



Behçet Hastalığı ile İnterlökin-4 gen (VNTR) Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Investigation of the Relationship Between Behçet's Disease and Interleukin-4gene (VNTR) Polymorphism

Ayça KOCAAĞA¹ , Güneş ÇAKMAK GENÇ¹ , Sevim KARAKAŞ ÇELİK¹ , Emel HAZİNEDAR² , Ahmet DURSUN¹ 

¹ Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

² Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

ORCID ID: Ayça Kocaağa 0000-0003-0434-8445, Güneş Çakmak Genç 0000-0001-7222-0377, Sevim Karakaş Çelik 0000-0003-0505-7850, Emel Hazinedar 0000-0003-3327-0747, Ahmet Dursun 0000-0002-7625-837X

Bu makaleye yapılacak atf: Kocaağa A, Çakmak Genç G, Karakaş Çelik S, Hazinedar E, Dursun A. Behçet Hastalığı ile İnterlökin-4 Gen (VNTR) Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması. 2021;5(1):27-32.

Sorumlu Yazar

Ayça Kocaağa

E-posta

dr.aycacecikmakas@hotmail.com

Geliş Tarihi

03.07.2020

Revizyon Tarihi

24.08.2020

Kabul Tarihi

14.09.2020

ÖZ

Amaç: Behçet hastalığı (BH); mukokutanöz bulguların ön planda olduğu deri, göz, eklemler, gastrointestinal ve merkezi sinir sisteminin çeşitli inflamatuvar lezyonları ile karakterize sistemik bir vaskülitir. Sitokinlerin BH patogeneğinde önemli rolleri olduğu ve sitokin üretiminin genetik polimorfizmlerden etkilenebileceği bilindiğinden bu çalışmada IL-4gen (değişken sayılı ardışık tekrarlar-VNTR) polimorfizmi ile BH arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmaya 'Uluslararası Behçet Hastalığı Çalışma Grubu' tanı kriterlerine göre tanı almış 74 Behçet hastası ve 100 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. IL-4 geni VNTR (rs79071878) polimorfizmi spesifik primerler kullanılarak PZR-RFLP (polimeraz zincir reaksiyonu sınırlama fragman uzunluğu polimorfizmi) yöntemi ile genotiplenmiştir. Behçet hastaları ve kontrol grupları IL-4 gen VNTR polimorfizmi açısından genotip ve alel dağılımlarına göre analiz edilmiştir. Ayrıca hastalar bazı klinik bulgularına göre genotip ve alel dağılımlarına göre karşılaştırılmıştır.

Bulgular: IL-4 geni VNTR (rs79071878) polimorfizmi genotip ve alel dağılımları açısından Behçet hastaları ve sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (sırasıyla p=0.332 ve p=0.445). Hastalar bazı klinik özelliklerine göre gruplandırıldığında da IL-4 geni VNTR polimorfizmi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Gastrointestinal sistem (GİS) tutulumu olan hastalarda P2P2 genotip frekansının GİS tutulumu olmayan hastalara göre daha yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (%90,0 ve %68,8; p=0.052).

Sonuç: Bulgularımız IL-4 geni VNTR polimorfizminin BH gelişimi ve klinik bulguları ile ilişkili olmadığını göstermiştir. Behçet hastalığı ve IL-4 geni ile ilgili sınırlı araştırmalar olması nedeniyle bu çalışma literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır.

Anahtar Sözcükler: Behçet hastalığı, IL-4 geni, Polimeraz zincir reaksiyonu, Polimorfizm, Değişken sayılı ardışık tekrarlar

ABSTRACT

Aim: Behçet's disease (BD); is a systemic vasculitis characterized by various inflammatory lesions of the mucocutaneous, skin, eyes, joints, gastrointestinal and central nervous system.



Since cytokines were known to play an important role in the pathogenesis of the BD and cytokine production might be affected by gene polymorphisms, this study was aimed to investigate the relationship between IL-4 gene (variable number tandem repeats-VNTR) polymorphism and pathogenesis of BD.

