

T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK ALLERJİ BİLİM DALI

**ATOPIK DERMATİTLİ TÜRK ÇOCUKLARINDA FİLAGGRİN R501X GEN
MUTASYONUNUN ARAŞTIRILMASI VE SERUM İMMÜNGLOBULİNLERİNİN ATOPIK
DERMATİT FENOTİPLERİ ÜZERİNDEKİ ROLÜ**

DR. HÜLYA ERCAN SARIÇOBAN
ÜST UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL

2011

T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK ALLERJİ BİLİM DALI

ATOPIK DERMATİTLİ TÜRK ÇOCUKLARINDA FİLAGGRİN R501X GEN
MUTASYONUNUN ARAŞTIRILMASI VE SERUM İMMÜNGLOBULİNLERİNİN ATOPIK
DERMATİT FENOTİPLERİ ÜZERİNDEKİ ROLÜ

DR. HÜLYA ERCAN SARIÇOBAN
ÜST UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. REHA CENGİZLİER

İSTANBUL

2011

TEŞEKKÜR

Gerek bu çalışmanın yapılmasında, gerekse üç buçuk yıl süren yan dal süresince hastalarını, vaktini, bilgisini, yardımlarını esirgemeyen, her zaman yapıcı eleştirileri ile yol gösteren sayın Prof. Dr. Reha Cengizlier'e, genetik çalışmaların yapılabilmesi amacı ile bizi değerli hocamız Prof. Dr. Turgay İspir ile iletişime geçmemizi sağlayan ve bu yan dalın bu üniversitede olmasında öncelik eden sayın Prof. Dr. Ayça Vitrinel'e, laboratuvarını kullanmamıza izin veren, çalışmanın yapılabilmesi için maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Turgay İspir'e, bu çalışmada bir kez daha katılımcılığı ve pozitif desteğini gördüğümüz Prof. Dr. Işıl Barlan' a, tanımaktan ve birlikte çalışmaktan çok mutlu olduğum Dr. Safa Barış'a, beş buçuk yıldır kader birliği yaptığım çalışma arkadaşlarım Dr. Ahmet Özen'e, Dr. Hande Özgün Karatepe'ye, Dr. Mustafa Berber'e, hocadan çok abla olan Doç. Dr. Filiz Bakar'a ve tabii ki Dr. Mahir Gülcan'a, Dr. Suat Biçer'e, hastaneye girdikleri günden beri bu hastanenin tüm çalışma zorluklarında bizi destekleyen Dr. Pınar Ergenekon Ulutaş'a, Dr. Coşkun Saf'a ve tüm zor zamanlarımda koşulsuz olarak bana destek veren eşim Nuri Sariçoban ve kızım Ayda Sariçoban'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Atopik Dermatitli Türk Çocuklarında Filaggrin R501X Gen Mutasyonunun Araştırılması ve Serum İmmünglobulinlerinin Atopik Dermatit Fenotipleri Üzerindeki Rolü

Ercan Sarıçoban, Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Allerji Bilim Dalı, Üst Uzmanlık Tezi, 2011

Giriş: Atopik Dermatit (AD) bebeklik ve çocukluk çağının en sık görülen, tekrarlayan kronik cilt hastalığıdır. AD genetik ve çevresel faktörlerin birlikte etkilemesi sonucu gelişen karışık çok faktörlü bir hastalık grubudur.

Amaç: Bu çalışmada atopik dermatitli Türk çocuklarında Filaggrin R501X (FLG R501X) mutasyon sıklığını ve bu mutasyonun atopik dermatit ve atopik dermatit şiddeti ile ilişkisini belirlemeyi amaçladık. Diğer bir amacımız ise serum immünglobulin düzeyinin AD ve AD fenotipleri üzerindeki özellikle de atopik dermatitle beraber astım ve/veya alerjik rini gelişmedeki etkisini araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Aralarında yaş ve cinsiyet farkı olmayan atopik dermatitli 48 hasta ve sağlıklı 50 çocuk çalışmaya alındı. Çocukların FLG R501X gen mutasyonu için genotiplendirilmesi yapıldı. Serum Ig A, Ig M, Ig G, Ig E düzeyleri, Eozinofil, lenfosit, nötrofil sayı ve yüzdeleri, deri epidermal testleri ve spesifik antijen Ig E testleri yapıldı. Çalışmaya alınan çocukların ailede alerjik hastalık öyküsü, sık üst ve alt solunum yolu ve cilt enfeksiyonu öyküleri, sistemik steroid ve intravenöz immünglobulin kullanma öyküleri, okul kayıpları, astım ve alerjik rinit şiddetleri, son altı ayda geçirdikleri astım atak sayıları, hastanede yatma öyküleri, atopik dermatit başlama zamanları kaydedildi.

Bulgular: Çalışma grubu ortalama yaşları 4.9 ± 3.6 yıl olan 49 atopik dermatit hastası çocuktan (E:26, K:23) ve ortalama yaşları 3.8 ± 2.8 yıl olan 50 sağlıklı çocuktan (E:30, K:20) oluştu. FLG R501X risk alleli hasta ve kontrol grubundaki hiçbir çocukta saptanmadı. Ig G z-skoru AD'li çocuklarda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksekti (-0.97 ± 1.13 vs -1.48 ± 1.02 , $p=0.026$). Atopik dermatit

ağırlığı arttıkça Ig A z skoru düşerken, Ig G z skoru yükseliyordu. Tekrarlayan üst ve alt solunum sistemi enfeksiyonu öyküsü hastaların atopik dermatitle beraber astım ve/veya alerjik rinit olmaları ile istatistiksel anlamlı olarak ilişkili bulundu (AD ile beraber astım ve/veya AR olanların %47.8'i, kontrol grubunun %3.8). Ig A ve Ig G düzeyi -2SD'dan düşük olan çocukların daha küçük yaşlarda atopik dermatit geliştirdiği (Ig A düşüklüğü olanlarda 1.42 (0.67—5.41) yaş; Ig A düzeyi normal olanlarda 4.41 (2.56-8.35) yaş, p=0.08) , atopi hızının daha düşük (% 11.1'e karşılık %52.6, p=0.03), atopik dermatit ağırlığının hafif tipte olduğu (%77.8'i hafif, p=0.021) tespit edildi.

Tartışma: Türk çocukları için atopik dermatit gelişmesinde FLG R501X mutasyonu risk oluşturmamaktadır. Ig A ve Ig G düzeyinin atopik dermatit şiddeti ve atopi geliştirmeye etki ederek atopik dermatit fenotipi üzerinde etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: atopik dermatit, Filaggrin R501X mutasyonu, immünglobulin düzeyleri

ABSTRACT

Investigation of Filaggrin R501X Gene Mutation in Turkish Children with Atopic Dermatitis and The Role of Serum Immunoglobulin Levels on Atopic Dermatitis Phenotypes

Ercan Saricoban, Yeditepe University Faculty of Medicine, Pediatric Allergy Department, ,thesis of pediatric allergy, 2011

Abstract

Background: Atopic dermatitis (AD), the most common chronic relapsing skin condition of infancy and childhood is a complex multifactorial disease, which arises from the interaction between strong genetic and environmental factors.

Objective: We aimed to investigate the prevalence and effect of FLG R501X gene mutation in children with AD of variable severities. Meanwhile, serum immunoglobulin (Ig) levels were assessed to evaluate the role of serum Ig levels on AD phenotypes, particularly with an emphasis on the development of asthma and allergic rhinitis.

Method: We studied 49 children with AD and 50 age- and sex-matched healthy controls. Children were genotyped for the mutation in FLG R501X gene. Serum levels of major Ig isotypes were assessed.

Results: Study group consisted of 49 patients (M:26, F:23) with a mean age of 4.9 ± 3.6 years and control group consisted of 50 children (M:30,F:20) with a mean age of 3.8 ± 2.8 years. Genotyping of R501X mutation revealed risk alleles in none of the children in study group or control group. IgG z-scores were significantly higher in patients with AD compared to controls (-0.97 ± 1.13 vs -1.48 ± 1.02 , $p=0.026$). There was a positive trend in IgG z-scores and a negative trend in IgA z-scores across the severity of AD. History of recurrent infections

was significantly associated with asthma and/or AR (47.8% in patients with asthma/AR versus 3.8% in those without). Children with low IgG or IgA levels presented at an earlier age (age at presentation= 1.42(0.67-5.41) years in patients with low IgA; 4.41(2.56-8.35) years in those with normal IgA, $p=0.08$), with lower rates of atopy (11.1 % versus 52.6 % , $p=0.030$), and mild type atopic dermatitis (77.8% mild , $P=0.021$).

Conclusion: In a sample of Turkish children, FLG R501X genotyping revealed no risk alleles in variable severities of AD or healthy controls. Our data suggests that IgG and IgA levels might have a role in phenotypic features of AD in terms of severity and atopic sensitization.

Key words: atopic dermatitis, Filaggrin R501X mutation, immunoglobulin levels

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
	no
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
1. GRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. ATOPIK DERMATİT NEDİR?	6
2.2. ATOPIK DERMATİT EPİDEMİYOLOJİSİ	10
2.3. ATOPIK DERMATİT HİSTOLOJİSİ	11
2.4. ATOPIK DERMATİT GENETİĞİ	11
2.5. DERİ BARIYERİ BOZUKLUKLARI VE GENETİĞİ	14
2.6. FİLAGRİN SENTEZİ VE FONKSİYONU	16
2.7. EGZEMA İLE GÜÇLÜ İLİŞKİSİ BULUNAN FİLAGGRİN GEN MUTASYONLARI	19
2.8. FİLAGRİN VE ATOPIK DERMATİT PATAGENEZİ: MEKANİZMA VE SPEKÜLASYONLAR	22

3. MATERYAL VE METOD	25
3.1. ÇALIŞMA GRUBU	25
3.2. İMMÜNGLOBULİNLERİN VE SPESİFİK İMMÜNGLOBULİN E'NİN ÖLÇÜLMESİ	26
3.3. DNA AYRILMASI VE MUTASYON ANALİZİ	28
3.3.A. CİHAZLAR	28
3.3.B. KİMYASAL MADDELER VE SARF MALZEMELER	28
3.3.C. DNA İZOLASYONU	28
3.3.D. GENOMİK DNA'LARIN SPREKTROFOTOMETRİK ÖLÇÜMLERİ	28
3.3.E. FİLAGRİN GENİ R501X MUTASYON ANALİZİ	29
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	32
4. BULGULAR	34
4.1. OLGULARIN DEMOGRAFİK VERİLERİ VE ÖZELLİKLERİ	34
4.2. OLGULARIN FLG34R501X MUTASYON ANALİZLERİ	36
4.3. ATOPIK DERMATİT HASTALARI İLE SAĞLIKLI KONTROL GRUBUNUN İMMÜNGLOBULİN TARAMASI	38
4.4. ATOPIK DERMATİT AĞIRLIĞINA GÖRE OLGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ	40
4.5. ATOPIK DERMATİT ŞİDDETİ İLE	42

İMMÜNGLOBULİN TARAMASI

4.6. ATOPIK DERMATİT İLE BİRLİKTE OLAN

DİĞER ALLERJİK HASTALIKLARIN	47
ÖZELLİKLERİ		

4.7. IG A VE IG G SEVİYESİ İLE ATOPIK

DERMATİT HASTALARI ARASINDAKİ İLİŞKİ	50
--------------------------------------	-------	----

5. TARTIŞMA	52
-------------	-------	----

6. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
----------------------	-------	----

KAYNAKLAR	64
-----------	-------	----

EK 1. HASTA GRUBUNUN FLG R501X ANALİZİ	75
--	-------	----

EK2. KONTROL GRUBUNUN FLG R501X ANALİZİ	77
---	-------	----

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	Adenin
AD	Atopik Dermatit
AR	Allerjik Rinit
ARIA	The Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma
Ark.	Arkadaşları
C	Sitozin
CE	kornifiye envelope
CMA1	Mast cell chymase 1
CRP	C reaktif protein
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDC	Epidermal diferensiyon kompleks
ETAC	Early Treatment of the Atopic Child
FLG	Filaggrin
G	Guanin
GINA	Global Initiative for Asthma
Ig	İmmünglobulin
IL	İnterlökin
IU	İnternasyon unite
IV	İktiyozis vulgaris
IVIG	intravenöz immünoglobulin
kDa	Kilo Dalton

LH	Langerhans hücreler
NMF	doğal moisturizing faktör
PAD	peptidilarginin deaminaz
PCA	pyrrolidon karboksilk asit
PCR	Poimeraz zincir reaksiyonu
SD	Standart sapma
SKORAD	Atopik dermatit skoru (score of atopic dermatitis)
sn	Saniye
SPINK5	serin proteaz inhibitör Kazal tip 5
T	Timin
Th	Yardımcı T hücresi (Heper T cell)
UCA	urokanik asit
μ l	Mikro litre
$^{\circ}$ C	Santrigrat derece

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
	No
Şekil 1. Atopik dermatitin klinik, histolojik ve immünokimyasal görünümü	7
Şekil 2. Atopik dermatitin doğal gidişinde gen-gen ve gen-çevre ilişkisi	9
Şekil 3. Atopik dermatitte genotip-fenotip ilişkisi	15
Şekil 4. Filaggrin ekspresyonu ve deri bariyerindeki fonksiyonu	17
Şekil 5. Protein organizasyonu ve mutasyonları yeri	21
Şekil 6. Taqman® Real-Time PCR Amplifikasyonu	30
Şekil 7. Atopik Dermatit Hastalarının FLG R501X mutasyonu (tümü homozigot)	36
Şekil 8. Kontrol grubunun FLG R501X mutasyon analizi	37
Şekil 9. Atopik Dermatit Hastaları ile Sağlıklı Kontrol Grubunun Ig G z Skor Karşılaştırılması	39
Şekil 10. Atopik Dermatit Ağırlığı ile Ig G z skor Arasındaki İlişki	45
Şekil 11. Atopik Dermatit Ağırlığı ile Ig A z Skor Arasındaki İlişki	46
Şekil 12. Atopik dermatitle beraber alerjik rinit ve astım olan çocuklar ve yalnız atopik dermatiti olan çocuklar arasındaki Ig G z Skor dağılımı	49

TABLOLAR

Tablo	Sayfa No
Tablo 1. İki veya daha çok bağımsız çalışmada atopik dermatit ile ilişkili genler	13
Tablo 2. Real Time PCR Aşamasında Kullanılan Primer ve Prob Dizileri	31
Tablo 3. Real Time PCR Uygulamasında Kullanılan PCR Karışımı	31
Tablo 4. Real Time PCR Uygulamasında Kullanılan Amplifikasyon Koşulları	32
Tablo 5. Atopik dermatit hastaları ile sağlıklı kontrol grubunun demografik ve biyokimyasal özellikleri	34
Tablo 6. Atopik Dermatit hastaları ile Sağlıklı kontrol grubunun İmmün Sisteminin Taranması	38
Tablo 7. Atopik Dermatit Ağırlığına Göre Olguların Değerlendirilmesi	40
Tablo 8. Atopik Dermatit Şiddeti ile İmmün Sisteminin Taranması	43
Tablo 9. Atopik Dermatit Hastalarının Skorad İndeksleri ile Yapılan Korelasyon Analizi	44
Tablo 10. Atopik dermatitle beraber alerjik rinit ve astım olan çocuklar ve yalnız atopik dermatiti olan çocukların özellikleri	47
Tablo 11. Ig A ve Ig G seviyesi ile atopik dermatit hastaların özellikleri arasındaki ilişki	50

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Atopik dermatit veya egzema (AD) süt çocuğu ve çocukluk dönemin en sık görülen, tekrarlayan kronik cilt hastalığıdır. Tüm dünyadaki çocukların %10-20'sinde görülürken; ailesinde astım, alerjik rinit (AR) ve besin allerjisi öyküsü olan çocuklarda daha sık karşılaşılır. AD'li süt çocukları daha sonraki zamanlarda AR ve/veya astım geliştirebilirler, bu duruma atopik yürüyüş denir (1). Atopik dermatit deyimi literatürde ilk defa 1930'da Hill ve Sulzberger tarafından kullanılmıştır (2). Daha sonra bu konuda çok sayıda klinik, laboratuvar ve deneysel çalışma yapılmış olsa da AD'in patofizyolojisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Atopik dermatit genetik ve çevresel faktörlerin beraber etkileşmesi sonucu ortaya çıkan kompleks bir hastalıktır. Bütünlüğü bozulmuş deri bariyeri, deri doğal immün yanıtında azalma ve çevresel allerjenler ve mikroplara aşırı artmış T hücre cevabı sonucunda kronik cilt inflamasyonu gelişir (1,2).

Atopik dermatit klinik olarak IgE aracılıklı olmasına göre alerjik (ekstrinsik, atopik) ve non-alerjik (intrinsik, non-atopik) olmak üzere iki fenotipte görülür (3). Atopik dermatitin klinik fenotipi, genetik miras, deri engeli işlev bozukluğu, çevresel olarak maruz kalınanlar ve bağışıklık yanıtlarının karmaşık etkileşiminden kaynaklanır. Hastaların %80 kadarında eozinofili, yüksek düzeylerde toplam ve allerjene özgü IgE, IL-4, IL-5 ve IL-13 mevcut olup, besinler veya aeroallerjenlere maruz kalınca daha

kötüleşerek ‘ekstresek’ atopik dermatit tanımına uyarlar. Kalan hastalarda ‘intrensek’, spesifik IgE aracılı allerjik duyarlılık göstermeyen bir atopik dermatit türü tanımlanmıştır (4). İki atopik dermatit türü arasında bağışık etkinleşmedeki farklılıklar çelişkili, kafa karıştırıcı ve şaşırtıcı olmuştur. Sonuç olarak allerjik duyarlılaşmanın, atopik dermatite benzeyen klinik bulguların oluşumu için bir ön koşul olmadığı varsayılmıştır (5). Epidemiyolojik veriler ağır atopik dermatiti olan bebek ve çocukların yaklaşık üçte birinde gıda allerjisi olduğunu öne sürer. Bazı değişkenlikler olmakla birlikte atopik dermatiti olan küçük çocukların yarısından fazlasının astım gelişimine doğru gideceği, %75’ine yakınında allerjik rinit gelişeceği genel olarak kabul edilir. Bu nedenle atopik dermatitin karakteristik deri lezyonlarının, özellikle ailede atopi öyküsü olan hastalarda görülmesi, genellikle atopik dermatitten allerjik rinit ve astıma ilerleme, ‘atopiye gidiş’i temsil eder (6).

Atopik dermatit sistemik bir bozukluğun, allerjik rinit, astım ve gıda allerjisi gibi, tüm epitel yüzeylerinde inflamasyon, yüksek serum IgE düzeyleri ve periferik eozinofili ile karakterize durumları da içeren, kutanöz bir dışavurumu olarak sunulmuştur (4). Bu sunuş şu soruyu çıkarır:

Atopik hastalıkların gelişmesi ile ilgili ortak genetik riskler var mıdır yoksa zedelenmiş deri yoluyla allerjene maruz kalma durumu çok sistemli bir allerjik inflamasyon dizisi oluşturan tetikleyici bir olay mıdır?

Atopik dermatitin genetiği araştırmalarda ilgi odağı olmaktadır. Atopik dermatiti olan monozigot ikizlerde konkordans oranı %77 iken, atopik dermatiti olan dizigotik ikizlerde %15’tir ve bireyler ile ailelerde allerjik rinit ve astım gibi ilintili özellikler

birarada yer alır (7). Deri bariyeri/epidermal düzenleme genleri ve immün yanıt/konak savunması ile ilgili genler anahtar rolleri oynar. Atopik dermatit yatkınlığı konusunda 1q, 3q, 3p ve 17q kromozomları üzerindeki lokusların bağlantısı ile ilgili kanıt sağlayan dört adet tarama yayınlanmıştır. Ayrıca aday gen yaklaşımları, birçok geni atopik dermatit yatkınlığı yönünden incelemiştir (5).

