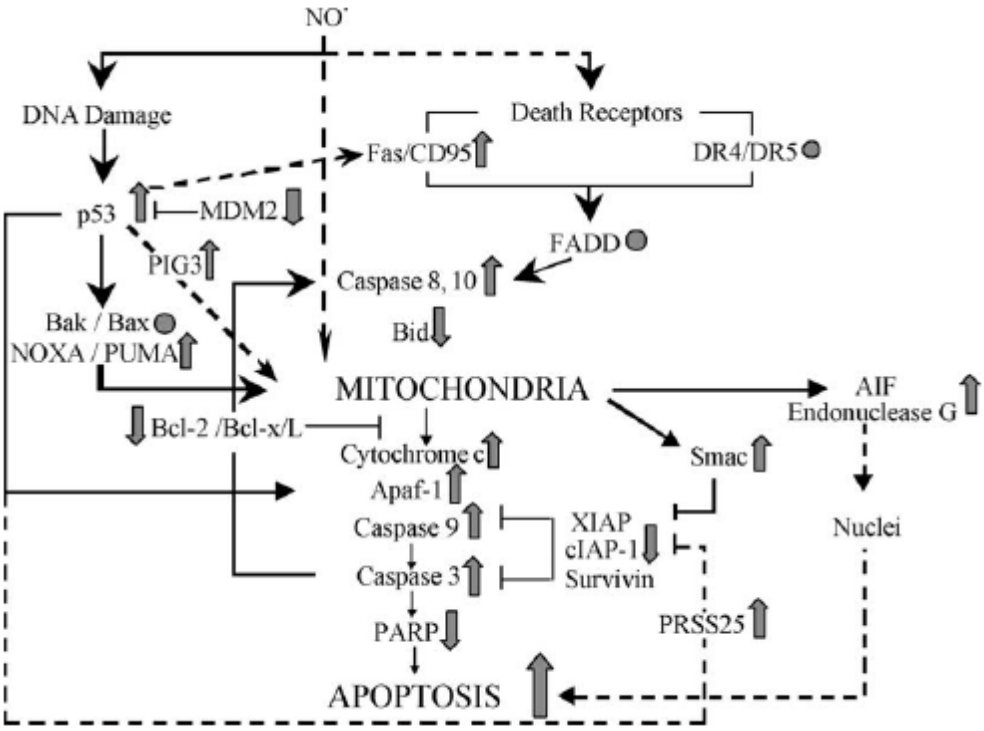
domain (FADD) oluşumu sonucu prokasbaz 8 bağlanması ile effektör kaspaz oluşur ve apoptozis ile ilişkili genler ve ürünleri aktive edilerek apoptozis süreci sürdürülür. Bu süreç sırasında transkripsiyon faktörleri aktivasyonu da gerçekleştirilir. Bunlar spesifik regülatör proteinler olup DNA'da spesifik başlatıcı bölgelere bağlanırlar ve proapoptotik ve antiapoptotik faktörlerin sentezini düzenleyen genlerin ekspresyonu düzenlerler. Bu genlerin başlıcaları *Bcl-2* ailesi, sitokrom-c, tümör supressor gen p53 ve p21 (WAF1)'dir. Bu hayli kompleks olaylar sürecinde apoptozisi uyaran ve apoptozisi engelleyen faktörler arasındaki denge hücrenin kaderini belirler (3,4).

Fas ve *FasL*'daki mutasyonlar otoimmünitenin oluşumunda sorumlu bulunmuş. Otoimmüniteye yatkın özel bir fare türünde *FasL* karboksi terminal ucunda oluşan bir nokta mutasyonu sonucu *Fas* trimerizasyonunda önemli olan *FasL* trimerizasyonu oluşmaz, dolayısı ile normal apoptozis süreci işlemez (1). *Fas* genindeki mutasyon neticesinde otoimmün lenfoproliferatif sendrom (OLS) olarak adlandırılan ve bir kısmı SLE benzeri tablo ile seyreden bir durum gelişir.

Behçet Hastalığı lezyonlarında ve çevresel kan hücrelerinde apoptozis çalışılmıştır. Nakamura ve ark (4) CD4+ T hücrelerinde *Fas* antijeni ekspresyonunda azalma saptamışlar ve Behçet Hastalığındaki kronik inflamasyondan bunun sorumlu olabileceğini iddia etmişlerdir. Yang ve ark (5) ise Behçet hastalarının çevresel kan lenfositlerinin apoptozise dirençli olduklarını saptamışlar.

Bcl-2 (B Cell Lenfoma) ailesi anti apoptotik moleküller (Bcl-2, Bcl-X_L, McL-1 ve A1) ve proapoptotik moleküller (Bax, Bcl-X_s, Bak, Bik, Bid, Bim, ve Bad) den oluşur (2). *Bcl-2* ilk defa 1985 yılında folliküler lenfomalarda gösterilen, mitokondiriya, endoplasmik retikulum ve çekirdek iç membranında yer alan bir protoonkogendir. Bu molekülün ana görevi çeşitli mekanizmalarla apoptozisin engellenmesidir. *Bcl-2* apoptozis sürecinde rol alan Bax/Bak kompleksine bağlanıp oligomerizasyonlarını engeller ve sonuçta kaspaz aktivasyonunu engelleyerek apoptozisi engeller (Şekil 2). Bu mekanizma özellikle bazı malignansilerin tedavisinde işe yarar gibi durmaktadır. ABT737 maddesi *Bcl-2'* nin bağlanmasında yarışmalı inhibitör görevi görür. *Bcl-2* 'ye bağımlı bazı hematolojik malignansilerin tedavisinde bu inhibisyon işe yarayabilir (63). Hamzaoui ve ark. (6) Behçet hastalarının periferik kan lenfositlerinde *Bcl-2'* ekspresyonunda artış bildirmişlerdir. Şentürk ve ark.(64) Behçetli hastaların aktif deri lezyonlarında *Bcl-2* ekspresyonun lökositoklastik vaskülitli olgulara göre anlamlı olarak daha yüksek saptamışlardır. Bariş ve ark.(65) ise Behçetli olguların dermal lenfositlerinde *Fas* ekspresyonun olmadığını ancak *Bcl-2* ekspresyonunda ise artış saptamışlardır.

Gerek *Fas* ekspresyonunda azalma gerekse *Bcl-2* ekspresyonunda artış Behçet hastalığındaki inflamasyonun sürekliliğinde rol alabilir. Bu çalışmada Behçet Hastalarının periferik lenfositlerinde proapoptotik bir molekül olan *Fas*/APO-1 (CD95) ve antiapoptotik molekül olan *Bcl-2* ekspresyonu araştırılarak apoptotik mekanizmaların Behçet Hastalığındaki rolü araştırılmıştır.



Şekil 2. Apoptozis süreci: Yukarı yönlü oklarla belirtilen moleküller apoptozisi uyarırken aşağı yönlü oklarla belirlenen moleküller apoptozisi baskılar (63).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu araştırma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoloji Bilim Dalı ve Hematoloji laboratuvarında yapılmıştır. Yerel Etik Kurul onayı (Ek-1) alınarak Uluslararası Behçet Çalışma Grubu Kriterlerine (59) uygun olarak tanısı konmuş 21 Behçet Hastası ve 32 sağlıklı kontrol çalışmaya alındı. BH dışında bilinen romatolojik ve / ya da otoimmün hastalığı olanlar dışlandı. Hastaların detaylı klinik muayeneleri yapılarak mevcut klinik bulgular kaydedildi. Oral aft, genital ülser, eritema nodozum, artrit, göz, tromboz, nörolojik tutulum ya da gastrointestinal tutulumdan bir ya da bir kaçının bir arada olması durumunda hasta aktif kabul edildi.

Hastalara çalışma hakkında bilgi verilip yazılı onamları alındıktan sonra EDTA'lı tübe 2.5 cc kan alındı. Aynı gün içinde Coulter Tam kan sayımı cihazında tam kan sayımı yapıldı. Çok renkli akım sitometrisi (Coulter Epics XL) ile periferik kan lenfositlerinin CD4, CD8 ve CD 95 ekspresyon oranı CD95'in CD4 ve CD8 pozitif lenfositler üzerindeki ekspresyon oranı ve şiddeti belirlendi. Ayrıca intrasitoplazmik olarak periferik kan lenfositlerinin *Bcl-2* ekspresyon oranı ve şiddeti belirlendi.

