

BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PSÖRİAZİSİN PATOGENEZİNDE GRANÜLİZİN'İN ROLÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESRA ERMİŞ

HAZİRAN 2017

BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PSÖRİAZİSİN PATOGENEZİNDE GRANÜLİZİN'İN ROLÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİMDALİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esra ERMİŞ

DANIŞMAN: Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK

ZONGULDAK


Haziran 2017

KABUL:

Esra ERMİŞ tarafından hazırlanan ‘‘Psöriazisin Patogenezinde Granülizin’in Rolü’’ başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle/oyçokluğuyla kabul edilmiştir. 13/06/2017

Danışman: Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK

Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü



Üye: Prof. Dr. Ahmet DURSUN

Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı



Üye: Yrd. Doç. Dr. Fahriye ZEMHERİ

Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

.../.../20...



Doç. Dr. Ahmet ÖZARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Esra ERMİŞ



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PSÖRIAZİSİN PATOGENEZİNDE GRANÜLİZİN'İN ROLÜ

Esra ERMİŞ

Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK

Haziran 2017, 65 sayfa

Psöriazis etyolojisi net olarak bilinmeyen keskin sınırlı, eritemli, sedefi beyaz skuamlarla karakterize otoinflamatuvar bir dermatozdur. Psöriazis etiopatogenezinde en çok kabul edilen mekanizma keratinosit hiperproliferasyonu ile inflamasyonun tetiklenmesidir.

Granülizin, insan sitotoksik T lenfositleri (CTL'ler) ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin granüllerinden granzim ve perforin ile birlikte salgılanan sitolitik bir antimikrobiyal peptid (AMP) olup, psöriazis lezyonlarında granülizin ekspresyonunun artmış olduğu immünohistokimyasal olarak kanıtlanmıştır. Ancak GNLY gen polimorfizmleri ile psöriazis arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamıza psöriazis tanısı konmuş, akraba olmayan 100 hasta ve herhangi bir inflamatuvar hastalığı olmayan 100 sağlıklı birey dahil edilmiştir. GNLY rs7908 ve GNLY rs10180391 gen polimorfizm sıklıkları PCR ve RFLP metodu kullanılarak tespit edilmiş olup sonuçlar ki-kare testi ve lojistik regresyon ile analiz edilmiştir.

ÖZET (devam ediyor)

GNLY rs7908 genotip frekansı hasta grubunda GG, GC ve CC genotipleri için % 51, % 41, % 8; kontrol grubunda % 37, % 44, % 19'dur. GNLY rs10180391 genotip frekansı hasta grubunda CC, CT ve TT genotipleri için % 41, % 47, % 17; kontrol grubunda % 44, % 41, % 15'tir. Yaptığımız analizler sonucunda GNLY rs7908 CC genotipinin ve C allelinin psöriazis için koruyucu etki gösterdiği ve hastalığın şiddetini düşürdüğü, rs10180391 SNP'sinin ise psöriazis patogeneğinde etkin bir rolünün olmadığı tespit edilmiştir.

GNLY rs7908 ve GNLY rs10180391 gen polimorfizmlerinin psöriazis gelişim riski ve hastalık seyri üzerine olan etkileri ile ilgili yapılacak fonksiyonel çalışmalarla psöriazis hastalığına karşı yeni tedavi metodları geliştirilmesine yol gösterici olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Psöriazis, Granülizin, GNLY, rs7908, rs10180391, Polimorfizm

Bilim Kodu: 401.02.02

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

THE ROLE OF THE GRANULYSIN IN THE PATHOGENESIS OF PSORIASIS

Esra ERMİŞ

Bülent Ecevit University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK

June 2017, 65 pages

Psoriasis etiology is an autoinflammatory dermatosis characterized by sharply defined, erythematous, pearlescent white squamous cells of unknown origin. The most accepted mechanism in the etiopathogenesis of psoriasis is the induction of inflammation with keratinocyte hyperproliferation.

Granulysin is a cytolytic antimicrobial peptide (AMP) that is secreted together with granzyme and perforin from the granules of human cytotoxic T lymphocytes (CTLs) and natural killer (NK) cells, it has been immunohistochemically proven that the expression of granulysin is increased in lesions of psoriasis. However, there is not investigating the relationship between GNLY gene polymorphisms and psoriasis.

100 unrelated patients diagnosed with psoriasis and 100 healthy individuals without any inflammatory disease were included in our study. GNLY rs7908 and GNLY rs10180391 gene polymorphism frequencies were determined using PCR and RFLP method and the results were analyzed by chi-square and logistic regression analysis.