Material and Methods: This study included 74 Behçet patients diagnosed according to the 'International Behçet's Disease Study Group' criteria and 100 healthy controls. Genomic DNA was isolated from peripheral venous blood. IL-4 gene VNTR polymorphism was genotyped by the PCR-RFLP (polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism) method using specific primers. Behçet's patients and control groups were analyzed for IL-4 gene VNTR (variable number tandem repeats-) polymorphism according to their genotype and allele distributions. In addition, with regard to some clinical findings, patients were compared according to their genotype and allele distribution.

Results: The distribution of genotype and allele frequencies were not statistically different between BD patients and healthy controls ($p>0.05$). When we examined genotype and allele frequencies of IL-4 gene VNTR polymorphism according to some clinical characteristics, we did not observe a statistically significant association between the BD patients. It was found that the P2P2 genotype frequency was higher in patients with positive gastrointestinal system (GIS) involvement compared to GIS negative patients, but this difference was not statistically significant (90.0% vs 68.8%; $p = 0.052$).

Conclusion: Our findings showed that IL-4 gene VNTR polymorphism was not related to the development and clinical manifestations of BD. The present study is expected to make an important contribution to the literature since there are limited researches on BD and IL-4 gene.

Key Words: Behçet's disease, IL-4 gene, Polymerase chain reaction, Polymorphism, Variable number of tandem repeats

GİRİŞ

Behçet hastalığı (BH); tekrarlayan ataklar halinde seyreden ve mukokutanöz lezyonlarla karakterize, oküler, vasküler, gastrointestinal, kas-iskelet sistemi ve merkezi sinir sistemi tutulumu gösterebilen sistemik otoinflamatuvar bir hastalıktır (1). Hastalık tüm dünyada görülmekte olup Japonya, Orta Doğu ve Akdeniz ülkelerinde daha yaygındır. Türkiye'de BH prevalansı 80-420/100.000 olup Türkiye en yüksek prevalansa sahip ülkedir (2). BH, kadın ve erkeklerde eşit olarak görülmekte ve özellikle 20-40 yaş arası bireyleri etkilemektedir (3). BH etiyojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte immün disregülasyonun patogeneizde etkili olduğu düşünülmektedir(4).BH immünopatogeneizde Th1/Th2 oranının T helper 1 lenfositleri lehine arttığı ve Th1 tipi sitokin düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Th1 ve Th2 lenfosit komponentleri arasında dengesizlik yaratabilecek çeşitli genetik değişikliklerin inflamatuvar reaksiyonları ve hastalık aktivitesini etkilediği düşünülmektedir (5). Th1 lenfositleri başlıca interlökin (IL)-2, interferon (IFN) γ , tümör nekrozis faktör (TNF)ve Th2 lenfositleri ise IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 olmak üzere çeşitli sitokinleri sentezlemektedir (6-7). IL-4 sitokini makrofaj, B-hücresi ve T-hücresi kemotaksisi, endotelial hücre adezyon moleküllerinin oluşumu ve hematopoez fonksiyonunda görev almaktadır. IL-4 ayrıca Th0 lenfositlerinin Th1 yönüne değişimini baskımlarken Th2 yönüne farklılaşmasına katkıdabulunmaktadır (8-9). IL-4'ü kodlayan gen 5q31.1 kromozomu üzerinde yer almaktadır. Genin 3. intronunda *IL-4* geninin ekspresyonunu değiştirebilecek bir 70 bp VNTR (rs79071878) varyantı tanımlanmıştır. *IL-4* geni (VNTR) polimorfizminde P1 aleli (iki tekrar), P2 aleli (üç tekrar) ve P3 aleli (dört tekrar) olmak üzere üç alel bildirilmiştir. P1 aleli, P2 alelinden daha sık; P3 ise az sayıda popülasyonda ve en nadir alel olarak gözlenmektedir. Bu