Testlerin Uygulanışı

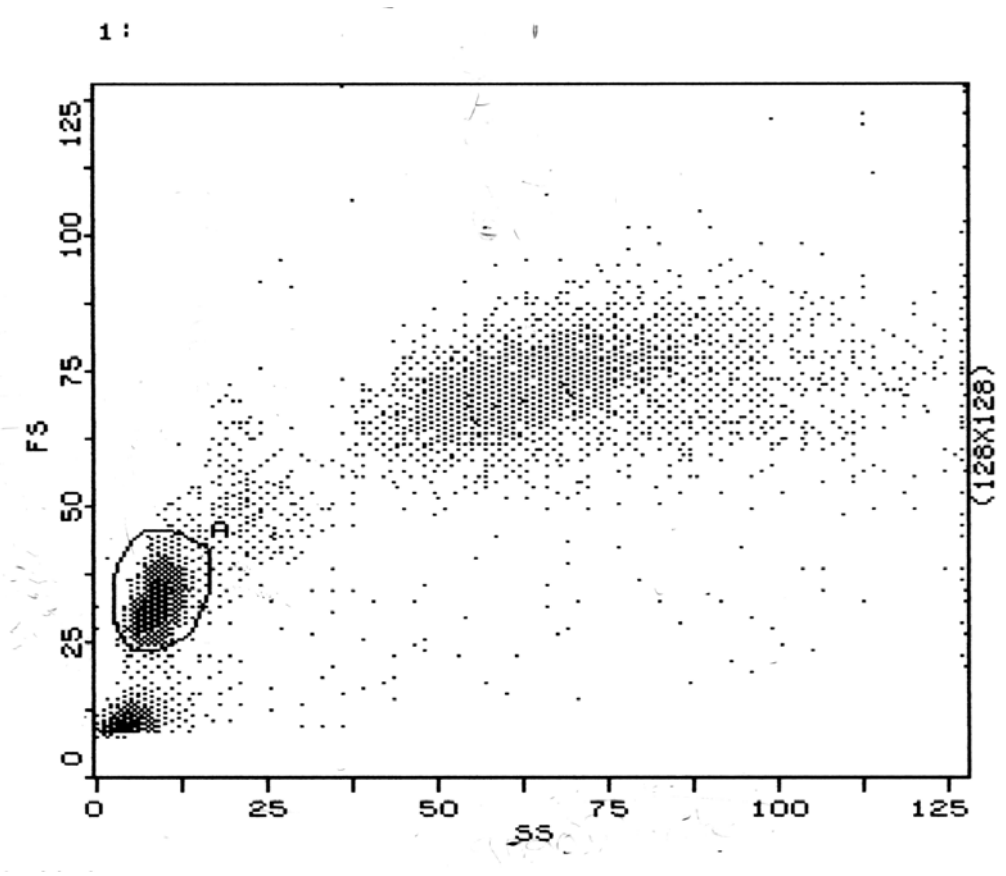
Çalışmamız Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Laboratuvarında bulunan akım sitometri cihazı kullanılarak yapılmıştır. Akım sitometrik çalışma için kullanılacak tam kan örnekleri deneklerden antekübital venden 2,5 ml'lik EDTA antikoagulanlı vacutainer tüplere alındı ve bütün örnekler alındıktan sonra en geç 4 saat içinde çalışıldı. Direkt immünflorosans yöntemi ile üç renkli olarak yapılan çalışmada, florecein isocyanate (FITC), phycoerythrin (PE) ve (Phycoerythrin-cyanin)PC5 ile konjuge monoklonal antikorlar (anti

CD4-FITC, anti CD8-PC5, anti CD95-PE ve bu antikorların izotipik kontrolleri) kullanıldı. İntrastoplazmik çalışma için ise anti *Bcl-2* (FITC) ve anti CD45 (PE) antikorları kullanıldı.

Örneklerin hazırlanışı**:** Test tüpünde 100µl kan örneği, 10µl anti CD95, 10µl anti CD4 ve 10µl anti CD8'den oluşan antikor kokteyli ile karıştırıldı. Kontrol tüpünde ise 100µl kan örneği 10µl IgG1 FITC ve 10µl IgG1 PE ve 10 µl IgG1-PC5 karıştırıldı ve oda ısısında, karanlıkta, 30 dakika inkübe edildi. Takiben "TQ prep Workstation" otomatik örnek hazırlama cihazında, eritrositlerin lizisi ve lökositlerin fiksasyonu gerçekleştirildi.

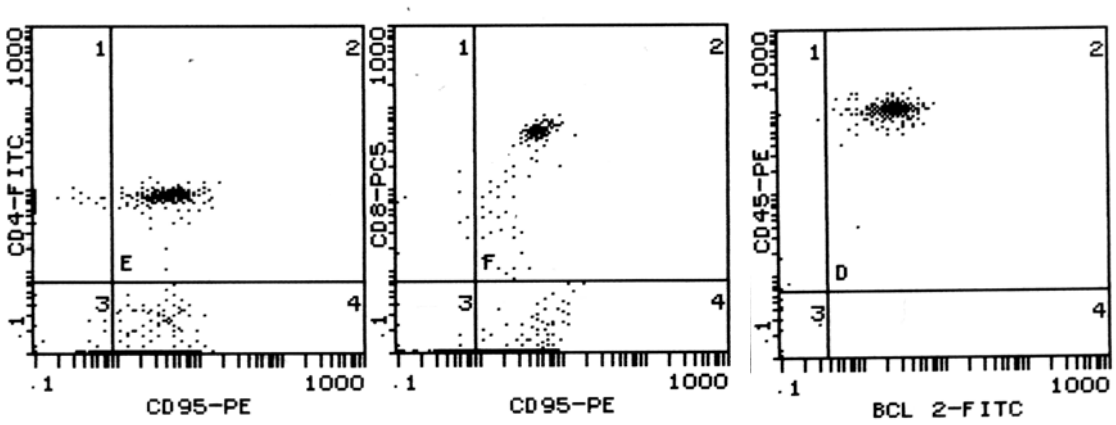
İntrastoplazmik çalışma için; önce CD45 ile yüzey boyama yapıldı. Bunun için 10 µl anti CD45 50 µl kan örneği içeren test tüpüne aktarıldı. kontrol tüpünde ise 50µl kan örneği, 10µl anti IgG1 PE ile karıştırıldı ve karanlıkta, oda ısısında 30 dakika süre ile inkübe edildi. İkinci aşamada, permeabilizasyon için test ve kontrol tüplerine 100'er µl İntra-prep reagent 1 ilave edilip 15 dakika oda ısısında, karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüplere 4ml % 2'lik bovin albümin+ PBS ilave edilerek yıkama yapıldı ve 300g (1500rpm)'de santrifüj edilip süpernatant atıldı. Tüplerin üzerine 100µl İntra-prep reagent 2 ilave edilip oda ısısında 5 dakika inkübe edildi.Test tüpüne 20µl anti *Bcl*-2, kontrol tüpüne 10 µl IgG1-FITC ilave edilip 15 dakika oda ısısında karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüplere 4ml %2'lik bovin albümin + PBS ilave edilip yıkandı. 300 g'de 5 dakika santrifüj edilip süpernatant atıldı ve 500µl PBS ilave edilerek analize hazır hale getirildi.

Analizler Coulter Epics XL akım sitometri cihazında yapıldı. Verilerin analizi için System II software kullanıldı. Forward scatter (FS) ve side scatter (SS) ölçümleri için lineer yükselticiler, florosans ölçümleri için ise logaritmik yükselticiler kullanıldı. Software tarafından FS ve SS parametrelerinin kullanımı ile oluşturulan; lökositleri lenfosit, monosit ve granülositler olarak ayıran histogramda, lenfositler etrafından manuel olarak kapı alındı (Şekil 3). Bu kapının tanıtıldığı, software tarafından oluşturulan ve 2 parametreyi aynı anda gösteren, dot plotlar ile immünfenotipik analizler yapıldı. Pozitiflik sınırı, izotipik kontrollerle pozitif hücre oranı %2 'den daha az olacak şekilde ayarlandı. Total lenfosit popülasyonu üzerinden CD4+, CD8+, CD95+ hücre oranları ile CD4+/CD95+, CD8+/CD95+ hücre oranları ve ekspresyon şiddetleri belirlendi. İntrastoplazmik çalışmada, CD45 ve side scatter (yana saçılım) parametrelerinin beraber kullanımı ile elde edilen histogramda lenfositler üzerinden alınan kapıda *Bcl-2* ekspresyon oranı ve şiddeti analiz edildi.



Şekil 3. Akım sitometri cihazında lenfosit kapısının alınması

Örnek bir hastaya ait akım sitometri histogramları Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Örnek bir hastaya ait CD4 CD95, CD8 CD95 *ve Bcl-2* histogramları

İstatistiksel analizler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem Dairesinde bulunan S0064 Minitab Release 13 (Lisans no: wcp 1331.00197) paket programı kullanılarak yapıldı. Nicel verilerin ortalama ve standart sapması, nitel verilerin frekansları alındı. Nicel veriler için iki grup ortalamasının karşılaştırılması normal dağılım gösterenler student t testi ile normal dağılım göstermeyenler Mann-Whitney U; Nitel verilerin karşılaştırılması için ki-kare testinden yararlanıldı. $P<0.05$ anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya 9'u kadın 12'si erkek toplam 21 Behçet Hastası ve 16 kadın ve 16 erkek toplam 32 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Behçet olgularından altısından değişik dönemlerde (aktif ve inaktif dönemlerde) kan örnekleri alındığından toplam 29 örnek üzerinden değerlendirme yapılmış olup aktif ve inaktif olgular ayrıca kendi aralarında karşılaştırılmışlardır. Cinsiyet bakımından gruplar arasında fark yoktu ($p>0.0$). Hastaların ve kontrol grubunun ortalama yaşları sırası ile 34 ± 11 (19-66) ve 30 ± 7 yıl idi. Yaşlar bakımından gruplar arasında fark yoktu ($p>0.05$). Hastalık süresi ortalama 6.9 ± 4.6 (1-15) yıl idi. Çalışma sırasında Behçet olgularının 23'ü ilaç kullanmakta, 5'i ise hiç ilaç almamakta idi. Hasta ve kontrol grubunun genel demografik özellikleri tablo 2'de; hastaların klinik özellikleri tablo 3' verilmiştir.

Behçet Hastaları ve kontrol grubunun tam kan sayımı sonuçları tablo 4'te ve tam kan sayımı verilerinin istatistiksel dağılımı da tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 2. Hasta ve Kontrol grubunun demografik bilgileri.

