T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PSORİASİS VULGARİSLİ HASTALARDA SİTOTOKSİK T LENFOSİT ANTİJEN-4 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

HÜSEYİN OSMAN YILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Yrd.Doç.Dr. H. GÜL DURSUN

KONYA 2013

ÖNSÖZ

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren başta tez danışmanım Yrd.Doç.Dr.Hatice Gül DURSUN'a, tez süresince desteklerini esirgemeyen Tıbbi Biyoloji ABD başkanı Prof.Dr Sennur DEMİREL'e Yrd.Doç.Dr. Ayşegül ZAMANİ'ye, Yrd.Doç.Dr.A.Bülent TURHAN'a, Ögr.Grv.İlknur KARALEZLİ'ye vaka grubunun oluşmasında yardımlarını aldığım Yrd.Doç.Dr. Recep DURSUN'a tez aşamasında yardımını esirgemeyen sürekli motive eden yüksek lisans arkadaşım Ayfer DÜNDAR'a

Araştırma sırasında bizi destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne,

Eğitimim ve tez aşamamda bana desteklerini esirgemeyen annem, babam, ablalarım, yeğenim Evindar'a ve sevgili nişanlım Melek ÇELİK'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **Sayfa No**

TABLO VE ŞEKİL ÇİZELGESİ ..... **iv**

KISALTMALAR ..... **vii**

1.GİRİŞ **1**

1.1.PSORİAZİS 1

1.1.1. Tarihçe 2

1.1.2. Epidemiyoloji 2

1.1.3. Etiyoloji ve patogenez 3

1.1.3.1. T hücre aktivasyonu 4

1.1.3.2. Epidermal proliferasyon 6

1.1.4. Genetik 8

1.1.5. Tetikleyici faktörler 10

1.1.5.1 Fiziksel travma (Koebner fenomeni) 11

1.1.5.2. Stres 11

1.1.5.3 Enfeksiyonlar 11

1.1.5.4 Mevsimsel değişiklikler: 12

1.1.5.5 İlaçlar 12

1.1.6. Klinik 12

1.1.6.1. Psoriazis vulgaris 12

1.1.6.2. Atipik psoriazis tipleri 14

1.1.6.2.1 Psoriatik eritroderma 14

1.1.6.2.2 Püstüler psoriazis 14

1.1.6.2.3 Generalize Püstüler Psoriazis(Zumbusch tipi) 14

1.1.6.2.4 Lokalize püstüler psoriazis 15

1.1.6.2.5 Guttat psoriazis 15

1.1.6.2.6 Palmoplantar psoriazis 14

1.1.6.2.7 Psoriatik artrit 15

1.1.6.2.8 İnvers psoriazis 16

1.1.6.2.9 Foliküler psoriazis 16

1.1.6.2.10 Saçlı deri psoriazisi 16

1.1.6.2.11 Tırnak psoriazisi 16

1.1.7.Tedavi 16
1.1.7.1. Topikal Tedaviler 17
1.1.7.2. Fototerapi 18
1.1.7.3. Sistemik Tedavi 18
1.1.7.4. Biyolojik Tedaviler 19
1.1.7.4.1. Alefasept 19
1.1.7.4.2. Efalizumab 20
1.1.7.4.3. Etanersept 20
1.1.7.4.4. İnfliksimab 20
1.2.OTOİMMÜNİTE VE SİTOTOKSİK T LENFOSiT ANTİJEN-4 (CTLA-4) 20
1.2.1. CTLA–4 'ün CD 28 ile yarışması 22
1.2.2. CTLA–4'ün inhibitör sinyal oluşturması 22
1.2.3.T regülatüvar hücrelerin aktivasyonu 23
1.2.4. İndolamin 2,3-dioksinejaz yolunun uyarılması 23
1.2.5. CTLA-4'ün hücre içi protein trafiğine olan etkisi 24
1.2.6. CTLA–4 İZOFORMLARI 24
1.2.7. CTLA–4 GEN POLİMORFİZMİ 25
2. MATERYAL VE METOD 28
2.1. Hasta ve Kontrol Olguları 28
2.2. Genotipleme 29
2.2.1. DNA İzolasyonu 28
2.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PZR) 30
2.2.3. RFLP (Parça Uzunluk Polimorfizmleri ve
Agaroz Jel Elektroforez 31
2.3. İstatistiksel Analiz 36
3. BULGULAR 37
4. TARTIŞMA 49
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 54
6.ÖZET 56
7.SUMMARY 57
8.KAYNAKLAR 58
9.ÖZGEÇMİŞ 64

TABLO VE ŞEKİL ÇİZELGESİ

Birinci Bölüm'ün çizelge ve şekilleri:

Çizelge 1.1. Psoriatik süreçte rol oynadığı düşünülen faktörlerden bazıları ve etkileri

Şekil 1.1. Psoriatik lezyonlardaki anahtar sitokin etkileşimleri

Şekil 1.2. Fıtık operasyonu sonrasında hastanın operasyon bölgesinde meydana gelen psoriatik lezyonların gözlenimi

Şekil 1.3. Psoriasis Vulgaris'in sırt bölgesi tipik karakterize lezyonları

Şekil 1.4. Psoriasis Vulgaris'in bacaklardaki tipik karakterize lezyonu

Şekil 1.5. Immünosüpresif ilaçların hücre siklusu fazlarına etkileri

Şekil 1.6. Th hücresinin aktivasyonu üzerine CD28'in uyarıcı ve CTLA-4'ün baskılayıcı etkileri

Şekil1.7. CTLA–4 'ün CD 28 ile yarışması

Şekil 1.8. CTLA–4'ün inhibitör sinyal oluşturması

Şekil 1.9. T regülatüvar hücrelerin aktivasyonu

Şekil 1.10. İndolamin 2,3-dioksinejaz yolunun uyarılması

Şekil 1.11. CTLA-4'ün hücre içi protein trafiğine olan etkisi

Şekil 1.12. Farklı CTLA-4 molekülleri

Şekil 1.13. CTLA-4 geni ile ilgili tanımlanan polimorfizmler

İkinci Bölüm'ün çizelge ve şekilleri:

Çizelge 2.1. Hedef bölgelerin çoğaltılması için kullanılan primerler ile PZR ürünleri

Çizelge 2.2. Kesim enzimleri, kesim reaksiyon koşulları ve kesim bölgeleri

Çizelge 2.3. Kesim sonrası genotiplerde gözlenen bant büyüklükleri

Şekil 2.1. -318C/T bölgesinin MseI enzimiyle kesimi.

Şekil 2.2. +49A>G bölgesinin Bbvl enzimiyle kesimi.

Şekil 2.3. CT60A>G bölgesinin Nco I enzimiyle kesimi.

Üçüncü Bölüm'ün çizelge ve şekilleri:

Çizelge 3.1. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet bakımından Pearson ki-kare testi ile karşılaştırılması

Şekil 3.1. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyete göre dağılımı

Çizelge 3.2. Hasta ve kontrol gruplarının yaş verilerinin Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması.

Çizelge 3.3. Hasta ve kontrol olgularında CTLA-4 promoter -318C>T bölgesinde gözlenen genotiplerin Pearson ki-kare testi ile karşılastırılması.

Şekil 3.2. Hasta ve kontrol olgularında -318C>T bölgesinde gözlenen genotiplerin kişi sayısına göre dağılımı.

Çizelge 3.4. Hasta ve kontrol olgularında CTLA-4 promoter -318C>T bölgesinde T allelini taşımak açısından Pearson ki-kare testi ile karşılastırılması.

Çizelge 3.5. -318C>T Polimorfizmi ve Psoriazis vulgaris risk analizi.

Çizelge 3.6. -318C/T bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,701).

Çizelge 3.7. -318C/T bölgesinde gözlenen alellerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,229).

Çizelge 3.8. -318C/T bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,681**).**

Çizelge 3.9. -318C/T bölgesinde gözlenen alellerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,001**).** Fisher kesin ki-kare

Çizelge 3.10. Hasta ve kontrol olgularında CTLA-4 ekzon I +49A>G bölgesinde G allelini taşımak açısından Pearson ki-kare testi ile karşılaştırılması.

Şekil 3.3. Hasta ve kontrol olgularında CTLA-4 ekzon I +49A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin kişi sayısına göre dağılımı.

Çizelge 3.11. Ekzon 1 +49A/G bölgesi için gözlenen allel frekanslarının hasta ve kontrol grubuna göre dağılımının Pearson ki-kare testi ile karşılaştırılması.

Çizelge 3.12**.** +49 A>G Polimorfizmi ve Psoriazis vulgaris risk analizi.

Çizelge 3.13. +49A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,725**).**

Çizelge 3.14. +49A/G bölgesinde gözlenen alellerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,434)

Çizelge 3.15. +49A/G bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,545**).**

Çizelge 3.16. +49A/G bölgesinde gözlenen alellerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,373**).**

Çizelge 3.17. Hasta ve kontrol olgularında ekzon 4 CT60A/G bölgesinde gözlenen genotiplerin Pearson ki-kare testi ile karşılaştırılması.

Şekil 3.4. Hasta ve kontrol olgularında CT60A/G bölgesinde gözlenen genotiplerin kişi sayısına göre dağılımı.

Çizelge 3.18. Ekzon 4 CT60A/G bölgesi için gözlenen allel frekanslarının hasta ve kontrol grubuna göre dağılımının Pearson ki-kare testi ile karşılaştırılması.

Çizelge 3.19. CT60A>G Polimorfizmi ve Psoriazis vulgaris risk analizi.

Çizelge 3.20. CT60A/G bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,080).

Çizelge 3.21. CT60A/G bölgesinde gözlenen alellerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,434**).**

Çizelge 3.22. CT60A/G bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,197).

Çizelge 3.23. CT60A/G bölgesinde gözlenen alellerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,136).

Çizelge 3.24. Mcnemar testi ile hasta grubunun bölge 2 –bölge 3 değişimi istatistiksel olarak anlamlı.

Çizelge 3.25. Mcnemar testi ile kontrol grubunun bölge 2 –bölge 3 değişimi istatistiksel olarak anlamlı.

Çizelge 3.26. +49A/G ve CT60A/G gölgelerinin hasta ve kontrol bireylerdeki genotipleri

KISALTMALAR

APC : Antijen sunan hücre (Antijen-Presenting Cell)

ACE: anjiotensin dönüştürücü enzim

ºC : Santigrad derece

CD : Cluster of differantiation

CD4 : Yardımcı T hücre (Helper T cell)

CD8 : Öldürücü T hücre (cytotoxic T cell)

CTLA-4 : Sitotoksik T lenfosit antijen 4 (Cytotoxic T lymphocyte Antigen associated-4)

CTLA-4 TM : Moleküler CTLA-4

DC : dendritik hücre

dH2O : Distile su

dk. : Dakika

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

dNTP : Deoksinukleotid trifosfatlar

DR3 : Death receptor 3(ölüm reseptörü)

EBV : Ebstein-Barr Virüsünün

EDTA : Etilen Diamin Tetraasetikasit

HLA : İnsan lökosit antijeni (Human Leucocyte Antigen)

HWE: Hardy Weinberg Eşitliği

Ig : İmmünglobülin

IL : İnterlökin

kb : Kilobaz

M : Marker

Mgcl2 : Magnezyum klorür

MHC : HLA

MIF : Makrofaj migrasyon inhibitör faktörü

ml : MiliLitre

mRNA : Haberci (messenger) RiboNükleik Asit

µl : Mikrolitre

PAŞİ: Psoriasis alan şiddet indeksi

PCR : Polimeraz Chain Reaksiyonu

PSORS: Psoriasisten sorumlu albileceği düşünülen gen

pmol : Pikomol

RFLP : Restriction Fragment Lenght Polymorphism

sCTLA-4 : Çözülebilir (soluble) CTLA-4

SALT: (deri ilişkili lenfoid doku)

sn : Saniye

SPSS : Statistical Package for the Social Sciences

TCR : T hücre reseptörü (T Cell Receptor)

Th: Yardımcı T hücresi

TNF- α: (tumor necrosis factor)-α

Treg : Regulatuvar(düzenleyici) T hücre

UV : Ultraviyole

UTR: Urokinaz

VEGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

1. GİRİŞ

Psoriazis deri, saçlı deri ve tırnakların kronik, inflamatuvar ve proliferatif bir hastalığıdır (Bilen 2005). Klinik olarak belirgin sınırlı, eritemli plak veya papüller üzerinde yerleşmiş parlak, sedefî-beyaz skuamlarla karakterizedir. Skuamların renginden dolayı halk arasında sedef hastalığı olarak da anılmaktadır (Aydemir 1994).

Etyolojisi üzerine çok çalışılmış bir hastalık olmasına rağmen günümüzde hâlâ nedeni bilinmeyen hastalıklar arasında yerini korumaktadır. Hastalığın patogenezi de tam olarak bilinmemektedir. Çalışmalar; otoimmünite, T hücre ilişkili keratinosit proliferasyonu, inflamatuvar değişiklikler ve dermal vaskülarite üzerine odaklanmaktadır (Ortonne 1999).

Psoriazis vulgaris hastalığının patogenezinde etkili olduğu düşünülen T hücrelerinin aktivasyonunun düzenlenmesinde Sitotoksik T Lenfosit Antijen–4(CTLA-4) molekülü önemli bir rol oynar ve yangı şartlarına uygun olarak T hücre cevabını sınırlandırabilir. CTLA-4'deki genetik çeşitliliğin birçok otoimmun hastalığın gelişmesinde rol oynayabileceğini gösteren çalışmalar vardır. CTLA-4 immün cevabın down-regülasyonunda rol oynayan bir T lenfosit yüzey molekülüdür ve bu molekülün sentezlendiği gen bölgesinin çeşitli polimorfizmleri farklı popülasyolarda tanımlanmıştır. Bu çalışmada CTLA-4 gen polimorfizmlerinin Türk popülasyonunda psoriazis vulgaris hastalığının patogenezindeki olası rolü ile hastalığın başlama yaşı ve şiddeti üzerne olan muhtemel etkileri araştırılmıştır.

1.1. PSORİAZİS

Psoriazis gelişiminde travma, infeksiyon, ilaç, stres gibi çeşitli tetikleyici faktörlerin rol aldığı poligenik bir hastalıktır. Karakteristik lezyonları keskin sınırları olan, üzeri gümüş beyazı skuamla kaplı eritemli plaklardır. Bu skuamlı kırmızı plaklar; histopatolojik olarak epidermiste hiperkeratoz, parakeratoz, akantoz ve dermiste genişlemiş ve kıvrımları artmış damarlar ile primer olarak lenfositlerden yoğun inflamatuvar infiltrasyonun yansımasıdır. Tarif edilen histolojik bulgular anormal epidermal proliferasyon, immun sistemin diferansiyasyon ve proliferasyonu şeklinde gelişen patogenezi yansıtır (Sabat ve ark 2007, Bolangnia ve ark 2008). Kadın ve erkekler eşit etkilenirler. Psoriazis vulgaris her yaşta görülebilir ve tekrarlayıcıdır. Hastaların %10'unda eklem tutulumu görülür (Bolongnia ve ark

2008). Bulaşıcı bir hastalık değildir ve iyileşirken deride iz bırakmaz (Sabat ve ark 2007).

1.1.1.Tarihçe

Psoriazis ile ilgili ilk tanımlamalar Hipokrat (M.Ö. 416-377) ve Celsus (M.Ö.25-M.S.45) tarafından yapılmıştır. Hipokrat, psoriazis olarak tanımlanabilecek durumlar için *psora* ve *lepra* terimlerini kullanmıştır. Daha sonra R. Willian (1757-1812), 1798'te lepra greacorum ve psora lepra adlarıyla iki ayrı durumu tanımlayarak lepra ve psoriazisi ayırmış ve psoriazisin klasik klinik betimlemesini yaparak ilk kez başlı başına ayrı bir hastalık olduğunu ortaya koymuştur. Ferdinand Von Hebra (1816-1880) ise 1841'de psoriazis'i günümüzde tanımlandığı şekilde ilk kez tarifleyen ve *psoriazis* sözcüğünü bu özel hastalığa veren ilk kişi olmuştur (Güneş ve Altıner 2007).

1.1.2. Epidemiyoloji

Psoriazis dünya popülasyonunun %2-3 kadarını etkileyen ve dünya genelinde görülen tüm deri hastalıklarının % 6-7'sini teşkil eden bir hastalıktır. Görülme sıklığı coğrafik, ırksal ve çevresel faktörlere göre değişiklik gösterir. Genellikle soğuk kuzey ülkelerinde ve beyaz ırkta tropikal bölgelere göre daha sık görülmektedir (Bilen 2005, Güneş ve Altıner 2007). Her iki cinste eşit oranda ve doğumdan itibaren her yaşta görülebilen hastalık, aile öyküsü olanlarda daha erken yaşlarda başlama eğilimindedir. Bununla beraber psoriazis başlanğıç yaşının 20-30'lu ve 50-60'lı yaşlarda iki kez pik yaptığı bilinmektedir. Hastaların yaklaşık %75'inde psoriazisin ilk ortaya çıkışı 40 yaşından öncedir. Kadınlarda baslangıç yaşı daha erken olmakla birlikte hastalığın seyri erkekler ile aynıdır. Epidemiyolojik çalışmalarda hastaların %39'unda remisyon süresinin 1-54 yıl arasında değiştiği belirtilmiştir (Van ve ark 2003, Bilen 2005). Kundakçı ve arkadaşları, Türk psoriazisli hastaların sosyodemografik ve klinik özelliklerini değerlendirdikleri araştırmalarında, psoriazisin dermatolojik hastalıkların %1,3'ünü oluşturduğunu göstermişlerdir. Bu oran Güney Amerika ve Almanya oranları ile benzer bulunmuştur. Aynı araştırmada hastaların %61'inin kadın, %39'unun erkek olduğu, kadınlarda hastalığın erken başlangıç yaşı oranının, erkeklerde ise aile öyküsünün daha fazla olduğu bildirilmiştir (Kundakçı ve ark 2002).

Tip 1 psoriazis erken yaşta başlamakta, ailesel öykü eşlik etmekte, yüksek oranda insan lökosit antijenleri (HLA) pozitifliği göstermekte, şiddetli alevlenme ve Koebner fenomeni pozitifliği ile seyretmektedir. Tip 2 psoriazis ise geç yaşlarda başlamakta, sporadik olarak gözlenmekte, HLA ile zayıf ilişki göstermekte ve daha hafif seyretmektedir. Hastalık kadınlarda ortalama 3,4 yaş daha erken başlama eğilimindedir (Tüzün ve ark 1994, Karaduman 2008, Christopher ve ark 1999).

1.1.3. Etiyoloji ve patogenez

Çok çalışılmış olmasına rağmen, hastalığın etyopatogenezi hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Hastalığın gelişiminde kalıtsal yatkınlığın rol oynadığı ve hayatın herhangi bir döneminde tetikleyici faktörlerin etkisiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir. Tetikleyici faktör her ne olursa olsun sonuçta deride hastalığın ortak temel özellikleri olan hiperpoliferasyon, inflamasyon ve vasküler değişiklikler meydana gelir. Hiperpoliferasyona bağlı olarak epidermal turnoverda normalden 8 kat kısalma, keratinosit farklılaşması ve epidermis bariyer fonksyonunda bozulma söz konusudur (Gülekonan ve ark 2008). Bununla birlikte keratinosit proliferasyonunun T lenfositler başta olmak üzere immün sistem aktivasyonuyla uyarıldığı düşünülmektedir (Türsen 2010). Dolayısıyla Psoriazis bugün için IMID (Immune Mediated Inflammattory Disease) olarak tanımlanmaktadır.

Psoriazis lezyonlarında T lenfositler (baskın olarak yardımcı T hücreler) ve Langerhans hücreleri artış gösterir. T lenfosit kaynaklı sitokinlerin (özellikle tumor nekrozis faktör alfa, interferon gamma), büyüme faktörlerinin, keratinositlerde bulunan HLA-DR moleküllerinin ve antijen sunan hücrelerin birbirleriyle olan etkileşimi sonucu psoriazis patogenezinin temel fenomeni olan inflamasyon meydana gelir. Başta Langerhans hücreleri olmak üzere antijen sunan hücreler T lenfositleri stimule eder. T lenfosit orjinli sitokinler nötrofilleri de içeren immün effektör hücrelerin inflamasyon alanına toplanmasına neden olur (Gülekonan ve ark 2008).

Psoriazis patogenezini anlamak için, derideki normal immünolojik süreci bilmek gerekmektedir. Deri vücudun en geniş organı olup, periferal lenf nodları ve dolaşımdaki immunkompetan T lenfositlerle ilişkiye geçebilecek yeterlilikte olduğu için ‘ilk seviye’ lenfoid organdır. SALT (deri ilişkili lenfoid doku) terimi; APC (antşjen sunan hücreler), sitokin sentezleyen keratinositler, epidermotropik T hücreler, dermal kapiller endotelyal hücreler ve drene olan lenf nodlarını topluca

kapsar. İmmun yanıta bu seviyede katılan diğer hücreler; mast hücreleri, doku makrofajları, granülositler, fibroblastlar ve non-langerhans APC (dendritik hücreler) olup bunların birbirleriyle etkileşimi farklı sitokin ve kimyasal medyatörlerin salınımına neden olur. Epidermal keratinositler bakteriyel ürünler, kimyasallar, ultraviyole, travma gibi değişik uyarılarla aktive olup sitokin salgılarlar. Sitokin sentezi, kontrollü bir süreçtir. Dengesizliği değişik seviyelerde patolojik durumlara yol açabilir. Fiziksel yada kimyasal travma veya enfeksiyon derideki hasarlı dokudan immun sisteme sinyal iletimini sağlar. Derideki hücrelerden TNF (tumor necrosis factor)-α salınımı, diğer sitokin ve kemokinlerin salınımını tetikler ve endotelden lökosit ekstravazasyonuna yol açar. Bu lökositlerin patojenik bakteri veya mantar öldürme, hasarlı dokuları onarma gibi efektör fonksiyonları vardır. Temelde meydana gelen tüm bu süreç doğal immunitenin vücut yüzeyinde enfeksiyonlara karşı koruma mekanizmasının bir formudur (Türsen 2010).

1.1.3.1. T hücre aktivasyonu

Psoriazis T hücre aracılı immün bir hastalıktır. Patogenezi, antijen sunucu hücreler tarafından yapılan T hücre aktivasyonu, keratinosit proliferasyonu ve diferansiasyonunu düzenleyen sitokin salgılanmasıyla ilişkilidir. Psoriatik lezyonlardaki artmış IL-2 ve IFN-γ ve azalmış IL-4 ekspresyonu nedeni ile hastalığın T-Helper tip 1 hücre sitokin paternine uyduğu düşünülmektedir. Aktive keratinositlerden salınan birçok farklı sitokin, keratinosit ve T lenfositlerin de içinde bulunduğu birçok hücre tipi üzerinde etkili olmaktadır. Bu sitokinler arasında; IL-1, IL-6 ve IL-8, IFN-γ ve TGF-β (transforme edici büyüme faktörü) bulunmaktadır (Ortonne 1999).

T hücreleri psoriazis lezyonlarının başlangıcı ve gelişiminde rol oynamaktadır.