70bp VNTR polimorfizminin genin ekspresyon seviyesini değiştirdiği ve P1 alelinin P2 aleli ile karşılaştırıldığında IL-4 ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (10). Daha önce yapılan çalışmalarda *IL-4* geni (VNTR) polimorfizminin Graves hastalığı, subakut sklerozan panensefalit, osteoartrit, idiyo-patik trombositopenik purpura vebirçok kanser türü olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkisi araştırılmıştır(11-16). *IL-4* gen (VNTR) polimorfizmine bağlı olarak IL-4 ekspresyonunun değişmesi bu gen polimorfizminin BH duyarlılığını etkileyebileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle çalışmamızda patogeneizde Th1 ve Th2 sitokin dengelerinin önemi göz önüne alınarak Behçet hastalarında *IL-4*(VNTR) polimorfizminin BH patogenezine ve klinik bulgularına olası etkisinin araştırılması amaçlandı.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Hasta ve Kontrol

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları polikliniğine başvuran ve "Uluslararası Behçet Çalışma Grubu tanı kriterleri"ne göre Behçet hastalığı tanısı konulan yaşları 15-72 arasında değişen 43 kadın ve 31 erkek olmak üzere toplam 74 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak ise yaşları 17-70 arasında değişen Behçet hastalığı veya herhangi bir kronik inflamatuvar hastalığı olmadığı bilinen sağlıklı 55'i kadın, 45'i erkek üzere toplam 100 kişi çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm çalışma grubuna araştırmanın amacı ve içeriği ile ilgili bilgilendirme yapıp onam formu okutulup imzalatılmış ve çalışmanın etik kurul onayı Bülent Ecevit Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Protokol tarih ve no: 24/06/2020 ve 2020/13-04).Behçet hastaları ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

IL-4geni VNTR (rs79071878) polimorfizminin genotiplendirilmesi

Hasta ve kontrollerden tam kan tûpüne alınan 2 cc venöz kandan E.Z.N.A® Blood DNA İzolasyon Kiti kullanılarak kit protokolüne uygun şekilde DNA izolasyonu yapılmıştır. *IL-4* geninin 3. intronundaki 70 bazlık VNTR polimorfizmini saptamak için ilgili gen bölgesi; 5'-AGGCTGAAAGGGGA-AAGC-3' (F) ve 5'-CTGTTACCTCAACTGC TCC-3' (R) primer çifti kullanılarak çoğaltılmıştır. Toplam 25 µL hacim içinde her primerden 10 pmol, 10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3), 50 mmol/L KCl, 2.0 mmol/L MgCl₂ (Bioron, cat. no:103001), her bir dNTP'den 0.2 mmol/µL, 4 unit Taq DNA polimeraz (cat no:101005) ve 5 µL DNA eklenerek amplifikasyon gerçekleştirilmiştir. PCR programı; 3 dakikalık ilk denatürasyondan sonra 35 döngü; 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 58°C'de 30 saniye bağlanma ve 72°C'de 1 dakika uzama ısısı olacak şekilde ayarlanmıştır. Ürünler %3'lük agaroz jel kullanılarak görüntülenip 83 baz çifti boyunda görülen bant P1 ve 253 baz çifti boyunda görülen bant P2 olarak genotiplenmiştir.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 19.0 paket programında değerlendirilmiş olup grupların cinsiyet, genotip ve allel frekanslarının karşılaştırılmasında ki-kare ve Fisher's Exact testleri kullanılmıştır. Odds oranı ile %95 güven aralığının hesaplanmasında ise binary lojistik regresyon analizi kullanılmıştır. Gruplar arasındaki yaş ortalamalarının karşılaştırılmasında ise gruplar normal dağılım göstermediğinden parametrik olmayan Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. $p \leq 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya 74 Behçet tanılı hasta (31 erkek, 43 kadın; ortalama yaş: $35,98 \pm 10,362$) ve 100 sağlıklı kontrol (45 erkek, 55 kadın; ortalama yaş $39,67 \pm 13,081$) dahil edilmiştir. İki grup arasında cinsiyet dağılımı ($p=0.563$) ve ortalama yaşlar ($p=0.053$) bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. *IL-4* geni VNTR (rs79071878) polimorfizmi genotip ve allel dağılımları açısından incelendiğinde Behçet hastaları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (sırasıyla $p=0.332$; $p=0.445$, Tablo 2). Hasta ve kontroller arasında hem dominant hem de resesif modeller kullanılarak da istatistiksel analizler yapılmış olup dominant modelde P2P2 için homozigot bireyler; P2P1 ve P1P1 taşıyan bireyler ile karşılaştırılmış resesif modelde ise P1P1 genotipi için homozigot bireyler; P2P2 ve P2P1 genotipi taşıyan bireyler ile karşılaştırılmıştır. Ancak gruplar dominant ve resesif modellere göre karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (sırasıyla $p=0.528$; $p=0.880$, Tablo 3). Behçet hastalığının major tanı kriterlerini oluşturan oral aft, genital ülser dışındaki bulgulara göre hastalar; bulguları taşıyanlar (pozitif) ve taşımayanlar (negatif) olmak üzere iki gruba ayrılıp istatistiksel analizler yapıldığında da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 4). Ancak GİS tutulumu olan hastalarda P2P2 genotipinin GİS tutulumu olmayan hastalara oranla daha yüksek olduğu görülmüş ancak istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p=0.052$, Tablo 4). Hasta grupları arasında allel dağılımları açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.310$, Tablo 5).