No	İsim	*Grup	Yaş	†Cins	‡Sigara	Süre	§İlaç
1	AK	1	42	1	1	7	14
2	AA	1	66	0	1	9	13
3	AÖ	1	34	0	1	5	35
4	CB	1	25	1	1	1	0
5	FH	1	31	1	0	3	13
6	FS	1	31	0	0	14	1
7	FK	1	19	1	0	3	13
8	HÇ	1	31	1	1	6	1
9	HİY	1	50	1	0	15	38
10	HB	1	25	0	0	3	1
11	HS	1	44	0	1	2	0
12	KS	1	28	1	1	1	35
13	LB	1	35	0	0	8	0
14	MG	1	20	1	0	4	16
15	MY	1	37	1	0	15	18
16	NY	1	40	0	2	8	1
17	SG	1	23	1	.	.	.
18	ŞT	1	26	1	0	12	1
19	TT	1	31	1	1	7	3
20	TÇ	1	34	0	0	12	1
21	VÇ	1	38	0	0	3	1
22	AK	0	26	1	0		
23	AT	0	46	0	0		
24	AD	0	32	0	1		
25	AB	0	24	0	0		
26	BT	0	37	0	1		
27	BÇ	0	27	0	1		
28	BA	0	38	1	1		
29	BS	0	24	0	0		
30	DT	0	25	0	0		
31	EY	0	38	0	1		
32	EA	0	24	1	0		
33	EB	0	25	1	0		
34	FE	0	41	0	1		
35	HO	0	34	0	1		
36	İÖ	0	25	0	0		
37	İK	0	44	1	0		
38	KO	0	21	1	0		
39	MK	0	30	1	1		
40	NE	0	25	0	0		
41	RK	0	32	1	1		
42	SK	0	23	1	1		
43	SE	0	27	0	0		
44	SKO	0	24	0	1		
45	SS	0	24	0	1		
46	SK	0	41	1	1		
47	ŞC	0	26	0	1		
48	ŞO	0	40	1	1		
49	TG	0	37	1	0		
50	TD	0	30	1	0		
51	UB	0	33	1	2		
52	VÇ	0	22	1	0		
53	YA	0	37	1	1		

*:1:Hasta, 2:Kontrol. †:1:Erkek; 0: Kadın.‡:0:Sigara içmiyor; 1:aktif içici; 2:Bırakmış. §: 0:İlaçsız, 1: Kolşisin; 2: NSAII, 3: kortikosteroid, 4: Aspirin, 5: Siklosporin A, 6: Azatiyoprin, 7: Siklofosfamid, 8: Salazoprin.

Tablo 3. Behçet Hastalarının klinik bulguları.*

no	İsim	OA	GU	OF	EN	Göz	TB	Eklem	GIS	NB	AA	†paterji	‡Aktivite
1	AK	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
2	AA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
3	AÖ	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1
4	CB	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
5	CB2	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1
6	CB3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	FH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	FS	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
9	FS2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
10	FS3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	FK	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
12	FK2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
13	HÇ	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
14	HİY	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
15	HB	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
16	HS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	KS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	LB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	MG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	MY	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
21	NY	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
22	NY2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
23	SG	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
24	ŞT	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
25	ŞT2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	TT	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
27	TT2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	TÇ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
29	VÇ	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1

OA : Oral aft; GU: Genital ülser; OF : Ostiofollikülit; EN: Eritema nodozum; Göz: Göz tutulumu;
TB: Trombofilebit; Eklem : Eklem tutulumu; GİS : Gastrointestinal sistem tutulumu; NB: Nörolojik tutulum;
AA: Arter anevrizması; †: paterji pozitif, 0: paterji negatif.; ‡: Aktif Hastalık Var:1, Yok: 0
*: Bazı hastaların aktif ve inaktif dönemlerinde kanlar alındığından bunlara ait birden fazla veri görülmektedir. Dolayısı ile 21 hastanın toplam 29 kan örneğinde çalışma yapılmıştır.

Tablo 4.Behçet Hastaları ve sağlıklı kontrollerin Tam Kan Sayımı verileri*

No	†Grup	İsim	WBC	NÖTR:	LENF.	MON.	HGB	MCV	PLT
1	1	AK	9500	60.6	30	6.8	14.4	92.8	270000
2	1	AA	7500	57.9	29.9	11.4	11.4	88.7	341000
3	1	AÖ	6700	76.5	18.8	4.2	11.1	86	252000
4	1	CB	14200	82.5	9.8	7.7	12.8	92.4	164000
5	1	CB2	13500	71.8	17.8	9.3	12.5	92.6	258000
6	1	CB3	12800	88.6	9.2	2.1	13.4	93.2	355000
7	1	FH	14300	81	11.4	5.8	14.2	83.6	243000
8	1	FS	5800	55.4	35	7.7	11.2	82.9	393000
9	1	FS2	10400	62.9	27	9.5	12	81.9	357000
10	1	FS3	17400	72.4	21.5	5.7	12.5	82.3	527000
11	1	FK	14600	83.9	11.3	4.3	14.2	87.4	326000
12	1	FK2	22400	77.8	19	2.8	14.2	87.9	566000
13	1	HÇ	7000	70.4	21.9	7.2	14.3	84.4	211000
14	1	HİY	6600	48.5	38.3	11.4	12.3	92.2	272000
15	1	HB	5700	59.7	32.5	6	11	86.6	217000
16	1	HS	11800	64.8	23.5	9.1	11.4	76.6	393000
17	1	KS	11900	57.6	36	5.6	13.7	94.9	252000
18	1	LB	9300	70.1	19.8	7.2	12.2	86.7	345000
19	1	MG	4500	60.8	30.7	6.5	13.4	88.7	262000
20	1	MY	7400	69	22	7	14.3	83.4	199000
21	1	NY	6500	55.8	32.7	7.8	13.3	95.5	214000
22	1	NY2	6300	58	30	8.5	13.4	93.5	238000
23	1	SG	9600	54.3	38.8	6.1	14.9	90.1	334000
24	1	ŞT	7400	55.1	35.9	7.9	15.2	89.9	219000
25	1	ŞT2	5100	60.2	30.6	8.5	15	90.2	191000
26	1	TT	11100	57	11.3	2.4	13.6	86.1	385000
27	1	TT2	17600	74.6	13.8	10.2	13.4	87.8	385000
28	1	TÇ	5300	51.6	38.2	5.9	11.9	88.7	207000
29	1	VÇ	8100	54.8	37.3	6.7	13.4	82.3	227000
30	0	AK	7500	57.6	34.1	6.5	12.8	81.6	205000
31	0	AT	7200	61.2	26.4	9.2	12	88	188000
32	0	AD	10800	59.2	30.3	5.5	13.1	82.7	247000
33	0	AB	6700	56.5	34	8.6	12.3	84.4	175000
34	0	BT	11200	72.9	19.7	6.5	10.6	92	217000
35	0	BÇ	5600	55	34.2	7.9	12.8	84.5	295000
36	0	BA	7700	50.5	38.4	8.1	16.3	90.1	218000
37	0	BS	5200	52.7	39	7.2	12.7	88.2	298000
38	0	DT	8800	68	23.7	6.7	15.7	89.4	248000
39	0	EY	7900	62	24.3	9.8	12.1	83.8	242000
40	0	EA	7700	57	34.8	6.8	14.5	88.4	229000
41	0	EB	8900	47.7	37.9	8.9	14.5	85.4	242000
42	0	FE	8900	59.3	32	6.4	14.5	92.4	183000
43	0	HO	7100	60.5	33.8	2.9	13	95.4	344000
44	0	İÖ	5900	58	30.3	6.1	11	78	262000
45	0	İK	8000	66.9	22.2	7	14.2	85.8	289000
46	0	KO	7600	55.4	26.3	10.2	15	96.3	263000
47	0	MK	7200	53.4	37.4	7.8	13.9	89.4	212000
48	0	NE	5200	62.3	29.2	7.5	12.4	90	211000
49	0	RK	6600	46.7	45.1	6.9	13	96.8	188000
50	0	SK	9500	46.6	33.9	12	15.4	86.4	239000
51	0	SE	7600	81.8	11.2	5.9	11.8	91.3	179000
52	0	SKO	5300	47.7	41.7	8	12.6	86.1	223000
53	0	SS	8200	56.9	30.9	8.6	11.4	83.5	450000
54	0	SK	15300	58.6	23.6	6.5	13.3	93.2	211000
55	0	ŞC	6800	55.7	31.5	9.1	12.9	91.9	215000
56	0	ŞO	8400	51.8	39.1	7	13.9	89.8	197000
57	0	TG	4400	60.7	26.2	10.5	14.4	86.3	162000
58	0	TD	7300	60.1	28.3	9.3	15	91.1	279000
59	0	UB	6100	53.8	34.9	9.2	14.3	91.5	285000
60	0	VÇ	9000	63	26.6	7.9	15.6	86.9	272000
61	0	YA	6900	45.9	41.7	6	15.1	87.1	295000

†:1: Behçet hastası, 2: Sağlıklı kontrol

*: Bazı hastaların aktif ve inaktif dönemlerinde kanlar alındığından bunlara ait birden fazla veri görülmektedir. Dolayısı ile 21 hastanın toplam 29 kan örneğinde çalışma yapılmıştır.

Tablo 5. Behçet Hastaları ve sağlıklı kontrollerin kan sayımlarının dağılımları.*

Parametre	Grup	n	Ortalama	Standart Sapma	t	p
Lökosit Sayısı / mm³	Kontrol	32	7703	2076±	-2.651	0.01
	Behçet	29	10010	4415±		
Nötrofil Oranı (%)	Kontrol	32	57.67	7.74±	-3.185	0.002
	Behçet	29	65.30	10.84±		
Lenfosit oranı (%)	Kontrol	32	31.33	7.23±	2.765	0.008
	Behçet	29	25.31	9.71±		
Monosit (%)	Kontrol	32	7.70	1.757	1.432	0.157
	Behçet	29	6.94	2.38±		
Hemoglobin (mg/dl)	Kontrol	32	13.50	1.45±	1.090	0.280
	Behçet	29	13.12	1.24±		
MCV (fL)	Kontrol	32	88.37	4.32±	.404	0.688
	Behçet	29	87.91	4.55±		
Platelet / mm³	Kontrol	32	242593	57500±	-2.136	0.037
	Behçet	29	290075	110341±		

MCV:Mean Corpuscle Volume

*: Bazı hastaların aktif ve inaktif dönemlerinde kanlar alındığından bunlara ait birden fazla veri görülmektedir. Dolayısı ile 21 hastanın toplam 29 kan örneğinde çalışma yapılmıştır.

Behçet Hastaları ile sağlıklı kontrollerin ortalama CD4+, CD8+, CD95+, CD4+CD95+ ve CD8+CD95+ hücre oranları ve markerlerin ekspresyon şiddetleri bakımından aralarında fark saptanmamıştır (hepsi için p>0.05). Behçet Hastalarının *Bcl-2*+ lenfosit oranı sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır (t: -2.903; p:0.005). Ancak *Bcl-2* ekspresyon şiddeti bakımından aralarında anlamlı fark saptanmamıştır (p:0.054). Akım sitometride çalışılan parametrelerin sonuçları Tablo 6'da, istatistiksel dağılımları Tablo 7'de gösterilmiştir. .