Bu hücreler aracılığı ile gelişen fenotipik değişiklikler 3 aşamada ortaya çıkar.

1- T hücrelerinin aktivasyonu

2- T hücrelerinin deriye göçü

3- Derideki efektör T hücrelerinin sitokin salgılaması ve immünolojik kaskadın büyümesi.

T hücrelerinin aktivasyonu için öncelikle T hücrelerin antijen sunuculara bağlanması gerekmektedir. Bu olay her iki tip hücre yüzeyinde bulunan adhezyon molekülleri

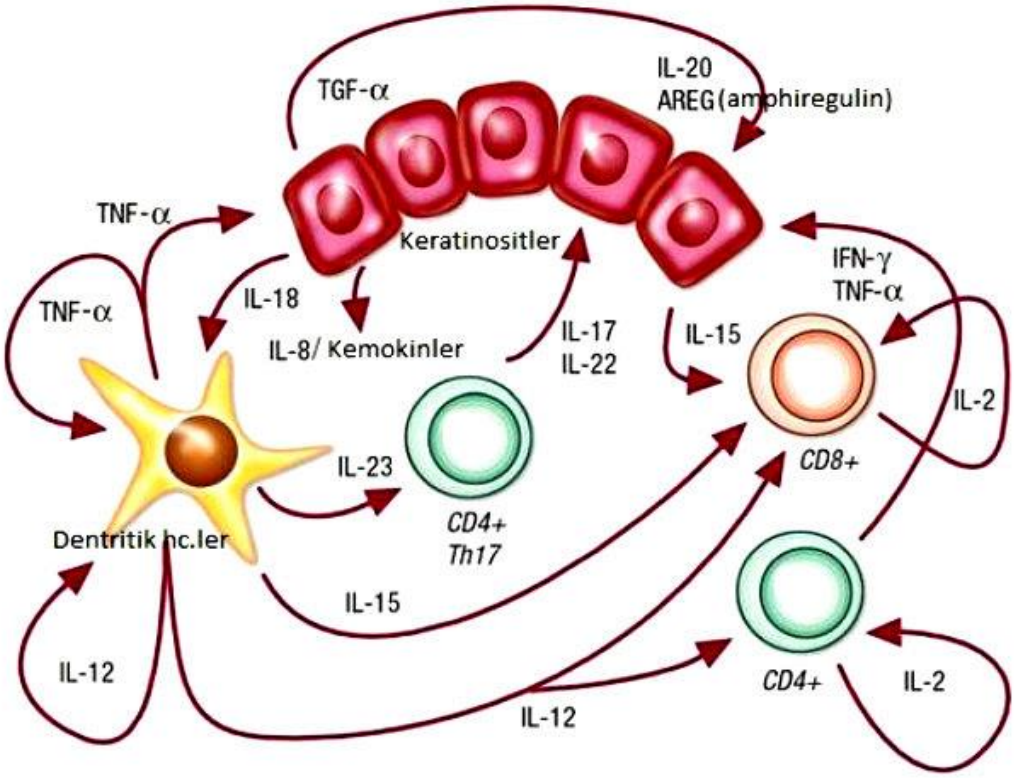
aracılığıyla gerçekleştirilir. Daha sonra ilk sinyali oluşturan antijen spesifik aktivasyon ortaya çıkar. T hücrelerinin özel reseptörleri antijen sunucu hücrelerde bulunan MHC-I (majör histokompatibilite kompleksi) ya da II ile sunulan antijeni tanır. Son olarak antijene spesifik olmayan hücre-hücre etkileşimi ile ikinci sinyal oluşur. Dolaşımdaki aktif T hücrelerinin deriye göçü de çok basamaklı bir olaydır ve birçok adhezyon molekülü ve kemokinlerin rol oynadığı hücre-hücre etkileşimlerini gerektirir. Deriye göç eden T hücresi tarafından keratinosit değişikliklerinin uyarılması ve diğer inflamatuvar hücrelerin sekresyonuyla lokal immün yanıt başlatılır. Birçok hücre tarafından salınan sitokinler, psoriazisteki fenotipik değişikliklerde önemli role sahiptir. CD4 (+) ve CD8 (+) T hücreleri tarafından T1 tip sitokinler (IFN-γ ve IL-2 gibi..) salgılanır. Bu sitokinler diğer hücrelerle etkileşerek kemokinler, TNF-α, GM-CSF (Granülosit makrofaj-koloni stimülan faktör), EGF (Epidermal Büyüme Faktörü), IL-8 gibi diğer proteinlerin salınımına neden olur. Böylelikle yeni inflamatuvar hücreler deriye göç eder, bu hücrelerin ve keratinositlerin aktivitesi artar ve psoriatik plak oluşur (Özbilir ve Gülekon 2005, Weinstein ve Krueger 1993). Psoriatik süreçte rol oynadığı düşünülen faktörler ve etkileri Çizelge 1.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Psoriatik süreçte rol oynadığı düşünülen faktörlerden bazıları ve etkileri (Özbilir ve Gülekon 2005, Gottlieb ve ark 2008).

IL-2	En güçlü T-lenfosit büyüme faktörüdür. IL-6, TNF-α, IFN-γ 'nın ve kendisinin üretimini uyarır.
IL-8	Nötrofil kemotaksisini, keratinositlerin proliferasyonunu ve anjiogenezizi uyarır.
IL-12	T-lenfositlerin ve NK (natural killer) hücrelerin proliferasyonunu ve bu hücrelerden TNF-α, IFN-γ salınımını uyarır T-lenfositlerin Th1 hücrelerine dönüşümünü sağlar Dendritik hücre-T-lenfosit bağlanmasını sağlar
IL-17	Keratinositlerin IL-6, IL-8, GM-CSF ve ICAM-1 salgılamasını ve dendritik hücrelerin matürasyonunu sağlar.
IFN-γ	Tüm lenfosit altgrupları ve endotel hücrelerinin aktivasyonunu ve çok sayıda sitokinin salınımını sağlar
TNF-α	Sitokinlerin salınımını uyarır, inflamasyon ve anjiyogenez mekanizmalarına katılır

1.1.3.2. Epidermal proliferasyon

Normal epidermiste bazal keratinositler ortalama 13 günde bir bölünürler. Bu 13 günlük sürenin de en büyük kısmını G1 fazında geçirirler. Çoğalan hücrelerin olgunlaşmaları ve dökülmeleri toplam 26 günlük bir zamanı kapsar buna keratinosit turnoveri denir. Psoriazisde ise bu süre 4 güne kadar kısalmıştır (Ortonne 1999). Psoriaziste ayrıca tip1 keratinler olan K16 ve K17'yi içeren farklı keratinlerin ekspresyonunda belirgin değişimler görülür. Psoriatik deri keratinositleri, normal deri keratinositlerine kıyasla apopitoza karşı daha dirençlidir, bunun IFN-γ ve IL-15 gibi psoriatik deride bulunan bazı inflamatuvar sitokinlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Gudjonsson ve ark 2004). Psoriazis lezyonlarında, hücre proliferasyonunu uyarıcı etki yapan c-GMP düzeyinin arttığı, inhibitör etki yapan c-AMP düzeyinin ise azaldığı saptanmıştır. Ayrıca keratinositlerin artmış proliferasyonunda, TGF, TNF-α, amfiregülin, keratinosit büyüme faktörü (KGF), EGF ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) gibi büyüme faktörlerinin ve bu faktörlerin artmış reseptörlerinin rol oynadığı da düşünülmektedir (Ortonne 1999, Gudjonsson ve ark 2004, Bos ve De Rie 1999). Çalışmalar, epidermal proliferasyon ve kutanöz inflamasyonun lezyonlu deriyle sınırlı kalmadığını, tutulum göstermeyen deri alanlarında da oluştuğunu kanıtlamıştır. Uyarılmış keratinositler IL-1 ve TNF-α sekrete ederek endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu indüklediği ve lenfositlerin dokuya göçüne yol açarak inflamatuvar olayları başlattığı ileri sürülmektedir (Ortonne 1999). Koebner fenomeninin varlığı bu görüşü desteklemektedir (Yazıcı ve Karabulut 2003).



Şekil 1.1. Psoriatik lezyonlardaki anahtar sitokin etkileşimleri (Gudjonsson ve ark 2008).

T hücreler immun korumada önemli bir role sahiptir. Her bir T hücresinde antijenler için farklı spesifiklikte olan tek bir T hücre reseptörü vardır. T hücreler dendritik hücrelerle karşılaşma sonrası lenfatiklerle periferal dokulardan lenf nodlarına taşınır. Bu APC'ler, antijenler için doğru reseptör taşıyan ve onları internalize eden güçlü T hücre aktivatörleridir. Aktive olunca doğal(naive) T hücreleri çoğalıp, yüzeylerinde yeni moleküller eksprese eder ve efektör hafıza (adaptive) T hücreleri halini alırlar. Sonra alerjen kaynağına doğru taşınıp değişik sitokinler salgılayarak eliminasyona çalışırlar. Psoriazisteki bu oldukça kompleks anahtar sitokin etkileşimleri Şekil 1.1'de genel hatlarıyla özetlenmiştir. Bu koruyucu mekanizma antijenleri ortadan kaldırmayı hedeflese de; hücre bağımlı mekanizma gibi otoantijenlere yönelmesi, kriptik enfeksiyonlar veya bazen kronik doku hasarıyla sonuçlanabilir. Bunun değişmesi veya oldukça kontrolsüz şekilde olması psoriazis, romatoid artrit, crohn hastalığı, sarkoidoz, multipl skleroz gibi hastalıklara yol açar (Türsen 2010).

1.1.4. Genetik

Bazı arastırmacılar psoriaziste kalıtımın rolü olmadığını ileri sürmekteyse de hastalıgın genetik olarak yatkın kişilerde yaşam süreci içinde herhangi bir zamanda çeşitli tetikleyici faktörlerle ortaya çıktığını savunanların sayısı oldukça fazladır. İlk ailesel psoriazis olgusu 1801'de Willan tarafından bildirilmiş ve genetik geçişin şekli pek çok araştırmaya konu olmuştur (Yazıcı ve Karabulut 2003). Püstüler olmayan psoriazis olguları ailesel yatkınlığın varlığı ve baslangıç yaşı göz önünde tutularak iki tipe ayrılmıştır. Tip I psoriaziste baslangıç yaşı 40'ın altındadır, aile öyküsü vardır ve sıklıkla HLA Cw6, B13, DR7 ve B57 ile ilişkilidir, tip II psoriaziste baslangıç yaşı 40'ın üzerindedir, aile öyküsü nadirdir ve artmış HLA Cw2 ve HLA B27 sıklığı vardır (Jullien ve Barker 2006). Psoriazisin monozigot ikizlerde dizigot ikizlerden yaklaşık 3 kat daha fazla görülmesi, ikizlerde aile öyküsünün %50 oranında pozitif olması, hastalığın seyri ve baslangıç yaşının ikizler arasında benzerlik göstermesi, ailede psoriazis olan olgularda baslangıç yaşının daha erken olması, psoriazisli hastaların akrabalarında hastalık insidansının 4 kat fazla olması ve belli majör histokompatibilite antijenlerinin psoriazisle artmış birliktelik göstermesi psoriaziste genetik yatkınlık olabileceği görüşünü desteklemektedir (Yazıcı ve Karabulut 2003, Özden ve Tekin 2007). Psoriaziste HLA Cw6 birlikteliği %70 olup bu oran en yüksek HLA birlikteliği olarak bildirilmiştir (Bos ve De Rie 1999, Yazıcı ve Karabulut 2003). Majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf I molekülü HLA Cw6 alleli taşıyan kişilerde psoriazis gelişme riskinin 10-20 kat artığı ve erken baslangıç yaşı ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Van De Kerkhof ve ark 2003, Pişkin 2005). HLA DRB1*04 ve HLA DRB1*07'yi de içeren HLA sınıf I ve II antijenleri de psoriazis ile ilişkilidir (Shen ve ark 2005). En sık eksprese edilen haplotipler HLA A2, B13, CW6, DR7, DQA1*0201 ile HLA A1, B17, CW6, DR7, DQA1*0201'dir. HLA tipleri hastalığın klinik formuna göre çesitlilik göstermektedir. Püstüler psoriazis ve akrodermatitis kontinua Hallopeau'da HLA B27 prevalansında artış gözlenmiştir (Yazıcı ve Karabulut 2003). Palmoplantar püstülozis HLA Aw19 ve HLA Bw35 ile ilişkilidir (Van De Kerkhof ve ark 2003). Guttat psoriazis ile HLA B13, B17 (Yazıcı ve Karabulut 2003, Van De Kerkhof ve ark 2003) ve Cw6 (Mallon ve ark 2000) ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki rapor edilmiştir. Eritrodermik psoriaziste yüksek sıklıkta HLA B13 ve B17 gözlenmektedir (Van De Kerkhof ve ark 2003). HLA B41 invers psoriazis ile ilişkilidir (Yazıcı ve Karabulut 2003).

Kişisel veya ailesel psoriazis öyküsü olmasa da allel yatkınlığının ebeveynlerden kalıtımla geçtiğinin gösterilmesi ve psoriazis ile HLA antijenleri arasındaki korelasyonun %100 düzeyinde olmayışı, bu faktörlerin hastalığın baslangıcı için gerekli olmakla birlikte yeterli olmadıklarını düsündürmüş, HLA lokusuyla baglantılı olmayan bir veya daha fazla genin de psoriazise yatkınlıkta belirleyici olduğu tartışmasını doğurmustur. Hastalığa yatkınlık yaratan bu genlerin kromozom 1q, 2p, 4q, 8q, 16q, 17q, 20p ve özellikle de 6p'de lokalize olduğu sanılmaktadır (Yazıcı ve Karabulut 2003). Bağımsız gen arastırmalarından elde edilen çok sayıdaki suçlu lokuslar Jullien ve Barker tarafından özetlenmiştir (Jullien ve Barker 2006). Kromozom 6p21,3 üzerindeki PSORS1 lokusu psoriazis riskini en sık belirleyen faktör olarak görülmektedir (Jullien ve Barker 2006, Bos De Rie 1999). Bu lokusta HLA C, corneodesmosin (Cdsn) ve alpha-helix coiled-coil rod homologunu (HCR) kodlayan genler yer almaktadır ve bu genlerin olusturduğu proteinlerin lezyonlu deride arttığı gösterilmiştir (Jullien ve Barker 2006, Bos De Rie 1999). Bu proteinlerin keratinosit hiperproliferasyonu ve büyük olasılıkla mononükleer hücre infiltrasyonunu belirledikleri sanılmaktadır (Pişkin 2005).

Kromozom 17q25 üzerinde PSORS2 lokusu bulunur. Bu lokus üzerinde iki bölge yaklaşık 6Mb'lik bir bölge tarafından ayrılmıştır. ilk bölgedeki genler SLC9A3R1 (solute-carrier family 9, isoform 3, regulator 1) ve NAT9 (Nasetiltransferaz 9)'dur. İkinci bölgedeki gen ise RAPTOR (regulatory associated protein of MTOR [mammalian target of rapamycin])'dur. SLC9A3R1 proteini polarize epitelyum hücrelerindeki aktin hücre iskeletini plazma membran proteinlerine bağlar. SLC9A3R1 ile plazma membran proteinlerine olan eksternal uyarılar sinyal iletimi ve hücre büyümesinde değişiklikler yapar. T hücrelerinde SLC9A3R1'nin immün sinaps oluşumunda rol alabileceği düşünülmektedir. Bu gendeki bozukluk ile sinapsın oluşumunda gecikme, T hücre reseptörüne antijen sunulma zamanı ile inflamasyon süresinde uzama olabileceği belirtilmektedir. SLC9A3R1 ve NAT9 genlerinin 3' ucundaki 1,2 kb'lık bölgesinde yerleşmiş RUNX1'in kaybı psoriazise egilim yaratan bir varyant oluşturmaktadır. RUNX1 hematopoietik hücrelerin gelişmesinde önemli rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. Bu varyant populasyonda göreceli olarak sıktır, ancak hastaların bir kısmında psoriazis gelişmektedir. Bu nedenle psoriazis gelişiminde başka duyarlılık faktörleri gerektiği de öne sürülebilir. RAPTOR hücre büyümesini, apopitozu ve diferansiyasyonu düzenleyen, immünsupresif ilaç rapamisinin hedefi olan MTOR'u

inhibe eder (Jullien ve Barker 2006). Anjiotensin-dönüştürücü enzim (ACE) geninin insersiyon/delesyon polimorfizmi ile ailesel psoriazis arasında ilişki bulunmuştur (Ozkur ve ark 2004). SLURP-2'nin (secreted Ly-6/urokinase-type plasminogen activator receptor related protein 2) psoriatik lezyonlu deride arttığı ve keratinosit hiperproliferasyonu ve/veya T hücre aktivasyon ve proliferasyonuna neden olarak psoriazis patofizyolojisinde yer alabileceği rapor edilmiştir (Tsuji ve ark 2003). PRINS (Psoriazis susceptibility-related RNA Gene Induced by Stress) kodlanmayan RNA geni ekspresyonunun psoriazise yatkınlığı artırdığı bildirilmiştir (Sonkoly ve ark 2005).

Baslangıçta psoriazisin inkomplet penetranslı otozomal dominant kalıtımlı, bifaktöriyel resesif geçişli ve X'e bağlı dominant kalıtımlı oldugu ileri sürülmüşse de bugün kalıtımın HLA ile ilişkili olmayan genlerin de katılımı ile poligenik ve multifaktöriyel şekilde olduğu sonucuna varılmıştır. TNF-α, psoriasin, migrasyon inhibisyon faktörüyle ilişkili proteinler (MRP8 ve MRP14), prolinden zengin küçük proteinler (SPRR), polimorfik HLA ilişkili antijen (MICA), konneksin, skuamöz hücreli karsinom antijeni 1 (serin proteaz inhibitörü), mitokondriyal nikotin adenin dehidrogenaz subünit 5 ve 6 ile kalsiklin üzerinde psoriazisle ilgili genetik araştırmalar sürmektedir. Psoriazise yatkınlık yaratan genlerin keşfi ile gen replasman tedavi modelleri geliştirilerek hastalığın insidansı ve morbiditesinin azaltılması ümit edilmektedir (Yazıcı ve Karabulut 2003).

1.1.5. Tetikleyici faktörler

Psoriazis hastalarının, hastalığa genetik yatkınlıklarının bulunduğunun kesin olarak bilinmesiyle birlikte; hastalığın ortaya çıkışında bazı çevresel etkilerin olduğunu gösteren kanıtlar da bulunmaktadır. Mekanik, ultraviyole (UV) ve kimyasal travmalar (kaşıma, güneş yanığı, cerrahi insizyon), stres, enfeksiyonlar (bakteri, virüs, mantar), ilaçlar (kortikosteroid, lityum, beta blokerler, ACE inhibitörleri, antimalaryal ilaçlar, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, tetrasiklinler) ve mevsimsel değişiklikler hastalığın ortaya çıkmasına veya şiddetlenmesine neden olmaktadır (Tüzün ve ark 1994, Karaduman 2008).

1.1.5.1. Fiziksel travma (Koebner fenomeni)

Epidermisin zedelenmesine yol açan fiziksel travmalar sonucunda lezyonsuz deri bölgelerinde psoriatik lezyonların ortaya çıkması Koebner fenomeni olarak adlandırılır. Travma sonrasında deri lezyonlarının oluşumuna kadar geçen süre yaklaşık 6 haftadır (Christopher ve ark 1999).



Şekil 1.2. Fıtık operasyonu sonrasında hastanın operasyon bölgesinde meydana gelen psoriatik lezyonlar. http://www.pediatrics.wisc.edu/education/derm/tutc/62.html

1.1.5.2. Stres

Psikolojik stres (bunaltı, depresyon, ekonomik problemler, yakın bir kişinin kaybı) psoriazisin tetiklenmesine, alevlenmesine veya erken yaşta ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Bu faktörlerin varlığı tedaviye uyumu da olumsuz etkilemektedir. Epidemiyolojik çalışmalarda psoriazis hastalarında depresyon, anksiyete, obsesyon, sosyal izolasyon ve aşırı öfke gibi psikolojik bozukluklar saptanmıştır. Depresyon skorları ile hastalık şiddeti arasında korelasyon gösterilebilmektedir (Karaduman 2008).

1.1.5.3. Enfeksiyonlar

Grup a beta hemolitik streptokoklara bağlı tonsillit veya farenjitten 2-3 hafta sonra guttat psoriazis tetiklenebilmekte veya kronik plak psoriazis alevlenebilmektedir. Bu konuyla ilgili olarak bakteriyel endotoksinlerin bir süperantijen gibi davranarak T lenfositleri, makrofajları, Langerhans hücrelerini ve keratinositleri aktive ettiklerini ileri süren teoriler ortaya atılmıştır. Virüs ve mantar enfeksiyonları da hastalığı tetikleyebilir veya şiddetlendirebilir (Tüzün ve ark 1994, Ortonne 1999).

1.1.5.4. Mevsimsel değişiklikler

Psoriatik lezyonların aktivasyonunda mevsimler değişiklikler de etkili olmaktadır. Yaz mevsiminde, artan ultraviyolenin etkisi ile lezyonlar azalmaktadır. Hastaların nem oranı düşük ortamlarda uzun süreli kalmaları ise hastalığı şiddetlendirmektedir (Tüzün ve ark 1994).

1.1.5.5. İlaçlar

Antimalaryal ilaçlar, lityum, beta adrenerjik blokerler ve bazı ACE inhibitörleri psoriazisin alevlenmesine sebep olduğu saptanmış ilaçlar arasında yer almaktadır. Ayrıca bazı hastalarda kortikosteroidlerin aniden kesilmesiyle püstüler psoriazisin geliştiği veya plak psoriazisin alevlendiği gözlenmiştir (Tsankoy ve ark 2000). Diyet, alkol kullanımı, sigara içimi ve obezite gibi yaşam tarzıyla ilişkili faktörlerin psoriazisin seyrini etkilediğine dair çalışmalar da mevcuttur, fakat bunların etiyolojideki rolleri tam olarak aydınlatılabilmiş değildir (Ortonne 1999).

1.1.6. Klinik

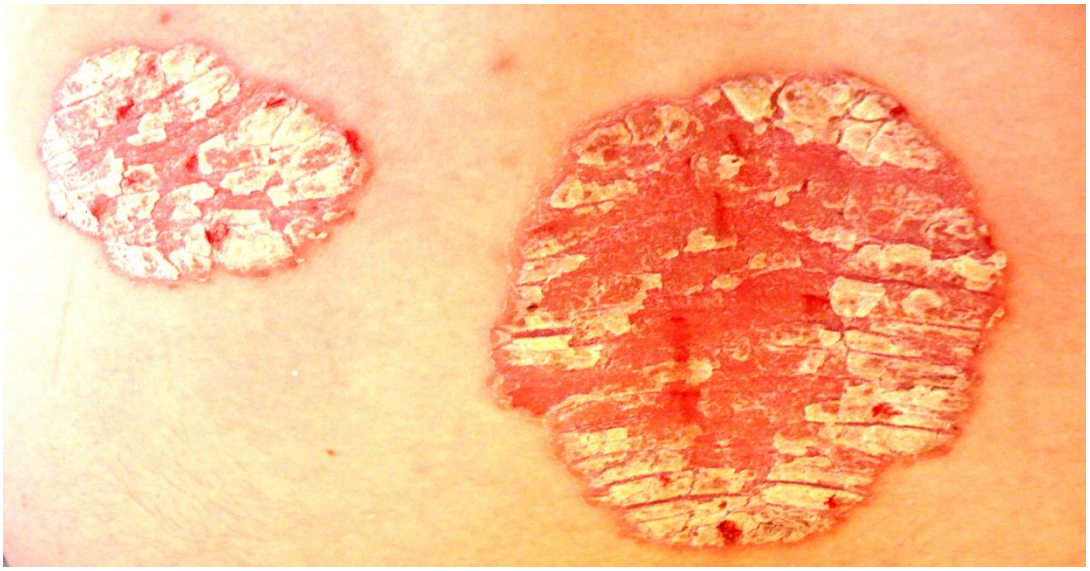
Psoriazis, psoriazis vulgaris ve atipik psoriazisler olmak üzere iki ana klinik formda ortaya çıkar.