ABSTRACT (continued)

GNLY rs7908 genotype frequency was 51%, 41% 8% for GG, GC and CC genotypes in the patient group; 37%, 44% and 19% in the control group. GNLY rs10180391 genotype frequency was 41%, 47%, 17% for CC, CT and TT strains in the patient group; 44%, 41%, 15% in the control group.

We found that the genotype of GNLY rs7908 CC and the C allele showed a protective effect against psoriasis and reduced the severity of the disease that the rs10180391 SNP did not play an effective role in the pathogenesis of psoriasis.

Functional studies of GNLY rs7908 and GNLY rs10180391 gene polymorphisms on the risk of developing psoriasis and on disease progression will lead to the development of new treatment methods against psoriasis.

Keywords: Psoriasis, Granulysin, GNLY, rs7908, rs10180391, Polymorphism

Science Code: 401.02.02

TEŞEKKÜR

Moleküler Biyoloji ve Genetik alanında yetişmemde büyük emekleri olan, yüksek lisans eğitimim süresince benimle bilgi ve tecrübelerini engin hoşgörü ve sevecenlikle paylaşan, hem akademik hemde naif kişiliğiyle kendime örnek aldığım çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK'e içtenlikle teşekkür ederim.

Eğitimim sürecinde bana gerek akademik gerekse insani olarak daha iyi bir birey olmayı aşılaman, tanışmaktan onur ve mutluluk duyduğum, BEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ailesinden Prof. Dr. Ahmet DURSUN, Uzm. Dr. Güneş ÇAKMAK GENÇ ve Nihan YANIK'a teşekkür ederim.

Hasta ve kontrol grubunun toplanmasında yardımlarından dolayı BEÜ Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nilgün SOLAK'a teşekkür ederim.

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölüm Başkanı Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL başta olmak üzere Yrd. Doç. Dr. Tolga ACUN'a, Yrd. Doç. Dr. Ebrahim VALİPOUR'a, Araş. Gör. Arzu EROL ve Araş. Gör. Utku Can ATILGAN'a; Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Şenol ALAN ve yüksek lisans öğrencisi Tuğba SARIŞAHİN'e tezime katkılarından ve gösterdikleri nezaketten dolayı teşekkür ederim.

Eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca çok şey paylaştığım, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum yüksek lisans arkadaşlarım Tuğba AKTAŞ, A.Sebla YAMAK ve İlke ULU'ya destekleri için içtenlikle teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında bana en büyük özveriyi gösteren, doğru yolda iyi bir birey olarak yetişmemi sağlayan ve sonsuz destek veren canım annem, babam, kardeşlerim Aslı ve Samet ERMİŞ'e içtenlikle minnet ve sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
EK AÇIKLAMALAR DİZİNİ.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xix
BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 PSÖRİAZİS.....	5
2.1.1 Tanım.....	5
2.1.2 Tarihçe ve Epidemiyoloji.....	5
2.1.3 Klinik	6
2.1.3.1 Psöriazis Vulgaris.....	7
2.1.3.2 Guttat Psöriazis	8
2.1.3.3 Eritrodermik Psöriazis.....	8
2.1.3.4 Püstüler Psöriazis	8
2.1.3.5 Palmoplantar Psöriazis	8
2.1.3.6 Psöriatik Artrit (PsA)	9
2.1.3.7 Tırnak Psöriazisi.....	9
2.1.3.8 İnvers Psöriazis	9
2.1.3.9 Klinik Skorlama	9

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
2.1.4 Etiyoloji ve Tetikleyici Faktörler.....	10
2.1.4.1 Genetik Yatkınlık	10
2.1.4.2 Tetikleyici Faktörler.....	12
2.1.5 Patogenez	14
2.1.5.1 T Lenfositler	15
2.1.5.2 Dendritik Hücreler.....	16
2.1.5.3 Nötrofiller.....	17
2.1.5.4 Makrofajlar.....	17
2.1.5.5 Keratinositler	18
2.1.5.6 Sitokinler ve Kemokinler	18
2.1.5.7 Regülatör Hücreler	18
2.2 GRANÜLİZİN	19
2.2.1 Tanımlama	19
2.2.2 Granülizin'in Klinikteki Önemi	25
2.2.3 GNLY Gen Polimorfizmleri	26
BÖLÜM 3 GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1 HASTA GRUBU	29
3.2 KONTROL GRUBU	29
3.3 METOD	30
3.3.1 Kullanılan Araç ve Gereçler	30
3.3.1.1 Kullanılan Cihazlar	30
3.3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
3.3.1.3 DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar	31
3.3.1.4 Elektroforez İçin Kullanılan Kimyasallar	31
3.3.2 Periferik Kandan DNA Elde Edilmesi	32
3.3.2.1 Prensip.....	32
3.3.2.2 Protokol	32
3.3.3 PCR İle İlgili Gen Bölgesinin Amplifikasyonu	33
3.3.3.1 GNLY rs7908 (C/G) Gen Polimorfizmi.....	33
3.3.3.2 GNLY rs10180391 (C/T) Gen Polimorfizmi	34