Kadın ve erkek Behçetli olgular karşılaştırıldığında kadınların ortalama hemoglobin düzeyleri anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır (p:0.00). Diğer kan sayımı parametreleri ve akım sitometride çalışılan yüzey markerleri ve *Bcl-2* ekspresyonu bakımından kadınlar ve erkekler arasında anlamlı fark yoktu (hepsi için p>0.05). Sigara içen (11 olgu) ve içmeyen olgular ele alındığında akım sitometrik parametreler bakımında aralarında anlamlı fark olmadığı (hepsi için p>0.05) ancak periferik kanda lenfosit oranının sigara içen Behçetlilerde anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır (sırası ile % 20.2 ±9.0 ve % 27.4± 9.3; U: 43.500; p:0.043). Behçetli 21 olgudan aktif ve inaktif dönemlerinde toplam 29 kan örneği alınarak testler çalışılmıştır. Aktif 18 olgunun kan sayımı ve akım sitometrik ölçüm sonuçları inaktif dönem olgular ile karşılaştırdığında aralarında anlamlı fark olmadığı görüldü (p>0.05).

Tablo 6. Behçet Hastaları ve sağlıklı kontrollerin akım sitometri verileri.*

no	İsim	†Grup	CD4+ %	CD8+ %	CD95+ %	CD4+ CD95+ %	CD4+ CD95+ EŞ	CD8+ CD95+ %	CD8+ CD95+ EŞ	Bcl-2+ %	Bcl-2 + EŞ
1	AK	1	46	15.9	73	77.8	4.17	93.9	4.02	100	4.2
2	AA	1	43.8	25.2	88	93.2	5.38	99.4	4.55	100	4.37
3	AÖ	1	49.5	25.4	80.3	69.3	3.63	91.4	2.74	99.9	3.09
4	CB	1	45.9	11.4	63	71.7	3.76	75.8	3.22	99.4	3.46
5	CB2	1	27.5	5.71	51.3	70.6	3.52	74.4	2.94	100	3.79
6	CB3	1	33.1	15.8	69.2	72.8	4.86	90.3	3.93	99.5	2.78
7	FH	1	43.3	30.3	82	74.9	4.53	100	5.08	100	3.54
8	FS	1	50.6	1.77	69.3	66.7	4.29	65.1	3.25	100	3.69
9	FS2	1	48.5	8.12	73.6	70.5	4.26	92	3.74	97.9	3.28
10	FS3	1	44.2	16.4	73.9	73.6	4.49	90.8	3.45	100	3.75
11	FK	1	44.7	19.5	69.8	68.7	4.93	93.5	3.93	100	3.51
12	FK2	1	44.8	27.7	79.8	75.5	4.88	91.7	3.05	100	3.76
13	HÇ	1	52.2	17.7	71.9	76.7	4.2	95.5	3.56	93.1	2.64
14	HİY	1	36.8	4.73	75.7	86.8	5.04	63.5	3.86	100	3.96
15	HB	1	47.5	27.5	68.6	53.8	3.34	92.9	2.5	99.6	2.08
16	HS	1	41	5.39	74.7	84.7	6.6	81.3	5.08	100	3.74
17	KS	1	55.3	22.3	68.4	60.8	3.4	91	2.87	100	3.09
18	LB	1	44.4	21	76.3	78.7	5.07	93.5	3.53	100	3.66
19	MG	1	50.1	25.3	74	65.4	3.99	98	3.66	99.4	3
20	MY	1	35.2	23.5	80.2	92	5.13	98.1	3.89	100	3.15
21	NY	1	46.9	17.9	71.3	72.5	4.87	97.3	4.19	100	3.6
22	NY2	1	14.7	6.19	41.5	74.8	4.92	99.3	4.62	100	3.28
23	SG	1	44.2	30	71.8	60.6	3.58	97.3	3.79	99.2	2.48
24	ŞT	1	37.4	21.2	73.1	71.6	4.64	95.9	3.22	100	3.28
25	ŞT2	1	39.5	27.8	75.5	74.8	4.4	98.5	3.96	99.8	3.38
26	TT	1	42	31.8	90.5	93.9	4.55	99.3	4.34	100	4.35
27	TT2	1	41.1	36.9	93.4	94.2	4.84	99.8	4.64	100	4.34
28	TÇ	1	44.2	30	71.8	60.6	3.58	97.3	3.79	99.2	2.48
29	VÇ	1	54.4	23.3	76.3	68.2	3.94	95.6	3.26	100	2.72
30	AK	0	54.6	19.6	70.5	69.9	3.94	97.5	3.77	78.8	1.98
31	AT	0	54.2	20.8	73.2	68.7	4.95	97.1	3.95	100	3.73
32	AD	0	55.6	27.4	73.8	69.6	4.63	93.6	3.8	97.5	2.45
33	AB	0	25.7	14.8	64.3	82.9	4.3	99.8	3.64	100	3.96
34	BT	0	45.5	16	67.1	70.4	4.94	95	3.71	93.4	1.54
35	BÇ	0	37.3	24.3	72	63.5	3.59	99.3	3.71	95.8	2.5
36	BA	0	50.6	12.1	66.4	69	3.71	89.4	3.59	100	3.79
37	BS	0	35.8	31.6	85	71.9	5.15	100	3.73	100	3.98
38	DT	0	46.1	14.6	29.9	64.4	5.43	83.9	3.16	100	4.14
39	EY	0	45.4	23	73.7	85.2	4.95	100	5.48	91.6	1.74
40	EA	0	43	29.7	75.3	59.4	4.98	98.7	3.65	100	3.83
41	EB	0	47.7	26.9	76.3	69.8	3.59	99.2	4.9	94.5	1.95
42	FE	0	7.8	6.83	74.4	2.61	4.43	58.9	3.67	96.3	2.55
43	HO	0	49.1	20.1	80	81.2	4.81	99.4	4.32	96.6	1.84
44	İÖ	0	20.8	12.5	57.3	74.9	6.31	99.8	4.78	100	3.86
45	İK	0	40.4	24.8	75.8	79.5	5.23	99.8	4.77	100	3.63
46	KO	0	49.2	23.3	61.6	50.9	5.19	97.8	3.26	100	3.73
47	MK	0	49.7	20.7	74.5	71.6	3.32	93.6	2.81	85.3	2.24
48	NE	0	39.2	33.4	81.9	79.5	4.98	99.7	5	100	3.63
49	RK	0	39.7	17.8	73.9	69.9	3.66	95	3.45	97.5	2.67
50	SK	0	40.1	21.4	79	76.8	4.73	98.1	3.59	100	4.04
51	SE	0	39.8	28.8	75.4	69.5	5.01	95.8	4.05	88	1.84
52	SKO	0	54.9	21.8	69.1	62.2	4.26	95.5	3.62	97.6	1.99
53	SS	0	52.9	18	68.2	75.9	3.79	97.3	3.41	90.7	1.89
54	SK	0	28.6	38.9	82.3	88.1	4.71	95.7	3.13	100	4.14
55	ŞC	0	47.8	22.4	70.9	73.5	4.32	95.6	3.51	100	3.51
56	ŞO	0	42	25	78	76.6	4.37	96.6	3.91	99.8	3.63
57	TG	0	45.3	17.1	66.3	63.7	4.77	97.7	4.02	100	4.32
58	TD	0	44	21.1	72.7	73	4.64	96.1	4.38	93.4	2.16
59	UB	0	44	23.6	79.5	60.2	3.75	98.9	3.84	98.3	2.06
60	VÇ	0	36.9	22.1	66.3	66.3	4.89	98.5	4.2	100	3.47
61	YA	0	39.8	29.1	77.1	31.3	5.4	31.1	4.62	100	3.49

†:1: Hasta, 2: Kontrol.; EŞ**:** Ortalama ekspresyon şiddeti.

*: Bazı hastaların aktif ve inaktif dönemlerinde kanlar alındığından bunlara ait birden fazla veri görülmektedir. Dolayısı ile 21 hastanın toplam 29 kan örneğinde çalışma yapılmıştır.

Tablo 7. Behçet Hastaları ve sağlıklı kontrollerin akım sitometri dağılımları*

Parametre	Grup	n	Ortalama	Standart Sapma	T	P
CD4+ (%)	Kontrol	32	42.30	10.34±	-3.17	0.752
	Behçet	29	43.10	8.24±		
CD8+ (%)	Kontrol	32	22.17	6.66±	1.121	0.267
	Behçet	29	19.85	9.39±		
CD95+ (%)	Kontrol	32	71.62	9.81±	-694	0.491
	Behçet	29	73.39	10.12±		
CD95+ (EŞ)	Kontrol	32	3.78	0.52±	1.111	0.271
	Behçet	29	3.62	0.59±		
CD4+ CD95+ (%)	Kontrol	32	67.87	15.92±	-1.815	0.069
	Behçet	29	74.32	10.37±		
CD4+ CD95+ (EŞ)	Kontrol	32	4.59	0.67±	0.813	0.496
	Behçet	29	4.44	0.72±		
CD8+ CD95+(%)	Kontrol	32	93.58	13.64	0.686	0.496
	Behçet	29	91.46	9.92±		
CD8+ CD95+ (EŞ)	Kontrol	32	3.92	0.60±	1.070	0.289
	Behçet	29	3.75	0.66±		
***Bcl-2*(%)**	Kontrol	32	96.72	5.09±	-2.903	0.005
	Behçet	29	99.55	1.32±		
***Bcl-2* (EŞ)**	Kontrol	32	3.01	0.92±	-1.930	0.058
	Behçet	29	3.39	0.59±		

EŞ: Ekspresyon şiddeti

*: Bazı hastaların aktif ve inaktif dönemlerinde kanlar alındığından bunlara ait birden fazla veri görülmektedir. Dolayısı ile 21 hastanın toplam 29 kan örneğinde çalışma yapılmıştır.