1.1.6.1. Psoriazis vulgaris

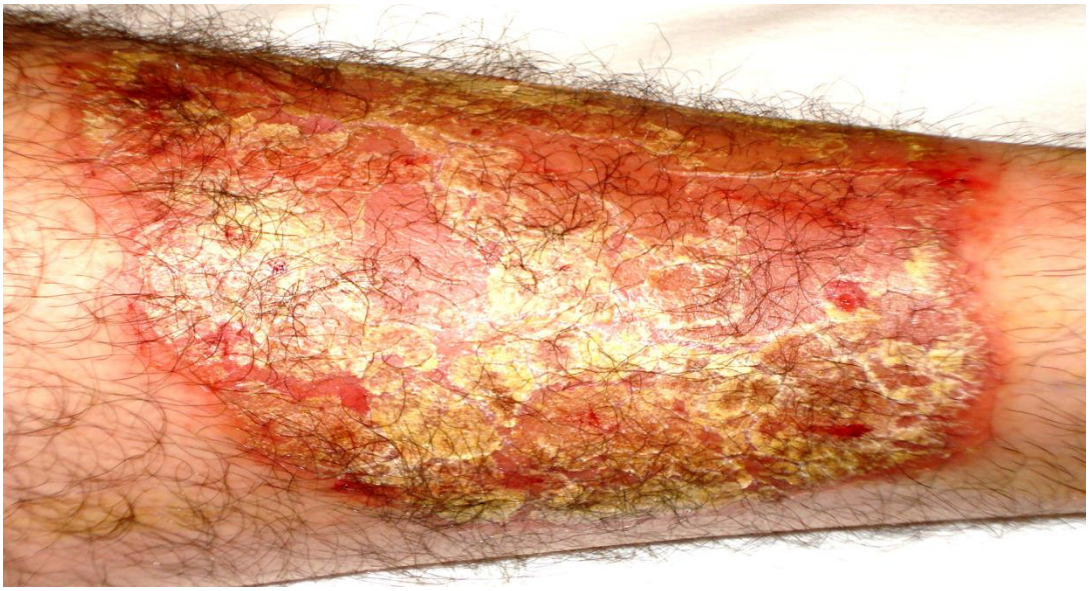
Psoriazisin en sık görülen ve klasik belirtilerle ortay çıkan tipidir. Eritemli, keskin sınırlı, üzeri sedefi beyaz renkli skuamlarla kaplı plaklarla karakterizedir. Skuamlar künt bir cisimle kazınırsa beyaz lameller halinde dökülür (mum lekesi fenomeni). Kazıma işlemine devam edilirse skuamların altında önce eritemli bir zemin, sonra papillomatozis ve kapiller dilatasyonun neden olduğu kanama odakları ortaya çıkar (Auspitz veya noktavi kanama belirtisi). Mum lekesi ve Auspitz fenomenleri tanıda, Koebner fenomeni ise hastalığın aktivasyonunu belirlemede önemlidir (Tüzün ve ark 1994).

Lezyonların şekil ve büyüklükleri farklılık gösterebilir. Çapları 2 mm.ye kadar olanlara psoriazis punktata, ortalama 3 cm olanlara psoriazis nummularis, daha büyük olanlara plak psoriazis denir. Ortadan iyileşip halka şeklinde oluşursa psoriazis annularis, düzensiz kenarlı olanlar psoriazis serpiginoza, harita şekilleri

ortaya çıkarsa psoriazis geografika ismini alır. Subjektif semptom genelde yoktur, fakat bazen değişik şekillerde kaşıntı görülebilir (Tüzün ve ark 1994, Bilen 2005, Akkaya ve Ceyhan 2005). Hastalığın özellikle seçtiği bölgeler saçlı deri, diz, dirsek ve sakral bölge olmakla birlikte tüm vücutta görülebilir (Tüzün ve ark 1994, Karaduman 2008). Psoriaziste mukoza tutulumu çok seyrek görülmekte olup genellikle püstüler ve akut eritrodermik formda ortaya çıkar. Tipik lezyonlar özellikle dilde keskin sınırlı, anüler şekilli, gri, beyaz veya sarımsı plaklar şeklindedir (Baykal 2000).



Şekil 1.3. Psoriazis Vulgaris'in sırt bölgesi tipik karakterize lezyonları



Şekil 1.4. Psoriazis Vulgaris'in bacaklardaki tipik karakterize lezyonu

1.1.6.2. Atipik psoriazis tipleri

Klinik belirtiler, yerleşim yerleri ve prognoz açısından psoriazis vulgaristen farklıdırlar. Atipik psoriazislerde, mum lekesi fenomeni**,** Auspitz fenomeni ve Köbner fenomeni gibi tanı fenomenleri genellikle negatif olup tedaviye daha dirençlidirler.

1.1.6.2.1. Psoriatik eritroderma

Psoriazis vulgarisli hastalarda tetikleyici faktörlerin araya girişi veya tedaviye bağlı komplikasyon olarak gelişebileceği gibi, direkt olarak da başlayabilir. Yüz dahil tüm deride yaygın ve şiddetli eritem vardır. Skuamlar psoriazis vulgaristekiler kadar belirgin olmayabilir. Tırnak tutulumu genellikle şiddetlidir. Ateş ve inflamasyona ait diğer belirtiler eşlik eder. Tedaviye dirençli, fatal olabilen ağır bir klinik tablodur (Christopher ve ark 2004, Bilen 2005).

1.1.6.2.2. Püstüler psoriazis

Püstüler psoriazis, steril püstüllerle seyreden inatçı bir klinik tablodur. Lokalize veya generalize olmak üzere iki klinik tipi vardır (Tüzün ve ark 1994, Karaduman 2008, Aktaş 2005).

1.1.6.2.3. Generalize Püstüler Psoriazis (Zumbusch tipi)

Oldukça nadir görülen, fatal seyredebilen bir durumdur. En çok gençlerde görülür, kadın erkek oranı eşittir. Genellikle sistemik steroid tedavisinin ani kesilmesi, araya giren tetikleyici faktörler veya irritan tedavilere bağlı olarak psoriazis vulgarisin bir komplikasyonu olarak gelişirse de doğrudan da görülebilir. Püstüller 2-3 mm çapında olup, eritemli zeminde, yüksek ateş, halsizlik, poliartralji gibi genel semptomlarla birlikte birdenbire ortaya çıkar. Püstüller birkaç günde kurur, bunu yeni püstül atakları izler. Hızla tedavi edilmesi gereken ağır bir tablodur (Gürer ve Adı 2008).

1.1.6.2.4. Lokalize püstüler psoriazis

El içi, ayak tabanı veya parmaklarda eritemli zemin üzerinde 2-4 mm çaplı püstüllerle karakterizedir, beraberinde sarı-kahverengi maküller veya eritemli skuamlı plaklar gözlenebilir. Hastaların az bir kısmında (%2-19) başka bölgelerde kronik plak psoriazis lezyonları bulunabilir. Hastalık kronik tarzda ve relapslarla giden bir seyir izler (Christopher ve Mrowietz 2004).

1.1.6.2.5. Guttat psoriazis

Özellikle çocuklarda sık görülen bir psoriazis tipidir. Akut başlangıçlı, çok sayıda küçük, eritematöz, yağmur damlası şeklinde kırmızı-pembe renkli papüller şeklindedir. Sıklıkla HLA-CW6 ile birliktelik bildirilmiştir. Faringeal streptokok enfeksiyonu guttat psoriazisi tetikleyen en önemli etkendir. Psoriazisin bu tipinde uzun yıllar içinde spontan düzelme izlenebilmektedir (Christopher ve Mrowietz 2004, Bilen 2005).

1.1.6.2.6. Palmoplantar psoriazis

En sık 20-60 yaş arası kadınlarda görülen bir tiptir. El içi ve ayak tabanında bilateral ve simetrik yerleşimli, eritemli zemin üzerinde 2-4 mm çaplı püstüllerle karakterizedir. Nadiren el ve ayak sırtı ile ekstremitelere yayılabilir. Püstüller başlangıçta sarı iken, giderek kahverengi bir renk alır ve yaklaşık bir hafta içinde iyileşirler (Christopher ve Mrowietz 2004).

1.1.6.2.7. Psoriatik artrit

Artropati, psoriazisin tek sistemik belirtisidir. Artrit tüm psoriazisli hastaların %5-30'unda gözlenir. Psoriatik artritin önemli bir tanı koydurucu özelliği romatoid faktör gibi serolojik bulgular negatif iken erozif değişikliklerin bulunmasıdır. Psoriatik artritin %70'ini asimetrik oligoartiküler (2 veya 3) eklem tutulması oluşturur. El ve ayakların distal ve proksimal interfalanjiyal ve ayakların metatarsofalanjiyal eklemleri sıkça tutulur. Romatoid artrit gibi simetrik poliartiküler (5'den fazla) eklem tutulması, psoriatik artritin %15'ini oluşturur. Sakroileit ve/veya spondilit ve artritis mutilans formu daha nadir bir tutulum şeklidir (Fearon ve Veale 2001, Jones ve ark 2004).

1.1.6.2.8. İnvers psoriazis

Koltuk altı, kasık, meme altı, intergluteal bölge ve kulak arkası gibi intertriginöz bölgelere yerleşen psoriazis tipidir. Bu bölgelerdeki sürtünme ve nemden dolayı skuam yoktur, keskin sınırlı, eritemli, yer yer fissürlü alanlar vardır (Tüzün ve ark 1994, Christopher ve Mrowietz 2004, Karaduman 2008).

1.1.6.2.9. Foliküler psoriazis

Gövdede bulunan kıl foliküllerine lokalize noktasal lezyonlardır. Küçük, düz lezyonlar liken planusu andırır (Karaduman 2008).

1.1.6.2.10. Saçlı deri psoriazisi

Psoriazisin en sık tuttuğu alanlardan biri saçlı deridir. Saçlı deri sınırında aniden kesilen, lokalize veya yaygın eritemli, sedefi skuamlı plaklar bulunur. Sıklıkla oksipital bölgede yerleşir. Saç kaybına sebep olmaz (Van de Kerkhof ve ark 1998).

1.1.6.2.11. Tırnak psoriazisi

Psoriazisli hastaların %10-78'inde tırnak tutulumu olabilir. El tırnakları daha sık etkilenir. Yüksük tırnak, diskolarasyon, onikoliz, subungual hiperkeratoz, yağ damlası ve splinter hemorajiler görülebilir (Akkaya ve Ceyhan 2005, Şanlı 2005).

1.1.7. Tedavi

Psoriazis tedavisi planlanırken hastalığın kontrol altına alınması, uzun süreli remisyon sağlanması, hastanın yaşam kalitesinin arttırılması, ilaç toksisitesinin ve tedavi maliyetinin azaltılması amaçlanır. Tedavi seçiminde psoriazis tipi ve yaygınlığı, hastanın meslek ve sosyal yaşantısı, hastalığına bakış açısı, tedaviye ayıracağı zaman, hastanın tercihi, daha önce kullandığı tedaviler ve etkinlikleri, ekonomik faktörler, eşlik eden hastalıkları göz önünde bulundurulur (Akkaya 2006, Lebwohl 2005). Psoriaziste klinik alevlenmelerin önlenmesi ve tedaviye destek açısından düzenli egzersiz yapılması, alkol ve sigara kullanılmaması, sağlıklı beslenme, travmadan ve kaşınmadan kaçınılması, stresin azaltılması, başta beta

hemolitik streptokoklar olmak üzere infeksiyonlardan ve antimalaryal ilaçlar, lityum, interferon gibi psoriazisi tetikleyen ilaçlardan kaçınılması gerekir (Lebwohl 2005). Psoriazisin topikal ya da sistemik birçok tedavi seçeneği vardır. Topikal tedavi genel olarak hafif psoriazisli olgularda tek basına, orta ya da şiddetli olgularda ise sistemik tedaviye ya da fototerapiye ek olarak kullanılır. Sistemik tedavi endikasyonları ise eritrodermik psoriazis, generalize püstüler psoriazis, psoriatik artrit ve topikal tedaviler ya da fototerapiye yanıtsız-uyumsuz, yasam kalitesinde %10'dan fazla azalmaya neden olan orta-siddetli plak psoriazisdir. Ayrıca hasta tercihi olarak sistemik tedavi endikasyonu söz konusu olabilir (Baz 2004).

Son yıllarda psoriazisin patofizyolojisinin giderek daha iyi anlaşılmasıyla birlikte tümüyle yeni bir tedavi yaklasımı psoriaziste kullanım alanına girmiştir. Psoriazisin patofizyolojisinde immünolojinin rolünün giderek daha iyi anlaşılması psoriazisin oluşumundaki moleküler mekanizmaları etkileyen yeni kuşak biyolojik tedavilerin geliştirilmesini saglamıştır (Erdem 2005). Psoriaziste tedavi yöntemleri; monoterapi, kombine tedavi, dönüşümlü tedavi ve aşamalı tedavidir (Baz 2004).

1.1.7.1. Topikal Tedaviler

Topikal tedaviler eski ve oldukça değerli bir yöntemdir. DNA sentezi ve mitozu inhibe ederek keratinosit proliferasyonunu azaltır, antijen sunucu hücre fonksiyonlarını baskılar ve T-lenfositler, polimorfonükleer hücreler ve çeşitli sitokinler aracılığıyla antiinflamatuar etki gösterir (Krutmann 1999).

a- Topikal steroidler
b- Salisilik asit ve diger keratolitikler
c- Nemlendiriciler
d- Vitamin D analogları
e- Katran
f- Antralin (Ditranol, Sinyolin)
g- Tazaroten
h- Topikal antimetabolitler
ı- Kalsinörin inhibitörleri

1.1.7.2. Fototerapi

DNA sentezi ve mitozu inhibe ederek keratinosit proliferasyonunu azaltır, T hücrelerinin apopitozunu ve immunsupresyon yapan sitokinlerin salgılanmasını uyarır (Ibbotson ve ark 2004). Bunlar.

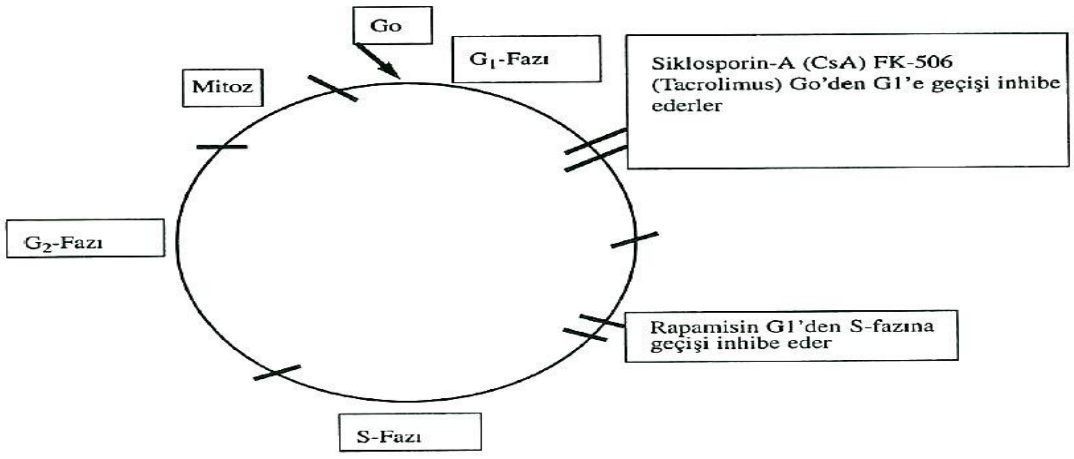
a- Ultraviyole B
b- Psoralen ve Ultraviyole A
c- Excimer laser
d- Fotodinamik tedavi
e- Klimaterapi

1.1.7.3. Sistemik Tedavi

Bu tedavide kullanılan ilaçlar immünoregülatuvar sistemin değişik aşamalarında etki gösterirler. Antijenlerin tanınmasından başlayarak hücre proliferasyonu ve sitokin yapımına kadar uzanan geniş bir yelpaze içinde etki ederler (Kansu 2002).

Bu etkileri kısaca özetlemek gerekirse;

a. Antijen sunan hücrelerin T-hücrelerine antijen tanıtımının inhibisyonu.
b. T-hücre aktivasyonunun inhibisyonu.
c. Sitokin sentezinin inhibisyonu.
d. Hücre proliferasyonun azaltılması veya inhibisyonu (immünomodülasyon).



Şekil 1.5. Immünosüpresif ilaçların hücre siklusu fazlarına etkileri (Kansu 2002)**.**

Bunlar ;

a- Siklosporin A

b- Metotreksat

c- Asitretin

d- Fumarik asit esterleri

e- Hidroksiüre

f- 6- tiyoguanin

g- Sülfosalazin

h- Sistemik steroidler

ı- Mikofenolat mofetil

i- Rapamisin

1.1.7.4 Biyolojik Tedaviler

Son yıllarda, psoriazis tedavisinde geleneksel ajanlardan farklı olarak çok daha özgün, T hücresi ve inflamatuar sitokinlerin aktivasyonunu inhibe eden, patojenik T hücrelerinin azalmasını sağlayan, immün yanıtı baskılayıcı yöne kaydıran ajanlar olan biyolojikler kullanılmaya başlanmıştır. Bu gereksinim büyük oranda hastaların mevcut yöntemlerin sonuçlarından memnuniyetsizliği ve yaşam boyu tedavi gereksinimi nedeniyle kaçınılmaz olan toksisite nedeniyle doğmuştur. Tüm biyolojik ajanların özgül hedefleri vardır. Bu nedenle geleneksel ajanlardan farklı olarak organ toksisiteleri yok veya çok azdır (Krueger 2002).

1.1.7.4.1. Alefasept

Alefasept, psoriazis'te görülen T hücre aşırı aktivasyonunu bloke eder, bellek T hücrelerinin selektif apopitozunu sağlar (Maddin 2003). Psoriazis, bellek T hücre aktivasyonu sonucunda oluşur. Aktivasyon için 2 ayrı sinyal gerekmektedir. Birincisi; antijen sunan hücrelerdeki MHC moleküllerinin T hücrelerle etkileşimidir. ikincisi; antijen sunan hücrelerle T hücre arasındaki birinci aktivasyon sinyali dışında geri kalan tüm etkileşimlerin sonucunda gerçekleşen aktivasyondur. Alefasept, CD2'ye bağlanır ve LFA-3 (leukocyte function associated antigen) ile T hücre arasındaki interaksiyonu bozar. Alefasept, esas olarak psoriazis için kullanılsa da diğer T hücre aracılı hastalıklarda da kullanılabilir (Berman ve ark 2003).

1.1.7.4.2. Efalizumab

Efalizumab, anti CD11a veya HU1124 olarak da bilinir. T hücre üzerindeki CD11a'yı bağlayan monoklonal bir antikordur. CD11a, LFA-1'in (leucocyte function-associated antijen) bir komponentidir. T hücre aktivasyonu için, T hücrenin üzerinde bulunan LFA-1 ile antijen sunan hücre üzerindeki ICAM-1'in interaksiyonu gerekmektedir. Ayrıca LFA-1, ICAM-1'in endotel hücrelerine yapışmasına neden olur ve deriye T hücre migrasyonu gerçekleşir. Efalizumab bu etkileşimi engeller (Berman 2003).

1.1.7.4 .3. Etanersept

Etanersept bir çözünebilir TNF-α reseptoru olup, TNF-α'yı bağlayarak notralize eder. Bir fuzyon proteini olan etanersept, insan IgG1'nin Fc kısmı ile TNF-α reseptoru 2'nin ekstraseluler bağlayıcı kısmının genetik muhendisliği ile birleştirilmesi sonucu elde edilmiştir (Pathirana ve ark 2009).

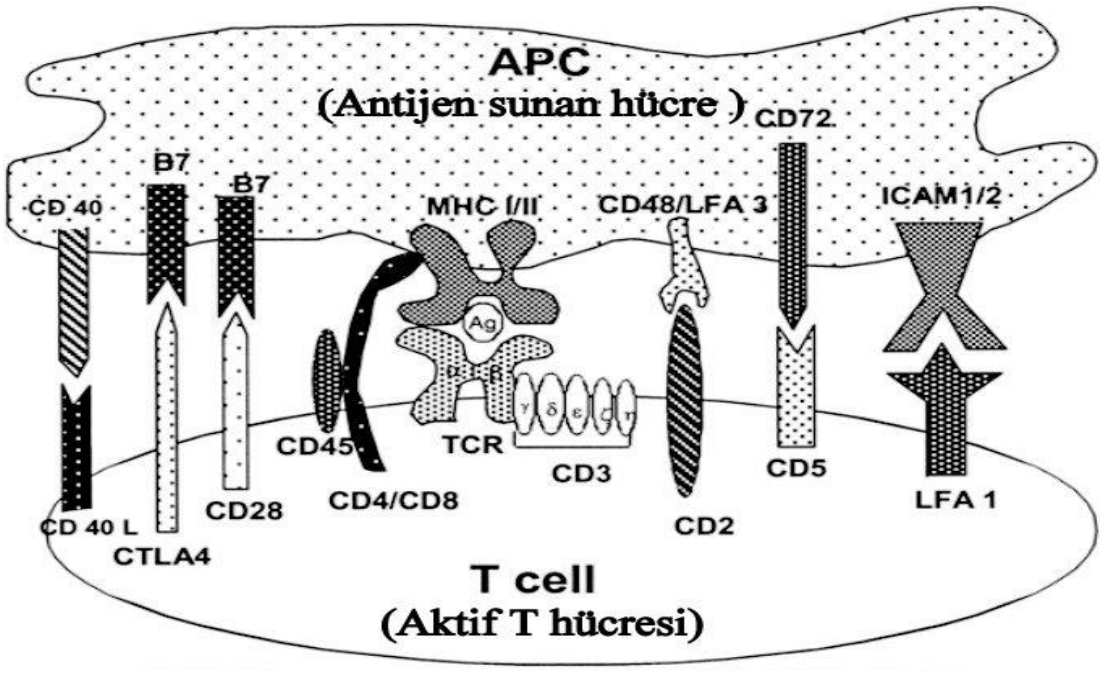
1.1.7.4.4. İnfliksimab

TNF-α' ya karşı gelişltirilmiş monoklonal bir antikor olan infliksimab TNF-α'ya bağlanıp etkisini bloke eder (Berman 2003). TNF-α'nın biyolojik fonksiyonlarını, sTNF-α ve tmTNF-α (T hucreleri ve diğer immun kokenli hucrelerin dış membranlarında bulunurlar)' ya bağlanarak veya TNF-α'nın reseptorlerine bağlanmasına engel olarak baskılarlar (Pathirana ve ark 2009).