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3.3.4 Jelin Hazırlanması ve Jel Elektrofrezde Görüntüleme.....	34
3.3.5 Değerlendirme.....	35
3.3.5.1 GNL _Y rs7908 (C/G) Gen Polimorfizmi.....	35
3.3.5.2 GNL _Y rs10180391 (C/T) Gen Polimorfizmi	36
3.3.6 İstatiksel Değerlendirme	36
BÖLÜM 4 BULGULAR	37
4.1 SOSYODEMOGRAFİK VE KLİNİK BULGULAR	37
4.1.1 Psöriazis Hastalarının Klinik Özellikleri	38
4.2 HASTA VE KONTROL GRUPLARININ <i>GNLY</i> GEN POLİMORFİZM FREKANSLARININ KARŞILAŞTIRMASI	39
4.2.1 <i>GNLY</i> rs7908 (C/G) Gen Polimorfizmi	39
4.2.2 <i>GNLY</i> rs10180391 (C/T) Gen Polimorfizmi.....	41
4.2.3 <i>GNLY</i> rs7908 (C/G) ve rs10180391 (C/T) Polimorfizmleri Haplotip Analizi	42
4.3 HASTA GRUBU KLİNİK ÖZELLİKLERİNİN, POLİMORFİZMLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI	43
4.3.4 Psöriazis Tipine Göre <i>GNLY</i> rs7908 (C/G) ve <i>GNLY</i> rs1018039 (C/T) Gen Polimorfizimlerinin Karşılaştırılması	43
4.3.5 Psöriazis Şiddetine (PASI) Göre <i>GNLY</i> rs7908 (C/G) ve <i>GNLY</i> rs10180391 (C/T) Gen Polimorfizimlerinin Karşılaştırılması	44
BÖLÜM 5 TARTIŞMA.....	47
BÖLÜM 6 SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR	55
EK AÇIKLAMALAR.....	63
Ek A: Etik Kurul Karar Formu	63
ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 Normal ve psöriatik deride T hücre yanıtının oluşturulması	17
Şekil 2.2 Granülizinin 3 boyutlu yapısının gösterimi. 1-5 arasındaki rakamlar heliksleri, N ve C ise N ve C terminalini belirtir. Disülfid bağları 1. ve 5. Helikslerle 2. ve 3. heliksleri birbirine bağlar.....	22
Şekil 2.3 Granülizinin yapısında yer alan pozitif ve negatif yükler. Pozitif yükler yeşil, negatif yükler pembe olarak renklendirilmiştir	23
Şekil 2.4 Granülizinin hücre ölüm mekanizmasındaki rolü	24
Şekil 2.5 GNLY geninin kromozom üzerindeki yeri	26
Şekil 3.1 <i>GNLY</i> rs7908 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü. 100 bp'lık DNA belirtecinin yanındaki 3,4 nolu örnekler GC; 1,6 nolu örnekler CC ve 2,5 nolu örnekler GG genotipindedir.....	35
Şekil 3.2 <i>GNLY</i> rs10180391 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü. 100 bp'lık DNA belirtecinin yanındaki 2,4,5 nolu örnekler CT; 1,6 nolu örnekler CC ve 3 nolu örnek TT genotipindedir.	36
Şekil 4.1 Psöriazis hastalarının klinik özellikleri.....	39
Şekil 4.2 <i>GNLY</i> rs7908 gen polimorfizm genotip frekansları.....	40
Şekil 4.3 <i>GNLY</i> rs10180391 gen polimorfizm genotip frekansları.....	42
Şekil 4.4 <i>GNLY</i> rs7908-rs10180391 gen polimorfizmlerinin haplotip dağılımı.....	43
Şekil 4.5 Psöriazis şiddeti ile <i>GNLY</i> rs7908/rs10180391 gen polimorfizmleri arasındaki dağılım.	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 Psöriazis ile ilişkili genler	11
Çizelge 2.2 İnsan antimikrobiyal peptidlerinin temel özellikleri.....	20
Çizelge 3.1 E.Z.N.A.® Blood DNA mini kit (Omega) içeriği.....	31
Çizelge 3.2 Enzimlerin çalışma koşulları.....	35
Çizelge 4.1 Psöriazis hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımı.....	37
Çizelge 4.2 Psöriazis hastalarının klinik özellikleri.....	38
Çizelge 4.3 Psöriazis hastalarında ve sağlıklı kontrollerde <i>GNLY rs7908</i> gen polimorfizm genotip frekansları.....	40
Çizelge 4.4 Psöriazis hastalarında ve sağlıklı kontrollerde <i>GNLY rs7908</i> gen polimorfizminin allel dağılımı.....	40
Çizelge 4.5 Psöriazis hastalarında ve sağlıklı kontrollerde <i>GNLY rs10180391</i> gen polimorfizm genotip frekansları.....	41
Çizelge 4.6 Psöriazis hastalarında ve sağlıklı kontrollerde <i>GNLY rs10180391</i> gen polimorfizminin allel dağılımı.....	42
Çizelge 4.7 Psöriazis hastalarında ve sağlıklı kontrollerde <i>GNLY rs7908/GNLY rs10180391</i> haplotip dağılımları.....	42
Çizelge 4.8 Psöriazis alt tiplerinde (Tipik/Atipik) <i>GNLY rs7908</i> ve <i>GNLY rs10180391</i> genotip frekansları.....	44
Çizelge 4.9 Psöriazis şiddetine (PASI) göre <i>GNLY rs7908 (C/G)</i> ve <i>GNLY rs10180391 (C/T)</i> gen polimorfizmlerinin karşılaştırılması.....	45