Genlerde oluşan mutasyon ve polimorfizmlerin sonucunda deri bariyerinde oluşan bozulmalarıyla sonucunda deriden su kaybı, alerjenlerin, kimyasalların ve antijenlerin deriden geçişi artar. Bu olayların sonucunda cildin inflamasyon yanıtı oluşur. 21 nolu kromozomun 1q lokusundaki genlere epidermal diferensiyon kompleksi (EDC) denir. EDC' de ki yapısal proteinlerden biri Filaggrin'dir. Filaggrin, EDC bölgesindeki FLG geni denilen gen bölgesinden 500-kDa büyüklüğünde inaktif şekli olan profilaggrin proteini olarak kodlanır. İnaktif büyük profilaggrin prekürsörleri geniş, kompleks, yüksek oranda fosforizedir ve epiderminin granüler hücre tabakasında yer alır. Kornifiye hücre oluşumu boyunca kanal aktive edici serin proteaz/Prss ve matriptaz/matriptaz gibi serin proteazlar tarafından defosforilize edilip profilaggrinden filaggrin proteini oluşturulur. Bu etkin filaggrin peptitleri daha sonra keratinositlerin içindeki iplikli sitoskeleti destekler, ölü hücreleri kompakt bir katman olarak düzleştirir ve transglutaminazlar tarafından kimyasal olarak çapraz bağlanarak ekstrasellüler ortama kovalent olarak bağlanan lipid bir zar oluştururlar. Bu bariyer, çevresel tetikleyiciler, zedelenmeler ve yetmezliklere karşı etkilidir. Bu bölgede bulunan epidermal bariyer proteini filaggrinin (FLG) fonksiyon kaybı ile sonuçlanan mutasyonu sonucunda iktiyosis vulgaris ve AD'in subtipleri arasında bağlantısı Amerika, Avrupa, Asya ve Japonya'da gösterildi (8-10). FLG geninin Ekzon 3 bölgesindeki tekrar 1 de yer alan 499-503 kodon bölgesindeki Sitozinin (C) Timin (T) e yer değiştirmesi Guanin (G) yerine Adenin (A) in

sentezlenmesiyle sonuçlanan R501X ve ekzon 3'de tekrar 1 de 713-717 kodonlarda oluşan 2282de14 iki yaygın boş (null) mutasyonları filaggrin proteininin yokluğu ile tam bir işlev kaybı ile sonuçlanır ve egzemaların %18-48'inde en sık rastlanan mutasyondur (8,11,12). Bu bulgular bu mutasyonların ırka bağlı farklılık gösterdiğini düşündürür İlginç olarak FLG de ki mutasyon AD'li hastaların ağır tipi ile ilişkili bulunurken bu gene sahip atopik dermatitli hastalarda astım ve/veya allerjik rinitin de olduğu gösterilmiştir (13). Molluskum contagiosum'un da FLG mutasyonu ile ilişkisinin gösterilmesi bu gen bölgesinin bazı enfeksiyonlara yatkınlık oluşturabileceğini düşündürülebilir (14). Keratositlerde, IL-4 ve IL-13 'ün filaggrin 2282del4 heterozigot AD 'li hastalarda daha çok sagıldığı, AD de deri bariyer defetlerinin atopik immün yanıt ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar IL-4 ve IL-13 ün nötralize edildiğinde cilt bariyerinin de düzelebileceğini düşündürmektedir (15).

Atopik dermatit ve FLG gen mutasyonu son yıllarda oldukça ilgi uyandırmaktadır ancak bazı konularda halen cevaplar bulunabilmiş değildir. Bu güne kadar Türk toplumunda AD ile FLG gen mutasyonu arasındaki ilişkiyi göstermek üzere bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle bu toplumdaki mutasyonun sıklığı ve özelliği bilinmemektedir. Ayrıca bu mutasyon ile Th-1 aracılıklı sitokinlerin durumu henüz araştırılmamıştır. Bir diğer nokta ise bu mutasyonun AD li çocuklarda immün sisteme etkisinin ne olduğu da tam aydınlatılmamıştır.

Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmanın amaçları:

1. Türk egzemalı çocuklarda FLG geninin en yaygın R501X boş (null) mutasyonunun sıklığını belirlemek

Türkiye’de FLG gen mutasyonu henüz tanımlanmadı. Bu çalışma ile hem atopik dermatitli hastalarda hem de sağlıklı popülasyonda mutasyon sıklığı belirlenirken bu mutasyonun hastalığın şiddeti ile ilişkisi de ortaya konulacaktır.

2. Egzemalı FLG gen mutasyonu ile astım ve alerjik rinit arasındaki ilişkiyi belirlemek.

Egzema ile beraber astım ve riniti olan hastalarda FLG gen mutasyonunu belirleyerek bu mutasyonun sadece egzeması olanlara göre astım ve rinit sıklığına ve ağırlığına olan etkisi belirlenecektir.

3. FLG gen mutasyonu ile Ig A, Ig M, Ig G ve lenfosit dağılımı arasındaki ilişki araştırılarak, bu mutasyon ile egzemalı hastalarda immün sistem arasındaki bağlantının varlığını belirlemek.

Egzema ile immün durum arasında bir araştırma yapılmamıştır. Bazı çalışmalarda FLG gen mutasyonu olanlarda bazı enfeksiyonlara yatkınlık olduğu belirlenmiştir ancak bu konuda bir tarama çalışması yapılmamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Atopik Dermatit nedir?

Atopik dermatit (AD) tekrarlayan, kronik inflamatuvar deri hastalığıdır ve solunum sistemi allerjileri ile ilişkilidir (4). İlk kez 1930 da Hill ve Sulzberger tarafından atopik dermatit teriminden bahsedilmiştir (2). Atopik dermatitte de astım ve alerjik rinitte olduğu gibi IL-4, IL-5, IL-13 ve IL-31 salgılayan lokal Th2 hücre infiltrasyonu olur. AD'li hastaların %50 sinden çoğu astım, %75'i alerjik rinit geliştirir (6). AD'li hastalar alerjik tetikleyiciler kadar alerjik olmayan tetikleyiciler tarafından da aktive olur. Atopik dermatitin klinik açığa çıkışı yaşa göre üç şekilde görülür (şekil 1). Bebeklik döneminde yanak ve saçlı deride başlar. Birkaç hafta sonra kaşıntı ve kabuklanma eklenir. Çocukluk süresince kıvrım yerlerinde, ensede ve ekstremitelerin dorsal kısımlarında oluşur. Adölesan ve erişkin yaşlarda boyun, baş ve fleksör kısımlarda likenifiye plaklar gelişir. Tüm evrelerde kaşıntı tüm gün boyunca geceleri artarak olur. Kaşıntı nedeniyle uyku kaybı ve bozuklukları ve buna bağlı olarak da yaşam kalitesi bozular. AD okul ve iş kaybı, duygusal stres gibi morbidite sorunları yaratır (16).

Atopik dermatit, epidermal bariyer fonksiyonunun bozulması ile kuruyan deride, besin ve çevresel alerjenlere Ig E aracılıklı duyarlılığın oluşmasıyla gelişen tekrarlayan kronik bir hastalıktır. Akut ekzamatöz plak ve yamaların histolojik özelliği epidermal hücreler arası ödem (spongiosis) ve dermiste perivasküler lenfosit, monosit, makrofaj, dentritik hücreler ve eozinofil infiltrasyonudur. Subakut ve kronik likenifikasyon ve ekskoriye plaklar epidermin kalınlaşması ve üst tabakanın hipertrofisi ile sonuçlanır.

Atopik dermatit'in gelişmesinde iki mekanizma düşünülmektedir. IgE aracılı duyarlanmaya neden olan immünolojik bozukluk yanında lokal inflamasyon sonucunda oluşan epitelyal

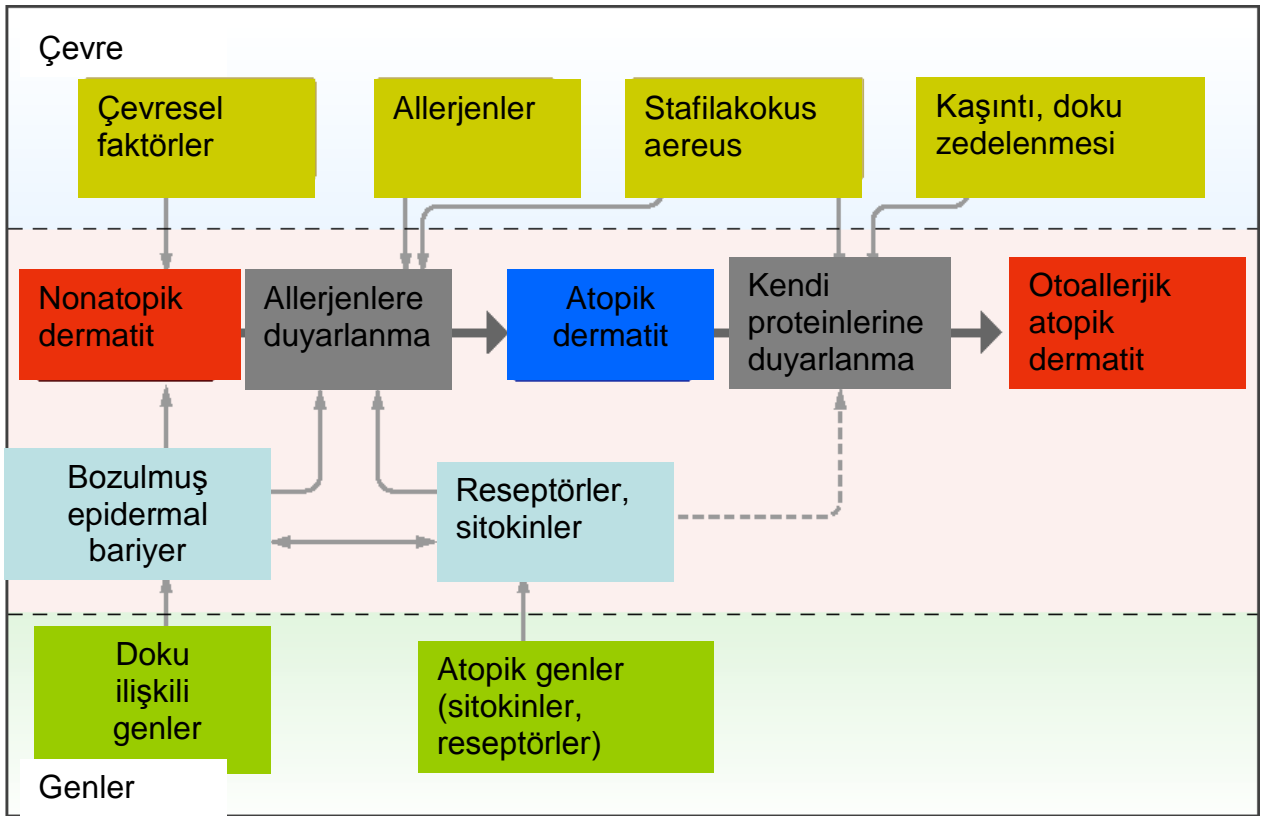


Şekil 1. Atopik dermatitin klinik, histolojik ve immünokimyasal görünümü. A. 4 aylık infantta saçlı deri ve yanakta erken başlayan atopik dermatitin başlangıç lezyonları. B. Erişkinde klasik kafa ve boyunda atopik dermatit lezyonları. C. Tipik, kronik likenifiye fleksör lezyonlar. D. (hemotoksilen ve eosin) epidermiste spongotik alanı gösteren akut lezyonun tipik histolojik görünümü. İşaret perivasküler infiltratı göstermekte

E. (hemotoksilen ve eosin) epidermisin kalınlaşmasının görüldüğü kronik lezyon. İşaret perivasküler infiltratı göstermektedir.

bariyer disfonksiyonudur. Diğer hipotez ise epitelyal hücrelerdeki intrensek defekte bağlı bariyer disfonksiyonudur. Sonuç olarak AD, genetik, çevresel, imünolojik ve epidermal faktörlerin birbirleriyle ilişkisi sonucunda gelişen karmaşık bir hastalıktır (17). Atopik dermatitin ortaya çıkması ile ilgili birçok çalışma vardır. Bu çalışmalara göre zamanında sezeryan ile doğma astım ve alerjik rinit sıklığını arttırırken atopik dermatit sıklığını arttırmamaktadır (18). Hayatın erken dönemlerindeki psikolojik faktörler atopik hastalıkların sıklığını ve şiddetini arttırmaktadır (19). Filaggrin gen mutasyonları atopik dermatit sıklığını üç kattan fazla arttırmaktadır (20). Evcil hayvanlarla hayatın erken dönemlerinde karşılaşılmasının atopik dermatit gelişmesini azalttığına dair kanıtlar vardır (21). Atopik dermatit Ig E aracılıklı gelişir ise buna alerjik, ekstrensik atopik dermatit, Ig E aracılıklı değil ise nonallerjik, non Ig E aracılıklı veya intrinsik atopik dermatit olarak adlandırılır. Atopik dermatitin doğal seyrini açıklamak için şekil 2 de üç faz gösterilmiştir (16). Başlangıç fazı nonatopik formdur. Erken süt çocukluğunda başlar bu dönemde duyarlanma yoktur. Bu hastaların %60-80'i genetik faktörlerin etkisi ile IgE aracılıklı besin, çevresel allerjenlerle duyarlanır ve atopik dermatite geçilir. Üçüncü fazda kaşıntının zarar verdiği deri hücrelerinden otoantijenler salınır ve bunlara karşı IgE otoantikorlar oluşur. Bu duruma otoallerjik atopik dermatit denir. Atopik dermatit hastalığın yaygınlığı, kaşıntının yoğunluğu ve yarattığı uyku kaybına göre hafif, orta ve ağır olarak sınıflandırılır. Bu sınıflandırmada SKORAD (score of atopic dermatitis) indeksi denilen bir skorlamadan faydalanılır. The ETAC (Early Treatment of the Atopic Child) çalışma grubu 1997'de çok uluslu çift kör

plesebo kontrollü çalışmaları analiz etti ve SKORAD adı verilen bir skorlama geliştirdi (22). Bu skorlamada atopik dermatitin yaygınlığı, yoğunluğu (eritem,papül, ödem, likefikasyon, kuruluk, soyulma,) ve subjektif belirtiler (kaşıntı ve uyku kaybı) birlikte değerlendirilir ve puanlanır. SKORAD'ı 0-15 olanlar hafif, 15-40 arası orta ve 40'tan yüksek olanlar ağır grubuna girer.



Şekil 2. Atopik dermatitin doğal gidişinde gen-gen ve gen-çevre ilişkisi.

2.2. Atopik Dermatit Epidemiyolojisi

Atopik dermatit çocukların %15-30'unda, erişkinlerin %2-10'unda görülür. Son otuz yılda atopik dermatit sıklığı iki ila üç kat artmıştır. Atopik dermatit erken bebeklik döneminde başlar. Atopik dermatit olgularının %45'i ilk altı ayda, %60'ı ilk yılda, %85'i beş yaşından önce başlar (23). Hastaların %50 'sinde ilk iki yılda atopik dermatit kliniği görülür; ancak IgE duyarlılığı gösterilemez. Bu hastalarda atopik yürüyüş boyunca IgE duyarlılığı da ortaya çıkar. Çocukların %70 kadarı adölesandan önce remisyona girer (24). Geç başlayan atopik dermatit erişkinlerde görülür ve Ig E aracılıklı değildir (25). Hijyen hipoteziyle uyumlu olarak kırsal kesimde kentsel kesime göre daha az atopik dermatit görülür (26). Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşayan çocuklarda yaşam boyu yaygınlık sıklığı, 30 yılda düzenli artmış olup günümüzde %17 olarak hesaplanmaktadır. Diğer batı ülkelerinde de yaygınlık üç katına çıkmıştır ve diğer atopik hastalık türlerinin artışlarına paraleldir (6). Japonya'da yapılan bir çalışmada okul çocuklarında AD sıklığı %11.2 olarak bulunmuştur. Bu çocukların %74 'ü hafif, %24 'ü orta, %1.6 'sı ağır ve %0.3'ü çok ağır grubu oluşturmaktadır. Atopik dermatit sıklığında kent veya köyde yaşamaya ve cinsiyete göre bir fark bulunamamıştır (27). Civelek ve ark.(28) larının yaptığı bir çalışmada Türkiye'de 6963 okul çocuğunda atopik dermatit sıklığı %8.1 olarak bulunmuştur.

2.3. Atopik Dermatit Histolojisi (29)

Atopik ve nonatopik dermatitin histolojisi birbirine benzer. Klinik olarak normal görünümlü atopik dermatitli hastalarda perivasküler T-hücre infiltrasyonu görülmesi, bu hastalarda minimal inflamasyonu düşündürür (30). Akut papüler cilt lezyonları epidermisin intersellüler ödemi (spongiosis) ile karakterizedir. Langerhans hücreler (LH) Ig E aracılıklı AD'de lezyonlu alanda artarken nonIgE aracılıklı atopik dermatitte Langerhans hücreleri artmaz. Akut lezyonda dermiste perivasküler T hücre infiltrasyonu ile beraber monosit/makrofajlar toplanır. Aktive olmuş hafıza T hücreleri CD3, CD4, HLA-DR, CD25 ve CD45RO lenfositler özellikle yoğundur. Akut dönemde eozinofil ve degranüle mast hücreleri hakimken, bazofil ve nötrofiller nadirdir.

Kronik likenifiye lezyonlarda hiperplastik epidermiste temel olarak hiperkeratoz ve minimal spongiosis olur. Epidermiste Ig E bağlı dentritik hücreler ve makrofajlar baskındır. Mast hücre sayısı artmıştır ve granüledir. Dermiste eosinofil infiltrasyonu artmıştır ve “eosinofil cationic protein, eosinofil majör basic protein, eosinofil derived neurotoxin” saptanır. Eozinofillerden salgılanan sitokin ve mediatörler allerjik cilt inflamasyonu ve doku zedelenmesi ile ilişkilidir. Atopik dermatitte reaktif oksijen radikalleri ve toksik granül proteinleri de salınır.

2.4. Atopik Dermatit Genetiği

İkiz çalışmalarında monozigot ikizlerde egzema concordance hızı 0.72-0.86 iken, dizigotik ikizlerde 0.21-0.23 tür (31-33). Sistemik immün yanıtın genel özellikleri egzema ile diğer atopik hastalıklar arasında ilişki gösterir. Derinin yapısal ve fonksiyonuna ait doku spesifik genler ekzema patogeneğinde yer alır. Ebeveynlerinde egzema olan çocukların, ebeveynlerinde astım ve alerjik rinit olan çocuklara göre egzema geliştirme riskleri artmıştır (34,35). Tüm gözlemler riskli genlerin sistemik atopi veya immünite genlerinden çok deri spesifik genler olduğunu düşündürür.

Son yıllarda atopik egzema da özellikle epitelyal bariyer disfonksiyonu üzerine odaklanılmıştır. Genetik, fizyolojik ve biyokimyasal çalışmalar bu bölge ile ilgili olmuştur (36-38).

Atopik dermatit etiolojisinde rol alabilecek pek çok aday gen üzerinde çalışılmıştır. İmmünolojik mekanizmalar üzerinde özellikle durulmuş ve atopik egzema ile bağlantılı en az 20 gen bildirilmiştir. Ancak bunlardan sadece 6 tanesi (3q21, 1q21, 16q, 17q25, 20p,3p26) iki veya daha çok çalışmada tekrarlamıştır. Bu bulgular Tablo 1 de özetlenmiştir. 5q31-33 lokusunda bulunan 3 gen sitokin IL-4, IL-13 ve bir proteaz inhibitörü olan SPINK5 (serin proteaz inhibitör Kazal tip 5) ile ilişkili bulunmuştur. Tüm gen mutasyonları içinde deri bariyer disfonksiyon genleri öne çıkmaktadır.