1.2.OTOİMMÜNİTE VE SİTOTOKSİK T LENFOSİT ANTİJEN-4 (CTLA-4)

Kemik iliğinden kaynaklanan T hücrelerinin olgunlaşma fazı timusta gerçekleşir. T hücreleri timik epitel hücreleri tarafından sunulan otoantijenlerle karşılaştıklarında reseptör özelliklerine göre bir kısmında programlı hücre ölümü (apoptoz) gerçekleşirken, bir kısmı olgunlaşarak periferik dolaşıma katılır (Mueller ve ark 1989). Otoreaktif T hücrelerinin apoptoz yoluyla eliminasyonuna 'tolerans' denir; bu sistemdeki bir bozukluk sonucu ortaya çıkan tabloya ise 'otoimmünite' adı verilmektedir. Bu otoreaktif T hücrelerinin aktivasyonunu önleyebilecek inhibitör moleküllerden en önemlisi sitotoksik T lenfosit antijeni–4 (CTLA–4) dür (şekil 1.6).

Antijenik peptid ile TCR-CD3 kompleksinin etkileşimini takiben antijen sunan hücreler üzerinde yer alan B7 molekülleri ve CD40 ile Th hücresi üzerinde bulunan CD28, CTLA-4 ve CD40L molekülü etkileşir (Mueller ve ark 1989). B7'nin (CD 80 veya CD86) CD28'e bağlanması Th hücresinin uyarılmasına, CTLA–4 molekülünün B7'ye bağlanması ise hücrenin baskılanmasına yol açmaktadır. Lenfosit fonksiyonu ile ilişkili antijen (LFA) -1 ile ICAM1(hücreler arası adezyon molekülü) ve 2 gibi yardımcı moleküller arasındaki ilişkide, APC ve T hücre arasındaki ilişkiyi artırır. Diğer sinyal iletimi yolakları (örneğin, CD48 / LFA-3' ün CD2 ile, CD72'nin CD5 ile) ayrıca T-hücre aktivasyonuna katılırlar.

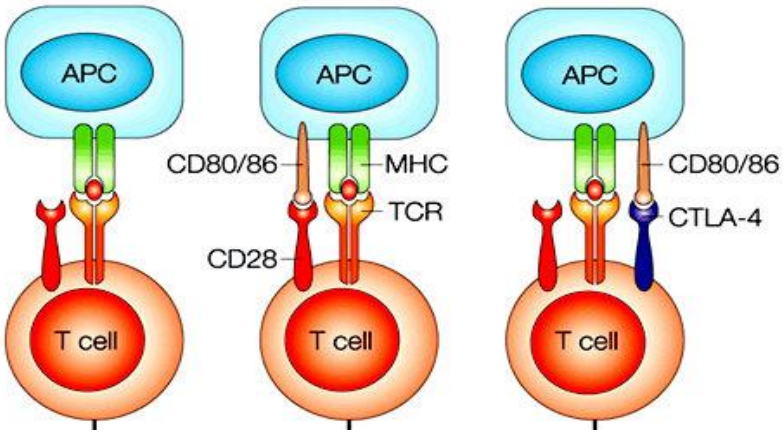


Şekil 1.6. Th hücresinin aktivasyonu üzerine CD28'in uyarıcı ve CTLA-4'ün baskılayıcı etkileri. http://www.medscape.com/viewarticle/489357_2

Yapısal olarak CTLA–4 ile CD28 arasında benzerlik bulunmasına rağmen CTLA-4'ün aynı liganda bağlanma afinitesi 100 kat daha fazladır (Gough 2005). CTLA–4 molekülünün iki ligandının (CD80 ve CD86) yapısal olarak birbirinden farklı olduğu gösterilmiştir (Sansom 2000). Bunlardan dimerik bir yapıya sahip olan CD80'in(B7) CD28/CTLA–4'e bağlanan iki bölgesi bulunmaktadır. TCR-CD3 kompleksinin antijenle birleşmesi CTLA-4 molekülünün indüklenmesine neden olur (Ikemizu ve ark 2000). CTLA–4 'ün T hücresi üzerindeki etki mekanizması kesin olarak açıklanamamıştır. Ancak olası bazı yorumlar aşağıda özetlenmiştir.

1.2.1. CTLA–4 ‘ün CD 28 ile yarışması

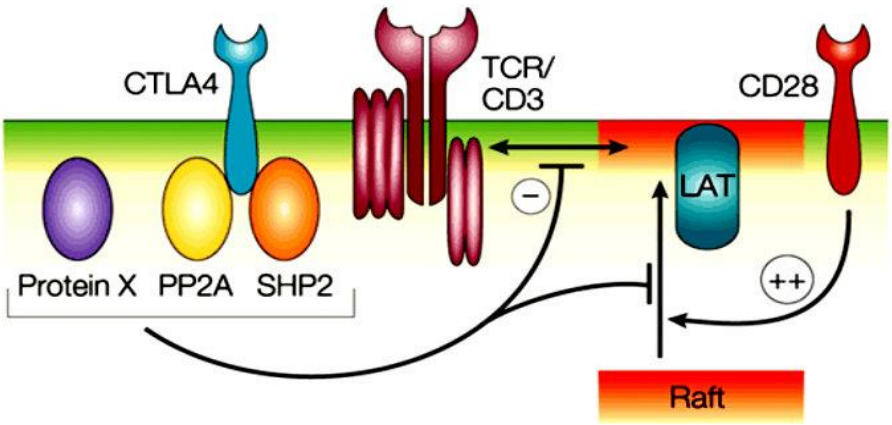
CTLA–4, CD 28’e oranla ligandlara (B7 moleküllerine) daha fazla bağlanır. Bunun sonucunda CTLA–4 kendi başına bir sinyal oluşturmaz ancak CD28’in pozitif etkisini önler (şekil 1.7).



Şekil 1.7. CTLA–4 ‘ün CD 28 ile yarışması.http://www.nature.com/nri/journal v1/n3/fig_tab/nri1201220a_F1.html/figure-title

1.2.2. CTLA–4’ün inhibitör sinyal oluşturması

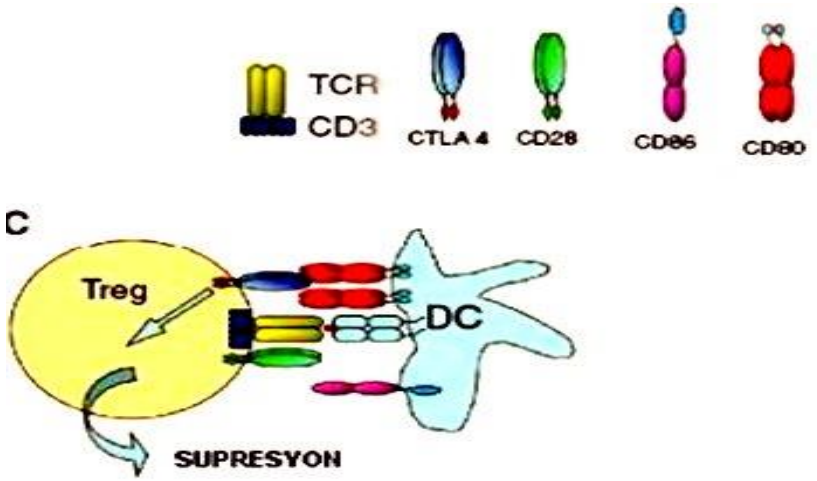
CTLA–4 tirozin fosfatazlar gibi inhibitör moleküllerin sayısını artırır. Bunun sonucunda CD28’den kaynaklanan pozitif sinyallerin önü kesilir ve T hücresi baskılanır. (Şekil 1.8).



Sekıl 1.8. CTLA–4’ün inhibitör sinyal oluşturması http://www.nature.com/nri/journal/v3/n7/fig_tab/nri1131_F6.html. LAT: T hücrelerinin aktivasyonu için bağlayıcı. PP2A protein fosfataz 2A.SHP2-domain içeren protein tirozin fosfataz)

1.2.3. T regülatüvar hücrelerin aktivasyonu

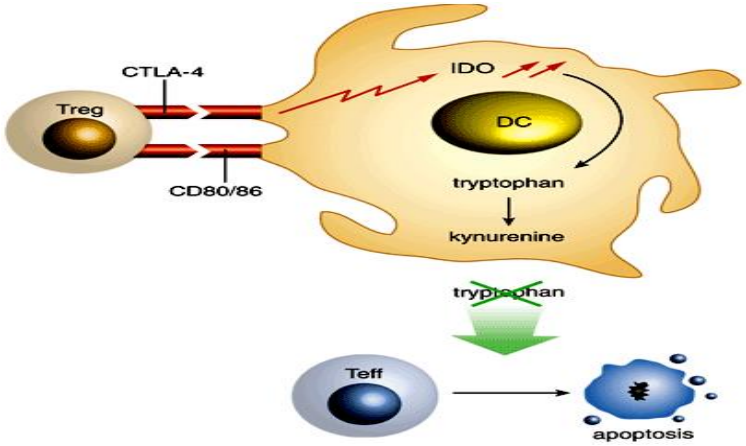
T regülatuvar hücreler (Treg) periferik CD4+ T hücrelerinin küçük bir grubunu (% 5-10) oluşturan CD4'e ek olarak CD25 de eksprese eden hücrelerdir. Aktive olmayan T hücrelerinin aksine bu hücreler sürekli olarak CTLA–4 de eksprese ederler, bu nedenle CTLA-4 aracılığıyla Treg'in supresor aktivitesinin artabileceği düşünülmektedir (Şekil 1.9).



Şekil 1.9. T regülatüvar hücrelerin aktivasyonu (Gough 2005).

1.2.4. İndolamin 2,3-dioksinejaz yolunun uyarılması

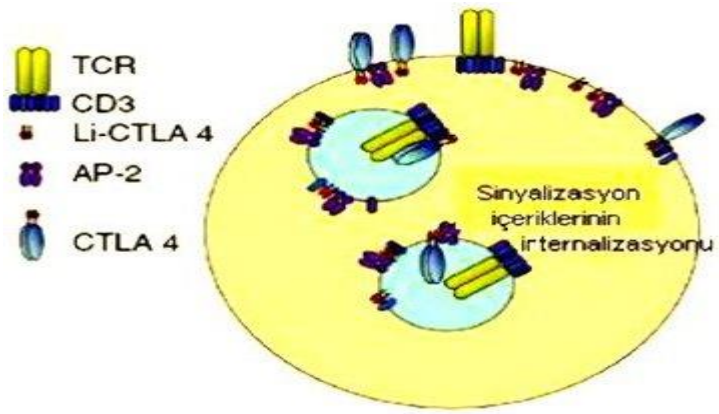
İndolamin 2,3-dioksinejaz enzimi (IDO) hücre içinde triptofanı yıkarak T hücresinin aktivasyonunu inhibe etmektedir ve T hücresinin apoptoza girmesine neden olur. CTLA-4 bu enzim yolunu uyarır. CTLA-4 Ig füzyon proteininin de IDO enziminin 'up-regülasyonuna' yol açtığı bildirilmiştir (Şekil 1.10).



Sekil 1.10. İndolamin 2,3-dioksinejaz yolunun uyarılması http://www.nature.com/jid/journal/v126/n1/fig_tab/5700004f1.html

1.2.5. CTLA-4'ün hücre içi protein trafiğine olan etkisi

CTLA–4'ün sitoplazmik kısmında oldukça güçlü bir internalizasyon sinyali bulunmaktadır. Bu modele göre CTLA-4 hücre içinde rahatlıkla dolaşabilmekte ve bu sırada TCR kompleksinden bazı önemli parçaları ayırarak, inhibitör etkisini gerçekleştirmektedir (şekil 1.11).



Şekil 1.11. CTLA-4'ün hücre içi protein trafiğine olan etkisi (Gough 2005).

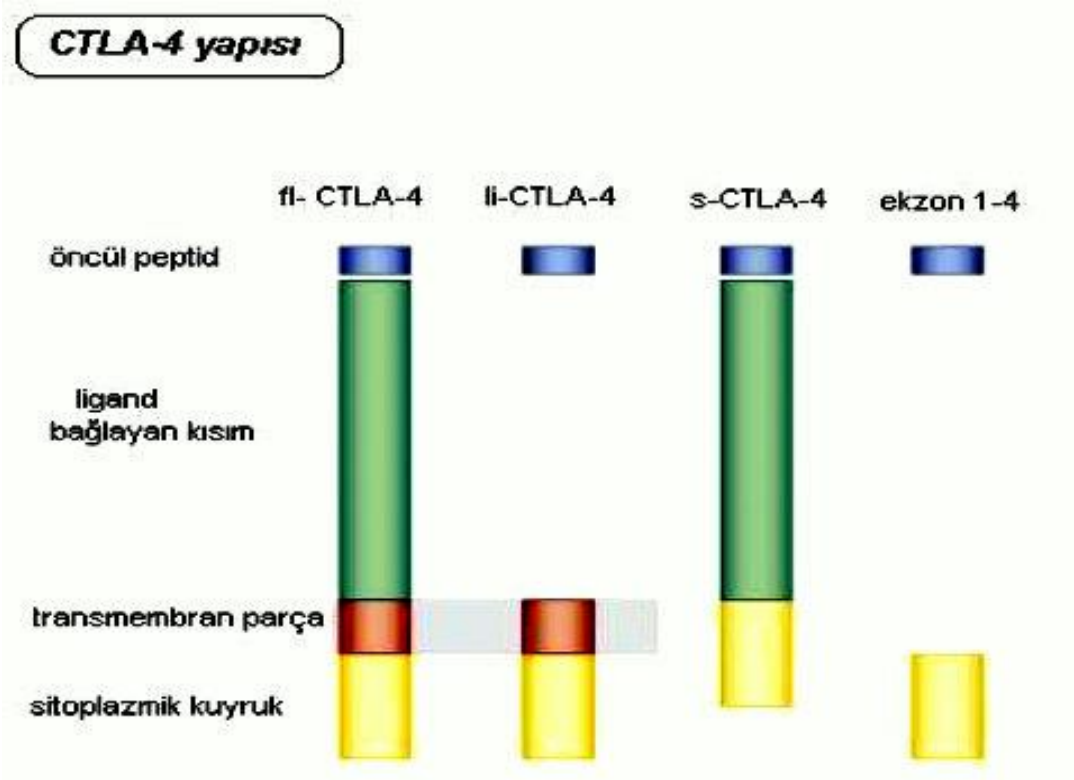
1.2.6. CTLA–4 İZOFORMLARI

CTLA–4 molekülünü kodlayan gen 2. kromozomun q33 bandında lokalizedir. Genin ekzon 1 bölgesi CTLA-4'ün öncül peptidini, ekzon 2 ligand bağlayan parçasını, ekzon 3 transmembran parçasını ve ekzon 4 sitoplazmik kuyruğunu kodlamaktadır. Bu genin ürünü olan CTLA-4 toplam 149 aminoasidden oluşmaktadır (Lindsten ve ark 1993). CTLA–4 geninin transkripsiyon ürünü farklı şekillerde kesildiğinde 4 farklı CTLA–4 molekülü ortaya çıkmaktadır (Wang ve ark 2001). Bunlardan insanda tanımlananlar aşağıda gruplandırılmıştır (Şekil 1.12):

1) Tüm ekzonları içeren mRNA'dan sentezlenen 'full length CTLA-4' molekülü (flCTLA-4 veya CTLA-4)

2) Ekzon 3 içermeyen mRNA'dan sentezlenen 'soluble' CTLA–4 molekülü(sCTLA-4)

3) Sadece ekzon 1 ile ekzon 4'ü içeren mRNA'dan sentezlenen CTLA-4 molekülü



Şekil 1.12. Farklı CTLA-4 molekülleri (Valk ve ark 2008).

sCTLA-4 molekülünün gerçek fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte bir reseptör görevi yapabileceği düşünülmektedir. sCTLA-4'ün aktif olmayan T hücresinde B7 ile CD28 etkileşimini önlediği, aktive olmuş T hücresinde ise B7 ile CTLA-4 etkileşimine engel olabileceği düşünülmektedir. Böylece aktif T hücresinde sCTLA-4 ile CTLA-4 molekülü tarafından oluşturulan inhibisyon ortadan kalkarak otoimmünite devam etmektedir (Saverino ve ark 2007).

1.2.7. CTLA–4 GEN POLİMORFİZMİ

Her gen bölgesinde biri anneden diğeri babadan gelen iki allel bulunmaktadır. Bir lokusta allellerin bireyler arasında farklılık göstermesine polimorfizm adı verilir. Toplum içerisinde polimorfizm sıklığı % 1-2 olarak bildirilmekte ise de bu durum çoğu kez bir hastalık nedeni değildir**.** Yapılan kontrollü ve aile bazlı çalışmalarda bir polimorfizm ile hastalık arasında ilişki saptanmış olması hastalıkla birebir bağlantı olarak yorumlanmamalıdır. Zira bu polimorfizm dışında aynı gen içerisinde veya komşu gende bağlantı dengesizliği "linkage disequilibrium" gösteren ve hastalığa yol açan bir başka genin varlığında da benzer sonuçlar elde edilmektedir (Simmonds ve ark 2007).

Polimorfizimler DNA üzerinde 1/1000 baz çifti oranında görülürken, protein kodlayan bölgeler için bu oran 1/2500 baz çiftidir. Bilim insanları bunu sürpriz olarak görmemektedir; çünkü protein kodlayan bölgelerin çok katı seçici baskı altında olması ve böylece bu bölgelerdeki mutasyonların insidansının evrim boyunca düşük olmasına neden olduğu fikrini savunmaktadırlar.

Polimorfizm gruplarından SNP'ler (tek nükleotid polimorfizmleri) tekli baz değişimi, tek baz delesyonu veya insersiyonu olarak bilinen genel polimorfizm sınıflandırılmasının küçük alt grubunu oluştururlar. Bir diğer grup ise Minisatellitlerdir, bunlar 10-100 baz tekrar dizileri şeklinde insersiyon temeline dayanırlar, bu polimorfizm grubu VNTR (variable number of tandem repeat) polimorfizmi olarak bilinir. Son grup ise Mikrosatellitler olarak bilinen insersiyon temeline dayanan 2, 3 veya 4'lü tekrar dizleri şeklinde DNA üzerine yayılmış olan polimorfizimlerdir (Nussbaum ve ark 2005).

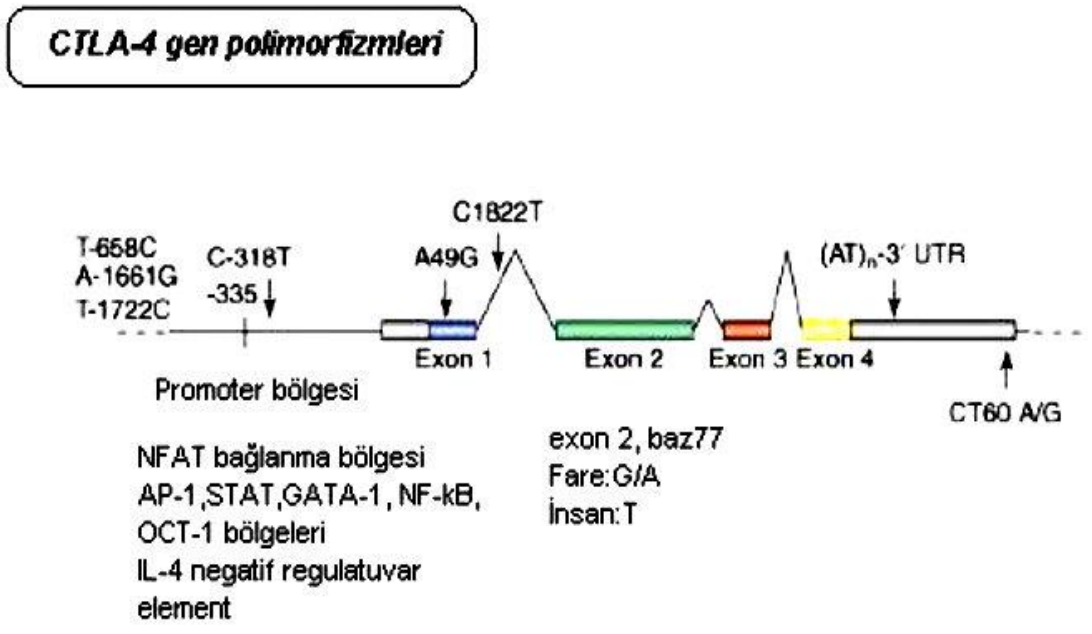
CTLA–4 genine ait çok sayıda polimorfizm tanımlanmış olmakla birlikte bunlar arasında en sık bildirilenler aşağıda sıralanmıştır (Gough 2000) (Şekil 1.13):

1) Ekzon 4'ün 3'UTR bölgesinde tekrarlayan dinükleotid mikrosatellit [(AT)n 3'UTR] polimorfizmi.

2) Ekzon 1'de 49. pozisyonda A>G (+49 A>G) polimorfizmi.

3) Genin promoter bölgesinde -318. pozisyonda C>T (-318 C>T) polimorfizmi .

4) İntron 1'de 1822. pozisyonda C>T (+1822 C>T) polimorfizmi.



Şekil 1.13. CTLA-4 geni ile ilgili tanımlanan polimorfizmler (Valk ve ark 2008).

CTLA-4 geninin çeşitli polimorfizmlerinin insanlarda bazı otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Kristiansen ve ark 2000, Teft ve ark 2006). CTLA–4 gen polimorfizmi ile psoriazis vulgaris arasındaki ilişki, Kore (Kim ve ark 2003) , Japon (Tsunemi ve ark 2003) ve Polonya (Luszczek ve ark 2006, Luszczek ve ark 2007) popülasyonlarında gerçekleştirilmiş sadece birkaç çalışmada araştırılmıştır. Otoimmün tiroid hastalıklarında CTLA–4 gen polimorfizminin rolü kesinlik kazanmamakla birlikte, CTLA-4 molekülünün ekspresyon ve/veya fonksiyonunda yaratabileceği değişikliklerin hastalığa yol açabileceği tahmin edilmektedir (Ueda ve ark 2003).

İn vitro bir çalışmada ekzon 1 +49A>G polimorfizmi incelendiğinde mutant G allelinin CTLA-4'ün ekspresyonunu veya inhibitör fonksiyonunu etkilemediği gözlenmiştir (Xu ve ark 2002). Aksine bir başka çalışmada ise mutant allelinin CTLA-4'ün inhibitör etkisini azalttığı gösterilmiştir (Kouki ve ark 2000). CTLA-4'ün inhibitör etkisindeki azalmayla ilgili hipotezlerden birinde CTLA-4'ün ekspresyon paterninin veya düzeyinin etkilendiği bildirilmektedir. Bu değişim sonucu ortaya çıkan yeni molekül CD28 ile CTLA-4 arasındaki dengeyi CD28 lehine çevirerek aktif T lenfositlerinin down regülasyonunu ve programlı hücre ölümünü engellemektedir. Diğer bir hipotezde ise, CTLA–4 molekülünün hücre içi havuzdan hücre yüzeyine hareketinde azalma olduğu ileri sürülmüştür. Böylece her iki durumda da otoimmün hastalık tetiklenebilmektedir (Chiastiakov ve Turakulov 2003).