Tablo 1. Behçet hasta ve kontrol grubu özellikleri.

Klinik özellikler	Behçet hastaları (n=74,%)	Kontrol (n=100,%)
Kadın	43 (%58)	55 (%55)
Erkek	31 (%42)	45 (%45)
Yaş medyan (min-maks)	35 (15-72)	39 (17-70)
Oral Aft	72 (%97,2)	-
Genital Ülser	67 (%90,5)	-
Eklemler Tutulumu	41 (%55,4)	-
Paterji Pozitifliği	38 (%51,3)	-
Oküler Lezyon	19 (%25,6)	-
GİS Tutulumu	10 (%13,5)	-
SSS Tutulumu	3 (%4,05)	-
Superfisiyal Tromboflebit	9 (%12,1)	-

Tablo 2. Behçet hastaları ve kontrollerde IL-4 VNTR (rs79071878) polimorfizminin genotip ve alel dağılımları.

SNP	Genotip	Kontrol n=100	Behçet hastaları n=74	p-değeri	Odds Oranı (%95 Güven aralığı)
IL-4	P2P2	77 (%77)	53 (%71,6)	0.332	Referans
	P1P2	23 (%23)	20 (%27,0)		1,263 (0,773-2,063)
	P1P1	0 (%0)	1 (%1,4)		N/A
SNP	Alel	Kontrol n=100	Behçet hastaları n=74	p-değeri	OR (%95 CI)
IL-4	P2	177 (%88,5)	126 (%85,1)	0.445	7,696 (0,465-127,269)
	P1	23 (%11,5)	22 (%14,9)		

N/A: Odds Oranı Hesaplanamadı.

Tablo 3. Behçet hastaları ve kontrollerde IL-4 VNTR (rs79071878) polimorfizminin Dominant ve Resesif modellere göre genotip dağılımları.

SNP	Genotip	Kontrol n=100	Behçet hastaları n=74	p-değeri Dominant model
IL-4	P2P2	77 (%77,0)	53 (%71,6)	p=0.528
	P1P2+P1P1	23 (%23,0)	21 (%28,4)	
	Genotip	Kontrol n=100	Behçet hastaları n=74	Resesif model
	P2P2+P1P2	100 (%100)	73 (%98,6)	p=0.880
	P1P1	0 (%0)	1 (%1,4)	