Tablo 1. İki veya daha çok bağımsız çalışmada atopik dermatit ile ilişkili genler

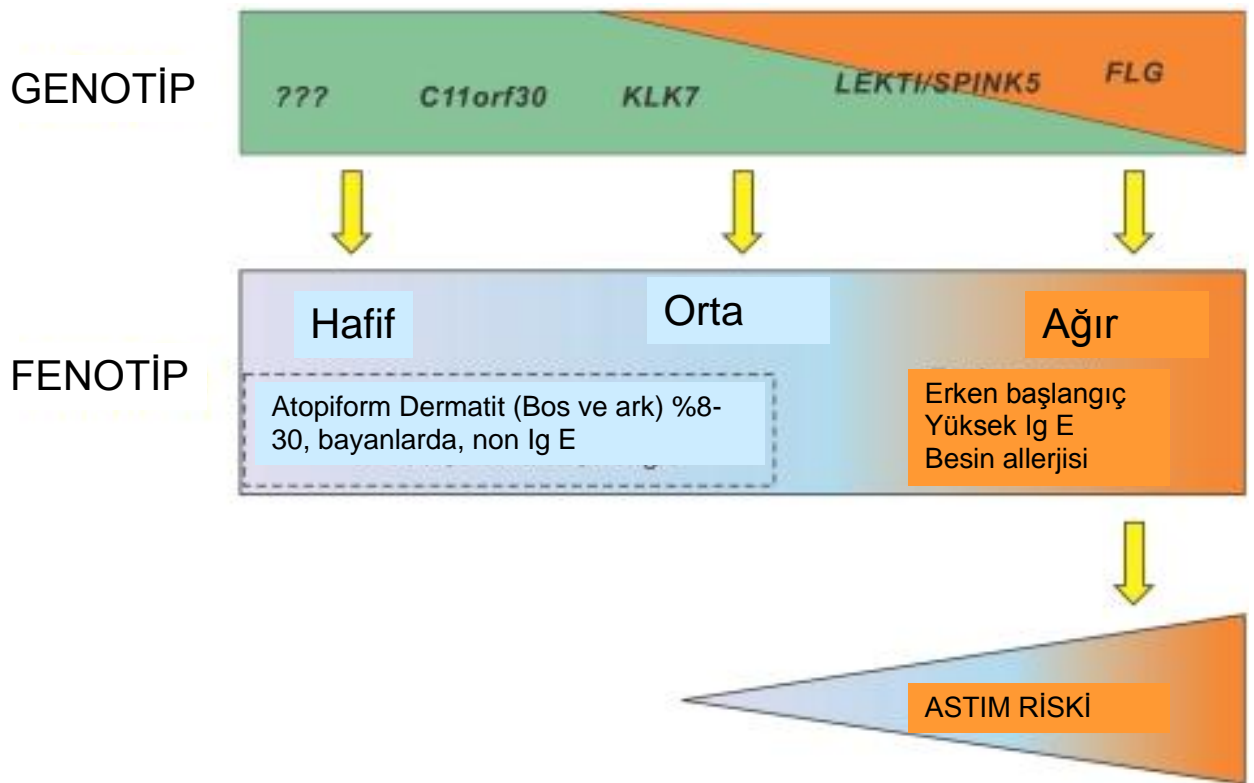
	Atopik egzema ile ilişkili genler	Lokus	İlişki	Referans
Sistemik Atopik İmmün cevap	Interleukin-4 (<i>IL4</i>)	5q31-33	IL-4 TH2 immün cevabı ve IgE üretimini artırır	(39,40)(He et al., 2003; Kawashima et al., 1998)
	Interleukin-4 receptor (<i>IL4R</i>)	16p12.1-11.2		Hata! Yer işareti tanımlanmamış. (He et al., 2003; Hosomi et al., 2004; Oiso et al., 2000)
	Interleukin-13 (<i>IL13</i>)	5q31-33	OL-13 B hücre dönüşümünü ve IgE üretimini artırır	(43,44)(Liu et al., 2000; Tsunemi et al., 2002)
Kutanöz İmmünite inflamasyon	Mast cell chymase (<i>CMA1</i>)	14q11.2	Mast hücre chymase mikrovasküler geçirgenliği artırır ve inflamatuvar hücreleri ortama toplar	(45,46)(Mao et al., 1996; Weidinger et al., 2005)
Epidermal değişim ve cilt bariyerinin bozulması	Serine protease inhibitor kazal-type 5 (<i>SPINK5</i>)	5q31	SPINK5 genindeki mutasyon netherton snd. Ayol açar	(47-49)(Kato et al., 2003; Nishio et al., 2003; Walley et al., 2001)
	Filaggrin (<i>FLG</i>)	1q21	<i>FLG</i> null mutations ichthyosis vulgaris e neden olur	(8,50,51)(Palmer et al., 2006) plus >15 other reports reviewed in: (Brown and Irvine, 2008; Rodriguez et al., 2008)

2.5. Deri Bariyeri Bozuklukları ve Genetiği

Epidermis vücudun su kaybetmesini ve dış dünyadan patojenlerin vücuda girişini engelleyen koruyucu bir yapıdır. Bu bariyer karışık ve programlı bir grup biyokimyasal olay sonrasında hücrelerin keratinosite dönüşmesi sonucunda oluşur (52). Epitelyal keratinositlerin plazma zarı kornifiye envelope (CE) denilen suda erimeyen makromoleküler bir zara dönüşür. CE'nin başlangıcından bir grup majör protein sentezi sonucunda CE'nin daha güçlü bağlarla bağlanması sağlanır. Bu yapısal proteinlerden birisi de filaggrindir. Bu proteinler transglutaminazlarla birbirine çapraz bağlarla bağlanarak ekstrasellüler ortama kovalent olarak bağlanan lipid bir zar oluştururlar. Bu bariyer, çevresel tetikleyiciler, zedelenmeler ve yetmezliklere karşı etkilidir. Hücre farklılaşması, ölümü ve deskuamasyonu sırasında oluşan aksaklıklar hastalık olarak karşımıza çıkar. Kornifikasyonda rol alan anahtar proteinler 1q21 kromozomunun genyoğun bölgesinde kodlanır. Bu bölgeye epidermal diferansiyon kompleksi (EDC) denir (53). EDC bölgesi 1.62 megabaz büyüklüğünde olup 70 gen eksprese eder ve bu genler psoriasis, otoimmün hastalıklar ve ekzema ile ilişkili bulunmuştur (54). Bu genlerden biride filaggrin proteini kodlayan filaggrin genidir (FLG).

Genetik temellerin etkisi altında epidermal bariyer bozulur. Bu hastalığın doğal seyrinde aeroallerjenlerin bozuk bariyerden geçip ve duyarlaşma olması sonucunda kronik

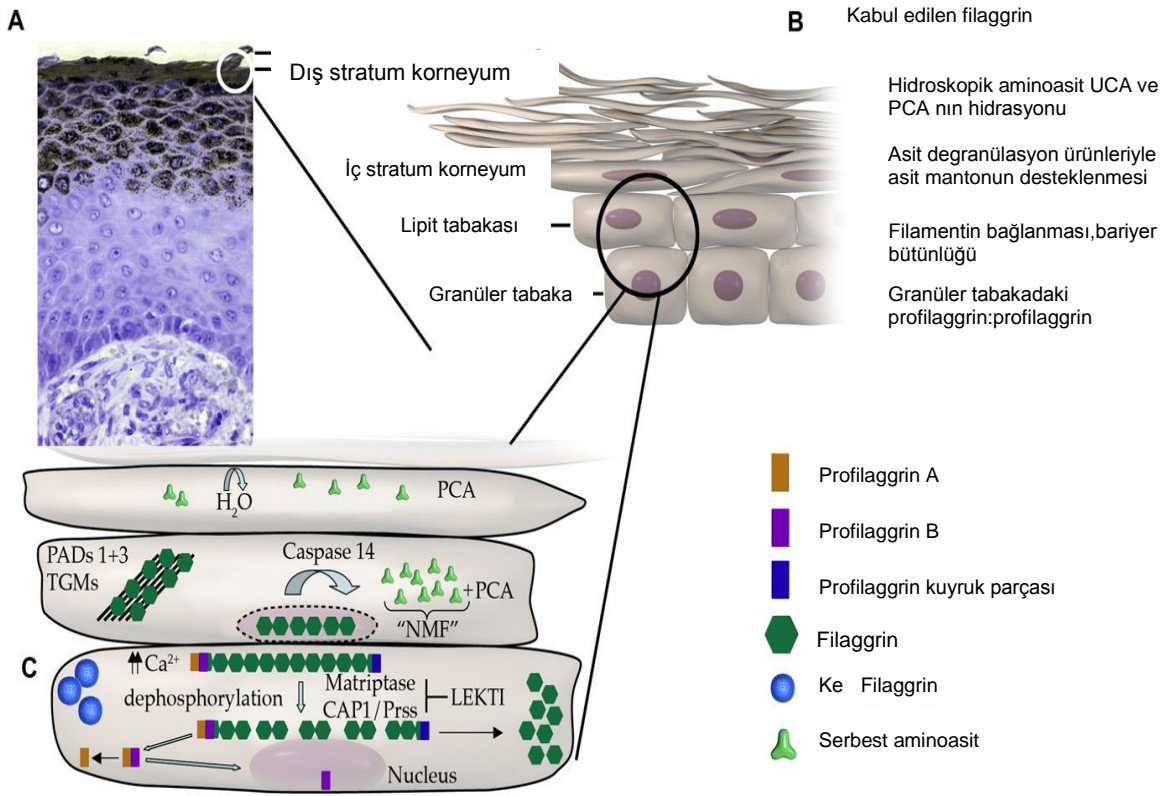
inflamasyon gelişir. FLG mutasyon geni taşıyan hastaların erken yaşlarda duyarlılık kazanıp atopik dermatit geliştirenlerin de astım gelişme riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu genotip-fenotip ilişkisini gösterir (Şekil 3).



Şekil 3. Atopik dermatitte genotip-fenotip ilişkisi

2.6. Filagrin Sentezi ve Fonksiyonu

FLG geninde 500-kDa büyüklüğünde inaktif şekli olan profilaggrin proteini kodlanır. İnaktif büyük profilaggrin prekürsörleri geniş, kompleks, yüksek oranda fosforizedir ve epidermisin granüler hücre tabakasında yer alırlar (şekil 4A). Kornifiye hücre oluşumu boyunca kanal aktive edici serin proteaz/Prss ve matriptaz/matriptaz gibi serin proteazlar tarafından defosforilize edilip kesilir . Böylece fonksiyonel çok sayıda 10-12 tane ayrı 37-kD filagrin kopyaları oluşur. Bu etkin filaggrin peptitleri daha sonra keratinositlerin içindeki iplikli sitoskeleton destekler, ölü hücreleri kompakt bir katman olarak düzleştirir ve transglutaminazlar tarafından kimyasal olarak çapraz bağlanırlar. N-terminal S100-benzeri kalsiyum bağlayıcı parça ile kesilen profilaggrin çekirdeğe girer. Burada son değişiklikleri gerçekleştirir. Skrotum korneumunda filagrin posttranslasyonel modifikasyon enzimleri ile hidrofilik aminoasit havuzu oluşturur. Buna doğal moisturizing faktör (NMF) denir. NMF son derece hidroskopiktir ve skrotum korneumun hidrasyonunda rol alır. NMF cildin Ph'nin korunmasında, proteaz aktivasyonu gibi biyokimyasal olayların düzenlenmesinde, bariyer geçirgenliğinde, derinin antimikrobiyal aktivitesinde görev alır. Sonuç olarak filaggrinin ekspresyonu ve NMF içinde filagrin peptidlerinin hidrasyonunun aktivasyonu lokal Ph, dış etkenlerden korunma ve epidermisten su kaybının önlenmesi gibi çok önemli bir mikroçevre oluşturur. Filaggrin ekspresyonu ve deri bariyerindeki fonksiyonu şekil 4 te gösterilmektedir (8).



Şekil 4. Filaggrin ekspresyonu ve deri bariyerindeki fonksiyonu

- A. Öncü preprotein olan profilaggrin keratohyalin granüllerinden sentezlenir. Stratum korneum bölgesi filaggrin ile güçlü pozitifdir.
- B. Epidermal terminal farklılaştırma programında filaggrin bölgeye özel fonksiyon kazanır. Bu olay granüler katmanda profilaggrin filagine bölünmesi ve iç stratum korneum bölgesinin lipid tabakasında filament yoğunlaştırılması ve bariyer fonksiyonunun geliştirilmesi, dış stratum korneumda deskuamasyon boyunca aminoasit yıkım ürünlerinin dış katmanın hidrasyonunu yapması ve asit montajı gibi davranmasıyla sağlanır.

C. Filaggrin dengesi hakkında bilinenlerin özeti. Kalsiyum konsantrasyonu artarak profilaggrin defosforilize olur. Proteaz matriptaz (proteaz inhibitör LEK1 tarafından inhibe edilir) ve CAP1/Prss ile proteolitik kesim yapılır. Proteoliz sonrasında filaggrin B kısmı son değişim için çekirdeğe taşınır. Serbest filaggrin proteini keratin filamentleri ile transglutaminaz tarafından çapraz bağla bağlanır ve peptidilarginin deaminaz (PAD) 1 ve 3 ile deaminasyon yapılır. Caspase14 ile posttranslasyon modifikasyonu yapılarak strotum korneum hidrasyonunu sağlayan serbest aminoasit hidroskopik yıkım ürünleri olan urokanik asit (UCA) ve pyrrolidon karboksilk asit (PCA) üretilir (NMF).

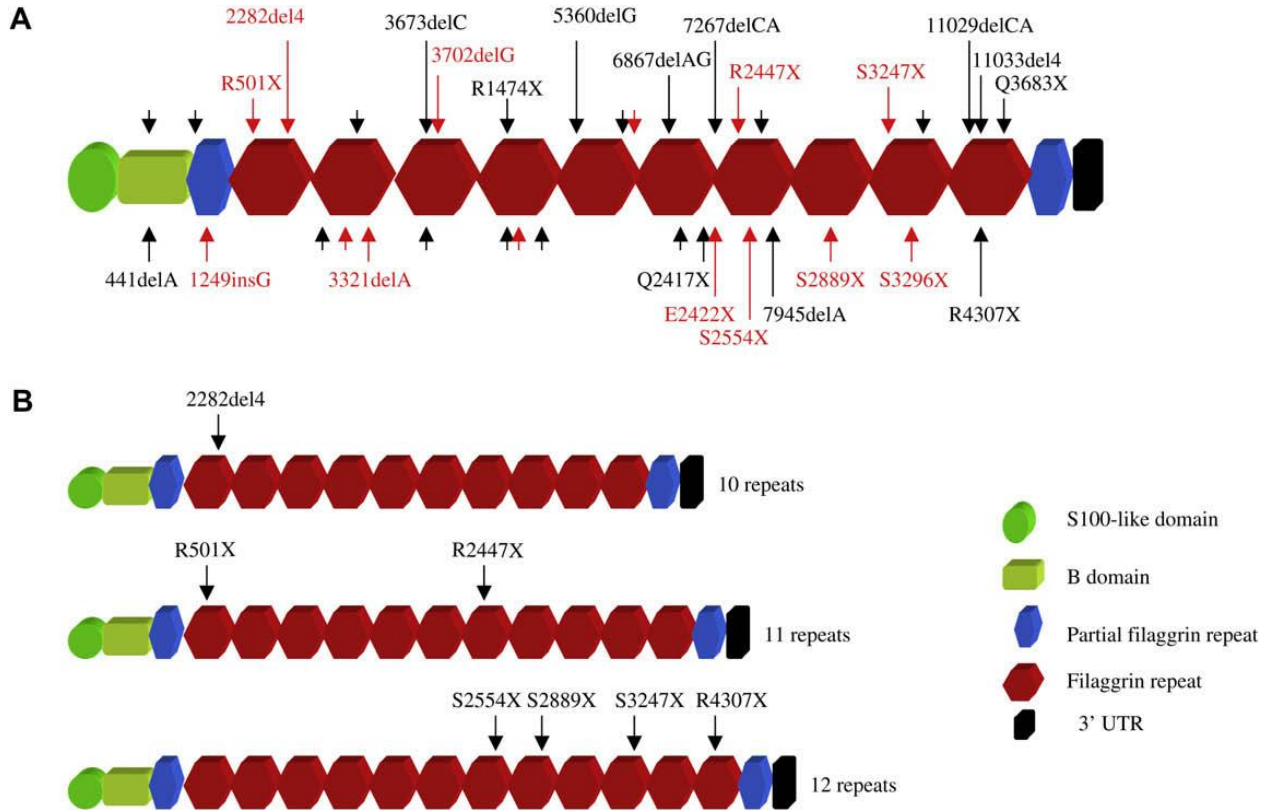
2.7. Egzema ile Güçlü İlişkisi Bulunan Filaggrin Gen Mutasyonları

Filaggrin mutasyonu İktiyozis vulgaris (IV) gibi sık görülen keratinizasyon hastalığı ve atopik hastalıklarda gösterilmiştir. İktiyosis vulgaris 1:250 sıklığında izlenen tüm vücutta yaygın kuruluk, el ve ayak içinde hiperlineerite ve keratosis plaris ile karakterize bir hastalıktır. Smith ve arkadaşları (11) ilk kez 2006'da iktiyozis vulgarisli hastalarda filaggrinin R501X ve 2282del4 mutasyonlarını tanımladı. Bu mutasyonlara sahip hastalarda filaggrinin tam fonksiyon kaybının olduğu gösterildi. Bu çalışma sonrasında atopik dermatitte FLG gen mutasyonu ile ilgili çalışmalar hız kazandı.

FLG in mutasyonu topluma özgüdür. Avrupada 6 s s sık 14 ü nadir olan 20, asyada 8 i sık, 9 u nadir olan 17 mutasyon tanımlanmıştır (şekil 5). Mutasyonlar sessiz mutasyon olduğu gibi, çerçeve kayması ile beraber delesyon/insersiyon mutasyonu da olabilmektedir. Distal mutasyonlar profilaggrinin ekspresyonunu azaltır ve fonksiyonel filaggrin alt üniteleri üretilemez. C-terminal bölgesi FLG için önemli bir yerdir bu bölgedeki mutasyonlar penetrasyonu azaltır (55). Sık rastlanan tekrar 1' in başlangıcındaki R501X ve 2282del4 mutasyonu, stop proteini translasyonu gibi etki eder. Filaggrin proteininin sentezlenmemesi ile sonuçlanır. Kombine allel sıklığı Avrupada %4 tür. Yarı dominattır ve heterozigot olduğunda hastalık daha hafif seyreder. Avrupada FLG taşıyıcı mutasyon sıklığı %10' dur (55). Mutasyon sıklığı etnik kökene göre değişir. Egzemalarda %18-48 sıklıkta FLG null alleli vardır (8,9,11,13,20,55). Japonlarda AD de FLG mutasyonu %27 iken kontrol grubunda %3.7 dir (56). Asyada ki mutasyonlar Avrupadaki topluma göre farklılık göstermektedir. İlginç olarak Avrupada sık görülen 2 mutasyon İtalyanlarda saptanamamıştır (57). Her

populasyonda saptanan FLG mutasyonunun farklı olması tüm dünyaya ait genel bir veri elde edilmesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle her toplumun ayrı ayrı çalışılması gerekir.

Altı bin yedi yüz İngiliz, 3000 Alman çocuğu içeren 2 büyük toplum çalışmasında sık görülen R501X ve 2282del4 mutasyonun yanı sıra üç tane de nadir görülen mutasyon saptanmıştır (58,59). Alman çalışmasında, atopik dermatit gelişmesinde FLG mutasyonunun 3 kattan fazla risk oluşturduğu saptanmıştır. Rodrigez ve arkadaşları da 24 bağımsız çalışmada 1993 ailede 6448 vaka ve 26787 kontrolde 2 FLG mutasyonunun egzema geliştirme riskini araştırmış ve bu riski 3 olarak bulmuşlardır (60). Ayrıca başka bir çalışmada mutasyonun allerjen duyarlanması, atopik dermatitle birlikte astım gelişimi ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir (11). Bir çalışmada egzemalı hastalarda astım gelişme riskini 1.8 kat arttırdığı belirtilmiştir (61). FLG mutasyonunun allerjen spesifik IgE, rinokonjonktivit, alerjik rinit ve astım gibi alerjik hastalıklarla ilişkisi gösterilmiştir (58-60). FLG bronşiyal mukozada eksprese olmamaktadır. Ancak transkutanöz duyarlaşma buna neden olabilir (8,37).



Şekil 5. Protein organizasyonu ve mutasyonları yeri. FLG, tekrar eden FLG tekrarlarını kodlayan 3 ekzonlu transkripsiyon ekzonundan oluşur. FLG peptidleri 35 kd luk tekrarlayan 7-10 aminoasitten oluşur. 10 birbirine büyük oranda benzeyen FLG polipeptid unitesi vardır bu tekrar 10,11 veya 12 dir. Bilinen 37 mutasyon gösterildi. Fonksiyon kaybı ile sonuçlanan null alellerin okları numaralandırıldı. Numaralandırılmayanlar henüz mutasyonu bildirilmeyenlerdir. Yaygın mutasyonlar kırmızı, aileye spesifikler siyah ile yazıldı (A). Tekrarlayan mutasyonlar 10,11veya 12 tekrar allelin zemininde olur B. UTR, translasyon olmayan bölge

2.8. Filagrin ve Atopik Dermatit Patogenezi: Mekanizma ve Spekülasyonlar

FLG mutasyonu sonucu deri bariyeri bozulur, patojen ve antijenler deriden içeri girer. Cildin mikroflorası innate immün sistem cevabını tetikler ve proteaz aktivitesini artırır. Ph ın yükselmesi deri yüzeyindeki Stafilokokus aureus artırır, egzemalı hastaların %90' ının derisi bu bakteri ile kolonize olurken %65'inde ekzotoksin de üretilir (62,63). S. aureus epitelyal bariyere zarar verir, opsonizasyonu inhibe eder, nötrofil kemotaksisini artırır, nötrofillerin sitolizisine neden olur, katherisidin LL-37, human beta defensin HBD-1, HBD-2, HBD-3, dermisidin gibi antimikrobiyal peptidleri azaltır (64,65). Naive immün sistemin S.aureus superantijenle karşılaşması ile Th2 immün yanıtı aktive olur ve innate immün yanıt daha da artar (36,37),. Doğal Th2 sitokin olan IL-31 kaşıntılı atopik lezyonda aşırı eksprese edilir, bu olay atopik dermatitlerde S. aureus ile kaşıntılı cilt arasında ilişki kurulmasına neden olur (66,67). Derinin Th2 ile infiltre edilmesi IL-31 i daha da artırır (68). Bu durum proteolitik aktivitenin daha da yükselip bariyerin daha çok bozulmasına yol açar (69). Skrotum korneumun Ph ının nötröle olmasının bağımsız olarak proteaz aktiviteyi artırırken lipid processing enzimlerinin azaltarak lamellar zarın zarar görmesine neden olur. Bu olay derinin bariyer fonksiyonunu bozar (70,71). Ek olarak atopik derideki keratinositler IL-7 benzeri stromal lenfopoetin yüksek seviyede yapılmasına ve dendritik hücrelerin sinyallerinin Th2 polarizasyonuna yol açar (72). IL-4 ve IL13 tarafından filagrin indüksiyonu azaltılır. FLG mutasyonu taşımayan egzemalı hastalarda atopik immün yanıt tarafından deri bariyer fonksiyonu değiştirilir. Bu egzemalı hastalardaki kserotik görünüme katkıda bulunur. IL-4 ve IL-13 ün aracılık ettiği atopik inflamasyon cevabı tarafından FLG cilt ekspresyonu değiştirilir. Böylece yapısal molekül ile egzemadaki inflamasyon yanıtı

gelişir (15). Zarar görmüş deri bariyerinden yüksek molekül ağırlığındaki polenler, ev tozu akarları, mikroplar, besin ile karşılaşılması dentritik hücrelerin Th2 polarizasyonunun artmasına yol açar (73).