Psoriazis vulgaris'in etyopatogenezinde CTLA-4 molekülünü kodlayan gen polimorfizmlerinin rolu bazı popülasyonlarda araştırılmıştır. Ancak elde edilen sonuçlar toplumlar arası farklılıklar göstermektedir. Bu çalışmada da CTLA-4 molekülünün ekspresyonu üzerine olası etkileri nedeniyle promoter bölgesi (-318C>T), molekülün foksiyonu üzerine olası etkiler nedeniyle de ekzon 1 bölgesi (+49A>G) ve ekzon 4 bölgesi (CT60A>G) polimorfizmleri değerlendirerek bu polimorfizmlerin toplumumuzdaki insidansının ve psoriazis vulgaris etyopatogenezi üzerindeki muhtemel rollerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Hasta ve Kontrol Olguları

Çalışma Başkent Üniversitesi Konya Uygulama ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji Bölümünde Psoriazis vulgaris tanısı almış akraba olmayan 103 hasta ve psoriazis vulgaris ile herhangi bir otoimmün hastalık tanısı almamış 102 sağlıklı birey ile gerçekleştirildi. Hasta grubunda cinsiyet dağılımı kadın/erkek 66/37 iken, kontrol grubunda 58/44 şeklindeydi. Hasta ve kontrol gurubunu oluşturan bütün bireylerden imzalı gönüllü olur belgesi alındı. Etik kurul onayı Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Girişimsel Olamayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme komisyonu tarafından 2010/138 sayılı karar ile verildi.

Klinik ve histopatolojik olarak psoriazis vulgaris tanısı konan hastaların hastalık süreleri sorgulandı ve lezyonları psoriazis alan şiddet indeksine (PASI) göre değerlendirildi. Buna göre hastalar erken başlangıç yaşı (< 40 yaş) ve geç başlangıç yaşı (≥ 40 yaş) olmak üzere 2 gruba ayrıldı. PASI skorlanmasına göre ise hafif (PASI<12) ve şiddetli (PASI≥12) olmak üzere yine 2 grup şeklinde tanımlandılar.

Hasta ve kontrol grubu bireylerinden EDTA'lı tüpe alınan 2-3 ml periferik kandan Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Dalı Araştırma Laboratuarında DNA izolasyonu, ardından CTLA-4 gen bölgelerinin PZR yöntemi ile amplifikasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen PZR ürünleri üzerinde RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi ile genotipleme çalışmaları yapıldı.

2.2. Genotipleme

2.2.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu 200µl EDTA'lı kandan genomik DNA izolasyon Kiti (QIAGEN) ile üretici firmanın önerdiği protokole göre gerçekleştirildi.

Bu protokole göre:

*1.5 ml mikrosantrifüj tüp içine önce 20 µl QIAGEN Proteaz K ardından üzerine 200 µl kan eklendi.

* Son olarak 200 µl AL Buffer ilave edip. 15 sn vorteks ile karıştırıldı.

* Mikrosantrifüj tüpü içeriği 10 dakika 56 ° C' de inkübe edildi.

*İnkübasyon sonunda mikrosantrifüj tüpüne 200 µl etanol (96-100%) eklenip 15 sn vortekslendi ve sonra kapakta kalan damlalar için spin yapıldı.

*Elde edilen hücre lizatı dikkatlice filtreli kolonun bulunduğu 2ml'lik tüpe aktarıldı ve 8000 rpm de 1 dk süreyle santrifüj yapılıp süzülmesi sağlandı.

*Yeni tüpe alınan kolona 600 µl Buffer AW1 eklenerek süzülmenin gerçekleşmesi için 8000 rpm de 1 dk süreyle santrifüjlendi.

*Yeni tüpe alınan kolona 600 µl Buffer AW2 eklendi ve 8000rpm de 1 dk süreyle santrifüj yapılarak süzülmesi sağlandı.

*Süzüntüyü döküldükten sonra 14000 rpm de 1 dk boş santrüfüj yapılarak pelletin kuruması sağlandı.

*Filitreli kolon temiz 1.5 ml lik yeni bir ependrof tüpe aktarıldı. Üzerine 200 µl Buffer AE eklenip oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildi ve ardından 14000 rpm de 3 dk süreyle santrüfüj yapıldı.

*Elde edilen DNA'lar kullanılana kadar -20 C^o de muhafaza edildi.

2.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PZR)

Genotipleme için hedef bölgeler çizelge 2.1' de verilen primer dizileri kullanılarak amplifiye edildi. Amplifikasyon sonunda oluşan PZR ürünlerinin uzunlukları her bir bölge için çizelge 2.1'de verilmiştir. Amplifikasyon 0,5 ml'lik ependrof tüpleri içinde 50 ml'lik toplam hacim gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımları aşağıdaki gibi hazırlandı:

Reaksiyon Karışımı(Master Mix):

Amonyum Buffer	5 µl
$MgCl_2$	4,5 µl
Primer I (ileri)	0,5 µl (20 pmol)
Primer II (geri)	0,5 µl (20 pmol)
dNTP mix(A,T,G,C)	1,5 µl
Taq polimeraz enzimi	1 µl (5U)
Genomik DNA	7 µl
dH_2O	30 µl
Toplam hacim	50 µl

Amplifikasyon her bölge için farklı PZR şartları kullanılarak gerçekleştirildi.

-318 (C>T) bölgesi için:

95 ºC → 5 dk	1 döngü
94 ºC → 45 sn	
60 ºC → 45 sn	35 döngü
72 ºC → 45 sn	
72 ºC → 10 dk	1 döngü

+49 (A>G) bölgesi için:

95 ºC → 5 dk	1 döngü
94 ºC → 45 sn	
55 ºC → 45 sn	40 döngü
72 ºC → 45 sn	
72 ºC → 10 dk	1 döngü

CT60 (A>G) bölgesi için:

95 ºC → 5 dk	1 döngü
94 ºC → 45 sn	
57 ºC → 45 sn	35 döngü
72 ºC → 45 sn	
72 ºC → 10 dk	1 döngü

Hedef bölgelerin çoğaltılması için kullanılan primerler ile PZR sonrası elde edilen ürünler Çizelge 2.1.'de verildi.

Çizelge 2.1. Hedef bölgelerin çoğaltılması için kullanılan primerler ile PZR ürünleri

Bölge	PRİMERLER	Amplikon
PROMOTER -318C>T	**F:** 5'-AAATGAATTGGACTGGATGGT-3'	247 bç
	R: 3'-TTACGAGAAAGGAAGCCGTG-5'	
EKZON 1 +49A>G	**F:** 5'-TTGCTCTACTTCCTGAAGACCTGAA-3'	166 bç
	R: 3'-AAAGTCTCACTCACCTTTGCAGAAG-5'	
EKZON 4 CT60A>G	**F:** 5'- CAC CACTATTTGGGATATACC-3'	216 bç
	R: 3'-AGGTCTATATTTCAGGAAGGC-5'	

2.2.3. RFLP(Parça Uzunluk Polimorfizmleri) ve Agaroz Jel Elektroforez

Kullanılan Tampon Solusyonlar;

TAE [50X(Tris-Baz, Asedik Asit, EDTA)] Tamponunun Hazırlanması

PZR ürününün yürüyebilecegi en uygun ağ ortamının yaratılabilmesi için 242 gr Tris-Baz, 55 gr Glasiyal Asetik Asit 57.1 ml ve 18.61 gr $Na_2EDTA.2H_2O$ 1000 ml dH_2O'da çözününceye dek karıştırılarak TAE tamponu hazırlandı. Elde edilen karışımın 40 ml'sine total hacim 2000 ml olacak şekilde dH_2O eklenerek 1X'lik TAE tamponu elde edilmiş oldu [TAE (1X) pH~8,5].

6X DNA Jel Yükleme Tamponu

%30 gliserol
%0,25 (w/v) Bromophenol blue
Hacim steril distile su ile 1 ml'ye ayarlandıktan sonra +4°C'de saklanır.
Polimorfizmlerin saptanmasında PZR temelli RFLP yöntemi uygulandı. Buna göre -318C>T için MseII (biolabs), +49A>G için BbuI (biolabs) ve CT60A>G için NcoI (Brion) restriksiyon enzimleri kullanıldı. Kesim işlemleri ticari firmanın önerdiği protokole göre gerçekleştirildi. Kullanılan enzimlerin kesim bölgeleri, reaksiyon karışımı ve şartları Çizelge 2.3' de verilmiştir.

Kesim işlemleri sonunda oluşan ürünlerin RFLP analizi için %2,5'lik agaroz jelde yürütüldü. Bunun için önce %2,5'lik jel hazırlandı: 2,5 gr agaroz 100 ml 1xTAE içerisine konularak mikrodalga fırında taşmamasına özen gösterilerek kaynatıldı. Kaynayan çözelti ardındn 50-60 ^{0}C' ye kadar soğutuldu ve içerisine son konsatrasyonu 0,5 mg/ml olacak şekilde etidyum bromür eklendi. Kuyucuk oluşmasını sağlayacak olan taraklar elektroforez tablasına yerleştirildikten sonra hazırlanan jel bu tablaya hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilerek döküldü. Jel oda ısısında 30-40 dk soğumaya bırakıldı. Elektroforez tankı da dolum çizgisine kadar 1x TAE tamponu ile dolduruldu. Bu süreçte tamamen donmuş olan jelden kuyucukların zarar görmemesine özen gösterilerek taraklar uzaklaştırıldı ve ardından jel tablası elektroforez tankının içine yerleştirildi. Jelin üzerine 1-2 mm geçecek şekilde 1x TAE tamponu ilave edildi. Böylece örneklerin yüklenmesi için jel ve elektroforetik siztem hazır hale gelmiş oldu. İlk kuyucuğa Marker DNA (100bp), diğer kuyucuklara da örnek DNA'lar yüklendi. Yükleme sırasında 8 µl DNA örneği 2 µl 6X yükleme tamponu ile karıştırarak kuyucuklara yerleştirildi. 90 V'da yaklaşık 30 dk marker DNA ve örnekler yürütüldü. Elektroforetik işlemler tamamlanınca jeller görüntülü analiz sistemiyle görüntülendi. Görüntüler; kesim sonrası gözlenen band sayı ve büyüklüklerinin marker ile karşılaştırılması suretiyle yorumlandı ve genotipleme yapıldı. Çalışılan 3 bölgeden CT60A>G polimorfizmi enziminin tanıma bölgesinin kaybolmasına yol açarken, diğer iki polimorfizm ise enzimler için tanıma bölgelerinin oluşmasına yol açmıştır. Kesim sonrası gözlenen band büyüklükleri ile bunlara karşılık gelen genotipler çizelge 2.4'de verilmiştir.

Çalışılan 3 bölgeye ait agaroz jel görüntüleri ise şekil 2.6, 2.7, 2.8' de yer almaktadır.

Çizelge 2.2. Kesim enzimleri, kesim reaksiyon koşulları ve kesim bölgeleri

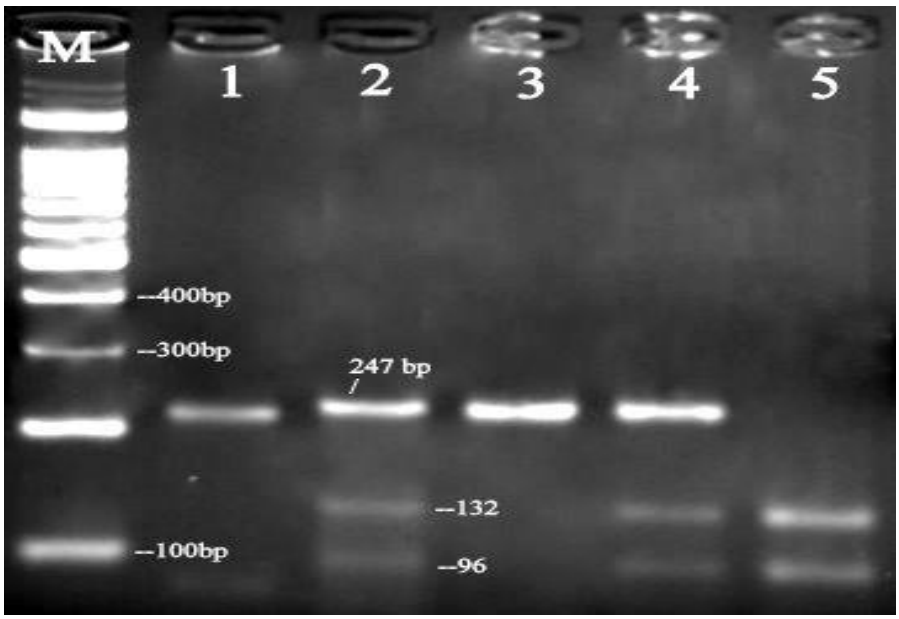
Enzimin Adı	-318C>T	+49A>G	CT60A>G
	MseI(Biolabs)	Bbv1(Biolabs)	NcoI (Brion)
Enzimin Kesim Bölgesi	5'..T*TAA..3'	5'..GCAGC(N)*.3'	5'..C*CATGG..3'
	3'..AAT*T..5'	3'..CGTCG(N)*..5'	3'..GGTAC*C..5'
Reaksiyon Karışımı			
1-Enzim Miktarı	1µl(10 ünüte)	3µl(6 ünüte)	1µl(10 ünüte)
2-Enzim Tamponu	2µl	1µl	1µl
3-PZR ürünü	10µl	10µl	10µl
4-Distile su	5.5µl	5µl	8µl
5-Bovin serum albumin(BSA):	2,5µl	-	-
Reaksiyon Total Hacmi	20 µl	20 µl	20 µl
Reaksiyon Isısı	37 ^{0}C	37 ^{0}C	37 ^{0}C
Reaksiyon Süresi	Gece boyu	Gece boyu	Gece boyu

Jel görüntüleri, kesim sonucu gözlenen bant sayı ve büyüklüklerinin marker yardımıyla karşılaştırılması suretiyle yorumlandı ve genotipleme yapıldı. Kesim sonrası gözlenen bant büyüklükleri ile bunların karşılık geldiği genotipler çizelge 2.4 de sunulmuştur.

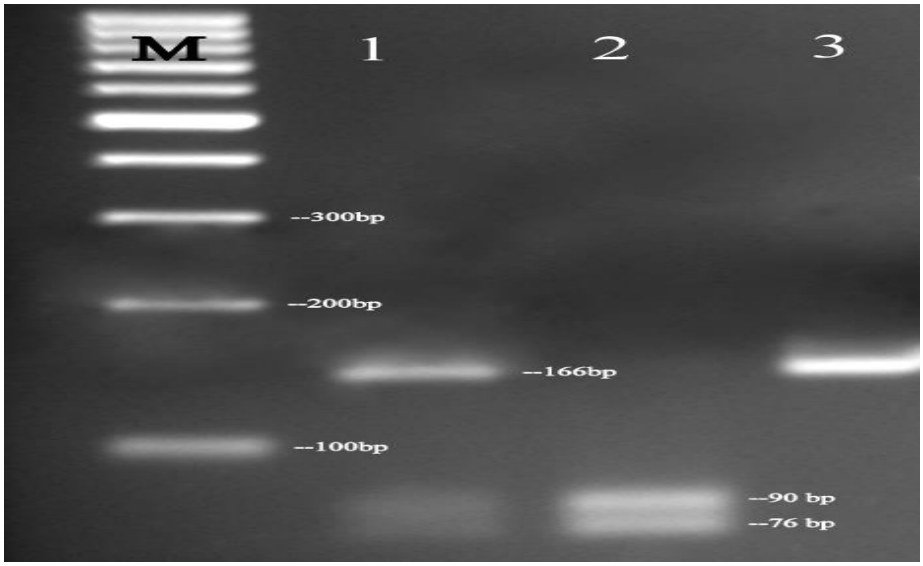
Çizelge 2.3. Kesim sonrası genotiplerde gözlenen bant büyüklükleri

PROMOTER -318C>T	**GENOTİP**	**CC**	**CT**	**TT**
	Bant Büyüklükleri	247 bç	20 bç 95 bç 132 bç 247 bç	20 bç 95 bç 132 bç
EKZON 1 +49A>G	**GENOTİP**	**AA**	**AG**	**GG**
	Bant Büyüklükleri	166 bç	76 bç 90 bç 166 bç	76 bç 90 bç
EKZON 4 CT60A>G	**GENOTİP**	**AA**	**AG**	**GG**
	Bant Büyüklükleri	20 bç 196 bç	20 bç 196 bç 216 bç	216 bç

Her üç bölgeye ait elektroforez sonrasında agaroz je görüntüleri şekil 2.1, 2.2 ve 2.3 de verilmiştir.

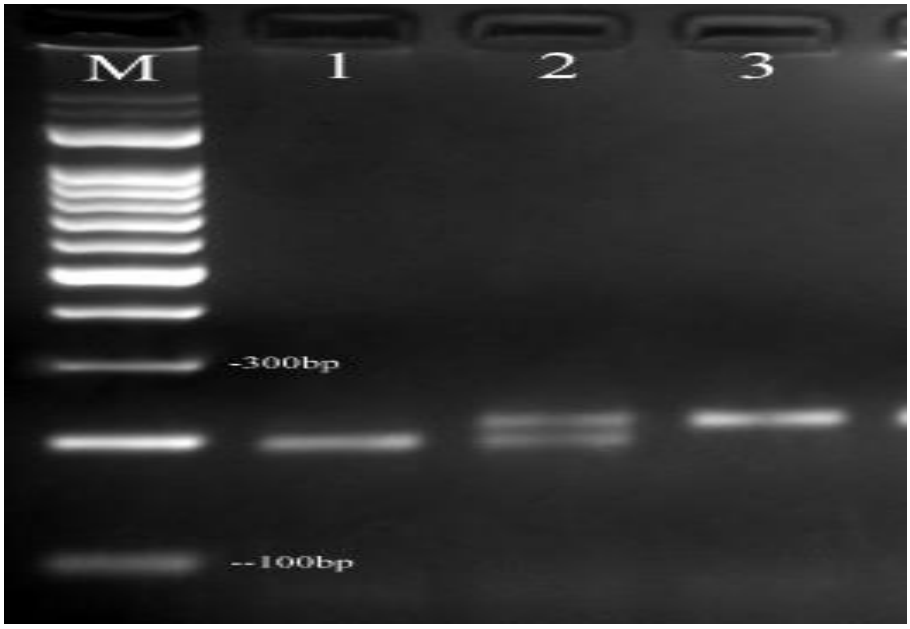


Şekil 2.1. CTLA-4 genin promoter bölgesinin -318C>T değişiminin MseI enzimi kesimi ile belirlenmesi. M(marker), 1,3 kuyucuklar 247bp' lik CC genotipli homozigot normal, 2,4 nolu kuyucuklar 247bp, 132bp, 96 bp' lik CT genotipli heterozigotlar, 5 nolu kuyucuk TT 132bp ve 96bp'lik homozigot mutant birey genotipleridir.



Şekil 2.2. CTLA-4 geninin Ekzon 1 bölgesindeki +49A>G değişiminin Bbvl enzimi kesimi ile belirlenmesi.M(marker), 1 kuyucuk 166bp, 90bp, 76bp lik AG genotipli heterozigot, 2 nolu kuyucuk 90bp,76 bp lik GG genotipli homozigot mutant, 3 nolu kuyucuk AA 166bp, lik homozigot normal birey genotipleridir.

.



Şekil 2.3. CTLA-4 geninin Ekzon 4 bölgesindeki CT60A>G değişiminin Nco I enzim kesimi ile belirlenmesi. M(marker), 1 kuyucuk 196 bp, 20 bp lik AA genotipli homozigot normal, 2 nolu kuyucuk 216bp,196bp,20 bp lik AG genotipli heterozigot, 3 nolu kuyucuk GG 216 bp' lik Homozigot mutant birey genotipleridir.

2.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın analizinde SPSS 13.0 paket programı kullanıldı. Çalışmada kategorik değer alan değişkenler frekans ve yüzde ile gösterildi. Kategorik değişkenlerin bağımlı grup karşılaştırmalarında McNemar testi, bağımsız grup karşılaştırmalarında Pearson ki-kare testi kullanıldı. Bu testlerle hasta ile kontrol grubunun CTLA-4 gen polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olup olmadığı, hasta grubunda CTLA-4 gen polimorfizmi ile cinsiyet, yaş, PASI değerleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak araştırıldı Çalışmada p değeri 0,05'in altındaki karşılaştırmalar anlamlı kabul edildi.

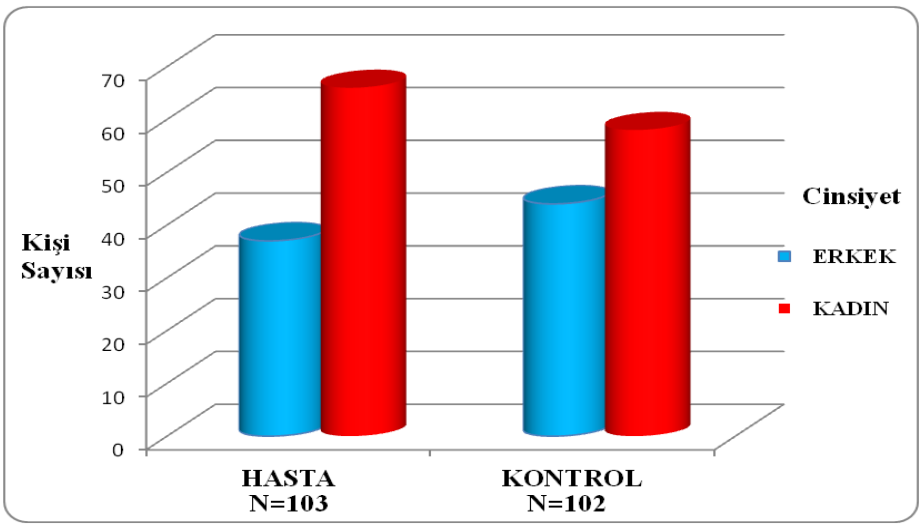
3. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 103 hastanın yaş ortalaması 37,8 olup cinsiyet dağılımları 37 erkek / 66 kadın iken, 102 kontrol olgusunun yaş ortalaması 37,2 olup cinsiyet dağılımları da 44 erkek 58 kadın şeklindedir. Kontrol ve hasta gurupları cinsiyet dağılımı bakımından Pearson ki-kare testi ile karşılaştırıldığında iki gurup arasında cinsiyet bakımından herhangi bir farklılığın olmadığı görüldü (p=0,291).

Çizelge 3.1. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet bakımından Pearson ki-kare testi ile karşılaştırılması

CİNSİYET	ERKEK	KADIN
Hasta n=103(%)	37 (%35,9)	66 (%64,1)
Kontrol n=102(%)	44 (%43,1)	58 (%56,9)
Toplam n= 205(%)	81(%39,5)	124(%60,5)
p değeri	0,291	

.