EK AÇIKLAMALAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
EK A Etik Kurul Karar Formu	57

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

α	: Alfa
β	: Beta
θ	: Teta
$^{\circ}\text{C}$: Santigrad Derece
%	: Yüzde
g	: Gram
kg	: Kilogram
mg	: Miligram
L	: Litre
mL	: Mililitre
μl	: Mikrolitre
rpm	: Dakikadaki devir sayısı

KISALTMALAR

3'UTR	: 3' translyasyona uğramamış bölge
ACE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
AIF	: Apoptoz indükleyici faktör
AMP	: Antimikrobiyal peptid
ANOVA	: Varyans analizi
ATP	: Adenozin tri fosfat
bp	: Baz çifti
C	: Sitozin
CD4+	: Yardımcı T hücreleri
CD8+	: Sitotoksik T hücreleri
CLA	: Konjuge linoleik asit
CTL	: Sitotoksik T lenfosit
DH	: Dendritik hücre

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksinükleotit trifosfat
G	: Guanin
GNLY	: Granülizin
GWAS	: Genom boyu bağlantı çalışması
HBD	: İnsan beta defensini
HCl	: Hidroklorit asit
HLA	: İnsan lökosit antijenleri
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HNP	: İnsan nötrofil peptidi
IFN	: İnterferon
IFN-γ	: İnterferon gama
IL-1	: İnterlökin-1
IL-12	: İnterlökin-12
IL-17	: İnterlökin-17
IL-2	: İnterlökin-2
IL-20	: İnterlökin-20
IL-22	: İnterlökin-22
IL-23	: İnterlökin-23
IL-6	: İnterlökin-6
IL-8	: İnterlökin-8
IMiD	: İmmün aracılı inflamatuvar hastalıklar
IRF2	: İnterferon düzenleyici faktör2
Leu	: Lösin
MgCl₂	: Magnezyum klorür
MHC	: Temel doku uygunluğu bileşeni
mRNA	: Mesajcı RNA
MRSA	: Methisilin dirençli <i>Stapylococcus aureus</i>
Mtb	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NK	: Doğal öldürücü hücre
NMR	: Nükleer manyetik rezonans

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

PASI	: Psöriazis şiddet ölçęęi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PsA	: Psöriatik artrit
PSORS1	: Psöriazis yatkınlık lokusu 1
PSORS2	: Psöriazis yatkınlık lokusu 2
PSORS3	: Psöriazis yatkınlık lokusu 3
PSORS4	: Psöriazis yatkınlık lokusu 4
PSORS5	: Psöriazis yatkınlık lokusu 5
PSORS6	: Psöriazis yatkınlık lokusu 6
PSORS7	: Psöriazis yatkınlık lokusu 7
PSORS8	: Psöriazis yatkınlık lokusu 8
PSORS9	: Psöriazis yatkınlık lokusu 9
RFLP	: Restriksyon parça uzunluk polimorfizmi
RNase	: Ribonükleik asitaz
SAPLIP	: Sapozi benzeri proteinler
SJS	: Steves Jonhson sendromu
SMaz	: Sifingomiyelinaz
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
SP-β	: Pulmoner sürfaktan protein beta
T	: Timin
TAE	: Tris asetik asit EDTA
TEN	: Toksik epidermal nekrozis
TGF-α	: Tümör büyütücü faktör alfa
Th	: Yardımcı T hücresi
Th 1	: T yardımcı hücresi 1
Th 17	: T yardımcı hücresi 17
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
Val	: Valin
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
VKİ	: Vücut kitle indeksi
χ²	: Ki Kare