Tüm bu gelişmeler olurken Gao ve arkadaşları (74) FLG mutasyonu olan AD li hastaların derisinde yaygın herpes simpleks virüs enfeksiyonu (eczema herpeticum) gelişmesinin kolaylaştığını saptadılar. Eczema herpetikumu olan AD li hastalarda, eczema herpetikumu olmayan AD li hastalara göre R501X mutasyonu 3 kat fazla görülüyordu ve hastalık 2 kat daha ağırdı. Bu bulgular, mutasyon nedeniyle bozulmuş derinin bariyer fonksiyonunun viral enfeksiyona yatkınlığı arttırdığını da düşündürmektedir.

Özet olarak;

- FLG mutasyonu olur
- Cilt bariyeri bozulur
- Allerjenler epidermise ve oradan subepidermal dokuya gelir
- Langerhans hücreleri gibi antijen sunucu hücreler ve dendritik hücreler ile ilişkiye girer
- Th2 immün yanıtı oluşur
- Sistemik allerjinin gelişmesine yol açar

- Cilt bariyeri bozulur ve cildin pH ı yükselir
- Yüksek cilt pH ında Staphylococcus aureus kolonize olur.(egzamalılarnın %90 ından fazlasında Staf.aureus kolonizedir)
- S. aerius superantijenleri naive immün sistemi uyarır ve Th2 immün yanıtını aktive eder.
- IL-4 ve IL-13 aracılıklı atopik inflamatuvar cevap ile filaggrin cilt ekspresyonu düzenlenebilir.

Genetik temeller altında AD'de epidermal bariyerin bozulmasına neden olur. Bu hastalığın doğal seyrinde aeroallerjenler bozuk bariyerden geçerek duyarlanmaya sonuçta da kronik inflamasyonun gelişmesine neden olur. FLG mutasyon geni taşıyan hastalarda erken yaşlarda duyarlılık kazanıp AD geliştirirken bu kişilerde astım gelişme riski de artar.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Çalışma Grubu

Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Çocuk Allerji Bölümüne Nisan 2010-Kasım 2010 tarihleri arasında başvuran doktor tarafından atopik dermatit tanısı alan 2 ay-16 yaşında ki 46 hasta çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu da aynı yaş grubunda genel tıbbi muayene için çocuk sağlığı ve hastalıkları bölümüne başvuran, başvuru anında aktif hastalık şikayeti olmayan, özgeçmişinde atopik dermatit, astım, alerjik rinit, böbrek, karaciğer hastalığı, diabetes mellitus gibi kronik hastalığı bulunmayan 47 sağlıklı çocuktan oluştu. Çalışma Yeditepe Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylandı. Tüm aileler çalışma ile ilgili bilgilendirildi ve bilgilendirilmiş onam formu alındı.

Atopik dermatit ve egzema aynı anlamda kullanıldı. Atopik dermatitin dört majör kriterinden üçüne (deri kaşıntısı, infantlarda ekstensör yüzde, daha büyük çocuklarda fleksör yüzde tipik morfolojik dağılım gösterme, kronik ve tekrarlayan özellikte olma, ailede atopik kişi öyküsü bulunmadan oluşan) veya 21 minör kriterden üçüne sahip hastalara doktor tarafından egzema tanısı konuldu (75). Egzemanın şiddeti SCORAD indeksine göre indeks puanı 15 den az olanlar hafif, 15-40 olanlar orta, 40'dan yüksek olanlar ağır olarak sınıflandırıldı. Bu skorlamada, hastanın avuç içindeki el ayasının genişliği %1 genişliği göstermek üzere atopik dermatitin yaygınlığı hesaplanıp ve "A" olarak kaydedildi. Atopik dermatitin yoğunluğu , eritem, papül/ödem, likefikasyon, kuruluk, soyulma, kriterlerinden her biri 0=yok, 1=hafif, 2=orta, 3=yoğun olmak üzere tek tek değerlendirilip toplanarak "B" olarak kaydedildi. Son olarak subjektif belirtiler olarak kaşıntı ve uyku kaybını 1den 10 kadar puanlamaları istenip , iki şikayet

için verilen puanlar toplandı ve “C” olarak kaydedildi. $SKORAD=A/5+(7B/2)+C$ formülü kullanılarak SKORAD hesaplandı (22).

Hastaların ailesinde allerjik bireyin olması, son 6 ayda okul kaybının bulunması ve kayıp süresi, oral steroid ihtiyacının olması ve süresi, intravenöz immünoglobulin (IVIG) kullanmaları kaydedildi.

Hastaların GINA (Global Initiative for Asthma) kriterine göre tekrarlayan hışıltısı olan çocuklarda doktor tarafından astım tanısı alanlarda, mevcut klinik özellikleri ve kullanmakta oldukları günlük tedaviye göre astım şiddetleri intermitant, hafif persistan, orta persistan, ağır persistent olarak belirlendi. Son altı ayda geçirdikleri astım atak sayısı kaydedildi (76).

“The Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA)” kriterlerine göre doktor tarafından konulan allerjik rinit tanısı alan hastalar hafif intermitan, orta-ağır intermitant, hafif persistan ve orta-ağır persistan rinit olarak sınıflandırıldı (77).

Tüm çocukların antekübital bölgesinde EDTA’lı vasat içine 2 ml kan DNA çalışması için alındı ve kan örnekleri +4°C’de saklandı. Tüm çocuklardan düz kuru tüp içerisine 5 ml venöz kan alınıp ayrılan serum örnekleri -20°C’de saklandı.

3.2. İmmünglobulinlerin ve Spesifik İmmünglobulin E’nin Ölçülmesi

Total Ig E düzeyleri Cobas C 411 Cihazı ile Elektrokemiluminesans / Sandviç Yöntemiyle, eozinofil sayısı Counter counter ile belirendi (Pharmacia, Kalamazoo, MI). Epidermal cilt testi yapılabilen çocuklara 30 aero-allergen ve 8 besin alerjeninden oluşan 38 alerjenle epidermal cilt testi yapıldı. Pozitif kontrol olarak histamin, negatif kontrol olarak serum fizyolojik kullanıldı. Negatif kontrole göre 3 mm’den daha büyük endürasyonlar pozitif

olarak değerlendirildi. Cilt testlerinin en az bir tanesi pozitif olan çocuklar atopik kabul edildi.

Aero-allergenler için spesifik IgE paneli phadiotop (CAP ;Phadia), besin paneli (FX5 CAP; Phadia), inek sütü (f2), yumurta beyazı (f1), fıstık, fındık, ev tozu akarı (D1, D2), küf arışımı , spesifik Ig E (CAP;Phadia) yöntemi ile ölçüldü ve 0.35 IU/ml den yüksek değerler pozitif kabul edildi. Kan testlerinden en az bir tanesi pozitif olan çocuklar atopik kabul edildi.

Çocukların immün sistemini değerlendirmek için sık hastalık geçirmeleri sorgulandı. Sık hastalık ile bir yılda altıdan fazla üst hava yolu enfeksiyonu ve/veya üçten fazla orta kulak enfeksiyonu ve/veya birden fazla akut sinüzit ve/veya birden fazla bronkopnömoni kastedildi (78).

Tüm çocukların Ig A, Ig M, Ig G ölçümleri serumda Dade Behring BN ProSpec Cihazı ile İmmunonefelometrik yöntemiyle yapıldı. Bu ölçümler Türk çocuklarının yaşa göre normal dağılımları ile karşılaştırıldı. -2SD ve altındakiler düşük , -2SD'un üstündeki düzeyler normal kabul edildi (79). İmmünglobulin değerlerinin karşılaştırılmasında yaş faktörünün etkisini ortadan kaldırmak üzere z skorları hesaplandı. Z skoru= $(x-\mu)/\delta$ formülü ile hesaplandı (x=hastanın ölçülen Ig düzeyi, μ =toplumun o yaş için ortalama Ig değeri, $\delta=(-2SD- \mu)/2$). Çocukların tam kan sayımından counter counter ile elde edilen lenfosit sayısı ve yüzdesi kaydedildi. Bu değerler Türk çocuklarının yaşa göre normal dağılımları ile karşılaştırıldı. %5'in altındakiler düşük , %5-95 arası düzeyler normal kabul edildi (80).

3.3. DNA Ayrılması ve Mutasyon Analizi

3.3.a. Cihazlar

Pipet takımı (Ependorf), Invitrogen iPrepTM Purification cihazı, Mikrosantrifüj, Soğutmalı Santrifüj, (-) 20 °C derin dondurucu, (+) 4 °C soğutucu

3.3.b. Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler

Invitrogen iPrepTM PurelinkTM gDNA kan kiti, Taqman^R Fast Universal Master Mix (2X)

3.3.c. DNA İzolasyonu

Atopik dermatit tanısı konmuş hasta ve sağlıklı kontrol olgularından 2,5 cc periferik venöz kan, 5 cc'lik EDTA'lı tüpe alınmıştır. Kandan DNA izolasyonu için Invitrogen iPrepTM PurelinkTM gDNA kan kiti kullanılmıştır. Kitin içerisindeki prosedür Invitrogen iPrepTM Purification cihazına uygun olarak uygulanmıştır. Kapalı sistem içerisinde DNA izolasyon işlemi 30 dakika içinde gerçekleşmiş ve bu işlem sonunda yaklaşık 200 µl DNA elde edilmiştir.

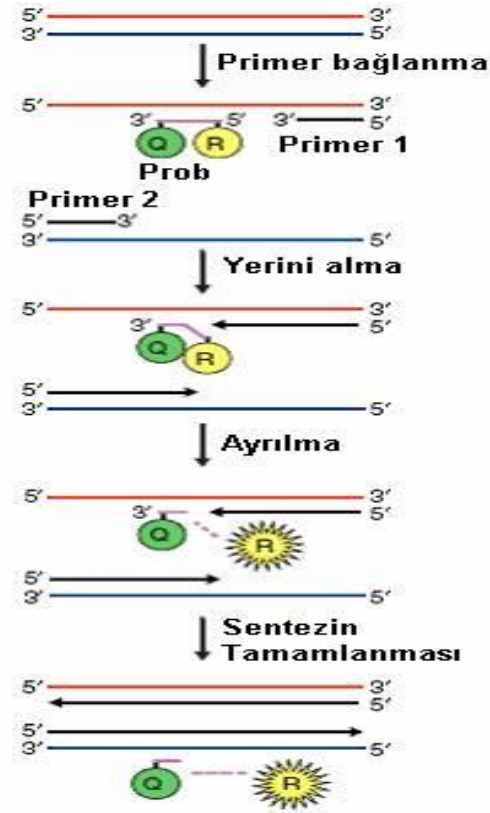
3.3.d. Genomik DNA'ların Spektrofotometrik Ölçümleri

Genomik DNA'lar UV spektrofotometre ile 260-280 nm dalga boylarında ölçülerek çalışmaya A260/A280 nm= 1,6-1,8 arasında olan olgular dahil edilmiştir. Ölçümler sonucunda çalışmamızda kullanılan hasta ve kontrol DNA değerlerinin mikrolitrede 25-250 ng arasında değiştiği tespit edilmiştir.

3.3.e. Filagrin Geni R501X Mutasyon Analizi

Real Time PCR yöntemi, floresan maddelerle işaretli proplar kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonunda DNA amplifikasyonunun floresan ölçümü sayesinde eş zamanlı olarak izlenebildiği bir yöntemdir. Bu yöntem nükleik asit miktarının kantitatif analizine olanak sağlaması yanında bilinen mutasyonların (yada polimorfizmlerin) analizini de gerçekleştirebilmektedir.

Filagrin geni R501X mutasyon analizi “5’-Exonuclease Allelic Discrimination Assay (Taqman)” yöntemi kullanılarak Applied Biosystems 7500 Fast Real Time PCR cihazında yapılmıştır. Bu yöntemde 5’ ucunda FAM, VIC “reporter”, 3’ ucunda ise “quencher” boya ile işaretli floresan proplar kullanılır. “Reporter” boyanın emisyonu “Quencher” boya tarafından baskılanır. Allel spesifik olarak dizayn edilen proplar uygun hedef diziyeye bağlanırlar. PCR işleminin “uzama (extension)” basamağında DNA polimeraz 5’-ekzonükleaz aktivitesi ile probun nükleotidlerini teker teker hedef diziden ayırır. “Quencher” boya ile “Reporter” boya birbirinden uzaklaşır ve baskılama kalktığı için “Reporter”ın floresansı açığa çıkar ve cihaz tarafından ölçülür (Şekil 6).



Şekil 6 :Taqman® Real-Time PCR Amplifikasyonu

Filagrin geni R501X mutasyon analizi için Palmer ve ark (8) tarafından belirtilen primer ve prob dizileri kullanılmıştır (Tablo 2). Ayrıca bu çalışmada real time pcr uygulaması ile allelik diskriminasyon analizi, doğal tip allel için FAM, mutant allel için VIC floresan probları kullanılarak yapılmıştır. Real Time PCR uygulaması sırasında kullanılan PCR karışımı ve amplifikasyon koşulları ise tablo 3 ve tablo 4 da gösterilmiştir.

Tablo 2. Real Time PCR Aşamasında Kullanılan Primer ve Prob Dizileri

Flagrin Geni R501X Mutasyonu	
<i>Forward Primer:</i>	5'-CACTGGAGGAAGACAAGGATCG-3'
<i>Revers Primer:</i>	5'-CCCTCTTGGGACGCTGAA-3'
<i>Doğal Tip Allel Prob:</i>	6-FAM- AGCTGTCTC G TGCCT
<i>Mutant Allel Prob:</i>	VIC- AGCTGTCTC A TGCCT

Tablo 3. Real Time PCR Uygulamasında Kullanılan PCR Karışımı

<i>Forward primer (18µM):</i>	0,3 µl
<i>Revers primer (18µM):</i>	0,3 µl
<i>Doğal Tip Allel Prob (FAM) (5µM):</i>	0,2 µl
<i>Mutant Allel Prob (VIC) (5 µM):</i>	0,2 µl
<i>Taqman Master Mix:</i>	10 µl
<i>ddH₂O:</i>	6,5 µl
<i>Genomik DNA (10-100ng):</i>	2,5 µl
<i>Total Hacim</i>	20 µl

Tablo 4. Real Time PCR Uygulamasında Kullanılan Amplifikasyon Koşulları

<i>Pre-Read</i>	60 °C	1 dk
	95 °C	20 sn
<i>40 Siklus</i>	95 °C	3 sn
	60 °C	30 sn
<i>Post-Read</i>	60 °C	1 dk

3.4. İstatistiksel Analiz

Bu çalışma sonunda atopik dermatitli hastalar ve sağlıklı kontrol grubundaki çocuklar arasında karşılaştırma yapıldı.

İstatistiksel analizler için SPSS 13.0 programı kullanıldı. Hardy-Weinberg equilibrium ki-kare istatistiği ile test edildi. Yaş, eozinofil sayısı ve yüzdesi, lenfosit sayısı ve yüzdesi, total Ig E, IgA, Ig M, Ig G, düzeyleri normal dağılmıyordu. Bu nedenle sonuçlarda median ve çeyrekler arası değerler kullanıldı ve tüm istatistikler nonparametrik Mann-Whitney U-test ve Kruskal-Wallis test kullanılarak gerçekleştirildi. 0.05'den küçük p değerleri anlamlı kabul edildi. Atopik Dermatit ağırlık derecesine etki eden faktörler lojistik regresyon analizi ile araştırıldı. Lojistik regresyon analizine dahil edilen faktörler şunlardı: yaş, cinsiyet, atopik dermatit başlangıç yaşı, cilt testi pozitifliği, eozinofil sayısı, lenfosit sayısı, IgE , IgM, IgG, IgA seviyesi, anne, baba ve kardeşlerde alerjik hastalık varlığı, R501X, 22del4 mutasyonu, sık hastalık geçirme, astım, alerjik rinit olması, okul kaybı idi. Univaryant lojistik regresyon analizinde 0.05'den küçük p değerlerine sahip faktörler arasında multivaryant

lojistik regresyon analizi yapıldı. Bu analiz sonunda 0.05'den küçük p değerleri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR:

4.1. Olguların Demografik Verileri ve Özellikleri

49 atopik dermatitli hastanın ve kontrol grubundaki 50 çocuğun Filaggrin geninde ki R501X bölgesi başarı ile genotiplendirildi. Analizler genotiplendirilmesi yapılan bu popülasyonda yapıldı.

Çalışmaya alınan çocukların demografik ve biyokimyasal özellikleri Tablo 5’de görülmektedir.

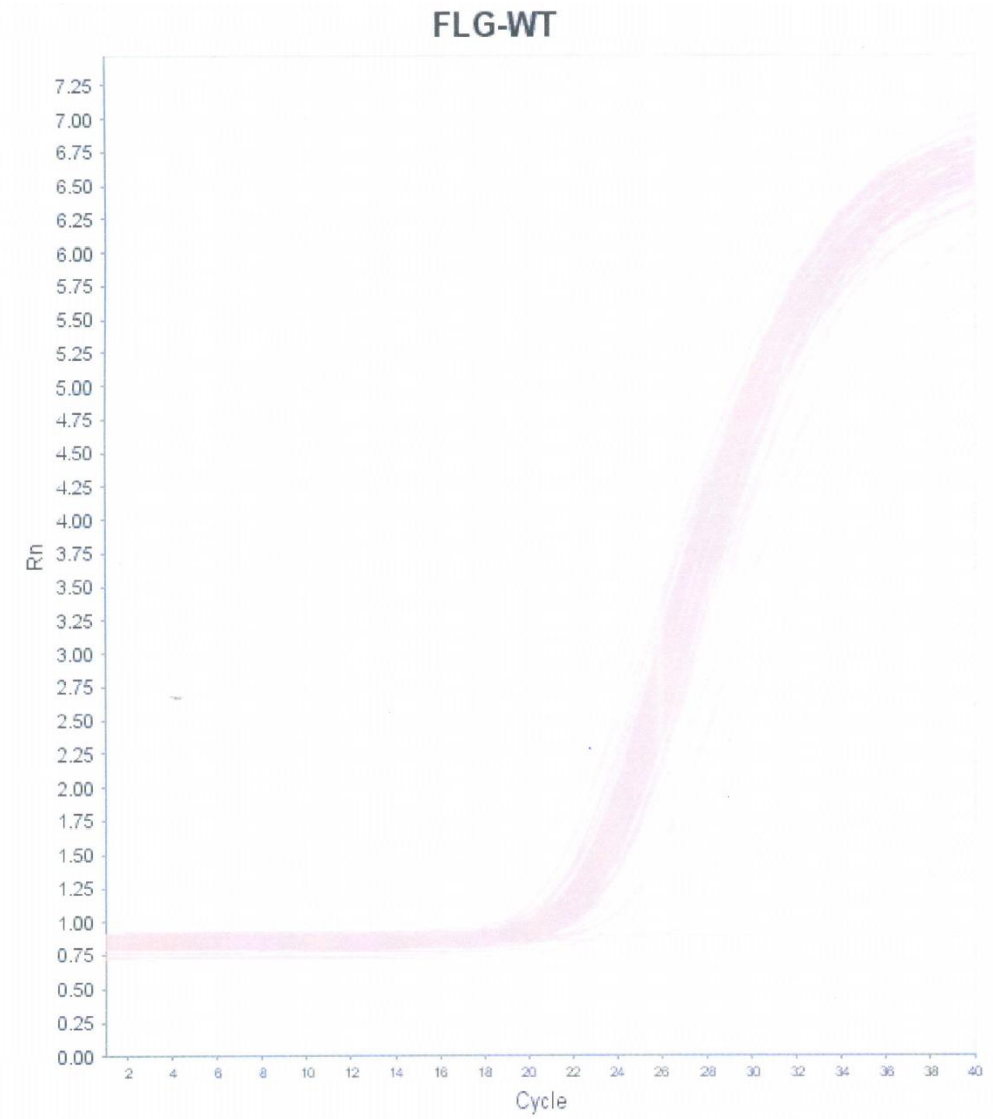
	Atopik Dermatit N=49(%)	Kontrol N=50(%)	P
Yaş (ortalama±SD)	4.85±3.64	3.77±2.79	0.24
Cinsiyet			
Erkek	26(53.1)	30(60.0)	0.48
Kız	23(46.9)	20(40.0)	
Akrabalık	3(6.1)	0(0.0)	0.12
Sık hastalanma	12(24.5)	0.0(0.0)	<0.001
Ailede alerji öyküsü	24(49.0)	0.0(0.0)	<0.001
Astım ve/veya rinit	23.0(47.9)		
Astım var	19.0(38.8)	0.0(0.0)	<0.001
yok	30.0(61.2)	0.0(0.0)	
Astım şiddeti			
İntermitant	8.0(42.1)		
persistan	11.0(57.9)		
Astım atağı	8.0(42.1)		
Rinit şiddeti			
İntermitant	2.0(20.0)		
persistan	8.0(80.0)		
Atopi	22.0(44.9)	0.0(0.0)	<0.001
Ev tozu akarı+	18.0(36.7)		
Besin+	5.0(10.4)		
Total Ig E			<0.001
Ortanca (25-75	114.9(35.8-1122.4)	29.4(10.5-65.1)	
persentil)			
Absolü eozinofil	400.0(200.0-827.5)	150.0(107.5-227.5)	<0.001
sayısı Ortanca (25-			
75 persentil)			
Eozinofil yüzdesi	3.9(2.4-8.6)	1.7(1.0-2.6)	<0.001
Ortanca (25-75			

persentil)			
CRP Ortanca (25-75 persentil)	0.6(0.3-1.7)	0.6(0.3-2.6)	0.92
Filagrin mutasyonu AA	49(100.0)	50(100.0)	>0.05