Şekil 3.1. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyete göre dağılımı.

Uygulanan Mann Whitney U testi ile de hasta ve kontrol grubu arasında yaş bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0,718).

Çizelge 3.2. Hasta ve kontrol gruplarının yaş verilerinin Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması (p=0,718).

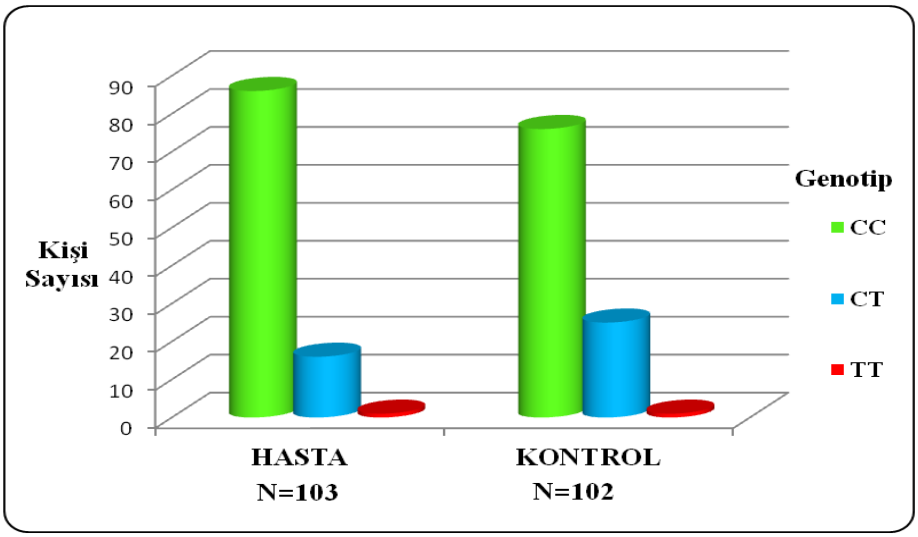
Grup	N	Ortalama	Medyan	Std. Sapma	Minimum	Maksimum
Kontrol	102	37,23	34	16,767	8	84
Hasta	103	37,83	36	16,832	8	82
Total	205	37,53	36	16,761	8	84

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubu olgularında, promoter -318C>T bölgesinde gözlenen genotiplerin dağılımı çizelge 3.3.'de özetlenmiştir. Bu çizelgeye göre kontrol grubundaki 102 kişinin 76'sının CC, 25'inin CT ve 1'inin TT genotiplerine sahipken hasta grubundaki 103 kişinin 85'inin CC, 16'sının CT ve 1'inin TT genotipinde olduğu tespit edildi.

Çizelge 3.3. Hasta ve kontrol olgularında promoter -318C>T bölgesinde gözlenen genotiplerin Pearson ki-kare testi ile karşılastırılması ve HWE(Hardy Weinberg Eşitliği) analizi.

PROMOTER -318C>T (genotip)	CC	CT	TT	HWE (p)
Hasta n=103(%)	86 (%83.5)	16 (%15.6)	1 (%0.9)	0,792
Kontrol n=102(%)	76 (%74.6)	25 (%24.5)	1 (%0.9)	0,498
Toplam n= 205(%)	162(%79,1)	42(%20)	2(%0,9)	
p değeri		0,077		

Çalışmada promoter -318C>T polimorfizmi için hastalara ait genotip dağılımı ile kontrol olgularına ait genotip dağılımı Pearson ki-kare testi ile karşılaştırıldı ve iki grup arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi (P=0.077). Hasta ve kontrol gruplarında CC, CT ve TT genotip dağılımlarının Hardy weinberg eşitliğinden sapma göstermediği anlaşıldı(hasta grubu için p=0,792, kontrol grubu için p=0,498).



Şekil 3.2. Hasta ve kontrol olgularında -318C>T bölgesinde gözlenen genotiplerin kişi sayısına göre dağılımı.

-318C>T bölgesi için saptanan allel frekansları hasta ve kontrol grupları arasında karşılastırıldı ve allel frekansı bakımından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farkın olmadığı saptandı (p=0,145).

Çizelge 3.4. Promoter -318C>T bölgesi için gözlenen allel frekanslarının hasta ve kontrol grubuna göre dağılımının Pearson ki-kare testi ile karşılastırılması.

Bölge	Allel	Hasta N(%)	Kontrol N(%)	P -değeri
PROMOTER -318C>T	**C**	188(91,26)	177(86,77)	0,145
	T	18(8,74)	27(13,23)	

-318C>T polimorfizminin hastalığın ortaya çıkış yaşı üzerinde etkili olup olmadığını değerlendirmek üzere, gözlenen genotiplerin dağılımı erken yaş (<40yaş) hasta grubu ile geç yaş (≥ 40yaş) hasta grubu arasında karşılaştırıldı ve iki grup arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edildi (p=0,701) (Çizelge 3.6.).

Aynı bölge için allel frekanslarının dağılımları yine hastalğın ortaya çıkış yaşına göre değerlendirildiğinde iki grup arasında herhangi bir fark gözlenmedi (p=0,229) (Çizelge 3.7.).

Çizelge 3.5. -318C>T Polimorfizmi ve Psoriazis Vulgaris risk analizi.

Genetik Model	OR(%95CI)	P
C-T	0,628(0,334-1,174)	0,145
CC-TT	0,884(0,054-14,372)	0,93
CC-CT	0,566(0,281-1,138	0,107
TT-CT	0,640(0,037-10,975)	0,756
CC-(CT+TT)	0,578(0,291-1,146)	0,114
(CC+CT)+TT	1,010(0,062-16,367)	0,93

-318C>T Polimorfizminin Psoriazis vulgaris ile ilişkisine yönelik analizler Çizelge 3.5. yer almaktadır. Hasta ve kontrol bireylerinin genotip verilerinin analizi neticesinde -318C>T polimorfizmi Psoriaizis vulgarisle herhangi bir ilişki göstermedi.

Çizelge 3.6. -318C>T bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,701).

PROMOTER -318C>T	ERKEN Yaş <40	GEÇ Yaş ≥40	Toplam
CC	74 (%86)	12 (%14)	86
CT	13 (%81,3)	3 (%18,8)	16
TT	1 (%100,0)	0 (%0)	1
Toplam	88	15	103

Çizelge 3.7. -318C>T bölgesinde gözlenen alellerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,229).

Bölge	Allele	ERKEN Yaş <40	GEÇ Yaş ≥40	p değeri
PROMOTER -318C>T	**C**	161(%85,6)	27(%14.4)	0,229
	T	15(%100)	0(%0)	

-318C>T polimorfizmi ile hastalığın şiddeti arasındaki ilişkinin ortaya konmasına yönelik olarak hafif (PASI<12) ve şiddetli (PASI≥12) hasta grubu arasında yapılan karşılaştırmada genotip dağılımları bakımından herhangi bir

farklılık saptanmaz (p=0,681) (çizelge 3.8.) iken allel frekansları bakımından iki grup arasında anlamlı bir farkın olduğu gözlendi (p=0,001) (Çizelge 3.9.).

Çizelge 3.8. -318C>T bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,681**).**

PROMOTER -318C>T	HAFİF (PASI<12)	ŞİDDETLİ (PASI≥12)	Toplam
CC	49 (%57)	37 (%43)	86
CT	10 (%62,5)	6 (%37,5)	16
TT	0 (%0)	1 (%100)	1
Toplam	59	44	103

Çizelge 3.9. -318C>T bölgesinde gözlenen alellerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,001**).** Fisher kesin ki-kare

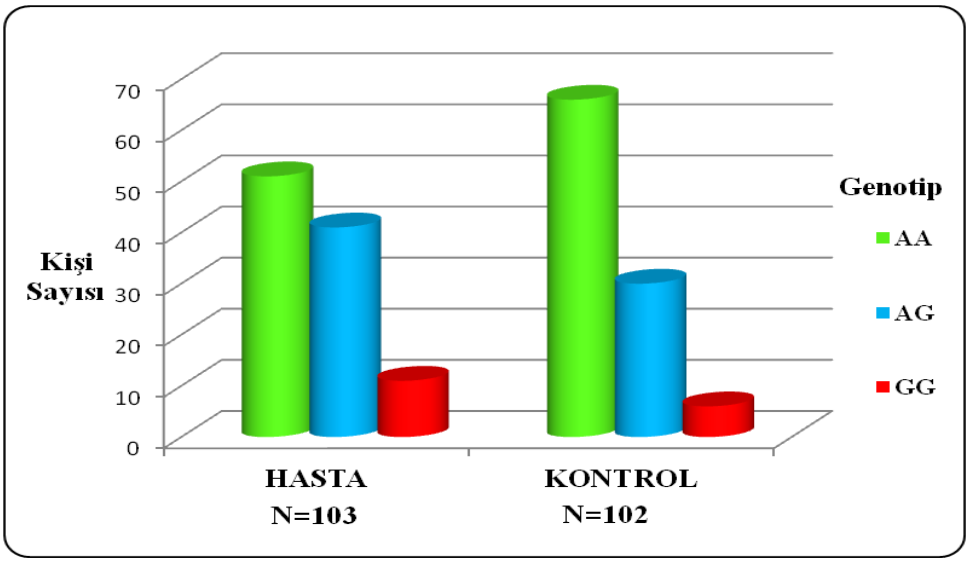
Bölge	Allele	HAFİF (PASI <12)	ŞİDDETLİ (PASI≥12)	p değeri
PROMOTER -318C>T	**C**	118(%59,5)	80(%40,5)	0,001*
	T	0(%0)	8(%100)	

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubu olgularında ekzon 1 +49A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin dağılımı Çizelge 3.10.'de özetlenmiştir. Bu çizelgeye göre kontrol grubundaki 102 kişinin 66'sının AA, 30'unun AG ve 6'sının GG genotiplerine sahipken; hasta grubundaki 103 kişinin 51'inin AA, 41'inin AG ve 11'inin GG genotipinde olduğu tespit edildi.

Çizelge 3.10. Hasta ve kontrol olgularında ekzon 1 +49A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin Pearson ki-kare testi ile karşılastırılması ve HWE(Hardy Weinberg Eşitliği) analizi.

EKZON I +49A>G (genotip)	AA	AG	GG	HWE (p)
Hasta n=103(%)	51 (%49.5)	41 (%39.8)	11 (%10.7)	0,526
Kontrol n=102(%)	66 (%64.7)	30 (%29.4)	6 (%5.9)	0,31
Toplam n= 205(%)	117(%57,1)	71(%34,6)	17(%8,3)	
p değeri		0,078		

Çalışmada ekzon 1 +49A>G polimorfizmi için hastalara ait genotip dağılımı ile kontrol olgularına ait genotip dağılımı Pearson ki-kare testi ile karşılaştırıldı ve iki grup arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi (P=0.078). Hasta ve kontrol gruplarında AA, AG ve GG genotip dağılımlarının Hardy weinberg eşitliğinden sapma göstermediği anlaşıldı (hasta grubu için p=0,526, kontrol grubu için p=0.310).



Şekil 3.3. Hasta ve kontrol olgularında ekzon 1 +49A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin kişi sayısına göre dağılımı.

+49A>G bölgesi için saptanan allel frekansları hasta ve kontrol grupları arasında karşılastırıldı ve allel frekansı bakımından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farkın olduğu saptandı (p=0,020).

Çizelge 3.11. Ekzon 1 +49A>G bölgesi için gözlenen allel frekanslarının hasta ve kontrol grubuna göre dağılımının Pearson ki-kare testi ile karşılastırılması.

Bölge	Allel	Hasta N(%)	Kontrol N(%)	P -değeri
EKZON I +49A>G	**A**	143(69,42)	162(79,41)	**0,020***
	G	63(30,58)	42(20,59)	

Çizelge 3.12. +49 A>G Polimorfizmi ve Psoriazis Vulgaris risk analizi.

Genetik Model	OR(%95CI)	p
A-G	1,699(1,083-2,667)	0,02
AA-GG	2,373(0,822-6,846)	0,103
AA-AG	1,769(0,974-3,210)	0,059
GG-AG	0,745(0,248-2,241)	0,6
AA-(AG+GG)	1,869(1,067-3,274)	0,028
(AA+AG)-GG	0,523(0,186-1,472)	0,213

+49A>G Polimorfizmine yönelik ilişki analiz verileri Çizelge 3.12'de yer almaktadır. Buna göre +49A>G polimorfizmi allel frekansları ve dominant model bakımından Psoriazis vulgaris ile kuvetli bir ilişki göstermektedir. G allelinin hasta grubundaki frekansı, kontrol grubundaki frekansın yaklaşık 1,7 katı (p=0,020) iken, yine homozigot modelin hastalarda Psoriazis ile ilişkisi kontrollerin yaklaşık 1,9 katıdır (p=0,028). Diğer genetik modeller bakımından polimorfizm ile hastalık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamadı.

Çizelge 3.13. +49A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,725**).**

EKZON I +49A>G	ERKEN Yaş < 40	GEÇ Yaş ≥40	Toplam
AA	45 (%88,2)	6 (%11,8)	51
AG	34 (%82,9)	7 (%17,1)	41
GG	9 (%81,8)	2 (%18,2)	11
Toplam	88	15	103

Ekzon 1 +49A>G polimorfizminin hastalığın ortaya çıkış yaşı ile ilişkisi erken yaş hasta grubu ile geç yaş hasta grubunda gözlenen genotip dağılımları karşılaştırılarak değerlendirildi (Çizelge 3.13.). Bu karşılaştırmaya göre erken yaş ve geç yaş grubu arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edildi (p=0,725).

Çizelge 3.14. +49A>G bölgesinde gözlenen alellerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,434)

Bölge	Allele	ERKEN Yaş < 40	GEÇ Yaş ≥40	p değeri
EKZON I +49A>G	A	124(%86,7)	19(%13,3)	0,434
	G	52(%82,5)	11(%17,5)	

Allel frekanslarıyla yapılan karşılaştırmada da erken ve geç yaş hasta grubu arasında herhangi bir farklılık saptanmadı (p=0,434) (Çizelge 3.14.).

+49A>G polimorfizmi ile hastalığın şiddeti arasındaki ilişkinin ortaya konmasına yönelik olarak hafif (PASI<12) ve şiddetli (PASI≥12) hasta grubu arasında yapılan karşılaştırmada genotip dağılımları bakımından herhangi bir farklılık saptanmadı (p=0,545) (Çizelge 3.15.). Allel frekanslarının hafif ve şiddetli hasta grubuna göre olan dağılımlarında da herhangi bir farklılığın olmadığı tespit edildi (p=0.373) (Çizelge 3.16.).

Çizelge 3.15. +49A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,545**).**

EKZON I +49A>G	HAFİF (PASI<12)	ŞİDDETLİ (PASI≥12)	Toplam
AA	28 (%54,9)	23 (%45,1)	51
AG	23 (%56,1)	18 (%43,9)	41
GG	8 (%72,7)	3 (%27,3)	11
Toplam	59	44	103

Çizelge 3.16. +49A>G bölgesinde gözlenen alellerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,373**).**

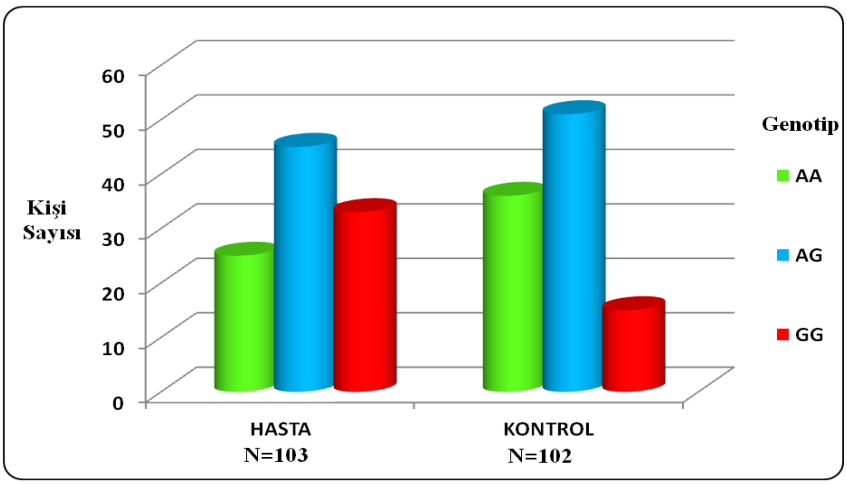
Bölge	Allele	HAFİF (PASI <12	ŞİDDETLİ (PASI≥12)	p değeri
EKZON I +49A>G	A	79(%55,2)	64(%54,8)	0,373
	G	39(%61,9)	24(%48,1)	

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubu olgularına ait CTLA-4 geni, ekzon 4 CT60A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin dağılımı Çizelge 3.17.'de özetlenmiştir. Bu çizelgeye göre kontrol grubundaki 102 kişinin 36'sının AA, 51'inin AG ve 15'inin GG genotiplerine sahipken; hasta grubundaki 103 kişinin 25'nin AA, 45'inin AG ve 33'ünün GG genotipinde olduğu tespit edildi.

Çizelge 3.17. Hasta ve kontrol olgularında ekzon 4 CT60A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin Pearson ki-kare testi ile karşılastırılması ve HWE(Hardy Weinberg Eşitliği) analizi.

EKZON IV CT60A>G (genotip)	AA	AG	GG	HWE (p)
Hasta n=103(%)	25 (%24,3)	45 (%43,7)	33 (%32)	0,22
Kontrol n=102(%)	36 (%35,3)	51 (%50)	15 (%14,7)	0,655
Toplam n= 205(%)	61(%29,8)	96(%46,9)	48(%23,3)	
p değeri		0,011		

Çalışmada ekzon 4 CT60A>G polimorfizmi için hastalara ait genotip dağılımı ile kontrol olgularına ait genotip dağılımı Pearson ki-kare testi ile karşılaştırıldı ve iki grup arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edildi (p=0,011). Hasta ve kontrol gruplarında AA, AG ve GG genotip dağılımlarının Hardy Weinberg eşitliğinden sapma göstermediği anlaşıldı (hasta grubu için p=0,22, kontrol grubu için p=0,655).



Şekil 3.4. Hasta ve kontrol olgularında CT60A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin kişi sayısına göre dağılımı.

CT60A>G bölgesi için saptanan allel frekansları hasta ve kontrol grupları arasında karşılastırıldı ve allel frekansı bakımından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farkın olduğu saptandı (p=0,040) (Çizelge 3.18.).

Çizelge 3.18. Ekzon 4 CT60A>G bölgesi için gözlenen allel frekanslarının hasta ve kontrol grubuna göre dağılımının Pearson ki-kare testi ile karşılaştırılması.

Bölge	Allel	Hasta N(%)	Kontrol N(%)	P -değeri
EKZON IV CT60A>G	**A**	95(46,12)	123(60,29)	**0.040***
	G	111(53,88)	81(39,71)	

CT60A>G polimorfizminin hastalığın ortaya çıkış yaşı ile ilişkisi, erken yaş hasta grubu ile geç yaş hasta grubu arasında gözlenen genotip dağılımlarının karşılaştırılmasıyla ortaya konmaya çalışıldı. Buna göre iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı(p=0.080) (Çizelge 3.20.). Aynı şekilde allel frekansları ile yapılan karşılaştırmada da iki grup arasında herhangi bir farklılığın olmadığı görüldü (p=0.434) (Çizelge 3.21.).

Çizelge 3.19. CT60A>G Polimorfizmi ve Psoriazis Vulgaris risk analizi.

Genetik Model	OR(%95CI)	p
A-G	1,774(1,99-2,626)	0,004
AA-GG	3,168(1,430-7,019)	0,004
AA-AG	1,271(0,664-2,431)	0,469
GG-AG	0,401(0,193-0,832)	0,013
AA-(AG+GG)	1,702(0,928-3,121)	0,084
(AA+AG)-GG	0,366(0,184-0,727)	0,003

CT60A>G polimorfizmi ile psoriazis vulgaris arasındaki ilişki yönelik analizler Çizelge 3.17'de yer almaktadır Allel frekansları, kodominat 2(AA-GG) ve resesif [(AA+AG)-GG] modele göre polimorfizm ile Psoriazis vulgaris arasında güçlü bir ilişki tespit edildi (sırasıyla p=0,004, p=0004, p=0,013, p=0,003). G allelinin hastalardaki frekansı kontrollerdeki frekansının yaklaşık 1,8 misli olduğu

saptanırken, yine kodominat 2(GG-AG) modelde hastalarda GG alleline sahip olanların Psoriazis vulgaris riski kontrollere göre 3,2 kat, kodominat 1 modelde AG genotipine sahip olanların 0,4 kat ve resesif modelde GG genotipinin 0,4 kat yüksek olduğu bulundu.

Çizelge 3.20. CT60A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,080).

EKZON IV CT60A>G	**ERKEN Yaş < 40**	**GEÇ Yaş ≥40**	**Toplam**
AA	24 (%96)	1 (%4)	25
AG	35 (%77,8)	10 (%22,2)	45
GG	29 (%87,9)	4 (%12,1)	33
Toplam	88	15	103

Çizelge 3.21. CT60A>G bölgesinde gözlenen alellerin hastalığın ortaya çıkış yaşına göre dağılımı (p=0,434**).**

Bölge	**Allele**	**ERKEN Yaş < 40**	**GEÇ Yaş ≥40**	**p değeri**
EKZON IV CT60A>G	**A**	83(%87,3)	12(%12,7)	0,434
	G	93(%83,7)	18(%16,3)	

CT60A>G polimorfizminin hastalığın şiddeti ile ilişkisini değerlendirmek üzere PASI değeri 12'den küçük olan (hafif) hastalar ile PASI değeri 12 ve üzeri olan (şiddetli) hastalarda gözlenen genotip dağılımları karşılaştırıldı ve iki hasta grubu arasında genotip dağılımları bakımından herhangi bir farklılık saptanmadı (p=0,197) (Çizelge 3.22.). Allel frekansları ile yapılan karşılaştırmada yine iki grup arasında bir fark gözlenmedi (p=0.136)(Çizelge 3.23.).

Çizelge 3.22. CT60A>G bölgesinde gözlenen genotiplerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,197).

EKZON IV CT60A>G	HAFİF (PASI<12)	ŞİDDETLİ (PASI≥12)	Toplam
AA	12 (%48,0)	13 (%52,0)	25
AG	24 (%53,3)	21 (%46,7)	45
GG	23 (%69,7)	10 (%30,3)	33
Toplam	59	44	103

Çizelge 3.23. CT60A>G bölgesinde gözlenen alellerin hastalık şiddetine göre dağılımı (p=0,136).

Bölge	Allele	HAFİF (PASI<12)	ŞİDDETLİ (PASI≥12)	p değeri
EKZON IV CT60A>G	**A**	48(%51,6)	45(%48,4)	0,136
	G	70(%61,9)	43(%38,1)	

4. TARTIŞMA

Psoriazis etiyopatogenezinde tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte immünolojik, otoimmün ve genetik faktörlerin rol oynadığı ileri sürülmektedir. Dermatoloji kliniklerine başvuran hastaların % 6-8'ini psoriazis hastaları oluşturmaktadır (Braun-Falco ve ark 2000, Chandran ve Raychadhuri 2010). Nickoloff ve Nestle (2004) yılında yaptıkları araştırmada psoriazis'in ekvator bölgesinde düşük insidansta iken, kutuplara doğru insidansının artığını saptamışlardır. Her hastada farklı klinik ve seyir göstermesine karşın, tanı için anamnez ve fiziki muayene çoğu zaman yeterli olur. Ancak klinik olarak tanı konulamayan hastalarda histopatolojik tetkik gerekebilir.