Olguların 5'i hiçbir ilaç almamakta idi. Bu olgular ile ilaç alan olgular arasında kan sayımı ve akım sitometrik parametreleri bakımından fark yoktu. (hepsi için $p>0.05$). Olguların 23'ü test anında kolşisin almakta idi. Kolşisin alan ve almayan gruplar arasında da gerek kan sayımı gerekse de akım sitometrik parametreler bakımından aralarında fark saptanmamıştır (hepsi için $p>0.05$).

TARTIŞMA

Behçet Hastalığı (BH) etyolojisi henüz bilinmeyen, ülkemizde oldukça sık görülen kronik inflamatuar bir hastalıktır. Patogenezinde hücresel ve hümoral immünite çeşitli düzeyde sorumlu tutulmuştur. Malignansi ve otoimmün hastalıklar başta olmak üzere bir çok hastalığın patogenezinde rolü olduğuna inanılan apoptozis sürecinde çeşitli defektlerin olduğu Behçet Hastalığı patogenezisinde de ileri sürülmüştür (61-64). Bu çalışmada proapoptotik ve antiapoptotik moleküllerin Behçetli olguların periferik lenfositlerdeki ekspresyonuna bakılarak sağlıklı olgular ile karşılaştırılmıştır.

Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında periferik kanda ortalama lökosit sayısı Behçet olgularında anlamlı olarak daha yüksek iken (t: -2.651 p: 0.010) ortalama lenfosit sayısı Behçet olgularında anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır (t:2.765; p:0.008). Lökositozu olan 7 hasta yüksek doz kortikosteroid almakta idi. Bu nedenle lökosit sayısı daha yüksek saptanmıştır. Yine Nötrofil oranı ise Behçet olgularında anlamlı olarak daha yüksekti (t:-3.185 ;p:0.002). Bu, kortikosteroidlere bağlı nötrofili nedeni ile olabilir. Nötrofillerin Behçet Hastalığı patogenezindeki rolü ile ilgili çelişkili yayınlar mevcuttur (29-32**)**. Behçetli olguların birçok lezyonunda erken dönemde yoğun nötrofil infiltrasyonu saptanır (3). Mege ve ark. (29), Behçet Hastalarının nötrofillerinde aktivasyon ve aşırı süperoksit üretimi saptamışlardır. Bizim çalışmamızda nötrofillerin lezyonlardaki infiltrasyonu ya da nötrofil aktivitesi ölçülmemiştir. Sayısal olarak nötrofillerin arttığı saptanmıştır. Kawakami ve ark. (65) aktif Behçet olgularında granülosit koloni stimüle edici faktör düzeyinin yükselmiş olduğunu saptamışlardır. Nötrofil sayısındaki yükselmenin diğer bir nedeni bu sitokinin BH patogenezindeki etkileri sonucu olabilir.

Akut faz yanıtı olarak değerlendirilen platelet sayısı Behçet olgularında anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur**.** Ancak olguların hepsinde trombosit sayıları normal sınırlarda idi.

Behçet Hastaları ile sağlıklı kontrollerin ortalama CD4+, CD8+, CD95+, CD4+CD95+ ve CD8+CD95+ hücre oranları ve bu markerlerin ekspresyon şiddetleri bakımından aralarında fark saptanmamıştır (hepsi için $p>0.05$). Aktif ve inaktif Behçet olgularında da bu oranlar değişmiyordu. Dolayısı ile Behçet Hastalarında lenfositlerin sayısından ziyade aktivitesinin değişmesi hastalık oluşumunda ya da aktivitesinde rol almaktadır. Valesini ve ark. (66) Behçet Hastalarında CD8 oranının arttığı ve CD4/CD8 oranının düştüğünü saptamışlardır. Ancak, bu çalışmada T hücre alt grupları daha primitif bir yöntem olan e-rozet aracılığı ile bakılmıştır. Bizim çalışmamızda daha güvenli bir yöntem olan akım sitometri kullanılarak CD4 ve CD8 antijenlerinin ekspresyonlarına bakılarak alt tip ayrımı yapılmıştır. Direskeneli ve ark. (34) Behçet olgularında oligoklonal T hücre aktivasyonu; CD4+ ve CD8+ hücrelerin T hücre reseptörüne göre ayırt edilen bazı alt tiplerinde artış saptamışlardır. Bizim çalışmamızda alt tip tayini yapılmamıştır, ancak sayısal olarak CD4+ ve CD8+ hücreler sağlıklı kontrollerden farklı bulunmamıştır

Öte yandan immünolojik hastalıklarda CD4 ve CD8'in sayısından ziyade aktivitesi ve ürettikleri sitokin profili daha anlamlıdır. Th hücrelerin ürettikleri sitokin profiline göre hastalıklar Th1 ya da Th2 sitokin paterninde olabilirler (67). Behçet hastalığında, naive T hücrelerin Th1'e doğru polarizasyonunu indükleyen ve antijen takdim eden hücrelerden salgılanan IL-12 düzeyi ve Th1 kökenli sitokinler daha yüksek saptanır (68). IL-12 son zamanlarda önem kazanmaya başlayan bir sitokindir. Ana özelliklerinden biride T hücre reseptörü ve *Fas* uyarılması aracılığı ile gerçekleşen apoptozisi engellemesidir (43). Bizim araştırmamızda *Fas* ekspresyonu sağlıklı gruplardan farklı bulunmamıştır. Bu da Behçet hastalığında artmış IL-12 aktivitesinin sonucu ile açıklanabilir.

Proapoptotik bir molekül olan CD95 ekspresyon oranı ve şiddeti BH'da kontrollere göre farklı saptanmamıştır. Yine Aktif ve inaktif BH' da da bu oranlar değişmiyordu. Yani BH olgularında aktif olsun ya da olmasın, *Fas* ekspresyonunda değişiklik saptanmamıştır. Behçet Hastalığı lezyonlarında ve çevresel kan hücrelerinde apoptozis çalışılmıştır. Nakamura ve ark. (4) aktif üveoretinitli Behçet olgularının CD4+ T hücrelerinde *Fas* antijeni ekspresyonunda inaktif olgulara ve sağlıklı kontrollere göre farklılık olmadığını ancak CD8+ T hücrelerinde ise anlamlı olarak daha fazla oranda *Fas* antijeni ekspresse edildiğini saptanmıştır. Sonuçta aktif CD4+ T hücrelerinde yetersiz *Fas* ekspresyonun BH patogenezinde rol alabileceğini iddia etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da CD4+ hücrelerdeki *Fas* ekspresyonu sağlıklı ve kontrollerden farklı bulunmamıştır. Ancak CD8+ hücrelerde de

benzer şekilde *Fas* ekspresyonunda artış saptanmamıştır. Aktif göz tutulumu olan sadece bir olgumuz olduğundan istatiksel değerlendirme yapılamamıştır. Bariş ve ark.(68) ise Behçetli olguların dermal lenfositlerinde *Fas* ekspresyonunun olmadığını saptamışlar ve herhangi bir antijenik uyarı neticesinde oluşan immün aktivasyonun, *Fas* ekspresyonun yetersizliği dolayısı ile apoptoziste defekt neticesinde uzamış olabileceğini iddia etmişlerdir. Bahsedilen çalışmada olguların hepsi aktif deri lezyonu olan olgular olup biyopsi buralardan alınmıştır. Periferik lenfositlerde CD95 ve *Bcl-2* çalışmamışlardır. Bizim çalışmamızda Barış ve arkadaşlarının deri lenfositlerinde bulduklarına paralel olarak periferik lenfositlerde *Bcl-2* ekspresyon oranı artarken *Fas* ekspresyonu değişmemiştir. Bu bulgu da Behçet hastalarında artmış *Bcl-2* ekspresyonu ve muhtemelen yetersiz *Fas* ekspresyonu neticesinde apoptozis mekanizmasındaki defekt sonucunda süreğen inflamasyon oluşabileceğini desteklemektedir. Hamzaoui ve ark (6) ise aktif T lenfositlerde ve lezyonlu bölgelerde *Bcl-2* ekspresyonunda artış saptamışlardır.

Gerek yetersiz *Fas* ekspresyonu gerekse *Bcl-2* ekspresyonunda artış Behçet hastalığındaki inflamasyonun sürekliliğinde rol alabilir.

Sigara içen (11 olgu) ve içmeyen olgular ele alındığında akım sitometrik parametreler bakımında aralarında anlamlı fark olmadığı (hepsi için $p>0.05$) ancak periferik kanda lenfosit oranının sigara içen Behçetlilerde anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır (sırası ile % 20.2 ±9.0 ve % 27.4± 9.3)(U: 43.500; p:0.043). Genel popülasyonda sigara içenlerde lenfosit oranları sağlıklı kontrollere göre daha yüksek bildirilir (69). Öte yandan sigarayı bırakan Behçetlilerde hastalığın aktifleştiği bilinmektedir (44). Sigara Behçetli olgularda, altta yatan genetik ve immünolojik özelliklerden dolayı genel popülasyonun aksine, lenfosit sayısı üzerinde düşürücü etki yapıyor olabilir. Ancak sigara içen 11 olgumuz olduğundan daha geniş sayıda olguda bu durumun tekrarlanmasında yarar vardır.

Behçetli olguların 13'ünün aktif dönemlerinde toplam 18 kan örneği alınmıştır. Aktif olguların kan sayımı ve akım sitometrik ölçüm sonuçları inaktif dönem olgular ile karşılaştırdığında aralarında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$). Ancak gerek *Fas* gerek *Bcl-2*'nin lezyonlardaki ekspresyonları aktivite ile değişebilir ve periferik kandaki lenfositlerdeki yansıması yetersiz olabilir. Dolayısı ile dokulardaki *Fas* ve *Bcl-2* ekspresyonlara bakılması daha anlamlı olabilir. Nitekim Bariş ve ark.(68) Behçetli olguların dermal lenfositlerinde *Fas* ekspresyonunun olmadığını; Hamzaoui ve ark (6) ise aktif T lenfositlerde ve lezyonlu bölgelerde *Bcl-2* ekspresyonunda artış saptamışlarıdır. Bu bulgular Behçet hastalarında antiapoptotik mekanizmalarda artış ve proapoptotik mekanizmalarda ise baskılanma neticesinde süreğen inflamasyon oluşabileceğini desteklemektedir

Olguların 5'i hiçbir ilaç almamakta idi. Bu olgular ile ilaç alan olgular arasında kan sayımı ve akım sitometrik parametreleri bakımından fark yoktu. (hepsi için $p>0.05$). Olguların 23'ü test anında kolşisin almakta idi. Kolşisin alan ve almayan gruplar arasında da gerek kan sayımı gerekse de akım sitometrik parametreler bakımından aralarında fark saptanmamıştır (hepsi için $p>0.05$).