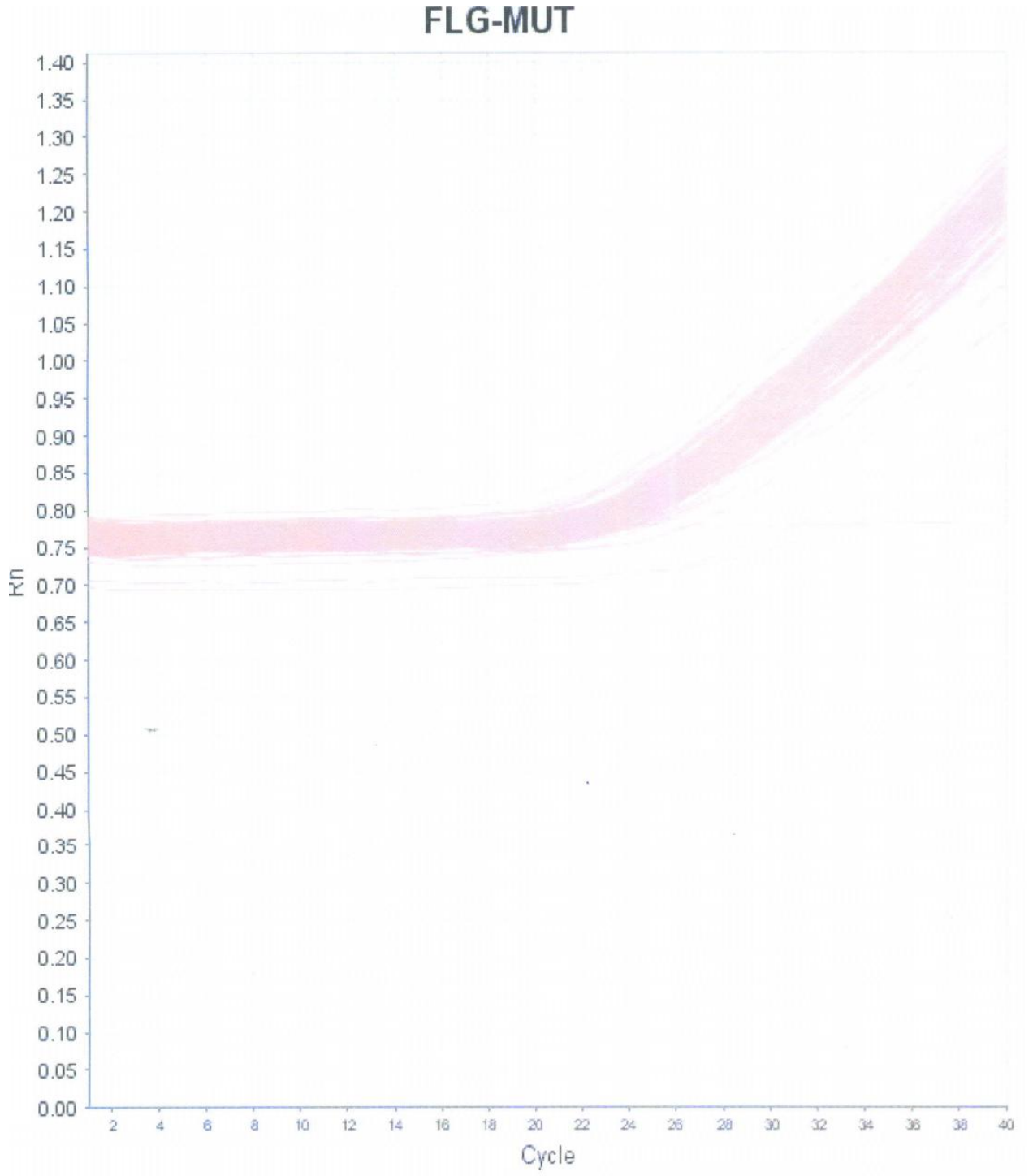
Tablo 5. Atopik dermatit hastaları ile sağlıklı kontrol grubunun demografik ve biyokimyasal özellikleri

4.2. Olguların FLG R501X Mutasyon analizleri

Hasta ve kontrol grubunun FLG R501X mutasyon görüntüleri şekil 7 ve 8 'de görülmektedir. Tüm çocukların homozigot olduğu görülmektedir.



Şekil 7. Atopik Dermatit Hastalarının FLG R501X mutasyonu (tümü homozigot)



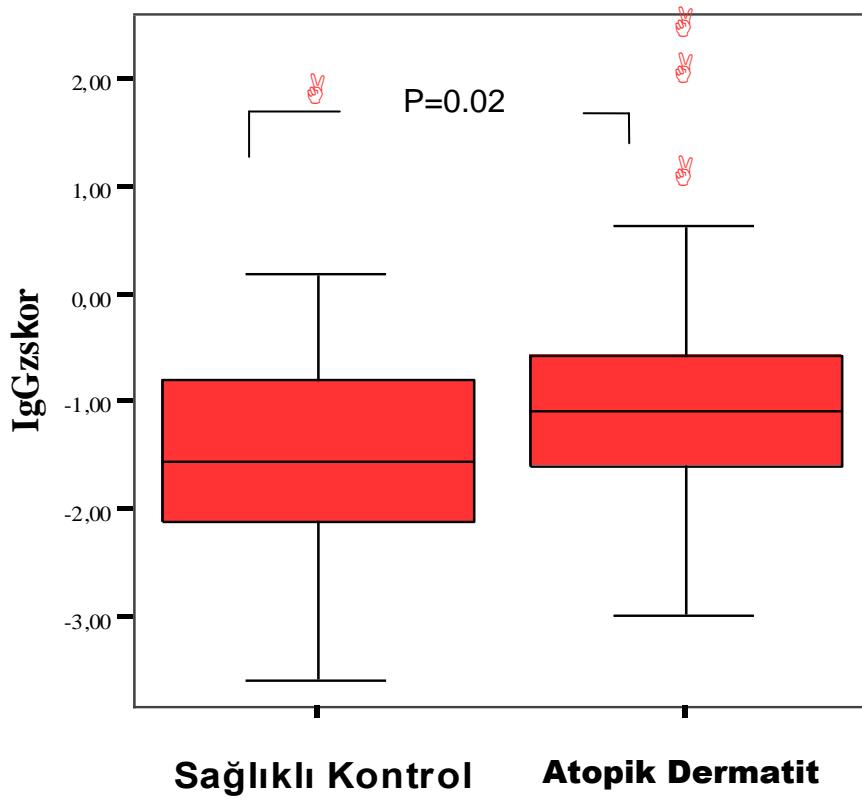
Şekil 8. Kontrol grubunun FLG R501X mutasyon analizi

4.3. Atopik Dermatit Hastaları ile Sağlıklı Kontrol Grubunun İmmünglobulin Taraması

Çalışmaya alınan çocukların immün sistem taraması amaçlı mutlak ve % lenfosit ve nötrofil sayıları ve Ig A, Ig M, Ig G ölçümleri yapıldı. İmmünglobulinlerin yaşa göre normallikleri değerlendirildi. İmmünglobulinler üzerindeki yaş faktörünün etkisini yok edebilmek için z skorları hesaplandı (Tablo 6, şekil 9) .

	Atopik Dermatit N=49(%)	Kontrol N=50(%)	P
Mutlak nötrofil sayısı Ortanca (25-75 persentil)	3.9(2.7-6.1)	3.1(2.4-4.5)	0.055
Nötrofil yüzdesi Ortalama±SD	41.4±13.6	38.1±17.0	0.31
Mutlak lenfosit sayısı Ortalama±SD	4.5±1.9	5.0±2.5	0.21
Lenfosit yüzdesi Ortalama±SD	43.9±15.1	50.2±16.6	0.055
IgA z skor Ortalama±SD	0.37±1.61	0.84±1.27	0.12
Ig M z skor Ortanca (25-75 persentil)	1.40(0.64-1.99)	1.04(0.04-1.95)	0.34
Ig G z skor Ortalama±SD	-0.97±1.13	-1.48±1.02	0.026
IgA düşüklüğü	9.0(19.1)	7.0(15.6)	0.78
Ig M düşüklüğü	9.0(21.4)	10.0(22.7)	1.00
Ig G düşüklüğü	7.0(14.9)	14.0(31.8)	0.081

Tablo 6. Atopik Dermatit hastaları ile Sağlıklı kontrol grubunun İmmün Sisteminin Taranması



Şekil 9. Atopik Dermatit Hastaları ile Sağlıklı Kontrol Grubunun Ig G z Skor Karşılaştırılması

4.4. Atopik Dermatit Ağırlığına Göre Olguların Değerlendirilmesi

49 hastanın 21'i hafif, 14'ü orta ve 14'ü ağır atopik dermatitti. Hastalığın şiddetine göre yapılan analizler tablo 7 'de görülmektedir.

	Hafif Atopik Dermatit N=21(%42.8)	Orta Atopik dermatit N=14(%28.6)	Ağır Atopik Dermatit N=14(%28.6)	P	P1	P2	P3	P4
Yaş (ortalama±SD)	3.02(±2.36)	5.18(±3.61)	7.28(±3.92)	0.002	<0.001	0.040	0.15	0.002
Cinsiyet								
Erkek	8.0(38.1)	9.0(64.3)	9.0(64.3)	1.92				
Kız	13.0(61.9)	5.0(35.7)	5.0(35.7)					
Akrabalık	1(4.8)	1(7.1)	1(7.1)	0.94				
Sık hastalanma	4.0(19.0)	4.0(28.6)	4.0(28.6)	0.74				
Ailede alerji öyküsü	9.0(42.9)	6.0(42.9)	9.0(64.3)	0.39				
Ailede AD öyküsü var	3.0(14.3)	4.0(28.6)	5.0(35.7)	0.32				
AD başlangıç yaşı (ay) ortanca(25-75 persentil)	12.0(2.0-21.5)	8.0(2.8-30.0)	12.0(2.8-24.0)	0.74				
Okul kaybı var	0.0(0.0)	1.0(14.3)	4.0(50.0)	0.15				
Sistemik tedavi(steroid/IVIG/foto)	0.0(0.0)	1(7.1)	7.0(50.0)	<0.001	0.001	0.40	0.033	0.007
Hastanede yatma	0.0(0.0)	0.0(0.0)	0.0(0.0)	>0.05				
Astım	8.0(38.1)	6.0(42.9)	5.0(35.7)	0.92				
Astım ve/veya rinit	8.0(38.1)	7.0(50.0)	8.0(61.5)	0.41				
Astım şiddeti								
Hafif	6.0(75.0)	1.0(16.7)	1.0(20.0)	0.046	0.10	0.10	1.0	0.024
intermitant								
Persistent	2.0(25.0)	5.0(83.3)	4.0(80.0)					
Hafif/Orta / ağır								
Rinit şiddeti								
Hafif	1.0(100.0)	0.0(00)	1.0(16.73)	0.09	0.28	0.25	1.0	0.20
intermitant	0.0(0.0)	3.0(100.0)	5.0(83.3)					
Orta persistent								
Son 6 ayda astım atağı	2.0(25.0)	3.0(50.0)	3.0(60.0)	0.41				

Son 6 ayda atak sayısı ortanca(minimum-maksimum)	0.0(0.0-2.0)	1.0(0.0-3.0)	2.0(0.0-5.0)	0.21				
En az bir besine duyarlılık (Besin miksi IgE(Fx5)+)	3.0(15.0)	2.0(14.3)	0.0(0.0)	0.32				
Ev tozu akarı duyarlılığı	4.0(19.0)	7(50.0)	7.0(50.0)	0.084				
Atopi (En az bir alerjene duyarlılık)	7.0(33.3)	8.0(57.1)	7.0(50.0)	0.35				
Total Ig E ortanca(25-75 persentil)	41.15(14.78-92.79)	447.35(65.17-1582.25)	1404.50(312.08-3438.25)	<0.001	<0.001	0.003	0.11	<0.001
Periferik eozinofil sayısı ortanca(25-75 persentil)	370.0(170.0-455.0)	535.0(300.0-1350.0)	640.0(240.0-1375.0)	0.038	0.029	0.038	0.88	0.011
Eozinofil yüzdesi ortanca(25-75 persentil)	2.5(1.9-4.5)	5.7(3.6-9.9)	7.4(3.1-15.1)	0.009	0.014	0.009	0.82	0.002
CRP ortanca(25-75 persentil)	0.4(0.3-1.7)	0.8(0.5-2.2)	0.5(0.2-3.9)	0.62				
Filagrin mutasyonu AA	22(100.0)	14(100.0)	14.0(100.0)	>0.05				

Tablo 7. Atopik Dermatit Ağırliğına Göre Olguların Değerlendirilmesi

P1. Hafif ve Ağır AD arasındaki analiz

P2 Hafif ile Orta AD arasındaki analiz

P3. Orta ve Ağır Ad arasındaki analiz

P4. Hafif ile orta+ağır AD arasındaki ilişki

4.5. Atopik Dermatit Şiddeti ile İmmünglobulin Taraması

Çalışmaya alınan atopik dermatitli çocukların immün sistem taraması amaçlı mutlak ve % lenfosit ve nötrofil sayıları ve Ig A, Ig M, Ig G ölçümleri yapıldı. İmmünglobulinlerin yaşa göre normallikleri değerlendirildi. İmmünglobulinler üzerindeki yaş faktörünün etkisini yok edebilmek için z skorları hesaplandı (Tablo 8, tablo 9 şekil 10, şekil 11) .

	Hafif Atopik Dermatit N=21(%42.8)	Orta Atopik dermatit N=14(%28.6)	Ağır Atopik Dermatit N=14(%28.6)	P	P1	P2	P3	P4
Mutlak nötrofil sayısı (ortalama±SD)	4.6±2.2	3.9±1.9	4.7±1.8	0.63				
Nötrofil yüzdesi (ortalama±SD)	38.5±14.5	39.2±14.5	48.6±8.24	0.096				
Mutlak lenfosit sayısı (ortalama±SD)	5.3±2.1	4.4±1.4	3.1±0.9	0.003	0.002	0.17	0.013	0.004
Lenfosit yüzdesi (ortalama±SD)	49.3±14.8	44.3±14.8	34.1±11.5	0.017	0.005	0.34	0.07	0.025
IgA z skore (ortalama±SD)	1.2±0.9	0.6±1.5	-0.9±1.7	<0.001	<0.001	0.13	0.015	0.002
Ig M z skore ortanca(25-75 persentil)	1.7(1.2-2.1)	0.6(-3.0-2.0)	1.2(0.6-1.9)	0.18				
Ig G z skore (ortalama±SD)	-1.4±0.8	-1.2±1.0	-0.1±1.2	0.003	0.001	0.47	0.027	0.019
IgA düşüklüğü var	7.0(36.8)	2.0(14.3)	0.0(0.0)	0.025	0.013	0.25	0.48	0.021
Ig M düşüklüğü var	5.0(29.4)	2.0(18.2)	2.0(14.3)	0.56				
Ig G düşüklüğü var	5.0(25.0)	2.0(15.4)	0.0(0.)	0.13				

Tablo 8. Atopik Dermatit Şiddeti ile İmmün Sisteminin Taranması

P1. Hafif ve Ağır AD arasındaki analiz

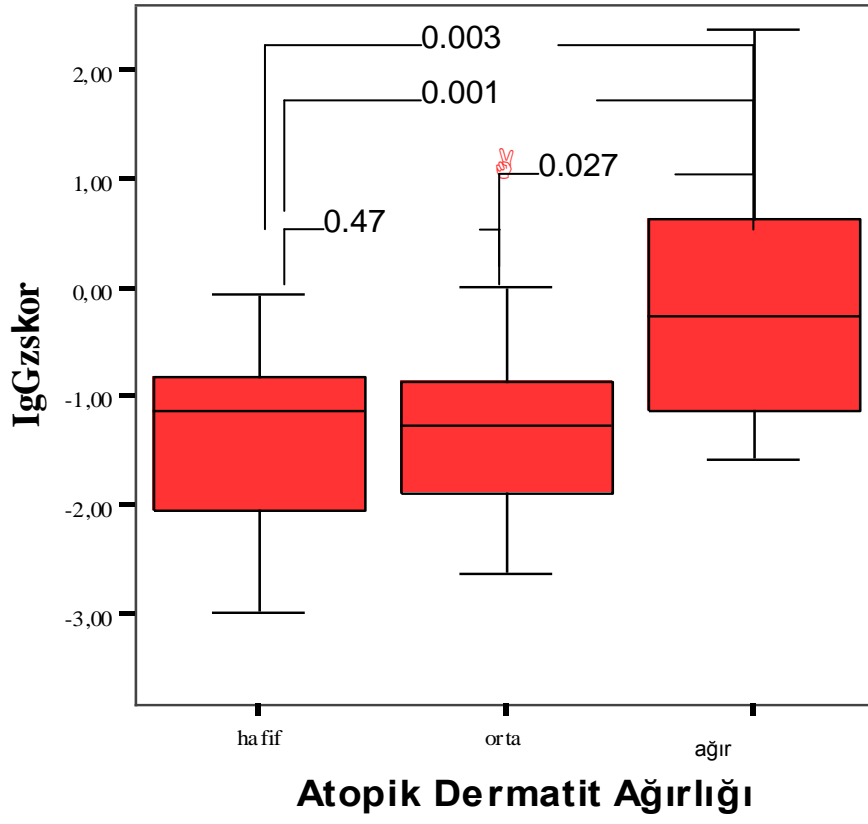
P2 Hafif ile Orta AD arasındaki analiz

P3. Orta ve Ağır Ad arasındaki analiz

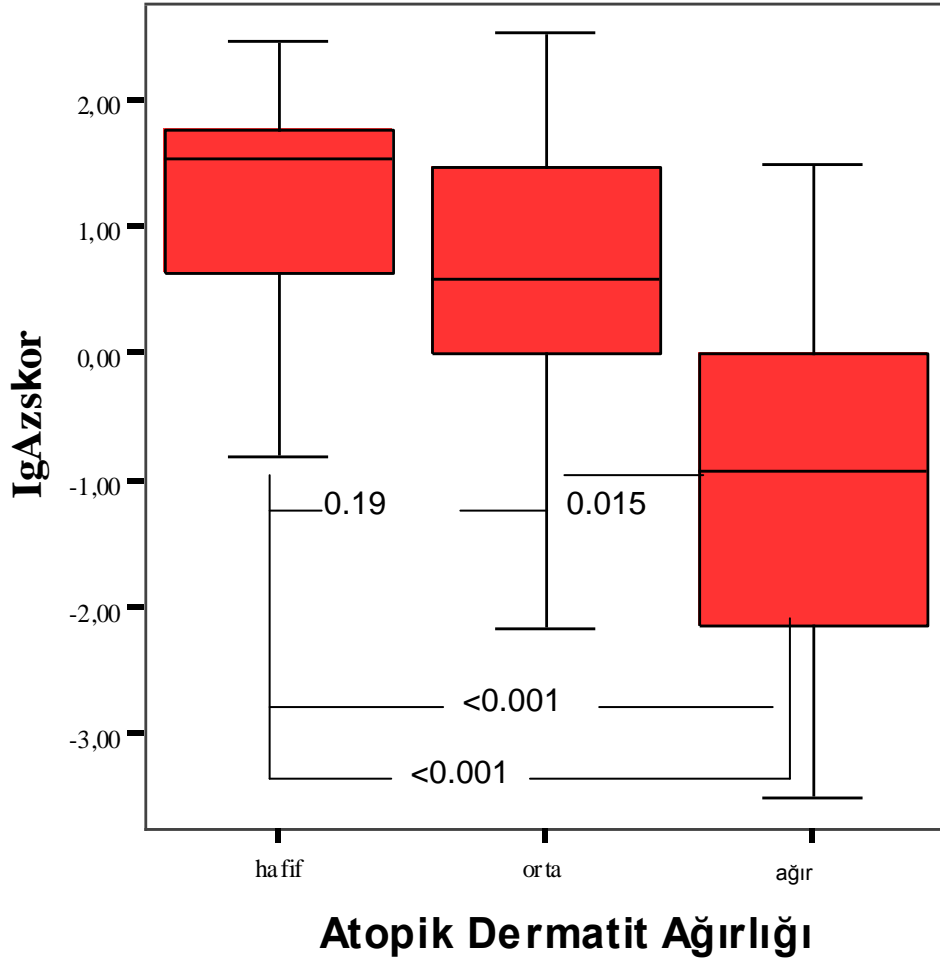
P4. Hafif ile orta+ağır AD arasındaki ilişki