TARTIŞMA

Behçet hastalığının etiyolojisi henüz kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik yatkınlığın ve immün yanıt düzensizliğinin patogeneze kritik faktörler olduğu düşünülmektedir. Önceki çalışmalar immün sistemde rol oynayan çeşitli sitokin, kemokin ve reseptörlerin BH patogenezinde önemli rol oynadığını göstermiştir(17). Behçet hastalarında IL-4 geni VNTR (rs79071878) polimorfizminin hastalık patogenezinde olası rolü araştırılmak istendiğinde; çalışmamızda gruplar arasında genotip ve alel dağılımları açısından anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir. Buna ek olarak Behçet hastaları bazı klinik bulgular açısından karşılaştırıldığında da genotip ve alel dağılımları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. GİS tutulumu olan hastalarda olmayan hastalara kıyasla P2P2 genotipinin daha fazla olduğu görülmekle birlikte bu fark istatistiksel açıdan bir anlam yakalayamamıştır (%90,0 vs %68,8; p=0.052).

Çeşitli hastalıklar ile IL-4 geni (VNTR) polimorfizmi ilişkisi araştırılmış ve birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Genevay ve ark. yaptıkları çalışmada IL-4 geni (VNTR) polimorfizminin romatoid artrit ile ilişkili olmadığını bildirmiştir (18). Türkiye’de primer dismenore hastaları ve kontroller arasında yapılmış bir çalışmada IL-4 geni (VNTR) polimorfizminde genotip ve alel dağılımları bakımından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (19). Yakın zamanda yapılmış bir başka çalışmada IL-4 geni (VNTR) polimorfizmi ile meme kanseri arasında anlamlı bir ilişki olmadığı gösterilmiştir (20). Bunlara ek olarak sistemik lupus eritematozus hastaları ile yapılmış bir çalışmada da IL-4 geni (VNTR) polimorfizmi açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir (21). Bu çalışmaların yanı sıra bazı çalışmalarda da IL-4 geni (VNTR) polimorfizminin çeşitli hastalıkların patogenezinde rolü olduğu ile ilgili çalışmalarda mevcuttur. Malezya popülasyonunda yapılan bir çalışmada IL-4 VNTR polimorfizminde P2P2 genotipinin son dönem, böbrek yetmezliği ile ilişkili olduğu gösterilirken. Tunuslu Hashimoto tiroiditli hastalarda ise P2P2 genotip frekansının kont-

Tablo 4. Klinik özellikler bakımından hastalar arasında IL-4 VNTR (rs79071878) polimorfizminin genotip dağılımları.

Klinik Bulgular	Pozitif Behçet hastaları n (%)			Negatif Behçet hastaları n (%)			p-değeri
	Genotip	P2P2	P2P1	P1P1	P2P2	P2P1	
Paterji Pozitifliği	60 (78,9)	14 (18,4)	2 (2,6)	46 (63,9)	26 (36,1)	0 (0)	0.121
Eklem Tutulumu	56 (68,3)	26 (31,7)	0 (0)	50 (75,8)	14 (21,2)	2 (3,0)	0.582
Oküler Lezyon	30 (78,9)	8 (21,1)	0 (0)	76 (69,1)	32 (29,1)	2 (1,8)	0.203
GİS Tutulumu	18 (90,0)	2 (10,0)	0 (0)	88 (68,8)	38 (29,7)	2 (1,6)	0.052
SSS Tutulumu	2 (33,3)	4 (66,7)	0 (0)	104 (73,2)	36 (25,4)	2 (1,4)	0.058
Superfisiyal Tromboflebit	14 (77,8)	4 (22,2)	0 (0)	92 (70,8)	36 (27,7)	2 (1,5)	0.486

Tablo 5. Klinik özellikler bakımından hastalar arasında IL-4 VNTR (rs79071878) polimorfizminin alel dağılımları.