Bcl-2 antiapoptotik bir molekül olup başlıca mitokondri iç zarında yerleşiktir **(**2). Aynı zamanda protoonkogen olan bu molekülün ana görevi çeşitli mekanizmalarla apoptozisin engellenmesidir. Bu molekülün antiapoptotik özelliği başlıca mitokondri işlevlerinin devamının sağlanması yolu ile gerçekleşmektedir. Mitokondri aktivasyonu, apoptozisin başlatılması için anahtar basamak olarak kabul edilir. Bu yüzden proapoptotik mekanizmaların uyarılması yolu ile mitokondrilerin aktive edilmesi bazı hastalıkların tedavisinde işe yarayabilir. Mitokondri aktivasyonu ya da inhibisyonu, başlıca *Bcl-2* ailesinin proapoptotik ve antiapoptotik üyeleri arasındaki dengeye bağlıdır. Bu molekül nonHodgkin Lenfoma gibi bazı malignansilerde oldukça yoğun olarak eksprese edilmektedir. *Bcl-2*'yi hedef alan, nükleaza dirençli antisense oligonükleotidler, *Bcl*-2 ekspresyonunda azalmaya ve apoptoziste artışa yol açarak tümör tedavisinde işe yaramaktadır (70). Yine ABT737 maddesi *Bcl-2'* nin bağlanmasında yarışmalı inhibitör görevi görür ve *Bcl-2* 'ye bağımlı bazı hematolojik malignansilerin tedavisinde bu inhibisyon işe yarayabilir (63,71). Benzer olarak Behçet Hastalığının tedavisinde *Bcl-2* blokajına yönelik tedaviler, klasik tedavilere yanıtsız olgularda yarar sağlayabilir. *Fas* molekülünün uyarılması sonucu aktifleşen ve apoptozis ilişkili genlerin uyarılmasını sağlayan caspaze ailesine yönelik girişimler de çeşitli hastalıkların tedavisinde yararlı olabilir ancak bu, *Bcl-2* kadar çalışılmış bir konu değildir (72).

SONUÇLAR

1) Behçet Hastalarının periferik lenfositlerinde *Fas* ekspresyonu sağlıklı kontrollerden farklı saptanmamıştır.

2) *Bcl-2* ekspresyon oranı ise sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır.

3) Bu veriler Behçet Hastalığında antiapoptotik uyarılarda artış ve buna karşılık proapoptotik mekanizmalarda yetersiz yanıt sebebi ile herhangi bir nedenle başlamış olan inflamasyonun devamının sağlandığını düşündürmektedir.

4) Proapoptotik moleküllerin ya da antiapoptotik moleküllerin uyarılmasına yönelik girişimler, klasik tedavilere yanıtsız Behçet Hastalarında yararlı olabilir.

BEHÇET HASTALIĞINDA APOPTOZİS

Elif YOLERİ

ÖZET

Apoptozis programlanmış hücre ölümü olup normal immün sistemin düzeninde ve bir çok hastalığın patogenezinde önemli işlevleri vardır. Bu çalışmada Behçet Hastalarının periferik lenfositlerinde proapoptotik bir molekül olan CD95 ve antiapoptotik bir molekül olan *Bcl-2* ekspresyonu araştırılarak apoptotik mekanizmaların Behçet Hastalığındaki rolü araştırılmıştır.

Uluslararası Behçet Çalışma Grubu Kriterlerine uygun olarak tanısı konmuş 21 Behçet Hastası ve 32 sağlıklı kontrol çalışmaya alındı. 21 olgunun 6'sında aktif ve inaktif dönemlerinde kanlar alındığından toplam 29 örnek üzerinde çalışma yapılmıştır Hastaların detaylı klinik muayeneleri yapılarak mevcut klinik bulgular kaydedildi. Oral aft, genital ülser, eritema nodozum, artrit, göz, tromboz, nörolojik tutulum ya da gastrointestinal tutulumdan bir ya da bir kaçının bir arada olması durumunda hasta aktif kabul edildi.

Hasta ve kontrol grubundan EDTA'lı tüplere kan alınarak tam kan sayımı ve çok renkli akım sitometrisi ile periferik kan lenfositler üzerindeki CD4, CD8 ve CD 95 pozitifliği oranı ve bu markerlerin ekspresyon şiddetleri ayrı ayrı tespit edildi. Ayrıca intrasitoplazmik olarak periferik kan lenfositlerinin *Bcl-2* pozitiflik oranı ve ekspresyon şiddeti belirlendi.

Behçet Hastaları ile sağlıklı kontrollerin ortalama CD4+, CD8+, CD95+, CD4+CD95+ ve CD8+CD95+ hücre oranları ve markerlerin ekspresyon şiddetleri bakımından aralarında fark saptanmadı ($p>0.05$). Behçet Hastalarının *Bcl-2*+ lenfosit oranı sağlıklı kontrollere göre

anlamlı olarak daha yüksek saptandı ($p<0.05$). Ancak *Bcl-2* ekspresyon şiddeti bakımından aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Bu veriler Behçet Hastalığında proapoptotik moleküllerin yetersiz eksprese edildiğini ancak antiapoptotik moleküllerin ekspresyonunda artış nedeni ile proapoptotik ve antiapoptotik mekanizmalar arasında dengesizlik sebebi ile herhangi bir nedenle başlamış olan inflamasyonun devamının sağlandığını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Behçet Hastalığı, Apoptozis, *Fas* antijeni, *Bcl-2* geni

APOPTOSIS IN BEHCET'S DISEASE

Elif YOLERİ

SUMMARY

Apoptosis is meaning of programmed cell death that has many role on normal immune system and pathogenesis of several disease. Here in we studied expression of *Fas* which is a proapoptotic molecule and *Bcl-2* an antiapoptotic molecule on peripheral lymphocytes of patients with Behçet's Disease and discuss it's role on pathogenesis of Behçet's Disease.

Twenty-one patients with Behcet's Disease in according to Internaional Study Group's cirteria and 32 healthy controls were included to the study. In patient group, the study performed totally on 29 blood specimen, because of blood specimens were taken during active and inactive periods of 6 patients. After the detailed physical examination of the contributors, clinical characteristics of the patients were recorded. Patients were accepted as active in the presencese of any of the oral aphtous ulcer, genital ulcer, erythema nodosum, ostiofolliculitis, active eye disease, active arthritis, thrombophlebitis, arterial aneurisyms and neurological or gastrointestial involvement. Blood were withdrawn into EDTA contained tubes and whole blood cell analysis and expression ratio and expression indensity of the CD4, CD8 CD95 molecules on the peripheral blood lymphocytes by colored flowcytometric analysis. Intracytoplasmic *Bcl-2* expression rate and expression indensity were also determined by colored flowcytometric analysis.

Mean ratio of the CD4+, CD8+, CD95+, CD4+CD95+ and CD8+CD95+ peripheral T lymphocytes and mean floerosein indencity of such markers of the patients and healthy

controls were not significant (p>0.05). But *Bcl-2* expression rate of the patients with Behcet's Disease was found significantly higher than healthy controls(p:<0.05).

We concluded that disturbed balance between proapoptotic and antiapoptotic mechanisms may play role in the pathogenesis of the Behcet's disease.

Key Words: Behcet's Disease, apoptosis, *Fas* antigen, *Bcl-2* gene

KAYNAKLAR

1. Lehner T, Barnes CG. Criteria for diagnosis of Behcet's Syndrome. In Behcet's Syndrome. Lehner T, Barnes CG. Eds. London: Academic Press, 1979:1-9.

2. Behcet H. Uber rezidivierende aphtosa, durch ein Virus verusachte Geschwüre am Mund, am Auge und an den Genitalien. Dermatol Wochenschr, 1937;105:1152-57.

3. Direskeneli H. Behçet Disease: İnfectious aetiology, new autoantigens and HLA-B51. Ann Rheum Dis 2001;60:996-1002.

4. Nakamura S, Sugita M, Matoba H, Tanaka S, Isoda F, Ohno S. Insufficient expression of Fas antigen on helper T cells in Behcet's disease. Br J Ophthalmol 1996;80:174-6.

5. Yang P, Chen L, Zhou H, Zhong H, Wang H, Huang X, Kijlstra A.Resistance of lymphocytes to Fas-mediated apoptosis in Behcet's disease and Vogt-Koyangi-Harada syndrome. Ocul Immunol Inflamm. 2002;10:47-52.

6. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Zakraoui L, Chabbou A. Expression of Bcl-2 in inflammatory sites from patients with active Behcet's disease. Mediators Inflamm. 1999;8:101-6.

7. Yurdakul S, Gunaydin I, Tuzun Y, Tankurt N, Pazarli H, Ozyazgan Y, Yazici H. The prevalance of Behcet's Syndrome in a rural area of Northern Turkey. J Rheumatol, 1988; 15:820-22.

8. Nakae K, Masaki F, Hashimoto T, Inaba G, Mochizuk M, Sakane T. Recent epidemiological faetures of Behcet's disease in Japan. In proceedings of the 6th International Conference on Behcet's Disease. Amsterdam: Elsevier, 1993:145-51.

9. Chamberlain MA. Behcet Syndrome in 32 patients in Yorkshire. Ann Rheum Dis, 1977;36:491-99.

10. O' Duffy JD. Summary of international symposium on Behcet's Disease. J Rheumatol, 1977;5:229-33.

11. Zouboulis CC, Kötter I,Djawwari D, etal. Epidemiological features of Adamantiades-Behcet's disease in Germany and in Europa. Yonsei Med J, 1997;38:411-22.