Spearman's korelasyon		p	r
Skorad	yaş	<0.001	0.535
	Total Ig E	<0.001	0.597
	Periferik eozinofil sayısı	0.032	0.310
	Eozinofil yüzdesi	0.006	0.391
	Nötrofil yüzdesi	0.043	0.300
	Mutlak lenfosit sayısı	<0.001	-0.544
	Lenfosit yüzdesi	0.004	-0.416
	Ig G skor	0.007	0.386
	Ig A skor	0.001	-0.262

Tablo 9. Atpik Dermatit Hastalarının Skorad İndeksleri ile Yapılan Korelasyon Analizi



Şekil 10. Atopik Dermatit Ağırlığı ile Ig G z skor Arasındaki İlişki



Şekil 11. Atopik Dermatit Ağırlığı ile Ig A z Skor Arasındaki İlişki

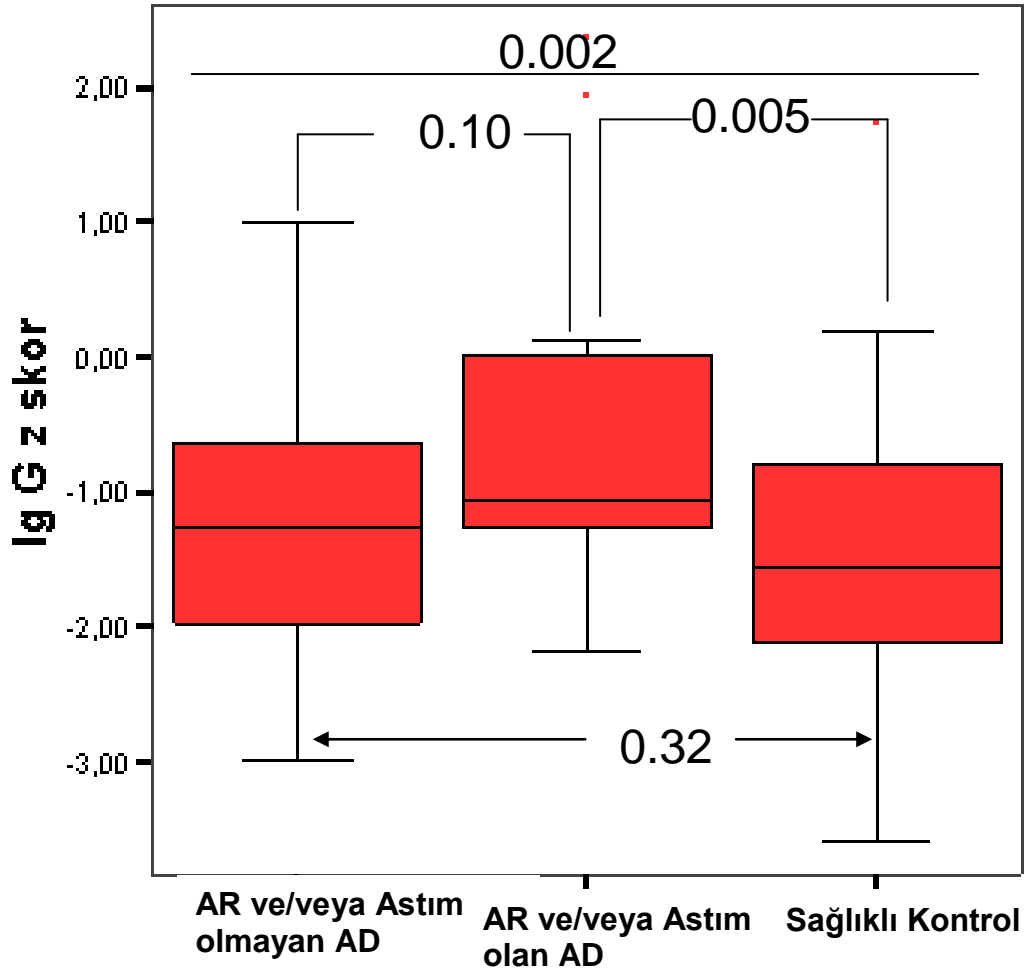
4.6. Atopik Dermatit ile Birlikte Olan Diğer Allerjik Hastalıkların Özellikleri

Atopik dermatitle beraber astım ve/veya allerjik rinit olan hastalarının yalnız atopik dermatit olan hastalar ve sağlıklı çocuklar arasındaki ilişki araştırıldı. Olguların demografik, biyokimyasal ve immünojik verileri tablo 10 ve şekil 12'de gösterildi. Sık hastalanmada en etkili faktörün atopik dermatitle beraber astım veya astımla beraber allerjik rinitin birlikte olması olduğu tespit edildi. Kontrol grubunda Astım ve/veya AR olan AD'lere göre daha fazla Ig G düşüklüğü görüldü ($p=0.013$).

	Astımve/veya AR Olan Atopik Dermatit N=23	Yalnız Atopik dermatit N=26	Kontrol N=50	P	P(astım ve/veya AR liAD ile yalnız AD arasında)
Yaş (ortalama±SD)	5.17(±3.39)	4.58(±3.88)	3.77±2.79	0.21	0.57
Cinsiyet					0.045
Erkek	16.0(69.6)	10.0(38.5)	30(60.0)	0.07	
Kız	7.0(30.4)	16.0(61.5)	20(40.0)		
Akrabalık var	2(8.7)	1(3.8)	0(0.0)	0.12	0.59
Sık hastalanma var	11.0(47.8)	1.0(3.8)	0.0(0.0)	<0.001	0.001
Ailede allerji öyküsü var	12.0(52.2)	12.0(46.2)	0.0(0.0)	<0.001	0.77
Ailede AD öyküsü var	7.0(30.4)	5.0(19.2)	0.0(0.0)		0.50
Okul kaybı var	5.0(21.7)	0.0(0.0)	0.0(0.0)	0.024	0.018
Sistemik tedavi(steroid/IVIG/foto)	4.0(17.4)	4.0(15.4)	0.0(0.0)	1.0	1.0
Astım şiddeti					
Hafif intermitant	8.0(42.1)				
Persistent					
Hafif/Orta / ağır	11.0(57.9)				
Astım atağı	8.0(42.1)				
Rinit şiddeti					
İntermitan	2.0(20.0)				
Persistan	8.0(80.0)				
SKORAD	25.0(10.0-55.0)	17.5(10.0-39.3)	0.0(0.0)	0.30	0.46
AD şiddeti					0.52
Hafif	8.0(34.8)	13.0(50.0)			
Orta	7.0(30.4)	7.0(26.9)			
Ağır	8.0(34.8)	6.0(23.1)			

AD başlangıç yaşı	14.43±13.12	17.86±23.25		0.52	0.53
Akar duyarlılığı	12.0(52.2)	6.0(23.1)	0.0(0.0)		0.043
6 yaş ve üzeri akar+	8.0(88.9)	1.0(11.1)			0.035
En az bir besine duyarlılık (Besin miks ıgE(Fx5)+)	3.0(13.6)	2.0(7.7)	0.0(0.0)		0.64
Atopi var	15.0(62.5)	7.0(26.9)	0.0(0.0)	<0.001	0.01
6 yaş ve üzeri atopi	8.0(88.9)	2.0(28.6)			0.035
Total Ig E ortanca(25-75 persentil)	670.00(41.15-2076.00)	76.83(18.86-219.30)	29.4(10.5-65.1)	<0.001	0.018
Periferik eozinofil sayısı	700.00(280.00-1350.0)	345.00(185.00-520.00)	150.0(107.5-227.5)	<0.001	0.015
Eozinofil yüzdesi	6.15(3.07-10.55)	3.35(1.85-6.65)	1.7(1.0-2.6)	<0.001	0.013
CRP	0.5(0.2-1.3)	0.9(0.3-7.7)	0.6(0.3-2.6)	0.36	0.18
Mutlak nötrofil sayısı	4.65±1.96	4.03±2.03	3.9±2.9	0.53	0.30
Nötrofil yüzdesi	43.77±11.30	39.32±15.16	38.1±17.0	0.37	0.27
Mutlak lenfosit sayısı	3.93±1.16	4.87±2.23	5.0±2.5	0.16	0.08
Lenfosit yüzdesi	39.6±13.42	47.51±15.68	50.2±16.6	0.039	0.07
IgA z skore	0.004±1.827	0.693±1.362	0.842±1.266	0.083	0.14
Ig M z skore	1.34(0.62-1.34)	1.41(0.63-2.01)	1.04(0.04-1.95)	0.62	0.86
Ig G z skore	-0.68±1.14	-1.23±1.09	-1.48±1.02	0.020	0.10
IgA düşüklüğü var	2.0(9.1)	7.0(28.0)	7.0(15.6)	0.21	0.14
Ig M düşüklüğü var	3.0(15.0)	6.0(27.3)	10.0(22.7)	0.62	0.46
Ig G düşüklüğü var	1.0(4.5)	6.0(24.0)	14.0(31.8)	0.046	0.10
Filagrin mutasyonu AA	22(100.0)	14(100.0)	14.0(100.0)	>0.05	

Tablo 10. Atopik dermatitle beraber alerjik rinit ve astım olan çocuklar ve yalnız atopik dermatiti olan çocukların özellikleri



Şekil 12. Atopik dermatitle beraber alerjik rinit ve astım olan çocuklar ve yalnız atopik dermatiti olan çocuklar arasındaki Ig G z Skor dağılımı

4.7. Ig A ve Ig G seviyesi ile Atopik Dermatit Hastaları Arasındaki İlişki

9 Ig A, 7 Ig G düzeyi düşük olan hastalar ile normal seviyedeki hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri tablo 11’de izlenmektedir.

	Ig A düşük	Ig A normal	p	Ig G düşük	Ig G normal	p
Yaş	2.94±3.26	5.49±3.60	/0.56	2.91±3.99	5.16±3.47	0.12
Cinsiyet						
Erkek	4.0(44.4)	20.0(52.6)	0.72	5.0(71.4)	20.0(50.0)	0.42
kız	5.0(55.6)	18.0(52.6)		2.0(28.6)	20.0(50.0)	
AD Başlangıç Yaşı	1.42(0.67-5.41)	4.41(2.56-8.35)	0.08	3.0(1.5-18.0)	12.00(3.25-24.00)	0.12
SKORAD	10.0(10.0-25.0)	27.5(10.0-50.5)	0.035	10.0(7.0-35.0)	25.0(10.0-48.8)	0.046
AD şiddeti						
Hafif	7.0(77.8)	12.0(31.6)	0.025	5.0(71.4)	15.0(35.7)	0.13
Orta	2.0(22.2)	12.0(31.6)		2.0(28.6)	11.0(27.5)	
Ağır	0.0(0.0)	14.0(36.8)		0.0(0.0)	14.0(35.0)	
AD şiddeti						
Hafif	7.0(77.8)	12.0(31.6)	0.021	5.0(71.4)	15.0(37.5)	0.11
Orta-ağır	2.0(22.2)	26.0(68.4)		2.0(28.6)	25.0(62.5)	
6yaş ve üzerinde AD						
Hafif	1.0(100.0)	0.0(0.0)	0.063	0.0(0.0)	1.0(7.1)	1.0
Orta-ağır	0.0(0.0)	15.0(100.0)		1.0(100.0)	13.0(92.9)	
Atopi						
Var	1.0(11.1)	20.0(52.6)	0.030	0.0(0.0)	21.0(52.5)	0.012
yok	8.0(88.9)	18.0(47.4)		7.0(100.0)	19.0(47.5)	
Ailede alerji öyküsü	4.0(44.4)	20.0(52.6)	0.72	3.0(42.9)	21.0(52.5)	0.7
Ailede AD öyküsü	2.0(22.2)	10.0(26.3)	1.00	2.0(28.6)	10.0(25.0)	1.0
Alerjik hastalık(Astım ve/veya AR)						
Var	2.0(22.2)	20.0(52.6)	0.14	1.0(14.3)	21.0(52.5)	0.12
yok	7.0(77.8)	18.0(47.4)		6.0(85.7)	19.0(47.5)	
Astım var yok						
var	2.0(22.2)	16.0(42.1)	0.44	1.0(14.3)	17.0(42.5)	0.22
yok	7.0(77.8)	22.0(57.9)		6.0(85.7)	23.0(57.5)	
Astım şiddeti						
İntermitant						
Persistent						
Sık hastalanma						
Var	0.0(0.0)	11.0(28.9)	0.092	1.0(14.3)	10.0(25.0)	1.0

yok	9.0(100.0)	27.0(71.1)		6.0(85.7)	30.0(75.0)	
Ig E	16.95(8.21-92.56)	347.65(54.42-1660.00)	0.003	30.12(4.23-83.43)	267.85(50.61-1474.25)	0.008
Eoz abs	370.0(190.0-455.0)	420.0(200.0-1150.0)	0.17	370.0(100.0-400.0)	420.0(220.0-1100.0)	0.045
Eozinofil %	3.40(2.35-5.55)	4.60(2.35-9.90)	0.24	2.5(1.3-3.9)	4.8(3.0-9.8)	0.066
Mutlak nötrofil sayısı	2.5±1.0	4.8±1.9	0.002	2.8±1.3	4.6±1.9	0.027
Nötrofil yüzdesi	28.8±11.5	45.1±12.3	0.001	28.3±12.3	43.6±12.4	0.005
Mutlak lenfosit sayısı	5.3±1.8	4.1±1.7	0.064	6.1±2.6	4.2±1.6	0.010
Lenfosit yüzdesi	58.7±12.6	39.2±12.9	<0.001	59.1±15.9	40.9±13.2	0.003

Tablo 11. Ig A ve Ig G seviyesi ile atopik dermatit hastaların özellikleri arasındaki ilişki

5. TARTIŞMA

Bu çalışma ile 21 hafif, 14 orta, 14 ağır şiddette atopik dermatit hastası ve 50 sağlıklı çocukta atopik dermatit gelişmesinde, hastalığın şiddetinin ağırlaşmasında ve hastalığın astıma yürüyüşünde etkili olduğu başka çalışmalarda gösterilmiş filaggrin R501X mutasyonunun olmadığı, tüm çalışmaya alınan çocukların homozigot wild tip (AA) oldukları görüldü. Filaggrin geninin bu güne kadar tanımlanmış 22 değişik mutasyonu bulunmaktadır. Avrupa ve Amerika'da en sık görülen R501X mutasyonu Japonya ve Çin'de görülmemiştir ve bu bölgelerde farklı mutasyonlar tanımlanmıştır. Filaggrin'in her bir gen mutasyonu ırka göre farklı sıklıkta görülebildiği gibi her ırkta o topluma özgü yeni mutasyonlar da tanımlanabilir. Filaggrin gen mutasyonu olan kişilerde atopik dermatit ve iktiosis vulgaris olma olasılığı mutasyon olmayan kişilere göre artmaktadır. Brown ve ark.ları (81) İngiltere'de 5 değişik FLG mutasyonundan en az birini taşıyan okul çocukları arasında bir çalışma yaptı ve 190 egzemalı çocuğun %4.2'sinde homozigot (aa), %14.4'ünde heterozigot (Aa) mutasyon saptadı. Bu oranlar 599 kontrol grubunda yer alan çocuklarda %0.2 ve %12.7 olarak tespit edildi. Palmer ve ark.ları (8) İrlanda da 52 atopik dermatit ve 189 kontrol grubundan oluşan çocuklarda R501X için heterozigot (Aa) sıklığının AD'de %38.5 , kontrolde %6.3 saptarken, aa homozigot genine her iki grupta rastlanmadı. 2282del ve R501X mutasyonu kombine olarak değerlendirildiğinde aa homozigot null genotipne %11.5 (R501X/2282del4, 2282del4/2282del4), Aa heterozigot genotipine %44.2 ve AA homozigot wild tipe %44.3 rastlarken, kontrol

grubunda %8.6 sıklıkla heterozigot genotip tespit ederken hiç null genotipi gösteremedi. Atopik dermatit ve astım olan çocukların %9.5'inde aa, %47.6 sında Aa genini taşıdığını bildular. İskoçyalı 604 astımlı, 1008 sağlıklı çocukta yapılan çalışmada R501X null taşıyıcılığının (Aa ve/veya aa) % 5.8 , kombine mutasyon taşıyıcılığının %9.6 olduğu, bu değerlerin astım olan çocuklarda %9.2 ve 15.7 olduğu, atopik dermatit ve astım olan 279 çocuğun %23'ünde null allel taşıyıcısı olduğunu gösterdiler. Aynı çalışmada Danimarkalı 372 çocukta R501X taşıyıcısının %5, kombine mutasyon taşıyıcısının %11 olduğu gösterildi. Atopik dermatitli 142 çocuktan %17'sinde FLG null allel taşıyıcılığı gösterildi. Çalışma sonunda Avrupa kökenli insanların yaklaşık %9'unun her iki mutasyondan birini heterozigot taşıdığı sonucuna varıldı. Avusturya'da yapılan başka bir çalışmada R501X mutasyon sıklığının Atopik hastalığı olan 382 hastada %5, 177 çocuktan oluşan kontrol grubunda %3 R501X, 2282del4 ve R2447X kombine mutasyonun atopik hastalığı olanlarda %9, kontrollerde %5 olarak tespit edildi. 164 atopik dermatit olan hastada kombine mutasyon sıklığı %8.5 bulundu (82). İtalya'da 178 atopik dermatit, 195 psöriasis ve 210 sağlıklı çocukta R501X ve 2282del4 mutasyonları araştırıldı (57). Psöriasis hastalarında risk alleli hiç saptanamadı. Atopik dermatitlerin %99.4 ü R501X için AA wild tip iken %0.6 sında(2 allel) risk alleli saptandı. Kontrol grubu %100'ü wild tipte idi. 222del4 için atopik dermatit hastalarının %0.9 'u (3 allel), kontrol grubunun %0.5'i (2 allel) risk alleli taşıyordu. Sonuç olarak İtalyan toplumunda FLG R501X ve 2282del4 mutasyonları egzema için risk oluşturmuyordu.

Bizim çalışmamıza katılan çocukların tamamı R501X wild (AA) tipinde bulundu. Türk toplumunda bu mutasyon taşıyıcılığının saptanamamasının bazı

nedenleri olabilir. Bu sonuç, Türk toplumunda da İtalyanlarda olduğu gibi kromozomlarda filaggrin mutasyonunun negatif seleksiyona uğradığını işaret edebilir. Buradan yola çıkılarak Filaggrin ve diğer 21q genleri için Türk toplumuna özel mutasyonlar bulunmaya çalışılabilir. Bu amaçla FLG ve 21q gen bölgesinin sekans analizi yapılarak Türk toplumuna özel mutasyonlar araştırılmalıdır. Öte yandan bu sonuç 21q'nun içinde olduğu EDC bölgesinde FLG in tek etkili veya en etkili gen grubu olmadığını da düşündürür.

Mutasyon sıklığının düşük bulunmasının bir sebebi mutasyonun olabileceği hasta grubunun yeterli sayıda olmamasıdır. FLG gen mutasyonu özellikle orta ve ağır atopik dermatit ve astım ve/veya alerjik rinitle beraber atopik dermatit olan hasta gruplarında hafif atopik dermatit veya yalnız atopik dermatit olan hasta gruplarından daha sık görülmektedir. Bizim çalışmamızda seçilen hastaların 14/49'u (%28.6) orta, 14/49'u (%28.6) ağır atopik dermatitli hastalardır. Hastaların 19/49 'unda (%38.8) astım, 23/49'unda (%47.9) astım ve/veya alerjik rinit de vardır. Hasta grubunun sayısı çok yüksek olmasa da hasta grubunda FLG gen mutasyonunun daha sık görüldüğü orta ve ağır atopik dermatitli vakaları yeteri kadar içermesi ve atopik dermatit ile birlikte astım ve/veya alerjik rinitin beraber olduğu hastaların da çalışmaya dahil edilmiş olması hasta grubunun sayısının az olmakla beraber mutasyonun tespit edilmesi için yeterli olduğunu düşündürse de sayı artırılarak tekrar çalışılmalıdır. Diğer taraftan çalışma için alınan kontrol grubundaki çocukların sayısı yapılan diğer çalışmalardaki kadar yüksek tutulmadı. Sonuç olarak daha sonra yapılacak çalışmalarda özellikle kontrol grubu olmak üzere tüm çalışma grubunun artırılması önerilir. Yanlış negatifliğin bir başka nedeni de hasta ve kontrol

grubunun yanlış seçilmesidir. Hastalar ve kontrol grubu doktor tarafından ve uluslararası kriterlere uygun olarak seçilmiştir. Çalışma grubu hastanenin takipli hastalarından oluştuğu için tanı ile ilgili şüphe yoktur. Ayrıca bu çalışmada hem hasta hem de kontrol grubunun her ikisinde birden null allele saptanmamıştır.

Bu çalışmada atopik dermatitli hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında atopik dermatitli hastaların total Ig E, eozinofil sayısı, yüzdesi, ailesinde alerji öyküsü ve sık hastalanmanın kontrol grubundan daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak istatistiksel anlamlı olarak yüksek saptandı. Atopik dermatitli çocukların Ig GH z skorları sağlıklı çocuklara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu.