Klinik Bulgular	Pozitif Behçet hastaları n (%)		Negatif Behçet hastaları n (%)		p-değeri
	Alel	P2	P1	P2	
Paterji Pozitifliği	67 (88,2)	9 (11,8)	59 (81,9)	13 (18,1)	0.406
Eklem Tutulumu	69 (84,1)	13 (15,9)	57 (86,4)	9 (13,6)	0.885
Oküler Lezyon	34 (89,5)	4 (10,5)	92 (83,6)	18 (16,4)	0.442
GİS Tutulumu	19 (95,0)	1 (5,0)	107 (83,6)	21 (16,4)	0.310
SSS Tutulumu	4 (66,7)	2 (33,3)	122 (85,9)	20 (14,1)	0.218
Superfisiyal Tromboflebit	16 (88,9)	2 (11,1)	110 (84,6)	20 (15,4)	1.000

rol grubuna göre daha düşük olduğu ve hastalığa yatkınlıkta koruyucu bir faktör olabileceği bildirilmiştir (11, 22). Bununla birlikte Ailesel Akdeniz ateşi (FMF) tanılı hastalar ile *IL-4* geni VNTR polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada ise hasta ve kontrol grubu arasında genotip ve dağılımları yönünden anlamlı bir fark olduğu bildirilmiştir (23). Türkiye’de Behçet hastalarında yapılmış bir çalışmada ise P2P2 genotipinin derin ven trombozu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (24). Hasta grubumuzda ise GİS tutulumu pozitif hastalarda negatif hastalara kıyasla P2P2 genotipinin daha yüksek olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p=0.052$). Çalışmamızda GİS tutulumu pozitif hastaların örneklem büyüklüğünün sınırlı olması göz önüne alındığında daha büyük hasta gruplarında ileri çalışmalar yapılması *IL-4* geni (VNTR) polimorfizmi ile hastalığın klinik bulguları arasındaki ilişkiyi ortaya koyabilecektir. Çeşitli Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS) farklı gen mutasyonlarının BH etiolojisinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermiştir. Behçet hastalığı ve *IL-4* geni ile ilgili sınırlı araştırmaların olması nedeniyle bu çalışma literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır.

Teşekkür

Çalışmada yer almayı kabul eden tüm Behçet hastaları ve kontrol grubuna teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek

Hiçbir kurum veya firmadan finansal destek alınmamıştır.

Etik Kurul Onayı

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Etik Kurulundan etik onay alındı (Protokol tarih ve numarası: 24/06/2020 ve 2020/13-04).

Yazar Katkısı

Makalenin planlanması, makalenin yazımı ve dizaynı, laboratuvar çalışmalarının yapılması ve son gözden geçirme: **Ayça Kocağa**, Makalenin planlanması, makalenin yazımı ve dizaynı, verilerin yorumlanması, eleştirel gözden geçirme ve son gözden geçirme: **Güneş Çakmak Genç**, Makalenin planlanması, makalenin yazımı ve dizaynı, istatistiksel analizlerin yapılması, verilerin yorumlanması, eleştirel gözden geçirme ve son gözden geçirme: **Sevim Karakaş Çelik**, Hasta ve kontrol gruplarının sağlanması, verilerin yorumlanması ve son gözden geçirme: **Emel Hazinedar**, Makalenin planlanması, eleştirel gözden geçirme ve son değerlendirme: **Ahmet Dursun**