Psoriazis genetik ve çevresel faktörlerle etkileşen poligenik bir hastalıktır. Genetik faktörlerin klinik belirtilere, başlangıç yaşına, tipine ve şiddetine katkısı olabilir. Hipotez olarak, genetik değişiklikler immun hücre ve keratinositleri aktive edecek uyarıyı vererek (PSORS2) ve/veya primer antijen sunumunu etkileyerek (HLA-Cw6 lokusuyla ilişkili PSORS1) hastalığın gelişimine yol açabilir. Psoriazis genetik olarak heterojen bir hastalıktır. Multiple genlerin tutulup çevresel faktörlerle etkileşiminin hastalık oluşumunda önemli bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Genetik çatı temelinde hastalığın şiddet ve lokalizasyon (tırnak, eklem, palmoplantar) belirtileri bireyler ve popülasyonlar arasında değişkenlik göstermektedir. Popülasyon ve ikiz çalışmaları, psoriazis'in büyük oranda ailesel geçiş ihtimalini düşündürmektedir. Bazı geniş kapsamlı çalışmalarda ebeveynlerden geçişte özellikle babada hastalık varsa hastalığın daha ağır bir klinik tabloyla çocuğa geçebileceği rapor edilmiştir (Gudjonsson ve ark 2004, Galadari ve ark 2005).

Çalışmada yer alan Psoriazis vulgaris'li hasta ve kontrol grubu arasında yaş dağılımları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0,718). Yapılan birçok araştırmada paralel sonuçlar tespit edilmiştir. Aykol ve ark (2011) 640 psoriazis'li olgu üzerine yaptıkları araştırmada, hastalığın geniş bir yaş dağılım gösterdiği (1-77 yaş) ve olgunun oluşumunda bireyin yaşının bir faktör olarak etki göstermediğini ileri sürmüştür.

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubu olgularının cinsiyet bakımından karşılaştırılmasında, psoriazis vulgaris olgusuyla bireyin cinsiyeti arasında anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı tespit edildi (p=0,291). Psoriazis her iki cinsi de eşit sıklıkla tutmakta ancak kadınlarda daha erken yaşlarda başlayabilmektedir (Barker 2001).

Aykol ve ark (2011) yılında psoriazis'li bireyler ile yapmış oldukları çalışmada kadın/erkek oranı= 1 olarak rapor etmişlerdir, araştırmamızdada bu oran 1 olarak tespit edilmiştir.

Psoriazis keratinosit hiperproliferasyonu ve dermis ve epidermiste aktive olmus T hücre birikmesiyle karakterize enflamatuar bir hastalıktır (Griffiths ve ark 1995). Dolayısıyla hastalığın patogenezinde T-hücreler anahtar bir role sahiptir (Abrams ve ark 2000). CTLA-4 T hücre proliferasyonunu azaltıcı yönde düzenlediğinden T hücre aracılı otoimmüm hastalıklar için aday gen olarak kabul görmektedir. Bu noktadan hareketle çalışmada da bu aday gen ile artık bir otoimmün hastalık olarak tanımlanan Psoriazis vulgaris arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. CTLA-4 geninde çeşitli pozisyonlarda çeşitli polimorfizmler bildirilmiştir: -1722, -1661, -318, +49 ve +6230(CT60). Mevcut çalışmada da CTLA-4 molekülünün etkinliği ve fonksiyonu üzerindeki etkileri dikkate alınarak promoter bölgesindeki -318C>T, ekzon 1' de ve proteinin lider dizisi içinde yer alan +49A>G ve ekzon 4'de yer alan CT60A>G polimorfizmleri çalışılmıştır. Nitekim -318C>T polimorfizminin promoter aktivitesi üzerinde etkili olduğu ve transkripsiyonu değiştirdiği ileri sürülmektedir (Wang ve ark 2002). +49A>G polimorfizmi molekülün CD-80'e bağlanması için çok önemli olan lider dizisinde yer almaktadır (Ueda ve ark 2003). Bu polimorfizmin posttranslasyonal modifikasyonu ve T hücre aktivasyonunu etkilediği öne sürülmektedir (Sun ve ark 2005). Möuner ve ark (2002) bu polimorfizmin T-hücre yanıtını, IL-2 regülasyonunu ve CTLA-4'ün hücresel dağılımını etkileyerek otoimmün hastalık patogenezine katkıda bulunabileceğini göstermişlerdir. Kouki ve ark (2000) da +49 pozisyonunda G alleli taşıyanların daha düşük protein ekspresyonu ve buna bağlı olarak bariz T hücre proliferasyonu gösterdiklerini bulmuştur. CT60A>G polimorfizminin ise alternatif splicing ve soluble CTLA-4 mRNA üretimini etkilediği düşünülmektedir (Ueda ve ark 2003). Her üç SNP'nin ayrı ayrı ya da birlikte sinerjetik etkiyle CTLA-4 molekülünün üretimini etkileyerek T hücre proliferasyonuna yol açabilecekleri öngörüsü ile bu üç polimorfizmin Psoriazis vulgaris patogenezinde rol oynayıp oynamadıkları araştırılarak hastalığın şiddeti ve başlangıç yaşı üzerinde bir etkiye sahip olup olmadıkları değerlendirilmiştir.

Literatürde CTLA-4 gen polimorfizmlerinin Psoriazis ile ilişkisini ortaya koymaya yönelik sadece birkaç çalışma yer almaktadır.(Lee ve ark 2001, Luszczek ve ark 2006, Luszczek ve ark 2008). Bilgilerimize göre araştırmamızda çalıştığımız

üç SNP (-318C>T, +49A>G ve CT60A>G)'nin bir arada Psoriazis vulgaris etyopatogenezi üzerine etkilerinin çalışıldığı başka bir çalışma bulunmamaktadır. Mevcut çalışmada promoter bölgesinde yer alan -318C>T polimorfizmi ile Psoriazis vulgaris arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Hem allel frekansları hem de genotip frekansları kontroller ile hastalar arasında karşılaştırıldığında bir farklılık bulunamamış; yine incelenen bütün genetik modellere göre de polimorfizm ile hastalık arasında bir ilişki tespit edilememiştir. Aynı şekilde Luszczek ve ark (2006) da Psoriazis vulgarisli hastalar ile yaptıkları çalışmalarında -318C>T polimorfizmi ile hastalık arasında bir ilişki tespit edememişlerdir.

CTLA-4 geni -318C>T polimorfizminin diğer otoimmün hastalıklarla ilişkisini değerlendiren çalışmaların bir kısmı bizim bulgularımızı desteklemektedir. Ankylosing spondilit hastaları (Azizi ve ark 2010, Pavoni ve ark 2006) ve Pemphigus foliaceous hastaları (Chong ve ark 2008) ile yapılan çalışmalarda -318C>T polimorfizmi ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bununla birlikte çalışmaların bir kısmında da -318C>T polimorfizmi ile otoimmün hastalıklar arasında korelasyon bulunmuştur. Çin popülasyonunda çocukluk çağı Graves hastalarında bu polimorfizmin hastalık ile önemli ilişki göstermediği saptanmıştır (Almasi ve ark 2006). İran popülasyonunda sistemik skleroz hastalarında yapılan çalışmada da söz konusu polimorfizmin hastalık ile güçlü bir korelasyona sahip olduğu tespit edilmiş (Takeuchi ve ark 2007) ve bu sonuç daha sonra Japon popülasyonunda (Balbi ve ark 2007) da doğrulanmıştır.

+49A>G, en çok çalışılan ve otoimmün hastalık ve kanserler ile ençok ilişkilendirilen CTLA-4 gen varyansyonu durumundadır. Çalışmamızda da bu polimorfizm allel frekansları ve dominat model açısından Psoriazis vulgaris ile güçlü bir ilişki göstermiştir($p<0,005$). G allelinin hasta grubundaki frekansı kontrol grubundaki frekansının yaklaşık 1,7 katıdır. Dolayısıyla G alleli Psoriazis vulgaris için bir risk faktörü gibi görünmektedir. Yine dominat modele göre de G alleli ile hastalık arasında güçlü bir korelasyon söz konusudur. Aynı polimorfizmin Psoriazis vulgaris ile ilişkisini araştıran diğer çalışmaların sonuçları ise bizim sonuçlarımızla çelişkilidir. Luszczek ve ark 2008 ; 141 Psoriaizis vulgarisli hasta ile yaptıkları çalışmalarında Polonya popülasyonunda bu polimorfizm için allel ve genotip dağılımlarının hasta ve kontroller arasında benzer olduğunu bulmuşlardır. Yine Kore popülasyonunda (Luszczek ve ark 2006) ve Japon popülasyonunda (Yanagawa ve ark 1997) gerçekleştirilen çalışmalarda da bu polimorfizmin hastalık ile ilişki

göstermediği saptanmıştır. Psoriaizis vulgaris ile değil, ancak diğer otoimmün hastalıklar ile bu polimorfizmin ilişkisini araştıran çalışmaların bazılarının sonuçları bizim sonuçlarımız ile uyumludur. Bu çalışmalarda +49A>G polimorfizminin Graves' hastalığı (Gonzales-Escribano ve ark 1999, Almasi ve ark 2006), romatoid artrit (Cosentino ve ark 2002), tip I diyabet (Ligres ve ark 1999), multiple skleroz (Ülker ve ark 2009) ve sistemik lopus eritematosus (Wang ve ark 2002) ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Diğer yandan +49A>G polimorfizminin Myastenia graves hastalığı (Dyment ve ark 2002), multiple skleroz (Yanagawa ve ark 1999) ve tip I diyabet (Kavvoura ve ark 2007) ile ilişkili göstermediğini öne süren ve bizim sonuçlarımızla çelişkili olan çalışmalar da mevcuttur.

CT60A>G polimorfizmine yönelik verilerimize göre allel frekansları, kodominant 1, kodominant 2 ve resessif model açısından polimorfizm ile psoriazis vulgaris arasında güçlü bir ilişki söz konusudur. G alleli Psoriazis vulgaris için bir risk faktörü olarak görünmektedir. Luszczek ve ark (2006) 116 psoriazis vulgaris hastası ile yaptıkları çalışmalarında CT60A>G allel ve genotip dağılımlarının hasta ve kontroller arasında farklılık göstermediğini bulmuşlardır. Ayrıca Chong ve ark (2008) Çinli çocuklarda bu polimorfizmin çocukluk çağı Graves hastalığına yatkınlıkta rol oynadığını ileri sürerken (Almasi ve ark 2007), Kavvoura ve ark (2007) 11,019 olguluk meta analizleri sonucunda CT60A>G polimorfizminin Graves hastalığı ve Hashimoto tiroidi için önemli bir genetik risk belirteci olabileceğini ortaya koymuşlardır (Ghaderi 2011).

CTLA-4 geni polimorfizmlerine yönelik verilerin değişken ve çelişkili olması; çalışılan popülasyonların farklılığı, popülasyonların büyüklüğü ve söz konusu hastalıkların zaten multifaktöriyel bir doğaya sahip olmaları ile açıklanabilir. Mevcut çalışmada promoter aktivitesi ve transkripsiyon üzerinde değişiklik yaparak hastalık patogenezinde rol oynayabileceği düşüncesiyle -318C>T polimorfizmi; posttranslasyonal modifikasyonu ile T hücre aktivasyonunu değiştirerek etki gösterebileceği düşüncesiyle +49A>G ve alternatif splicing ve sCTLA-4 mRNA üretimini etkileyebileceği düşüncesiyle de CT60A>G polimorfizmleri çalışıldı. -318C>T polimorfizminin hastalık patogenezinde çok etkili olmadığı görülürken +49A>G ve CT60A>G polimorfizmlerinin hastalık için bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceği saptandı.

Psoriazis vulgaris patogenezinde +49A>G ve CT60A>G polimorfizmlerinin etkilerini ortaya koymada daha büyük hasta popülasyonlarında bu polimorfizlerle

birlikte CTLA-4 molekülünün ekspresyon analizinin de değerlendirilmesi daha net ve daha kesin sonuçların elde edilmesini sağlayacaktır. CTLA-4 geninin bu üç polimorfizmin ayrı ayrı olabileceği gibi hep birlikte sinerjik etkiyle CTLA-4 molekülü üretimini etkileyerek T hücre proliferasyonuna yol açabilmesi mümkün görünmektedir. Bu nedenle bizim çalışmamızda eksik olmakla birlikte özellikle çoklu polimorfizm çalışmalarında bu tip bileşke etkilerin ortaya konmasında Haplotip analizi önemli sonuçlar sağlayacaktır.

Çalışmada CTLA-4 gen polimorfizmlerinin psoriazis vulgarisin başlangıç yaşı ve hastalığın şiddeti şeklindeki klinik özellikleri üzerindeki etkileri de değerlendirildi. Bunun için Psoriazisli olgular hastalığın başlangıç yaşına göre erken başlangıç yaşı (<40 yaş) ve geç başlangıç yaşı (≥40 yaşı) şeklinde iki grup olarak değerlendirildi. Aykol ve ark (2011) yılında psoriazis'li bireyler ile yapmış oldukları çalışmada psoriazis'in erken yaşlarda başlayanlarda geç başlangıçlılara göre daha şiddetli seyredebildiği, kadın ve erkeklerde görülme oranının eşit olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada erken yaş grubu ile geç yaş grubu arasında -318C>T, +49A>G, CT60A>G bölgelerinin genotip ve allel frekansları bakımından yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. CTLA-4 geni polimorfizmleri, hastalığın ortaya çıkış yaşı üzerinde etkili gibi görünmemektedir.

Polimorfizmlerin hastalığın şiddeti üzerinde etkili olup olmadığının araştırılmasında yine hastalar PASI değerlendirmesine göre iki gruba ayrılmıştır: Hafif (PASI<12) ve Şiddetli (PASI≥12). PASI, psoriazisli hastalarda tutulan alan ile birlikte hastalığın şiddetinin de ölçülmesine olanak sağlayan bir indekstir (Fredriksson 1978, Marks 1989). Biçer ve ark (2010) yılında yaptıkları çalışmada psoriazisli olgularda hastalık süresince PASI değerleri arasında pozitif bir korelasyonun varlığını tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Çalışmamızda PASI genotip ve allel frekansları bakımından hafif ve şiddetli grubun karşılaştırılmasında iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Sonuç olarak -318C>T, +49A>G, CT60A>G polimorfizmleri Psoriazis vulgarisin şiddeti üzerinde bir etkiye sahip değildir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kronik seyirli, tekrarlayıcı, inflamatuvar, hiperproliferatif bir deri hastalığı olan psoriazis'in etyolojisi kesin olarak bilinmemektedir (Yazıcı ve Karabulut 2003). T hücreleri psoriazis immunopatogenezinde önemli rol oynamaktadır (Özdemir ve ark 2006). Burdan yola çıkarak Türkiye populasyonunun Psoriazis Vulgaris'li hastalarında, CTLA-4 genlerinin promoter bölgesinde yer alan -318C>T, ekzon 1 üzerinde yer alan +49A>G ve ekzon 4 üzerinde bulunan CT60A>G polimorfizmleri çalışılmış ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Hasta ve kontrol olguları arasında cinsiyet açışından ve yaş dağılımı bakımından anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. (cinsiyet p=0,291, yaş p=0,718).

2. Hasta ve kontrol olguları arasında CTLA-4 geninin promoter bölgesinde yer alan -318C>T polimorfizmine ait genotip dağılımı ve polimorfik allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. (Genotip dağılımı için p=0.077, polimorfik allel frekansı için p=0,145 saptanmıştır).

3. +49A>G polimorfizmi allel frekansları ve dominat model açısından Psoriazis vulgaris ile güçlü bir ilişki göstermiştir. G allelinin hasta grubundaki frekansı kontrol grubundaki frekansının yaklaşık 1,7 katıdır. Dolayısıyla G alleli Psoriazis vulgaris için bir risk faktörü gibi görünmektedir. Yine dominat modele göre de G alleli ile hastalık arasında güçlü bir korelasyon söz konusudur.

4. Hasta ve kontrol olguları CTLA-4 geninin ekzon 4'de 60. pozisyonda A>G polimorfizmine ait genotip dağılımı ve polimorfik allel frekansı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark tespit edildi. Elde ettiğimiz bulgulara göre allel frekansları, kodominant 1, kodominant 2 ve resessif model açısından polimorfizm ile psoriazis vulgaris arasında güçlü bir ilişki tespit edilmiştir. G alleli Psoriazis vulgaris için bir risk faktörü olarak görünmektedir. (Genotip dağılımı için p=0.011, polimorfik allel frekansı için p=0.040 saptanmıştır).

5. Her üç polimorfizm de Psoriazis vulgaris'li hastalarda hastalığın şiddeti üzerinde etkili değildir. PASI değerine göre hafif ve şiddetli gruplar genotip dağılımı ve polimorfik allel frekansı açısından karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

6. İncelenen üç CTLA-4 gen polimorfizmi hastalığın ortaya çıkış yaşı üzerinde etkili değildir. Erken yaş grubu (<40 yaş) ile geç yaş grubu (≥40 yaş) genotip dağılımı ve polimorfik allel frekansı açısından karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

Sonuç olarak; genin promoter aktivitesi, molekülün hücre içi trafiği ya da alternatif splicing ve sCTLA-4 mRNA üretimi üzerindeki olası etkileri nedeniyle CTLA-4 geni -318C>T, +49A>G ve CT60A>G polimorfizmlerinin Psoriazis vulgaris etyopatogenezi üzerindeki rolü çalışılmıştır. Çalışmada -318C>T polimorfizminin ne allel frekansı ne de genotip dağılımı bakımından Psoriazis vulgarisli olgular ile Kontroller arasında bir fark bulunamamış ve bu polimorfizm Psoriazis vulgaris ile bir ilişki göstermediği anlaşılmıştır. +49A>G ve CT60A>G polimorfizmleri için ise allel frekansları ve/veya genotip dağılımları ile bazı genetik modellere göre iki grup arasında farklılık saptanmıştır. Dolayısıyla bulgular bu iki polimorfizmin Psoriazis vulgaris gelişiminde ya da hastalığa yatkınlıkta önemli rolleri bulunduğunu göstermektedir. Bununla birlikte her üç polimorfizm de hastalığın başlangıç yaşı ve şiddeti ile ilişkili görünmemektedir. Bu üç polimorfizmin CTLA-4 molekülü üzerinden Psoriazis vulgaris hastalığı üzerindeki bileşke etkilerinin daha net ve detaylı olarak ortaya konabilmesi için haplotip analizlerinin ve paralelinde ekspresyon analizlerinin de yapılması ve bu polimorfizmlerin daha büyük populasyonlarda çalışılması çok daha sağlıklı sonuçların elde edilmesini sağlayacaktır.

6.ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Psoriasis Vulgarisli Hastalarda Sitotoksik T Lenfosit Antijen-4 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması

HÜSEYİN OSMAN YILMAZ

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2013

Psoriazis vulgaris, etyopatogenezinde travma, ilaç, enfeksiyon ve stres gibi tetikleyici faktörlerin rol oynadığı yaygın kronik enflamatuar bir deri hastalığıdır. Günümüzde artık ailesel vakaların giderek artması ve monozigot ikizlerde yüksek konkordans oranı sebebiyle Psoriazisde genetik yatkınlığın da önemli bir etken olduğu kabul görmektedir. Hastalığın gelişimine yol açabilen 19 ayrı genetik lokus tespit edilmiştir. Bu lokusların bazıları inflamasyon ve immünite ile ilişkili olup, birçok inflamatuvar hastalığın şiddetinde rol oynarken, diğerleri ise sadece Psoriazise özgüdür. Bunlardan biri de CTLA-4 molekülünü kodlayan gendir. Bu genin polimorfizmlerinin Psoriazis etyogenezinde rol oynayabileceği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.

Bu çalışmada CTLA-4 geninin promoter, ekzon-1 ve ekzon-4 bölgesinde yer alan 3 polimorfizm (-318C>T, +49A>G ve CT60A>G) ile psoriazis vulgaris arasındaki ilişkinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Çalışma Başkent Üniversitesi Konya Uygulama ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji Polikliniğinde Psoriazis vulgaris tanısı almış birbiriyle akraba olmayan 103 hasta ve yine birbiriyle akraba olmayan, Psoriazis tanısı almamış, bilinen herhangi bir otoimmün veya sistemik hastalığı bulunmayan 102 sağlıklı birey ile gerçekleştirilmiştir. CTLA-4 gen polimorfizmlerinin tespitine yönelik genotipleme çalışmaları PZR amplifikasyonunu izleyen restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile hasta ve kontrol olgularının periferik kanlarından izole edilen DNA örnekleri üzerinden gerçekleştirilmiştir.

Yapılan analizlerde -318C>T polimorfizmi hastalar ve kontroller arasında önemli bir fark saptanmamıştır (p=0,078) Ancak +49A>G ve CT60A>G polimorfizmleri için G alleli artmış Psoriazis vulgaris riski ile güçlü bir ilişki göstermiştir (+49A>G için p=0,02;OR=1,69; 95%CI=1,083-2,667 ve CT60A>G için p=0,004; OR=1,77; 95%CI=1,99-2,626).

CTLA-4 gen polimorfizmlerinin hastalığın şiddeti ve başlama yaşı üzerine olan etkilerini tespit etmek için genotip dağılımları hem şiddetli grup (PASI≥12) ile hafif grup (PASI<12) arasında, hem de geç yaş grubu (birey yaşı ≥40) ile erken yaş grubu (birey yaşı <40) arasında karşılaştırıldı. Hastalığın şiddeti ve genotip arasında önemli bir ilişki saptanmadı (-318C>T için p=0,681, +49A>G için p=0,545 ve CT60A>G için p=0,197). Yine hastalığın başlangıç yaşı ile genotipler arasında yapılan karşılaştırma da polimorfizmin hastalığın başlangıç yaşı üzerinde etkili olmadığını göstermedi (-318C>T için =0,701, +49A>G için p=0,725 ve CT60A>G için p=0,080).

Sonuç olarak, çalışmada CTLA-4 geninin +49A>G ve CT60A>G polimorfizmlerinin Psoriazis vulgarisle ilişkili olduğu bulunurken, -318C>T polimorfizminin hastalık ile ilişki göstermediği saptandı.

Anahtar sözcükler: Psoriazis Vulgaris, CTLA-4 geni, polimorfizm, RFLP, PASI.

7. SUMMARY

T.C.