Atopik dermatitin ağırlığına göre yapılan analizde hastalığın ağırlığının yaş artıkça anlamlı ölçüde arttığı saptandı. Bu bulgu hafif atopik dermatitli hastaların ileride düzelerken, hastalığın ağırlığı arttıkça daha büyük yaşlarda devam ettiği ve düzelmediğini düşündürmektedir. Benzer şekilde literatürle uyumlu olarak hastalığın ağırlığı arttıkça oral steroid ve IVIG gibi sistemik tedaviye daha çok ihtiyaç duyulduğu gösterildi. Atopik dermatit ile birlikte astım ve/veya alerjik rinit görülen hastaların dağılımında atopik dermatit şiddetine göre farklılık saptanmadı. Ancak astımın ve rinitin persistanlığının atopik dermatit şiddetinin artmasıyla uyumlu olarak arttığı gösterildi. Atopik dermatit ağırlığı ile ailede alerjik hastalık öyküsü, atopik dermatit öyküsü olması ve hastalarda atopi bulunması ve bu atopinin ev tozu akarı ve besin olması arasında farklılık görülmedi. Bu çalışma da da atopik dermatitle beraber en sık ev tozu akarı duyarlılığı saptandı. Daha önceki bilgilerle uyumlu olarak atopik

dermatit ağırlığı arttıkça hastaların total Ig E, eozinofil sayı ve yüzdeleri anlamlı olarak yükseldi. Bu bulgular klasik atopik dermatit özellikleri ile uyumludur.

Bu çalışmada atopik dermatit şiddeti arttıkça periferik kanda mutlak lenfosit sayısı ve yüzdesinin istatistiksel anlamlı olarak düştüğü görüldü. Atopik dermatitli hastaların lenfosit yüzdesi de kontrole göre daha düşük idi ama bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.055$). Çalışmaya alınan hiçbir çocuğun lenfopenisi yoktur. Daha önce atopik dermatit ile kontrol grubu arasında veya atopik dermatitin şiddeti ile lenfosit sayısı veya yüzdesi arasında bir ilişki bildirilmemiştir. Ancak atopik dermatit hastalarında Th sayısının arttığı veya değişmediği, total T hücre sayısının azaldığı veya değişmediği, B ve NK hücrelerinin değişmediği ve T süpröser hücre sayısının azaldığı bilinmektedir (83-85). Bu sonuçlar atopik dermatit hastalığında hastalığın ağırlığı ile birlikte lenfosit sayı ve fonksiyonlarında sorunlar olduğunu ve bu bozuklukların immün yetmezlik düzeyinde olmasa da hastalığın ağırlığı ile ilişkili olabileceğini düşündürülebilir. Bu konu üzerinde çalışmalar devam etmelidir. Lenfosit sayısı da hastalığın şiddeti için eozinofil sayısı gibi bir belirteç olup olmayacağı başka çalışmalarla araştırılmalıdır. Çalışmada atopik dermatit şiddeti arttıkça Ig A z skorunun azaldığı, Ig G z skorunun da arttığı saptandı. Ig A düşüklüğünün hafif grupta daha belirgin olduğu ve ağır atopik dermatitli hastalarda Ig A düşüklüğünün olmadığı görüldü.

Atopik dermatitli hastaların sık hastalanmasının atopik dermatitle birlikte astım ve/veya alerjik rinit olmasına bağlı olduğu görüldü. Astım ve veya alerjik rinit geliştirmiş atopik dermatitli hastalar, yalnız atopik dermatitli hastalar ve kontrol grubu arasında yapılan analizlerde astım ve/veya alerjik rinit olan atopik

dermatitli hastaların daha çok erkek cinsiyetinde olduğu görüldü. Atopik dermatitle beraber astım ve /veya alerjik rinit olan hastalarla olmayan hastalar arasında aile alerji öyküsü veya ailede atopik dermatitli kişi öyküsü arasında fark saptanmadı. Astım ve/veya alerjik rinit olan atopik dermatitli hastaların astım ve alerjik rinitinin persistan olduğu astım atağı ve sık hastalanmaya bağlı okul kayıplarının diğer atopik dermatitli hastalara göre daha fazla olduğu belirlendi. Astım ve /veya AR olan atopik dermatit hastalarının AD SKORAD indekslerinin yalnız AD olanlara göre daha yüksek olduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. AD başlangıç yaşı her iki grup arasında farklı değildi. Astım ve/veya AR olan atopik dermatitli hastalarda yalnız AD olanlara göre daha fazla atopi olduğu ve bu atopisinde ev tozu akarı yoğunlukta olduğu gösterildi. Total Ig E, eozinofil sayısı ve yüzdesi AD ile beraber astım ve /veya AR olanlarda yalnız AD olanlara göre daha yüksek düzeylerde ölçüldü. Mutlak lenfosit sayısı ve yüzdesinin astım ve/veya AR olan AD'lerde yalnız AD olanlara göre daha düşük olduğu belirlendi. Ig G z skorunun astım ve/veya AR olan AD' ler de kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu ve bu grup hastalarda yine kontrol grubuna göre da az Ig G düşüklüğü olduğu saptandı.

Ig A düşüklüğü saptanan hastalarda Ig A düzeyi normal olanlara göre atopi sıklığının azaldığı, SKORAD indeksinin daha düşük olduğu, AD ağırlığının hafif formda olduğu saptandı. Yani Ig A düzeyi $-2SD$ 'un altında ise hafif nonatopik atopik dermatit olma olasılığı yükselmekte idi. Hastaların Ig E düzeyleri düşük, nötrofil yüzdeleri düşük ve lenfosit yüzdeleri yüksek idi. Bu hastalarda astım ve /veya AR görülme sıklığı Ig A düzeyi normal sınırdadır.

olanlara göre daha düşük olsa da bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu gruptaki çocukların hiç biri sık hastalanmıyordu. Hastalık daha erken yaşta başlayıp, hasta yaşları da daha küçük idi.

Benzer şekilde Ig G düşüklüğü saptanan AD'lerde de atopi daha az sıklıkta olmakta ve SKORAD indeksleri daha düşük olup daha çok hafif AD grubuna girmekte idi. Bu grupta da astım ve/veya AR olma olasılığı azalmakta ve hastalarda sık enfeksiyon geçirme öyküsü daha az olmakta idi. Ig G düzeyi düşük saptananların total Ig E, eozinofil sayısı ve eozinofil yüzdesi, mutlak nötrofil sayısı ve nötrofil yüzdesi daha düşük, mutlak lenfosit sayısı ve lenfosit yüzdesi daha yüksekti. Hastalık daha erken yaşta başlayıp, hasta yaşları da daha küçük idi.

Bu çalışma ile Ig A ve Ig G düşüklüğü olan atopik dermatitin erken başlayan, nonatopik, hafif atopik dermatit ile birlikte olduğu, hastaların sık hastalanmadığı ve vizing gibi astım bulgusuna da daha nadir rastlandığı gösterildi.

Atopik dermatit veya alerjik hastalıklar ile immünglobulin düzeyleri arasında sınırlı sayıda çalışma vardır. Barış ve ark.'ın (86) yaptığı bir çalışmada hipogammaglobulinemili astımlı çocuklarda erken yaşta, düşük atopi hızı ile kliniğe başvurdıkları ve hastalıklarının daha erken düzeliş ve daha az kortikosteroid ihtiyaçlarının olduğu belirlendi. Bu çalışma sonrası erken başlayan nonatopik astım adlı değişik bir astım fenotipinin olduğu ve bunun hipogammaglobulinemi ile birlikteliğinin bulunduğu sonucuna varıldı. Aynı çalışmada yer alan çocukların yedisinde atopik dermatit de bulunuyordu ve bu çocukların hiçbirinin hipogammaglobulinemisi yoktu. Hipogammaglobulinemili atopik dermatitli hastalar ile normogammaglobulinli atopik dermatitli hastalar

arasında istatistiksel bir anlam bulundu ($p=0.40$). Aynı çalışmada Hipogammaglobulinemili hastaların eozinofili oranları ve Ig E düzeyleri normogammaglobulinemilere göre daha düşüktü ($P0.030$). Bu sonuçlar bizim çalışmamız ile uyumludur.

Yasuno ve ark.'ın (87) yapmış olduğu bir vaka raporunda 5 atopik dermatitli geçici hipogammaglobulinemili bebek sunulmuştur. Bu hastalarda protein kaybı düşünülmemiştir. Hastaların geçici hipogammaglobulinemisi immünglobulinin yapılmasındaki bozukluktan kaynaklandığı düşünülmüştür.

Geçici hipogammaglobulinemi ve atopik dermatit erken bebeklik çağında başlayıp yaşla düzelen ve eş zamanlı olabilen bir durumdur. İmmünglobulin G düzeyinin düşüklüğü ile beraber atopik dermatit vakaları görülebilir. Ağır atopik dermatitli hastaların tedavisinde intravenöz immünglobulin kullanımının atopik dermatitin kliniğinin düzelmesiyle birlikteliği de vardır. Bu konuda iki hipotez öne sürülmektedir. Birincisi cilt lezyonları veya gastrointestinal sistemden protein kaybederken immünglobulinlerin de kaybolduğu ve atopik dermatitli hastalarda hipogammaglobulineminin oluştuğudur. İkincisi ise Atopik dermatit oluşan deride cilt enfeksiyonlarının ve inflamatuvar sitokinlerin artması ve CD4/CD8 oranının geçici hipogammaglobulinemiye neden olmasıdır. Walker ve ark.(88) 15 geçici hipogammaglobulinemili hastanın 12'sinde atopik hastalıklar, besin intoleransı/alerjisi olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada alerjik inflamasyon sonucu barsaktan protein kaybetmenin geçici hipogammaglobulinemiye neden olduğu düşünülmüştür. Sonuç olarak, geçici hipoglobulinemi mi atopik dermatite neden olmaktadır yoksa her iki durum tesadüf olarak mı aynı yaşlarda

görülüp benzer zamanda düzelmektedir? Bu sorular halen tam aydınlanamamıştır.

Ludviksson ve ark (89). yapmış olduğu bir çalışmada iki yaşındaki çocukların alerjik hastalıklarının sıklığı ve ağırlığının düşük normal Ig A düzeyleriyle olan ilişkisinin Ig E düzeyinin yüksekliğinden daha anlamlı olduğu nu gösterdiler. Aynı çocukların 4 yaşına geldiklerinde yapılan araştırmalarında Ig A, Ig G1, Ig G2, Ig G4, Ig E düzeylerinin anlamlı oranda yükseldiği görüldü (90). Atopik dermatit olan çocukların tükürük Ig A düzeyleri daha düşüktü ve 4 yaşında atopik dermatit geliştiren çocukların 2 yaşındaki tükürük Ig A düzeylerinin daha da düştüğü, 2 yaşında AD ve tükürük Ig A düzeyi düşük olanlardan 4 yaşında atopik dermatiti düzelenlerin tükürük Ig A düzeylerinin de yükseldiği görüldü. Bu çalışmadaki tüm çocukların Ig A düzeyleri normal sınırlarda idi. Tüm bu sonuçlar 4 yaş ve altındaki çocuklardan genetik olarak alerji geliştirmeye yatkın olanlarda Ig A düzeyleri normalin alt sınırlarına daha yakın olduğunda alerjiye daha yatkın olduğunu düşündürmekteydi.

Non Ig E antikorları mukoza ve sistemik düzeyde potansiyel alerjenleri nötralize etmeye yardımcı olurlar. Erken bebeklik çağında alerji gelişmesini kolaylaştıran viral enfeksiyonlarda bunlardan biridir (91,92). Bağırsaklardan geçirgenliğin artması veya alerjenlerin bağırsaklarda iyi temizlenmemesi atopik dermatite neden olmaktadır (93,94). Ig A ve Ig G alt sınıflarındaki yetersizlik ile mukozal bariyerin zayıflaması sonucunda allerjik duyarlanma olabilir (95). Alerji ve düşük konsantrasyondaki non-IgE antikorları mukoza yüzeyinde bozulmuş T lenfosit düzenlenmesine neden olabilir. Bir taraftan alerjik duyarlanma diğer taraftan B hücre gelişiminin bozulması olaya katkı sağlar.

Bozulmuş T hücre düzenlenmesi düşük Ig A düzeyiyle ilişkili görülmektedir (96). Ancak, atopik hastalıkların T hücre dengesizliğinin direkt sonucuyla mı yoksa bloke edici non-Ig E antikorlarının eksikliğinden mi oluştuğu tam bilinmemektedir. Atopik predispozisyon dinamik ve karışık bir süreç sonucunda oluşur ve erken çocukluk döneminde immün maturasyonun bozulması ile ilişkisi olduğunu düşündüren kanıtlar gösterilmeye başlanmıştır. Bu konunun aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışma, Türk toplumunda atopik dermatit ve sağlıklı kontrol grubunda ki çocuklarda filaggrin R501X gen mutasyonunun olmadığını gösterdi.
2. Filaggrin R501X gen mutasyonunun Türk toplumu için atopik dermatit gelişiminde risk oluşturmadığını gösteren ilk pilot çalışma özelliğindedir. Bu konuda daha geniş bir çalışma grubunda gen mutasyonları hatta sekans analizi yapılması önerilir.
3. Atopik dermatitli hastaların total Ig E, eozinofil sayısı, eozinofil yüzdesinin, ailede alerjik hastalık yükünün ve sık enfeksiyon geçirme öyküsünün sağlıklı çocuklara göre daha fazla olduğu belirlendi.
4. Atopik dermatit ağırlığının yaşla arttığı, ağırlık arttıkça atopik dermatitle beraber görülen astım ve/veya alerjik rinitin persistanlığının sıklığını arttığı, sistemik ilaç ihtiyacının arttığı, Ig E, eozinofil sayı ve yüzdesinin arttığı, lenfosit sayı ve yüzdesinin azaldığı tespit edildi.
4. Astım ve /veya alerjik riniti olan atopik dermatitli hastaların yalnız atopik dermatitli hastalara göre daha çok erkek cinsiyetinde olduğu, daha sık atopi geliştirdiği ve bu duyarlılığın ağırlıklı olarak ev tozu akarı olduğu, Ig E, eozinofil sayısı, yüzdesinin daha yüksek, lenfosit sayısı ve yüzdesinin daha düşük olduğu tespit edildi.
5. Atopik dermatitli hastalarda sık üst solunum yolu enfeksiyonu veya alt solunum yolu enfeksiyonu gibi sık enfeksiyon geçirmesinde en önemli faktörün hastanın atopik dermatitinin yanında astım ve/veya alerjik rinit gibi atopik dermatitte eşlik eden başka bir alerjik hastalığının da olması olduğu belirlendi.

9. Atopik dermatit ile Ig A ve Ig G düzeyi arasında ilişki olduğu gösterildi.
10. Atopik dermatit olan hastaların sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek Ig G z skoruna sahip olduğu gösterildi. Atopik dermatit ağırlığı arttıkça hastaların Ig G z skorunun yükselirken, Ig A z skorunun düştüğü belirlendi.
11. Ig A ve Ig G düzeyi -2SD'den daha düşük olan atopik dermatitli çocukların bebeklik yaş grubunda, non atopik, hafif atopik dermatite sahip oldukları gösterildi.
12. Atopik dermatit ve immünglobulin düzeyleri arasındaki ilişkiyi daha iyi belirlemek ve bu çalışmada elde edilen verileri daha güçlendirmek için hasta ve kontrol grubunun sayısı artırılarak ve prospektif izlemleri de eklenerek daha ileri çalışmalar planlanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Leung DYM. Atopic dermatitis(atopic eczema) Chapter 144.970-975 Kliegman: Nelson textbook of pediatrics,18th ed.
2. Boguniewicz M, Leung DYM. Chapter 62-Atopic Dermatitis. Adkinson: Middleton's Allergy: Principles and Practice,7th ed.volume 2.1083-1099
3. Novak N, Bieber T. Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. J Allergy Clin Immunol 2003;112:252–262.
4. Leung DYM, Boguniewicz M, Howell MD, *et al.* New insights into atopic dermatitis. J Clin Invest 2004;113:651-657
5. Morar N, Wilson-Owen SAG, Moffatt MF, *et al.* The genetics of atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol 2006; 118:24-34.
6. Spergel JM, Paller AS. Atopic dermatitis and the atopic march. J Allergy Clin Immunol 2003; 112 (Suppl):S118-S127
7. Ong PY, Leung DYM. Immune dysregulation in atopic dermatitis. Curr Allergy Asthma Rep 2006;6:384-389.
8. Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A,*et al.* Common loss-of function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. Nat Genet 2006;38:441-446
9. Wiedinger S, Illig T, Baurecht H,*et al.* Loss-of-function variations within the filaggrin gene predispose for atopic dermatitis with allergic sensitizations. J Allergy Clin Immunol 2006;118:214-219
10. O'regan GM, Sandilands A, Mclean I, Irvine AD. Filaggrin in atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol 2008;122:689-693
11. Smith FJ, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Sandilands A, Campbell LE, Zhao Y, *et al.* Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris. Nat Genet 2006;38:337-342.

12. Irvine AD. Fleshing out filaggrin phenotypes. *J Invest Dermatol* 2007;127:504-507.
13. Marenholz I, Nickel R, Rüschemdorf F, Schulz F, Esparza-Gordillo J, Kerscher T, et al. Filaggrin loss-of-function mutations predispose to phenotypes involved in the atopic march. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:866-871
14. Callegaro CF, Sotto MN. Molluscum contagiosum: immunomorphological aspects of keratinocytes markers of differentiation and adhesion. *J Cutan Pathol.* 2009;36:1279-1285
15. Howell MD, Kim BE, Gao P, Grant AV, Boguniewicz M, Debenedetto A, et al. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120:150-155
16. Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med.* 2008;358:1482-1494
17. Cork MJ, Robinson DA, Vasilopoulos Y, et al. New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: gene-environment interactions. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:3-21
18. Bager P, Wohlfahrt J, Westergaard T. Caesarean delivery and risk of atopy and allergic disease: meta-analyses. *Clin Exp Allergy* 2008; 38: 634–642.
19. Chida Y, Hamer M, Steptoe A. A bidirectional relationship between psychosocial factors and atopic disorders: a systematic review and meta-analysis. *Psychosom Med* 2008;70: 102–116.
20. Baurecht H, Irvine AD, Novak N et al. Toward a major risk factor for atopic eczema: meta-analysis of filaggrin polymorphism data. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120:1406–1412.
21. Langan SM, Flohr C, Williams HC. The role of furry pets in eczema: a systematic review. *Arch Dermatol* 2007; 143:1570–1577.
22. Oranje AP, Stalder JF, Taïeb A, Tasset C, de Longueville M. Scoring of atopic dermatitis by SCORAD using a training atlas by investigators from different disciplines.