KAYNAKLAR

1. Takeuchi M, Kastner DL, Remmers EF. The immunogenetics of Behcet's disease: A comprehensive review. *J Autoimmun* 2015; 64: 137-148.
2. Azizlerli G, Kose AA, Sarica R, Gul A, Tutkun IT, Kulaç M, Tunc R, Urgancioglu M, Dişçi R. Prevalence of Behcet's disease in Istanbul Turkey. *Int J Dermatol* 2003; 42: 803-806.
3. Gül A. Behçet's disease as an autoinflammatory disorder. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4(1): 81-83.
4. Dilek K, Ozcimen AA, Saricaoglu H et al. Cytokine gene polymorphisms in Behcet's disease and their association with clinical and laboratory findings. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27: 73-78.
5. Park H, Li Z, Yang XO et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 2005; 6: 1133-1141.
6. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR et al. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005; 6: 1123-1132.
7. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F, Bessioud M, Hamza M, Ayed K. Cytokine profile in Behcet's disease patients. Relationship with disease activity. *Scand J Rheumatol* 2002; 31:205-210.
8. Kubo M, Yamashita M, Abe R et al. CD28 costimulation accelerates IL-4 receptor sensitivity and IL-4-mediated Th2 differentiation. *J Immunol* 1999; 163: 2432-2442.
9. Ozçimen AA, Dilek K, Bingöl U, et al. IL-1 cluster gene polymorphisms in Turkish patients with Behçet's disease. *Int J Immunogenet* 2011; 38(4): 295-301.
10. Pérez-Suárez TG, Gutiérrez-Robledo LM, Ávila-Funes JA, Acosta JL, EscamillaTilch M, Padilla-Gutiérrez JR, et al. VNTR polymorphisms of the IL-4 and IL-1RN genes and their relationship with frailty syndrome in Mexican communitydwelling elderly. *Aging Clin Exp Res* 2016; 28: 823-832.
11. Zaaber I, Mestiri S, Hammedi H, et al. Association of Interleukin-1B and Interleukin-4 gene variants with autoimmune thyroid diseases in tunisian population. *Immunol Invest* 2016; 45(4): 284-297.
12. Inoue T, Kira R, Nakao F, et al. Contribution of the interleukin 4 gene to susceptibility to subacute sclerosing panencephalitis. *Arch Neurol* 2002; 59(5): 822-827.
13. Vargiolu M, Silvestri T, Bonora E, et al. Interleukin-4/interleukin-4 receptor gene polymorphisms in hand osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18(6): 810-816.
14. Wu KH, Peng CT, Li TC, et al. Interleukin 4, interleukin 6 and interleukin 10 polymorphisms in children with acute and chronic immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2005; 128(6): 849-852.
15. Rong H, He X, Wang L, He Y, Kang L, Jin T. Associations between polymorphisms in the IL-4 gene and renal cell carcinoma in Chinese Han population. *Oncotarget* 2017; 8(47): 82078-82084.
16. Wang Y, Li H, Wang X, Gao F, Yu L, Chen X. Association between four SNPs in IL-4 and the risk of gastric cancer in a Chinese population. *Int J Mol Epidemiol Genet* 2017; 8(4): 45-52.
17. Sadeghi A, Davatchi F, Shahram F, et al. Serum profiles of cytokines in Behcet's disease. *J Clin Med* 2017; 6(5): 49.
18. Genevay S, Di Giovine FS, Perneger TV, et al. Association of interleukin-4 and interleukin-1B gene variants with Larsen score progression in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 47(3): 303-309.
19. Ozsoy AZ, Cakmak B, Nacar MC, Cetin A, Demirturk F, Dogru YH, Karakus N, Yigit S. MTHFR and IL-4 gene polymorphisms are not associated with primary dysmenorrhea in young adults. *International Journal of Human Genetics* 2015; 15(2): 73-79.
20. Al-Eitan LN, Rababa'h DM, Alghamdi MA, Khasawneh RH. The influence of an IL-4 variable number tandem repeat (VNTR) polymorphism on breast cancer susceptibility. *Pharmgenomics Pers Med* 2019; 12: 201-207.
21. Chua KH, Kee BP, Tan SY, Lian LH. Genetic polymorphisms of interleukin-4 third intron region in the malaysian patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of Medical Sciences* 2008; 8: 437-442.
22. Vasudevan R, Norhasniza MN, Patimah I. Association of variable number of tandem repeats polymorphism in the IL-4 gene with end-stage renal disease in Malaysian patients. *Genet Mol Res* 2011;10(2): 943-947.
23. Nursal AF, Tekcan A, Kaya SU, Sezer O, Yigit S. Interleukin-1Ra rs2234663 and Interleukin-4 rs79071878 polymorphisms in familial mediterranean fever. *Gene*. 2016; 582(2): 173-177.
24. Inanir A, Tural S, Yigit S, et al. Association of IL-4 gene VNTR variant with deep venous thrombosis in Behçet's disease and its effect on ocular involvement. *Mol Vis* 2013; 19: 675-683.