SELÇUK UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

Investigation Cytotoxic T Lymphocyte Atigen-4 Gene Polymorphisms İn Patients With Psoriasis Vulgaris

HÜSEYİN OSMAN YILMAZ

Department of medical biology

MASTER OF SCIENCE THESIS / KONYA-2013

Psoriasis vulgaris is a common chronic inflammatory skin disorder in which the trigger factors such as trawma, medications, infectious and stres play crucial accepted that psoriasis has a genetic component as supported by frequent familial clustering and high concordance rates in monozigotic twins. There are 19 genetic loci that may contributed to the development of the disease. Same of these loci are associated with inflammation and immuuity and effects the severity of many inflammatory diseases, while others are spesific to only psoriasis. One of these is CTLA-4 molecule coding-gene. It have shown that polymorphims of these genes way play role in ethiopathogenesis of psoriasis in several studies.

In our study, we aimed to determine the association between three CTLA-4 gene polymorphisms (-318C>T, +49A>G, CT60A>G) and psoriasis vulgaris.

The study was conducted on 103 unrelated patients with psoriasis recruited from Dermatology Clinic Başkent University Konya Hospital and on 102 unrelated, healthy subject without psoriasis, a known otoimmün or systemic disease.

The genotuping for CTLA-4 gene polymorphisms was done by PCR emplification followed by restriction fragment length polymorphism(RFLP) method in DNA samples isolated from peripheric bloods of patieats and controls.

Distributions of allele and genotype frequencies of -318 C>T polymorphism showed no significant differences between Psoriasis vulgaris patients and controls (p=0,078). However the G alleles of SNP +49A>G and CT60A>G were potentially associated with an increased risk of Psoriasis vulgaris (p=0,02;OR=1,69; 95%CI=1,083-2,667 for +49A>G and p=0,004; OR=1,77; 95%CI=1,99-2,626 for CT60A>G)

To detect effects of CTLA-4 gene polymorphisms on severity and one set age of disease, distribution of genotypes was compaired between severe group (PASI≥12) and not severe group (PASI<12) early onset age group (<40 age) and late onset age group(≥40 age). No significant association was found between severity of disease and genotype (p=0,618 for -318C>T, p=0,545 for +49A>G and p=0,197 for CT60A>G). The comparison between onset age of disease and genotype, showed that genotype has not effect on oneset age of psoriasis (p=0,701 for -318C>T, p=0,725 for +49A>G and p=0,080 for CT60A>G).

As a result, in this study we fouud that CTLA-4 gene +49A>G and CT60A>G polimorphisms are associated with Psoriasis vulgaris, while -318C>T polymorphism is not associated with Psoriasis vulgaris in Turkish population.

Key words: Psoriasis vulgaris, CTLA-4 gene, polymorphism, RFLP, PASI.

8. KAYNAKLAR

1. Abrams JR, Kelley SL, Hayes E, ve ark. Blockade of T lymphocyte costimulation with cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4-immunoglobulin (CTLA4Ig) reverses the cellular pathology of psoriatic plaques, including the activation of keratinocytes, dendritic cells, and endothelial cells. J Exp Med 2000; 192(5): 681-94.

2. Akkaya VB, Ceyhan M. Psoriaziste tanı ve ayırıcı tanı. Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Dergisi 1:62-76, 2005.

3. Akkaya VB. Psoriasiste güncel medikal tedavi seçenekleri ve hastaya yönelik yaklasımlar. Dermatolojide Gelismeler-6. Ed.Tüzün Y. Has Matbaacılık _stanbul 2006;163-170.

4. Aktaş A. Püstüler psöriazis ve tedavisi. Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Dergisi 1:27-31, 2005.

5. Almasi S, Erfani N, Mojtahedi Z, Rajaee A, Ghaderi A. Association of CTLA-4 gene promoter polymorphisms with systemic sclerosis in Iranian population. Genes Immun. 2006; 7:401-6.

6. Aydemir EH. Psoriasis ve benzeri dermatozlar. Tüzün Y, Kotoğyan A, Aydemir EH,Baransü O (Editörler). Dermatoloji'de. 2. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1994.s.315-32.

7. Aykol C, Mevlitoğlu İ, Özdemir M, Ünal M. Psoriasis Hastalarının Klinik ve Demografik Özellikleri. Turk J Dermatol 2011; 5: 71-4

8. Azizi E, Massound A, Amirzargar AA, Mahmoudi M, Soleimanifar N, Rezaci N, Jamshidi AR, Nikbin B, Nicknam MH. Association of CTLA-4 gene polymorphism in Iranian patients with ankylosing spondylitis. J Clin Immunol 2010; 30: 268-71

9. Balbi G, Ferrera F, Rizzi M, Piccioli P, Morabito A, Cardamone L, et al. Association of -318 C/T and +49 A/G cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) gene polymorphisms with a clinical subset of Italian patients with systemic sclerosis. Clin Exp Immunol 2007; 149:40-7.

10. Barker JN. Genetic aspects of psoriasis. Clin Exp Dermatol 2001;26:321-5.

11. Baz K. Psoriasis tedavisi- algoritmik yaklasım. Gazi Dermatoloji Günleri, Ankara: 27-28 Mayıs, 2004;92-5.

12. Baykal C. Dermatoloji Atlası. 2. baskı. İstanbul: ARGOS AS 2000;132-84.

13. Berman B, Araujo T, Lebwohl M: Immunomodulators. Dermatology. Ed. Bolognia JL, Jorizzo JL, Rapini RP: Edinburg, Mosby, 2003;2033-53.

14. Bilen N. Non-Püstüler psoriyazis. T Klin J Int Med Sci 2005;1:22-6.

15. Biçen ve ark. Increased QT dispersion in patients with psoriasis. Dicle Medical Journal Vol 2010; 3:223-227.

16. Bolognia J L, Jorizzo J L, Rapini P R. Psoriasis. Van de Kerkhof P C M, Schalkwijk J N: Dermatology Mosby,Elseiver second edition pp.2008.115-134.

17. Bos JD, Rie MA, Teunissen MBM, Piskin G. Psoriasis: dysregulation of innate immunity. Br J Dermatol 2005; 152: 1098-1107.

18. Bos JD, De Rie MA. The pathogenesis of psoriasis: Immunological facts and speculations. Immunol Today.1999;20:40-6.

19. Ghaderi A. CTLA4 gene variants in autoimmunity and cancer: a comparative review. Iran J Immunol 2011; 8(3): 127-49.

20. Chandran V, Raychadhuri SP. Geoepidemiology and environmental factors of psoriasis and psoriatic arthritis. J Autoimmun 2010;34:314-21.

21. Chiastiakov DA, Turakulov RI. CTLA-4 and its role in autoimmune thyroid disease. J Mol Endocrinol 2003; 31: 21-36

22. Chong KKL, Chiang SWY, Wong GWK, Tam POS, Ng TK, Hu YJ, Yam GHF, Lam DSC, Pang CP. association of CTLA-4 and IL-13 gene polymorphisms with Graves' disease and ophthalmopathy in Chinese children. IOVS 2008; 49(6): 2409-15.

23. Christopher E, Griffiths M, Kirby B. Psoriasis- Pocketbook. Martin Dunitz Ltd: 8- 22, 1999

24. Christophers E, Mrowietz U: Psoriasis. Fitzspatrick.s Dermatology in General Medicine. Ed. Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, 6th edition. New York, McGraw-Hill 407-27, 2004.

25. Cosentino A, Gambelunghe G, Tortoioli C, Falorni A. CTLA-4 gene polymorphism contributes to the genetic risk for latent autoimmune diabetes in adults. Ann N Y Acad Sci 2002; 958: 337-40

26. Dyment DA, Steckley JL, Willer CJ, Armstrong H, Sadovnick AD, Risch N, et al. No evidence to support CTLA-4 as a susceptibility gene in MS families: the Canadian Collaborative Study. J Neuroimmunol. 2002; 123:193-8.

27. Erdem C. Psoriyazisde biyolojik tedavi ajanları. T Klin J Int Med Sci 2005;1:84-8.

28. Fearon U, Veale DJ. Pathogenesis of psoriatic arthritis. Ciln Exp Dermatol.2001. 26:333-7.

29. Fredriksson T. Svere Psoriasis, Oral Therapy with a new retinoid. Dermatológica 1978; 157:238-44.

30. Galadari I, Sharif MO, Galadari H. Psoriasis: a fresh look. Clin Dermatol 2005; 23: 491-502.

31. Gonzales-Escribano MF, Rodriguez R, valenzuela A, Garcia A, Garcia-Lozano JR, Nunez-Roldan A. CTLA4 polymorphism in Spanish patients with rheumatoid arthritis. Tissue antigens 1999; 53: 296-300.

32. Gottlieb A, Krueger J, Wittkowski K, Dedrick R,Walicke P. Psoriasis as a model for T-cell-mediated disease: Immunobiologic and clinical effects of treatment with multiple doses of efalizumab, an anti-CD11a antibody. Arch Dermatol. 2008:,138: 591-600.

33. Gough SC. The genetics of Graves‟ disease. Endocrinol Metab Clin North Am 2000: 29: 255-66

34. Gough SC, Walker LS, Sansom DM. CTLA-4 gene polymorphism and autoimmunity. Immunol Rev 2005; 204: 102-15

35. Griffiths TW, Griffiths CEM, Voorhees W. Immunopathogenesis and immunotherapy of psoriasis. Dermatol Clin, 1995; 17:739-49.

36. Griffiths CE, Barker JN. Pathogenesis and clinical features of psoriasis. Lancet 2007:370(9583): 263-71.

37. Gudjonsson JE, Elder JT. Psoriazis. Ed: Klaus Wolff, Lowell A. Goldsmith, Stephen I. Katz, Barbara A. Gilchrest, Amy S. Paller, David J. Leffell. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 7th ed. pp. 169-193, McGraw-Hill, New York, USA, 2008.

38. Gudjonsson JE, Johnston A, Sigmundsdottir H, Valdimarsson H. Immunopathogenic mechanisms in psoriasis. Clin Exp Immunol 2004; 135: 1-8.

39. Gülekonan A. Psoriasis ve benzeri dermatozlar. Tüzün Y, Gürer A M, Serdaroğlu S, Oguz O, Aksungur. Dermatoloji Cilt 1. 3.Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi:2008.745.

40. Günes AT, Altıner D. Psoriyazisin tarihçesi ve epidemiyolojisi. T Klin J Int Med Sci 2005;1:1-33

41. Gürer MA, Adı en E. Psoriasis, genel bilgiler, epidemiyoloji, Türkderm özel sayısı: 2008; 15-18.

42. Ibbotson SH, Bilsland D, Cox NH et al. An update and guidance on narrowband ultraviolet B phototherapy: a British Photodermatology Group Workshop Report. Br J Dermatol 2004;151:283-97.

43. Ikemizu S, Gilbert C J R, Fennelly A J, Collins V A, Harlos K, Jones Y E, David I. Stuart I D and Davis J S. Strucuture and dimerization of a soluable form of B7-1. Immunity 2000; 12:51 60

44. Jones SM, Armas J, Cohen M, et al. Psoriatic arthritis: outcome of disease subsets and relationship of joint disease to nail and skin disease. Br J Rheumatol 2004;33:834-9.

45. Jullien D, Barker JN. Genetics of psoriasis. J Eur Acad Dermatol Venerol 2006;20:42- 51.

46. Kouki T, Sawai Y, Gardine CA, Fisfalen ME, Alegre ML, De Groot LJ. CTLA-4 gene polymorphism at position 49 in exon 1 reduces inhibitory function of CTLA-4 and contributes to the pathogenesis of Graves‟ disease. J Immunol 2000; 165: 6606-11

47. Karaduman A. Türkiye Klinikleri Dermatoloji Özel, Psoriazis özel sayısı.2008; 3-21.

48. Kansu E. immünosüpresif ajanların genel özellikleri ve etki mekanizmaları. Ankem dergisi 3 üncü sayı.2002:194-198.

49. Kavvoura FK, Akamizu T, Awata T, Ban Y, ve ark. Cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4 gene polymorphisms and autoimmune thyroid disease: a meta-analysis. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92(8): 3162-70. Review.

50. Kim YK, Puo CW, Hur SS, Kim TY, Kim TG. No associations of CTLA-4 and ICMA-1 polymorphisms with psoriasis in the Korean population. J Dermatol Sci, 2003; 33: 75-7.

51. Kundakçı N, Tursen U, Babiker MO, Gurgey E.The evaluation of the sociodemographic and clinical features of Turkish psoriasis patients. Int J Dermatol 2002;41:220-4.

52. Kristiansen OP, Larsen ZM, Pociot F. CTLA-4 in autoimmune discasesa general susceptibility gene to autoimmunity. Genes Immun, 2000;1:170-84.

53. Krueger JG. The immunologic basis for the treatment of psoriasis with new biologic agents. J Am Acad Dermatol 2002;46:1-23.

54. Krutmann J. Therapeutic photomedicine; Phototherapy. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K editors. Dermatology in general medicine. New York, Mc Graw Hill;1999:2870-9.

55. Lee YH, Ji JD, Sohn J, Song GG. polymorhisms of CTLA-4 exon I +49, CTLA-4 promoter -318 and Fas promoter -670 in spondyloarthropathies. clin Rheumatol 2001; 20(6): 420-2.

56. Ligres A, Xu C, Saarinen S, Hillert J, Olerup O. The CTLA-4 gene is associated with multiple sclerosis. J Neuroimmunol 1999; 97:182-90.

57. Luszczek W, Kubicka W, Jasek M, Baran E, Cislo M, Nockowski P, Luczymo-Rudy M, Wisniewski A, Nowak I, Kusnierczyk P. CTLA-4 gene polymorphisms and natural soluble CTLA-4 protein in psoriasis vulgaris. Int J Immunogenet, 2006; 33(3): 217-24.

58. Luszczek W, Majorczyk E, Nockowski P, Plucinsk P, Jasek M, Nowak I, Wisnniewski A, Kusnierczyk P. Distribution of the CTLA-4 single nucleotide polymorphisms CT60 G>A and +49A>G in psoriasis vulgaris patients and control individuals from en polish coucasian population. Int J Immunogenet, 2007; 35: 51-5.

59. Luszczek W, Majorczyk E, Nockowski P, Pluciński P, Jasek M, Nowak I, Wiśniewski A, Kuśnierczyk P. Distribution of the CTLA-4 single nucleotide polymorphisms CT60G>A and +49A>G in psoriasis vulgaris patients and control individuals from a Polish Caucasian population. Int J Immunogenet 2008; 35(1): 51-5.

60. Lindsten T, Lee KP, Harris ES, Petryniak B, Craighead N. Characterization of CTLA-4 structure and its expression on human T cells. J Immunol 1993; 151: 3489-99

61. Lebwohl M. A clinician's paradigm in the treatment of psoriasis. J Am Acad Dermatol 2005;53:59-69.

62. Maddin M: A review of effective drugs to treat skin disease and some warnings. 5th Dermatology and Dermatopathology in Anatholia Congress. istanbul, 2003.

63. Mallon E, Bunce M, Savoıe H, Rowe A, Newson R, Gotch F, Bunker CB. HLA-C and guttate psoriasis. Br J Dermatol 2000;143: 1777-82.

64. Marks R. Assessment of disease progress in psoriasis. Arch Dermatol 1989; 125:235-40.

65. Mueller Dl, Jenkins MK, Schwartz RH. Clonal expansion versus functional clonal inacitvation: a costimulatory signalling pathway determines the outcome of T cell antigen receptor occupancy. Annu Rev Immunol 1989; 7: 445-80

66. Nickoloff BJ, Nestle FO. Recent insights into the immunopathogenesis of psoriasis provide new therapeutic opportunities. J Clin Invest 2004; 113: 1664-1675.

67. Nussbaum R.L, Mclnnes R.R, Willard H.F. Thompson Tıbbi Genetik, 6.baskı,Güneş kitapevi, İstanbul, 2005:90-92.

68. Ortonne JP. Recent developments in the understanding of the pathogenesis of psoriasis. Br J Dermatol 1999;140(54):1-7.

69. Ozkur M, Erbagcı Z, Nacak M, Tuncel AA, Alasehirli B, Aynacıoglu AS. Association of insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene with psoriasis. Br J Dermatol 2004;151:792-5.

70. Özbilir Ö, Gülekon A. Psöriaziste biyolojik tedaviler. Türkderm:2005,233-240.

71. Özdemir M, Okudan N, Gümüsel M, Gökbel H, Mevlitoglu. Serum leptin levels in patients with psoriasis vulgaris. T Klin J Dermatol 2006;16:98-101.

72. Özden MG, Tekin NS. Psoriasis patogenezinde yenilikler. T Klin J Dermatol 2007; 17:112-9.

73. Pathirana D, Ormerod AD, Saiag P, et al. European S3-guidelines on the systemic treatment of psoriasis vulgaris. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2009;23 Suppl 2:1-70

74. Pavoni DP, Cerqueira LB,, Roxo VM, Petzl-Erler ML. Polymorphism of the promoter region and exon 2 of the CTLA-4 gene in endemic pemphigus foliaceous (fogo selvagem). Braz J Med Biol Res 2006; 39:1227-32.

75. Piskin G. Psoriyazisin patogenezi. T Klin J Int Med Sci 2005;1:5-12.

76. Sabat R, Philipp S, Höflich C, Kreutzer S, Wallace E, Asadullah K, Volk H D,Sterry W,Wolk K (2007): Immunpahogenesis of psoriasis Experimental Dermatology,16,779-798

77. Sansom DM. CD28, CTLA-4 and their ligands: who does what and to whom? Immunol 2000; 101: 169-77

78. Saverino D, Brizzolara R, Simone R, Chiappori A. Soluable CTLA-4 in autoimmune thyroid diseases: Relationship with clinical status and possible role in the immune response dysregulation. Clin Immunol 2007; 123: 190-8

79. Simmonds M. J. Unravelling the genetic complexity of autoimmune thyroid disease, Clin Exp Immunol 2004; 136:1-10

80. Shen Z, Wang G, Fan JY, Li W, Liu YF. HLA DR B1*04, *07-restricted epitopes on Keratin 17 for autoreactive T cells in psoriasis. J Dermatol Sci 2005;38:25-39.

81. Smith CH, Barker JN Psoriasis and its management BMJ 2006:333:380-384.

82. Sonkoly E, Bata-Csorgo Z, Pivarcsi A, Polyanka H, Kenderessy-Szabo A, Molnar G, Szentpali K, Bari L, Megyeri K, Mandi Y, Dobozy A, Kemeny L, Szell M. Identification and characterization of a novel, psoriasis susceptibility-related noncoding RNA gene, PRINS. J Biol Chem 2005;280:24159-67

83. Sun T, Zhou Y, Li H, Han X, Shi Y, Wang L, Miao X, Tan W, Zhou D, Zhang X, Guo Y, Li D. FASL -844C polymorphism is associated with increased activation-induced T cell death and risk of cervical cancer. J Exp Med 2005; 202(7):967-74. Epub 2005 Sep 26.

84. Şanlı H. Tırnak psoriazisi ve tedavisi. Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Dergisi 2005;1:39-45.

85. Takeuchi F, Nakaue N, Kawasugi K, Mori M, Kuwata S, Tanimoto K. The CTLA-4 -1661A/G and -1772T/C dimorphisms in Japanese patients with systemic sclerosis. Rheumatol Int 2007; 27:785-7

86. Teft WA, Kinchhof MG, Madrenas J. A molecular perspective of CTLA-4 function. Annu Rev Immunol, 2006; 24: 65-97.

87. Türsen Ü. Psoriazis Etyolojisi. Dermatoz. 2010; 1(2):91–108.

88. Tüzün Y, Koto yan A, Aydemir EH. Psoriazis ve benzeri dermatozlar. Dermatoloji: 315-332. Nobel Tıp Kitabevi, stanbul, 1994.

89. Tsankov N, Angelova I, Kazandjieva R. Drug induced psoriasis. Recognition and management. Am J Clin Dermatol 2000:1:159-65.

90. Tsuji H, Okamoto K, Matsuzaka Y, Iizuka H, Tamiya G, Inoko H. SLURP-2, a novel member of the human Ly-6 superfamily that is up-regulated in psoriasis vulgaris. Genomics 2003;81:26-33.

91. Tsunemi Y, Saeki H, Kishimoto M, Mitsuni H, Tada Y, Torii H, Komine M, Asahina A, Tamaki K, Sekiya T. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 gene(CTLA-4) polymorphisms in japanese patients with psoriasis vulgaris. J Dermatol Sci, 2003; 32(2): 163-5.

92. Ueda H, Howson JM, Esposito L ve ark. Association of the T cell regulatory gene CTLA-4 with susceptibility to autoimmune disease. Nature 2003; 423: 506-11

93. Ülker M, Yazisiz V, Sallakci N, Avci AB, Sanlioglu S, Yegin O, Terzioglu E. CTLA-4 gene polymorphism of exon 1 (+49 A/G) in Turkish systemic lupus erythematosus patients. In J Immunogenet 2009; 36: 245-50.

94. Van de Kerkhof PC, de Hoop D, de Korte J, Kuipers MY. Scalp psoriasis, clinical presentations and therapeutic management. Dermatology 1998:197:326-34.

95. Van De Kerkhof PC. Psoriasis. Ed. Bolognia JL, Jorizzo JL, Rapini RP. Dermatology. 1st ed. Edinburgh, Mosby Company 2003;125-49.

96. Valk ve ark. CTLA-4 trafficking and surface expression, Trends in Immunology 2008; 29: 274-279.

97. Veale DJ, Ritchlin C, Fitzgerald O. Immunopathology of psoriasis and psoriatic arthritis. Ann Rheum Dis 2005; 64: 262-9.

98. Yanagawa T, Taniyama M, Enomoto S, Gomi K, Maruyama H, Ban Y, Saruta T. CTLA4 gene polymorphism cofers genetic susceptibility to Graves' disease in Japanese. Thyroid 1997; 7:843-6.

99. Yanagawa T, Maruyama T, Gomi K, Taniyama M, Kasuga A, Ozawa Y, et al. Lack of association between CTLA-4 gene polymorphism and IDDM in Japanese subjects. Autoimmunity. 1999; 29:53-6.

100. Yazıcı AC, Karabulut AA. Psoriasisin genetik özellikleri ve patogenezi. Dermatose 2003; 2:95-102.

101. Xu Y, Graves P, Tomer Y, Davies T. CTLA-4 and autoimmune thyroid disease: lack of influence of the A49G signal peptide polymorphism on functional recombinant human CTLA-4. Cell Immunol 2002; 215: 133-40

102. Wang XP Zhao X, Giscombe R,. Regulation of surface and intacellular expression of CTLA-4 on human peripheral T cells. Scand J Immunol 2001; 54: 453-8

103. Wang XP, Zhao X, Giscombe R, Lefvert AK. CTLA-4 gene polymorphism at position -318 in the promoter region affects the expression of protein. Genes Immun 2002; 3:233-7

104. Wang XB, Kakoulidou M, Qiu Q, Giscombe R, Huang D, Pirskanen R, et al. CDS1 and promoter single nucleotide polymorphisms of the CTLA-4 gene in human myasthenia gravis. Genes Immun. 2002; 3:46-9.

105. Weinstein GD, Krueger JG. Therapy of Moderate-to-severe psoriasis: 18-39 Marcel Dekker publishing, 1993

106. http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl

9.ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Konya'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Konya'da tamamladı. 2005-2009 yılları arasında Dumlupınar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde üniversite öğrenimini yaptı. 2009 yılında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı ve halen eğitimine devam etmektedir. Nişanlıdır.