12. Yazıcı H, Tüzün Y, Pazarlı H, Yurdakul S, Özyazgan Y, Özdoğan H, Serdaroğlu S, Ersanlı M, Ülkü BY, Müftüoğlu A. 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: 783-89.

13. Sezer N. The isolation of a virus as the cause of Behcet's disease. Am J Ophtalmol, 1957; 80: 636.

14. Denman AM, Fialkow PJ, Pelton BK, Salo Armi C, Appleford DJ, Gilchrist C. Lymphocyte abnormalities in Behcet's syndrome. Clin Exp Immunol, 1980; 42:175.

15. Yazıcı H. Behcet's syndrome: a personal view. Clin Exp Rheumatol, 1987;5: 1-3.

16. 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; ii:1356.

17. Narikawa S, Suzuki Y, Takahashi M, Furukawa A, Sakane T, Mizushima Y. Streptococcus oralis previously identified as uncommon 'Streptococcus sanguis' in Behcet's disease. Arch Oral Biol, 1995; 40: 685-90.

18. Yokota K, Hayashi S, Fujii N, Yoshikawa K, Kotake S, Isogai E, Ohno S, Araki Y, Oguma K. Antibody response to oral streptococci in Behcet's disease. Microbiol Immunol, 1992; 36: 815-22.

19. Yoshikawa K, Kotake S, Sasamoto Y, Ohno S, Matsuda HTI. Close association of Streptococcus sanguis and Behcet's disease. Nippon Ganka Gakkai Zasshi, 1991; 95: 1261-67.

20. Al-Waiz MM, Sharquie KE, A-Qaissi MH, Hayani RK.Colchicine and benzathine penicillin in the treatment of Behcet disease: a case comparative study. Dermatol Online J. 2005 December 1;11(3):3.

21. Zouboulis CC. Epidemiology of Adamantiades-Behcet's disease. Ann Med Interne (Paris).1999;150(6):488-98.

22. Ohno S, Oghuchi M, Hirose S Matsuda H, Wakisaka A, Aizawa M. Close Association of HLA Bw51 with Behcet's Disease. Arh Ophtalmol, 1982; 100:1455-58.

23. Yazıcı H, Akokan G, Yalçın B, Müftüoğlu A. The high prevalence of HLA-B5 in Behcet's disease. Clin Exp Immunol, 1977; 30: 259 -61.

24. Yazıcı H, Chamberlain MA, Schreuder I, D'Amaro J, Müftüoğlu M. HLA Antigens in Behcet's Disease: a reapprasial by a comperative study of Turkish and British patients. Ann Rheum Dis, 1980;39:344-48.

25. Arber N, Klein T, Meiner Z, Pras E, Weinberger A. Close association of HLA B51 ve 52 in Israel patients with Behcet's Syndrome. Ann Rheum Dis, 1991; 50:351-53.

26. Mizuki N,Inoko H,Ando H, et al. Behcet Disease associated one of the HLA B 51 subantigens, HLA B 5101. Am J Opthalmol, 1993; 116:406-09.

27. Fresko I, Soy M, Hamuryudan V, Yurdakul S, Turner Z, Yazıcı H. Genetic anticipatipation in Behcet Syndrome. Ann Rheum Dis, 1998;57:45-48.

28. Lehner T, Batchelor JR. Classification and an immunogenetic basis of Behcet's syndrome. Behcet's Syndrome. In: Lehner T, Barnes CG Eds. London: Academic Press, 1979: 13-32.

29. Mege JL, Dilsen N, Sanguedolce V, Gul A, Bongrand P, Roux H, et al. Overproduction of monocyte derived tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, IL-8 and increased neutrophil superoxide generation in Behçet's disease. A comparative study with familial Mediterranean fever and healthy subjects. J Rheumatol 1993;20:1544–9.

30. Eksioglu-Demiralp E, Direskeneli H, Kibaroglu A, Yavuz S, Ergun T, Akoglu T. Neutrophil activation in Behçet's disease. Clin Exp Rheumatol 2001;19 (5 Suppl 24):19-24.

31. 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 Behçet's disease. J Rheumatol 1997;24:1332–6.

32. Özgün S, Akoglu T, Direskeneli H, Sen LS, Lawrence R. Neutrophil adhesion to endothelial cells and factors affecting adhesion in patients with Behçet's disease. Ann Rheum Dis 1996;55:128–33.

33. Takeno M, Kariyone A, Yamashita N, Takiguchi M, Mizushima Y, Kaneoka H, et al. Excessive function of peripheral blood neutrophils from patients with Behçet's disease and from HLA-B51 transgenic mice. Arthritis Rheum 1995;38:426–33.

34. Direskeneli H, Eksioglu-Demiralp E, Kibaroglu A, Yavuz S, Ergun T, Akoglu T. Oligoclonal T cell expansions in patients with Behçet's disease. Clin Exp Immunol 1999; 117:166–70.

35. Poulter LW, Lehner T. Immunohistology of oral lesions from patients with recurrent oral ulcers and Behcet's syndrome. Clin Exp Immunol 1989;78:189–95.

36. Gul A, Esin S, Dilsen N, Konic¸e M, Wigzell H, Biberfeld P. Immunohistology of skin pathergy reaction in Behc¸et's disease. Br J Dermatol 1995;132:901–7.

37. Ergun T, Gurbuz O, Harvell J, Jorizzo J, White W. The histopathology of pathergy: a chronological study of skin hyperreactivity in Behcet's disease. Int J Dermatol 1998;37:929-33.

38. Eksioğlu-Demiralp E, Direskeneli H, Ergun T, Fresko I, Akoğlu T. Increased CD4+CD16+ and CD4+CD56+ T Cell Subsets in Behcet's disease.Rheum Int 1999;19:22-3.

39. Nicholson LB, Kuchroo VK.Manipulation of the Th1/Th2 balance in autoimmune disease. Curr Opin Immunol 1996;8(6):837-42.

40. Rogge L, Barberis-Maino L, Biffi M, Passini N, Presky DH, Gubler U, Sinigaglia F. Selective expression of an interleukin-12 receptor component by human T helper 1 cells. J Exp Med1997;185(5):825-31.

41. Choi P, Reiser H.IL-4: role in disease and regulation of production. Clin Exp Immunol. 1998;113(3):317-9.

42. Arayssi T, Hamdan A. New insights into the pathogenesis and therapy of Behcet's disease. Currin Opin Pharmacol 2004;4(2):183-8.

43. Estaquier J, Idziorek T, Zou W, Emilie D, Farber CM, Bourez JM, Ameisen JC. T helper type 1/T helper type 2 cytokines and T cell death: preventive effect of interleukin 12 on activation-induced and CD95 (FAS/APO-1)- mediated apoptosis of CD4+ T cells from human immunodeficiency virus-infected persons. J Exp Med. 1995;182(6):1759-67.

44. Soy M, Erken E, Konca K, Özbek S. Smoking and Behcet's disease. Clin Rheumatol, 2000;19:508-09.

45. Yazıcı H, Tüzün Y, Pazarlı H, Yurdakul S, Yalçın B, Müftüoğlu A. Behcet's Disease as seen in Turkey. Haematologica, 1980; 65:381-83.

46. Koc Y, Gullu I, Akpek G, Akpolat T, Kansu E, Kiraz S, Batman F, Kansu T, Balkanci F, Akkaya S. Vasculer involvement in Behcet's Disease. J Rheumatol, 1992;19:402-10.

47. Sakane T, Takeno M, Suzuki N, Inaba G. Behcet's Disease. N Eng J Med, 1999; 21:1284-91.

48. Yazıcı H, Tüzün Y, Pazarlı H, Yurdakul S, Özyazgan Y, Özdoğan H, Serdaroğlu S, Ersanlı M, Ülkü BY, Müftüoğlu A. 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: 783-89.

49. Dilşen N, Koniçe M, Övül C. Arthritic patterns in Behcet's disease. In: Behcet's disease. Dilşen N, Koniçe M, Övül C Eds.. Amsterdam, Excerpta Medica, 1979:145-55.

50. Koc Y, Gullu I, Akpek G, Akpolat T, Kansu E, Kiraz S, Batman F, Kansu T, Balkanci F, Akkaya S. Vasculer involvement in Behcet's Disease. J Rheumatol, 1992;19:402-10.

51. Gül A, Aslantaş AB, Tekinay T, Konice M, Özcelik T. Procoagulant mutations and venous thrombosis in Behcet's disease. Rheumatology (Oxford), 1999;38:1298-99.

52. Soy M, Tanrıverdi K, Koçak R, Özbek S, Erken E. Factor V Leiden Mutation in Behcet's Disease. Ann Med Sci, 2000;9:22-3.

53. Toydemir PB, Elhan AH, Tukun A, Toydem R, Gürler A, Tüzüner A, Bökesoy I. Effects of factor V gene G1691A, methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T, and prothombin gene G20210A mutations on deep venous thrombogenesis in Behcet's disease. J Rheumatol, 2000;27:2849-54.

54. Serdaroğlu P, Yazıcı H, Özdemir C. Neurologic involvement in Behcet's syndrome. A prospective study. Arch Neurol, 1989; 46:265-69.

55. Yurdakul S, Tüzüner N, Yurdakul İ, Hamuryudan V, Yazıcı H. Gastrointestinal involvement in Behcet's Syndrome: a controlled study. Ann Rheum Dis, 1996;55:208-10.

56. Hamuryudan V, Yurdakul S, Kural AR, İnce U, Yazıcı H. Diffuse proliferative glomerulonephritis in Behcet's syndrome. Br J Rheumatol, 1991;30: 63-4.

57. Yurdakul S, Tüzüner N, Yurdakul I, Hamuryudan V, Yazıcı H. Amyloidosis in Behcet's syndrome. Arthritis Rheum, 1990; 33: 1586-9.

58. Müftüoğlu A, Yazıcı H, Yurdakul S, Tüzün Y, Pazarlı H, Güngen G, Deniz Ş. Relation of serum C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rates to disease activity. International Journal of Dermatology, 1986; 25: 235 - 39.