- ETAC Study Group. Early Treatment of the Atopic Child. *Pediatr Allergy Immunol*. 1997 Feb;8(1):28-34.
23. Williams H, Flohr C. How epidemiology has challenged 3 prevailing concepts about atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:209-213.
 24. Illi S, von Mutius E, Lau S, et al. The natural course of atopic dermatitis from birth to age 7 years and the association with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:925-931.
 25. Novak N, Bieber T. Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:252-262.
 26. Weiland S, Keil U, von Mutius E. Atopic dermatitis, extrinsic atopic dermatitis and the hygiene hypothesis: results from a cross-sectional study. *Clin Exp Allergy* 2005;35:1301-1308.
 27. Saeki H, Lizuya H, Mori Y, et al. Prevalence of atopic dermatitis in Japanese elementary schoolchildren. *Br J Dermatol*. 2005;152:110-114
 28. Civelek E, Cakır B, Boz AB, Yuksel H, Orhan F, Uner A, Sekerel BE. Extent and Burden of Allergic Diseases in Elementary Schoolchildren: A National Multicenter Study. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010;20: 280-288
 29. Bieber T. Atopic dermatitis. *Ann Dermatol* 2010;22:125-137
 30. Mihm MCJr, Soter NA, Dvorak HF, Austen KF. The structure of normal skin and the morphology of atopic eczema. *J Invest Dermatol* 1976;67:305-312
 31. Larsen FS, Holm NV, Henningsen K. Atopic dermatitis. A genetic-epidemiologic study in a population-based twin sample. *J Am Acad Dermatol* 1986;15:487-494
 32. Schultz Larsen F. Atopic dermatitis: a genetic-epidemiologic study in a population-based twin sample. *J Am Acad Dermatol* 1993;28:719-723
 33. Thomsen SF, Ulrik CS, Kyvik KO, Hjelmberg JB, Skadhauge LR, Steffensen I et al. Importance of genetic factors in the etiology of atopic dermatitis: a twin study. *Allergy Asthma Proc* 2007;25:535-539

34. Moore MM, Rifas-Shiman SL, Rich-Edwards JW, Kleinman KP, Camargo CA Jr, Gold DR et al. Perinatal predictors of atopic dermatitis occurring in the first six months of life. *Pediatrics* 2004; 113:468–474
35. Wadonda-Kabondo N, Sterne JA, Golding J, Kennedy CT, Archer CB, Dunnill MG. Association of parental eczema, hayfever, and asthma with atopic dermatitis in infancy: birth cohort study. *Arch Dis Child* 2004;89:917–921
36. Cookson W. The immunogenetics of asthma and eczema: a new focus on the epithelium. *Nat Rev Immunol* 2004;4:978–988
37. Hudson TJ . Skin barrier function and allergic risk. *Nat Genet* 2006;38:399–400
38. Irvine AD, McLean WH. Breaking the (un)sound barrier: filaggrin is a major gene for atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2006;126:1200–1202
39. He JQ, Chan-Yeung M, Becker AB, Dimich-Ward H, Ferguson AC, Manfreda J et al. Genetic variants of the IL13 and IL4 genes and atopic diseases in at-risk children. *Genes Immun* 2003;4:385–389
40. Kawashima T, Noguchi E, Arinami T, Yamakawa- Kobayashi K, Nakagawa H, Otsuka F et al. Linkage and association of an interleukin 4 gene polymorphism with atopic dermatitis in Japanese families. *J Med Genet* 1998;35:502–504
41. Hosomi N, Fukai K, Oiso N, Kato A, Ishii M, Kunimoto H, Nakajima K. Polymorphisms in the promoter of the interleukin-4 receptor alpha chain gene are associated with atopic dermatitis in Japan. *J Invest Dermatol.* 2004;122:843-845.
42. Oiso N, Fukai K, Ishii M. Interleukin 4 receptor alpha chain polymorphism Gln551Arg is associated with adult atopic dermatitis in Japan. *Br J Dermatol.*2000;142:1003-1006.
43. Liu X, Nickel R, Beyer K, Wahn U, Ehrlich E, Freidhoff LR et al. An IL13 coding region variant is associated with a high total serum IgE level and atopic dermatitis in the German multicenter atopy study (MAS-90). *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:167–170

44. Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Sekiya T, Hirai K, Kakinuma T, Fujita H, Asano N, Tanida Y, Wakugawa M, Torii H, Tamaki K. Interleukin-13 gene polymorphism G4257A is associated with atopic dermatitis in Japanese patients. *J Dermatol Sci.*2002;30:100-107.
45. Mao XQ, Shirakawa T, Yoshikawa T, Yoshikawa K, Kawai M, Sasaki S et al. Association between genetic variants of mast-cell chymase and eczema. *Lancet* 1996;348:581–583
46. Weidinger S, Rümmler L, Klopp N, Wagenpfeil S, Baurecht HJ, Fischer G, Holle R, Gauger A, Schäfer T, Jakob T, Ollert M, Behrendt H, Wichmann HE, Ring J, Illig T. Association study of mast cell chymase polymorphisms with atopy. *Allergy.* 2005;60:1256-1261.
47. Kato A, Fukai K, Oiso N, Hosomi N, Murakami T, Ishii M Association of SPINK5 gene polymorphisms with atopic dermatitis in the Japanese population. *Br J Dermatol* 2003;148:665–669
48. Nishio Y, Noguchi E, Shibasaki M, Kamioka M, Ichikawa E, Ichikawa K et al. Association between polymorphisms in the SPINK5 gene and atopic dermatitis in the Japanese. *Genes Immun* 2003;4:515–517
49. Walley AJ, Chavanas S, Moffatt MF, Esnouf RM, Ubhi B, Lawrence R et al. Gene polymorphism in Netherton and common atopic disease. *Nat Genet* 2001;29:175–178
50. Brown SJ, Irvine AD . Atopic eczema and the filaggrin story. *Semin Cutan Med Surg* 2008;27:128–137
51. Rodriguez E, Illig T, Weidinger S . Filaggrin loss-of-function mutations and association with allergic diseases. *Pharmacogenomics* 2008;9:399–413
52. Candi E, Schmidt R, Melino G. The cornified envelope: a model of cell death in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6:328-340.
53. Mischke D, Korge BP, Marenholz I, Volz A, Ziegler A. Genes encoding structural proteins of epidermal cornification and S100 calcium-binding proteins form a gene

- complex (“epidermal differentiation complex”) on human chromosome 1q21. *J Invest Dermatol* 1996;106:989-992.
54. Cookson W. The immunogenetics of asthma and eczema: a new focus on the epithelium. *Nat Rev Immunol* 2004;4:978-988
55. Sandilands A, Terron-Kwiatkowski A, Hull PR, O’Regan GM, Clayton TH, Watson RM, et al. Comprehensive analysis of the gene encoding filaggrin uncovers prevalent and rare mutations in ichthyosis vulgaris and atopic eczema. *Nat Genet* 2007;39:650-654.
56. Nemoto-Hasebe I, Akiyama M, Nomura T, Sandilands A, McLean WH, Shimizu H. FLG mutation p.Lys4021X in the C-terminal imperfect filaggrin repeat in Japanese patients with atopic eczema. *Br J Dermatol*. 2009 Dec;161(6):1387-1390.
57. Giardina E, Paolillo N, Sinibaldi C, Novelli G. R501X and 2282del4 Filaggrin mutations do not confer susceptibility to psoriasis and atopic dermatitis in italian patients. *Dermatology* 2008;216:83-84
58. Henderson J, Northstone K, Lee SP, Liao H, Zhao Y, Pembrey M, et al. The burden of disease associated with filaggrin mutations: a population-based, longitudinal birth cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:872-877.
59. Weidinger S, O’Sullivan M, Illig T, Baurecht H, Depner M, Rodriguez E, et al. Filaggrin mutations, atopic eczema, hay fever, and asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:1203-1209.
60. Rodriguez E, Baurecht H, Herberich E, Wagenpfeil S, Brown SJ, Cordell HJ, et al. Meta-analysis of filaggrin polymorphisms in eczema and asthma: robust risk factors in atopic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:1361-1370, e7.
61. McLean WH, Palmer CN, Henderson J, Kabesch M, Weidinger S, Irvine AD. Filaggrin variants confer susceptibility to asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121: 1294-1296.

62. Verhagen J, Akdis M, Traidl-Hoffmann C, et al. Absence of T-regulatory cell expression and function in atopic dermatitis skin. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:176–183.
63. Proksch E, Folster-Holst R, Jensen JM. Skin barrier function, epidermal proliferation and differentiation in eczema. *J Dermatol Sci* 2006; 43:159–169.
64. Ardern-Jones MR, Black AP, Bateman EA, Ogg GS. Bacterial superantigen facilitates epithelial presentation of allergen to T helper 2 cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104:5557–5562
65. Schaubert J, Gallo RL. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:261-266.
66. Sonkoly E, Muller A, Lauerma AI, et al. IL-31: a new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:411–417.
67. Paus R, Schmeltz M, Biro T, Steinhoff M. Frontiers in pruritus research: scratching the brain for more effective itch therapies. *J Clin Invest* 2006; 116:1174–1186
68. Neis MM, Peters B, Dreuw A, et al. Enhanced expression levels of IL-31 correlate with IL-4 and IL-13 in atopic and allergic contact dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118:930–937.
69. Lomholt H, Anderson KE, Kilian M. Staphylococcus aureus clonal dynamics and virulence factors in children with atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2005;125:977–982.
70. Cork MJ, Robinson DA, Vasilopoulos Y, et al. New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: gene-environment interactions. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118:3–21.
71. Schaubert J, Gallo RL. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:261-266.
72. Gilliet M, Soummelis V, Watanabe N, et al. Human dendritic cells activated by TSLP and CD40L induce proallergenic cytotoxic T cells. *J Exp Med* 2003;197:1059–1063.

73. Strid J, Strobel S. Skin barrier dysfunction and systemic sensitization to allergens through the skin. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4:531–541.
74. Gao PS, Rafaels NM, Hand T, Murray T, Boguniewicz M, Hata T, et al. Filaggrin mutations that confer risk of atopic dermatitis confer greater risk for eczema herpeticum. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:507-513
75. Darsow U, Wollenberg A, Simon D, Tieb A, Werfel T, Oranje A, Gelmetti C et al. EITFAAD/EADV eczema task force 2009 position paper on diagnosis and treatment of atopic dermatitis. *J European Academy Dermatol Venereol*. 2010;24:317-328
76. National Health, lung and blood institu. The Global strategy for asthma management and prevention. Updated 2008
77. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, van Wijk RG, Ohta K, Zuberbier T, Schünemann HJ; Global Allergy and Asthma European Network; Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation Working Group. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Sep;126(3):466-476.
78. Kutukculer N, Gulez N, The outcome of patients with unclassified hypogammaglobulinemia in early childhood, *Pediatr. Allergy Immunol*. 20 (7) (2009) 693–698.
79. Tezcan I, Berkel AI, Ersoy F, Sanal O. Sağlıklı Türk çocukları ve erişkinlerde turbidometrik yöntemle bakılan serum immunoglobulin düzeyleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 1996; 39: 649–656.
80. İkinciöğullari A, Kendirli T, Doğu F, Eğin Y, Reisli I, Cin S, Babacan E. Peripheral blood lymphocyte subsets in healthy Turkish children. *Turk J Pediatr*. 2004 Apr-Jun;46(2):125-130.
81. Brown SJ, Relton CL, Liao H, Zhao Y, Sandilands A, Wilson IJ, Burn J, Reynolds NJ, Mclean I. Filaggrin null mutations and childhood atopic eczema: A population-based case-control study. *L Allergy Clin Immunol* 2008;121:940-946

82. Gruber R, Janecke AR, Grabher D, Horak E, Schmuth M, Lercher P. Lower prevalence of common filaggrin mutations in a community sample of atopic eczema: is disease severity important? *Wien Klin Wochenschr* 2010;122:551-557
83. Chandra RK, Baker M. Numerical and functional deficiency of suppressor T cells precedes development of atopic eczema. *Lancet* 1983 ;17:1393-1394
84. Dworzak MN, Fröschl G, Printz D, Fleischer C, Pötscher U, Gadner H, Emminger W. Skin-associated lymphocytes in the peripheral blood of patients with atopic dermatitis: signs of subset expansion and stimulation. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:901-906
85. Butler M, Atherton D, Levinsky RJ. Quantitative and functional deficit of suppressor T cells in children with atopic eczema. *Clin Exp Immunol.*1982;50:92-98
86. Baris S, Karakoc-Aydiner E, Ozen A, Ozdemir C, Bahceciler NN, Barlan IB. Serum immunoglobulin levels as a predictive factor for a better outcome of non-atopic childhood asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2010 published ahead.
87. Yasuno T, Yamasaki A, Maeda Y, Fujiki A, Yagyu S. Atopic dermatitis and transient hypogammaglobulinemia of infancy improved simultaneously. *Pediatrics International.* 2007;49:406-408
88. Walker AM, Kemp AS, Hill DJ, Shelton MJ. Feature of transient hypogammaglobulinemia in infants screened for immunological abnormalities. *Arch Dis Child.* 1994;70:183-186
89. Lúdvíksson BR, Eiríksson TH, Ardal B, Sigfússon A, Valdimarsson H. Correlation between serum immunoglobulin A concentrations and allergic manifestations in infants. *J Pediatr.* 1992 Jul;121(1):23-27.
90. Lúdvíksson BR, Arason GJ, Thorarensen O, Ardal B, Valdimarsson H. Allergic diseases and asthma in relation to serum immunoglobulins and salivary immunoglobulin A in pre-school children: a follow-up community-based study. *Clin Exp Allergy.* 2005 Jan;35(1):64-69.

91. Bellanti JA, Malka-Rais J, Castro HJ, de Inocencio JM, Sabra A. Developmental immunology: clinical application to allergy-immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 90:2–6.
92. Flicker S, Valenta R. Renaissance of the blocking antibody concept in type I allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 132:13–24.
93. Majamaa H, Isolauri E. Evaluation of the gut mucosal barrier: evidence for increased antigen transfer in children with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:985–990.
94. Foster AP, Knowles TG, Hotston Moore A, Cousins PDG, Day MJ, Hall EJ. Serum IgE and IgG responses to food antigens in normal and atopic dogs, and dogs with gastrointestinal disease. *Vet Immunol Immunopathol* 2003; 92:113–124.
95. Kay AB. Allergy and allergic diseases. *N Engl J Med* 2001; 344:30–38.
96. Cunningham-Rundles C. Physiology of IgA and IgA deficiency. *J Clin Immunol* 2001; 21:303–310.

Ek 1: Hasta grubunun FLG R501X analizi

Results Table

Well	Sample	SNP Assay	Task	Allele 1 ΔRn	Allele 2 ΔRn	Call	Quality Threshold	Call Type
A1	1	FLG	UNKNOWN	5.9887	0.363	WT/WT	1	Manual
A2	9	FLG	UNKNOWN	5.8892	0.3936	WT/WT	1	Manual
A3	17	FLG	UNKNOWN	5.9954	0.4358	WT/WT	1	Manual
A4	25	FLG	UNKNOWN	5.8232	0.4115	WT/WT	1	Manual
A5	33	FLG	UNKNOWN	5.8759	0.4435	WT/WT	1	Manual
A6	41	FLG	UNKNOWN	5.7846	0.4026	WT/WT	1	Manual
A7	49	FLG	UNKNOWN	5.7676	0.4028	WT/WT	1	Manual
B1	2	FLG	UNKNOWN	5.9621	0.45	WT/WT	1	Manual
B2	10	FLG	UNKNOWN	5.9729	0.4521	WT/WT	1	Manual
B3	18	FLG	UNKNOWN	5.942	0.4525	WT/WT	1	Manual
B4	26	FLG	UNKNOWN	5.9679	0.4852	WT/WT	1	Manual
B5	34	FLG	UNKNOWN	5.6821	0.4209	WT/WT	1	Manual
B6	42	FLG	UNKNOWN	5.8176	0.4492	WT/WT	1	Manual
B7	50	FLG	UNKNOWN	5.8161	0.4837	WT/WT	1	Manual
C1	3	FLG	UNKNOWN	5.8896	0.4167	WT/WT	1	Manual
C2	11	FLG	UNKNOWN	6.0012	0.4917	WT/WT	1	Manual
C3	19	FLG	UNKNOWN	5.8893	0.4453	WT/WT	1	Manual
C4	27	FLG	UNKNOWN	5.8391	0.4211	WT/WT	1	Manual
C5	35	FLG	UNKNOWN	5.793	0.4494	WT/WT	1	Manual
C6	43	FLG	UNKNOWN	5.7763	0.4647	WT/WT	1	Manual
D1	4	FLG	UNKNOWN	5.9433	0.3838	WT/WT	1	Manual
D2	12	FLG	UNKNOWN	5.9121	0.4411	WT/WT	1	Manual
D3	20	FLG	UNKNOWN	5.8122	0.4427	WT/WT	1	Manual
D4	28	FLG	UNKNOWN	5.7088	0.3903	WT/WT	1	Manual
D5	36	FLG	UNKNOWN	5.0583	0.2732	WT/WT	1	Manual
D6	44	FLG	UNKNOWN	5.6631	0.4551	WT/WT	1	Manual
E1	5	FLG	UNKNOWN	5.9568	0.4361	WT/WT	1	Manual
E2	13	FLG	UNKNOWN	5.9474	0.4789	WT/WT	1	Manual
E3	21	FLG	UNKNOWN	5.8476	0.4395	WT/WT	1	Manual
E4	29	FLG	UNKNOWN	5.7855	0.4508	WT/WT	1	Manual
E5	37	FLG	UNKNOWN	5.7608	0.4452	WT/WT	1	Manual
E6	45	FLG	UNKNOWN	5.6156	0.4781	WT/WT	1	Manual
F1	6	FLG	UNKNOWN	5.9875	0.4856	WT/WT	1	Manual
F2	14	FLG	UNKNOWN	5.8918	0.4761	WT/WT	1	Manual
F3	22	FLG	UNKNOWN	5.9929	0.4737	WT/WT	1	Manual
F4	30	FLG	UNKNOWN	5.8405	0.4472	WT/WT	1	Manual
F5	38	FLG	UNKNOWN	5.8396	0.5083	WT/WT	1	Manual
F6	46	FLG	UNKNOWN	5.6908	0.4873	WT/WT	1	Manual
G1	7	FLG	UNKNOWN	6.0627	0.4724	WT/WT	1	Manual
G2	15	FLG	UNKNOWN	5.9566	0.4531	WT/WT	1	Manual
G3	23	FLG	UNKNOWN	5.9003	0.4988	WT/WT	1	Manual

Well	Sample	SNP Assay	Task	Allele 1 ΔRn	Allele 2 ΔRn	Call	Quality Threshold	Call Type
G4	31	FLG	UNKNOWN	5.9439	0.5091	WT/WT	1	Manual
G5	39	FLG	UNKNOWN	5.3524	0.3476	WT/WT	1	Manual
G6	47	FLG	UNKNOWN	5.5869	0.4838	WT/WT	1	Manual
H1	8	FLG	UNKNOWN	6.1098	0.4623	WT/WT	1	Manual
H2	16	FLG	UNKNOWN	6.139	0.4858	WT/WT	1	Manual
H3	24	FLG	UNKNOWN	6.1478	0.5463	WT/WT	1	Manual
H4	32	FLG	UNKNOWN	5.9599	0.4838	WT/WT	1	Manual
H5	40	FLG	UNKNOWN	5.7523	0.505	WT/WT	1	Manual
H6	48	FLG	UNKNOWN	4.9072	0.3024	WT/WT	1	Manual

Ek2. Kontrol grubunun FLG R501X analizi

Well	Sample	SNP Assay	Task	Allele 1 ΔRn	Allele 2 ΔRn	Call	Quality Threshold	Call Type
A8	57	FLG	UNKNOWN	5.901	0.4246	WT/WT	1	Manual
A9	65	FLG	UNKNOWN	6.0469	0.4475	WT/WT	1	Manual
A10	73	FLG	UNKNOWN	5.9597	0.4008	WT/WT	1	Manual
A11	81	FLG	UNKNOWN	6.0805	0.4051	WT/WT	1	Manual
A12	89	FLG	UNKNOWN	5.0165	0.1465	WT/WT	1	Manual
B8	58	FLG	UNKNOWN	5.909	0.4823	WT/WT	1	Manual
B9	66	FLG	UNKNOWN	5.5437	0.4063	WT/WT	1	Manual
B10	74	FLG	UNKNOWN	4.6924	0.2042	WT/WT	1	Manual
B11	82	FLG	UNKNOWN	6.1005	0.4601	WT/WT	1	Manual
B12	90	FLG	UNKNOWN	6.2484	0.4723	WT/WT	1	Manual
C7	51	FLG	UNKNOWN	5.6996	0.4842	WT/WT	1	Manual
C8	59	FLG	UNKNOWN	5.8382	0.468	WT/WT	1	Manual
C9	67	FLG	UNKNOWN	5.8707	0.4789	WT/WT	1	Manual
C10	75	FLG	UNKNOWN	5.7425	0.403	WT/WT	1	Manual
C11	83	FLG	UNKNOWN	5.4085	0.3131	WT/WT	1	Manual
C12	91	FLG	UNKNOWN	5.8192	0.3593	WT/WT	1	Manual
D7	52	FLG	UNKNOWN	5.7651	0.5139	WT/WT	1	Manual
D8	60	FLG	UNKNOWN	5.7548	0.4602	WT/WT	1	Manual
D9	68	FLG	UNKNOWN	5.7488	0.4445	WT/WT	1	Manual
D10	76	FLG	UNKNOWN	5.8444	0.4703	WT/WT	1	Manual
D11	84	FLG	UNKNOWN	5.7602	0.4393	WT/WT	1	Manual
D12	92	FLG	UNKNOWN	5.8908	0.4635	WT/WT	1	Manual
E7	53	FLG	UNKNOWN	5.7241	0.4682	WT/WT	1	Manual
E8	61	FLG	UNKNOWN	5.677	0.4983	WT/WT	1	Manual
E9	69	FLG	UNKNOWN	5.7376	0.4694	WT/WT	1	Manual
E10	77	FLG	UNKNOWN	5.7606	0.4373	WT/WT	1	Manual
E11	85	FLG	UNKNOWN	5.8526	0.461	WT/WT	1	Manual
E12	93	FLG	UNKNOWN	5.9575	0.5157	WT/WT	1	Manual
F7	54	FLG	UNKNOWN	5.6102	0.4823	WT/WT	1	Manual
F8	62	FLG	UNKNOWN	5.4145	0.429	WT/WT	1	Manual
F9	70	FLG	UNKNOWN	5.593	0.4179	WT/WT	1	Manual
F10	78	FLG	UNKNOWN	5.5465	0.4429	WT/WT	1	Manual
F11	86	FLG	UNKNOWN	5.814	0.4625	WT/WT	1	Manual
F12	94	FLG	UNKNOWN	5.7113	0.4692	WT/WT	1	Manual
G7	55	FLG	UNKNOWN	5.728	0.5127	WT/WT	1	Manual
G8	63	FLG	UNKNOWN	5.8265	0.5037	WT/WT	1	Manual
G9	71	FLG	UNKNOWN	5.5669	0.4323	WT/WT	1	Manual
G10	79	FLG	UNKNOWN	5.5867	0.4114	WT/WT	1	Manual
G11	87	FLG	UNKNOWN	5.7782	0.4794	WT/WT	1	Manual
G12	95	FLG	UNKNOWN	5.4286	0.3937	WT/WT	1	Manual
H7	56	FLG	UNKNOWN	5.7597	0.4983	WT/WT	1	Manual

H8	64	FLG	UNKNOWN	5.7414	0.5004	WT/WT	1	Manual
H9	72	FLG	UNKNOWN	5.5203	0.4513	WT/WT	1	Manual
H10	80	FLG	UNKNOWN	5.8917	0.5191	WT/WT	1	Manual
H11	88	FLG	UNKNOWN	5.8317	0.4841	WT/WT	1	Manual
H12	NTC	FLG	UNKNOWN	0.0097	0.0076	Undetermined	0.0915	Auto