59. International study group for Behcet's Disease. Criteria for diagnosis of Behcet's Disease. Lancet, 1990; 335:1078-80.

60. Yazıcı H, Yurdakul S, Hamuryudan V. The management of Behcet's syndrome: how are we doing? Clin Exp Rheumatol, 1999;17:145-47.

61. Medzhitov R, Janeway CA: An ancient system of host defense. Curr Opin Immunol 1998; 10:12-15.

62. Thornberry NA, Lazebnik Y: Caspases-enemies within. Science 1998; 281:1312-16.

63. Letai A. BCL-2: found bound and drugged!. Trends in Molecular Medicine 2005;11:442-44.

64. Senturk N, Yildiz L, Sullu Y, Kandemir B, Turanli AY. Expression of Bcl-2 protein in active skin lesions of Behcet's disease. Int J Dermatol. 2001; 40(12):747-50.

65. Kawakami T, Ohashi S, Kawa Y, Takahama H, Ito M, Soma Y, Mizoguchi M. Elevated serum granulocyte colony-stimulating factor levels in patients with active phase of sweet syndrome and patients with active Behcet disease: implication in neutrophil apoptosis dysfunction. Arch Dermatol 2004;140(5):570-74.

66. Valesini G, Pivetti-Pezzi P, Mastrandrea F, Moncada A, Cuomo M, Natali PG. Evaluation of T cell subsets in Behcet's syndrome using anti-T cell monoclonal antibodies. Clin Exp Immunol. 1985; 60(1):55-60.

67. Romagnani P, Annunziato F, Piccinni MP, Maggi E, Romagnani S. Th1/Th2 cells, their associated molecules and role in pathophysiology. Eur Cytokine Netw. 2000;11(3):510-1.

68. Frassanito MA, Dammacco R, Cafforio P, Dammacco F.Th1 polarization of the immune response in Behcet's disease: a putative pathogenetic role of interleukin-12. Arthritis Rheum. 1999;42(9):1967-74.

69. Baris YS, Yildiz L, Senturk N, Kandemir B. Fas (CD95) and Bcl-2 expression in active skin lesions of Behcet's disease. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2005;19(5):569-72.

70. Silverman NA, Potvin C, Alexander JC Jr, Chretien PB.In vitro lymphocyte reactivity and T-cell levels in chronic cigarette smokers. Clin Exp Immunol. 1975; 22(2):285-92.

71. Waters JS, Webb A, Cunningham D, Clarke PA, Raynaud F, di Stefano F, Cotter FE. Phase I clinical and pharmacokinetic study of Bcl-2 antisense oligonucleotide therapy in patients with non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol. 2000 May;18(9):1812-23.

72. Fleischer A, Ghadiri A, Dessauge F, Duhamel M, Rebollo MP, Alvarez-Franco F, Rebollo A. Modulating apoptosis as a target for effective therapy. Mol Immunol. 2006; 43(8):1065-79.

RESİMLEMELER LİSTESİ

Tablolar

Tablo 1. Uluslar arası Behçet Tanı Kriterleri…….8
Tablo 2. Hasta ve kontrol gurubunun demografik bilgileri……..17
Tablo 3. Behçet Hastalarının klinik özellikleri…….18
Tablo 4. Behçet Hastaları ve sağlıklı kontrollerin tam kan sayımı verileri……..19
Tablo 5. Behçet Hastaları ve sağlıklı kontrollerin tam kan sayımı dağılımları…….20
Tablo 6. Behçet Hastaları ve sağlıklı kontrollerin akım sitometri verileri……21
Tablo 7. Behçet Hastaları ve sağlıklı kontrollerin akım sitometri dağılımları……..22

Şekiller

Şekil 1. Behçet Hastalığının patogenezi……5
Şekil 2. Apoptozis süreci…….....11
Şekil 3. Akım sitometri cihazında lenfosit kapısının alınması…….14
Şekil 4. Örnek bir hastaya ait CD4 CD95, CD8 CD95 ve *bcl-2* histogramları……14

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı: Elif YOLERİ

Ünvanı : Biyolog

Doğum yeri ve Tarihi: Kırklareli / 04.04.1965

Adres: Fatih Mah. Batı Trakya Yapı Koop. E Blok D.8 EDİRNE

Eğitim ve Öğretim

İstanbul Tıp Fak. Sağlık Lisesi Laboratuvar Bölümü ; 1983

T.Ü. Sağlık Hizmetleri MYO. Tıbbi Laboratuvar Bölümü; 1986

T.Ü. Fen-Edebiyat Biyoloji Bölümü;1995

Çalıştığı Kurumlar

İstanbul Üniv.Tıp Fak.Hast. Patoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı;1983-84

T.Ü. Tıp Fak. Hast. Hematoloji Laboratuvarı; 1985-93

T.Ü. Tıp Fak. Hast. Acil Hematoloji; 1993-96

T.Ü. Tıp Fak. Hast. Kan Merkezi;1996-2005

Kongre bildirisi

F.N. Turan, N. Turan, Ö. Vural, E. Yoleri, A. Özlü. Trakya Üniversitesi Kan Merkezinin 1998 yılı çalışmalarının Değerlendirilmesi I. İstatistik Kongresi, 5-9 Mayıs 1999- Antalya.

M. Çıkrıkçıoğlu, E. Yoleri, M.G. Saygın, H. Sunar, T. Ege, S. Canbaz, E. Duran. Açık Kalp Cerrahisi sonrası otolog kan transfüzyonu için alternatif bir teknik.Uluslararası Kan Transfüzyon Birliği VIII Avrupa Kongresi,2003-İstanbul.

EKLER

Ek-1: Etik kurul onayı

T.C
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKULTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı : 13 Karar Tarihi : 28.08.2003

8- Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 28.08.2003 tarihinde "Behçet Hastalığında Apoptozis" adlı **TÜTFEK-2003/141** protokol no.lu Biyolog Elif YOLERİ'nin tez çalışmasını incelemek üzere toplandı. Toplantıya Yrd.Doç.Dr.Ümit Nusret BAŞARAN ve Yrd.Doç.Dr.Şemsi ALTANER izinli olmaları nedeniyle katılmadı.Diğer üyelerin katılımıyla çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonucunda çalışmanın Fakültemiz İç Hastalıkları Anabilim Dalı ile Romatoloji ve Hematoloji Bilim Dallarında yapılacağı ve sorumlusunun Doç.Dr.Mehmet SOY olduğu; araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler ile gönüllü bilgilendirme metni dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Helsinki Deklerasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliğine ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve yapılabileceğine mevcudun oybirliği ile karar verildi.

Prof.Dr.Ahmet ULUGÖL
BAŞKAN
(Farmakolog)

Prof.Dr.Ahmet TEZEL	**Yrd.Doç.Dr.Ümit N. BAŞARAN**	**Yrd.Doç.Dr.Sevgi ESKİOCAK**
Klinisyen Üye	**Klinisyen Üye**	**Üye**
İç Hastalıkları Uzmanı	**Çocuk Cerrahisi Uzmanı**	**Biyokimya Uzmanı**
	İZİNLİ	

Yrd.Doç.Dr.Şemsi ALTANER	**Yrd.Doç.Dr.Cengiz TUĞLU**	**Ecz.Aslı Sera YEŞİLOĞLU**
Üye	**Klinisyen Üye**	**Üye**
Patalog	**Psikiyatri Uzmanı**	**Eczacı**
İZİNLİ		

Posta Adresi :
Trakya Üversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
Güllapoğlu Yerleşkesi
22030 EDİRNE

Tel (0-284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0-284)2357652

Ek-2: Bilgilendirilmiş olur formu

EK-2

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı BEHÇET HASTALIĞINDA APOPTOZİS 'dir.

Bu araştırmada, ömürlerini tamamlamış normal hücrelerin yok edilme yolu olarak bilinen apoptozis mekanizmasının Behçet Hastalarında sağlıklı işleyip işlemediği araştırılacaktır.

Bu araştırmada size rutinde uygulanan kan alma, sistemik muayene ve eklem muayenesi dışında herhangi bir işlem yapılmayacaktır.

Bu çalışmaya 20 Behçet Hastası ile 30 sağlıklı gönüllü dahil edilecektir

Bu araştırma ile ilgili olarak siz sadece, var ise ,mevcut tedavinizi sürdüreceksiniz, sizden sadece yaklaşık 10 cc kan alınacaktır, hastalık alevlendiğinde tekrar test edilmek üzere kliniğimize başvurmak dışında başka herhangi bir risk ya da yükümlülüğünüz yoktur.

Bu araştırma sonucunda elde edilecek veriler hastalığın daha iyi anlaşılmasını sağlayacak ve tedavisi konusunda ek yararlar sağlayabilecektir.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için 0284 2360620 nolu telefondan Doç Dr Mehmet Soy'u arayabilirsiniz

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır; ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Fonu tarafından finanse edilmektedir

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırıcı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırıcı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilecektir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz (tedavinin gizli olması durumunda, gönüllüye kendine ait tıbbi bilgilere ancak verilerin analizinden sonra ulaşabileceği bildirilmelidir).

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırıcıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında,bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,
Adı-Soyadı:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,
Adı-Soyadı:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,
Adı-Soyadı:
Görevi:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,
Adı-Soyadı:
Görevi:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

* Bu örnek form araştırıcılara fikir vermek için formda bulunması gereken asgari bilgiler verilerek hazırlanmıştır, gerektiğinde eklemeler yapılmalıdır. İstendiğinde Etik Kurul sekreterliğinden ya da Tıp Fakültesi web sayfasından temin edilerek ve üzerinde gerekli düzenlemeler yapılmak suretiyle kullanılabilir (ör. bu paragraf, metindeki noktalı kısımlar ve parantezler çıkarılmalı ve uygun şekilde düzenlenmelidir). Gönüllünün beyan ve imzası, bilgilendirme metninin devamı şeklinde olmalıdır; **kesinlikle ayrı sayfalarda olmamalıdır**. Konuyla ilgili olarak T.Ü. Tıp Fakültesi Etik Kurul yönergesi okunmalıdır.