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Psöriazis, immün aracılı mekanizmalarla gelişen, fiziksel olduğu kadar psikolojik problemlere de yol açan, Immun Mediated Inflammatory Disease (IMID) grubu içerisinde tanımlanan, kompleks, kronik otoinflamatuar bir hastalık çeşitidir. Psöriazisin etyopatogenezi hala tam olarak bilinmese de genetik ve çevresel faktörler hastalık gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (Gürer ve Gökcalp 2012).

Psöriazisin dünya nüfusunun yaklaşık % 1-3'ünde ve her yaşta görülmesi, toplum sağlığı içindeki önemini giderek arttırmaktadır. Günlük aktivitelere engel oluşturan fiziksel harabiyet yanında, utanç, endişe, suçluluk, sosyal geri çekilme, toplumdan dışlanma, iş bulmada zorluk, cinsel sorunlar, depresyon ve hatta intihar eğilimi gibi psikososyal hayatı olumsuz yönde etkileyen bir çok duygu ve duruma yol açabilir. Bu nedenle, etkilenen bireylerin yaşam kalitesini en az kalp hastalığı, diabetes mellitus, kanser ve depresyon gibi hastalıklar kadar düşürebilmektedir. Öngörülemeyen remisyon ve alevlenmelerle giden kronik bir seyir göstermesi, hastaların yaşamları boyunca sürecek olan bir tedavi ve takip sürecine alınmasını gerektirmektedir (Fortune vd. 2002, Griffiths ve Barker 2010).

İmmünoloji ve moleküler biyoloji dallarındaki büyük gelişmelere paralel olarak etyolojide rolü olabilecek hücreler, aracı inflammatuar moleküller ve yolaklar her geçen gün daha iyi aydınlanmakla birlikte etyolojisi hala belirsizliğini korumaktadır.

Son yıllarda yaşanan gelişmeler ışığında, psöriazis patogenezinde doğal ve kazanılmış immünitinin rolü olduğu bilinmektedir. T hücreleri enfeksiyonlara karşı vücudu korur. Ancak psöriazis hastalarında T hücreleri kendi cilt hücrelerine saldırır. Vücut daha fazla deri hücresi üreterek buna cevap verir. Deri hücrelerinin bu hızlı üretimi derinin normal yenilenme sürecini bozar. Normal deri hücreleri 21-28 günde olgunlaşırken psöriazisde hücreler 2-3 günde

olgunlaşmaya başlar. Bu nedenle eski deri dökülmeden yenileri oluşur. Ölü ve canlı hücreler gözle görülebilecek şekilde birikmeye başlar (Sabat vd. 2007).

Psöriyatik plakların oluşumundaki patolojik süreç, dendritik antijen sunucu hücreler (Langerhans hücreleri, plazmositoid dendritik hücreler, olgun miyeloid dendritik hücre alt grupları) tarafından CD4+ ve CD8+ T lenfositlerin aktifleşmesi ile başlamaktadır. Antijen tanıma işleminin gerçekleşebilmesi için immünolojik sinaps yoluyla bir hücre-hücre etkileşimi gerekmektedir. Bu immünolojik sinapsta bir çok yardımcı molekül görev almaktadır. T lenfositlerin sınırsız çoğalması sonucunda çeşitli inflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin ve büyüme faktörlerinin aşırı salınımı gerçekleşmektedir. Psöriazis plaklarında baskın olarak bulunan sitokinler Th-1 lenfositlerden salınır ve antijen sunan hücrelerden salınan sitokinler de ortama katkıda bulunur. İnflamatuvar hücrelerden salınan sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörlerinin epidermal keratinositleri hedef alarak, aşırı çoğalmalarına, anormal şekilde başkalaşmalarına ve apoptotik sinyallere karşı direnç göstermelerine yol açar. T-hücrelerinden salınan sitokinlerin neden olduğu yeni damar oluşumu keratinositlerin çoğalmasına destek sağlar (Sabat vd. 2007, Prinz 2003).

Deride antimikrobiyal peptid (AMP) üretimi enfeksiyonlardan korunmak için birincil sistemdir ve bazı AMP'lerin mikrobiyal enfeksiyona yanıt olarak miktarları artar. Granülizin antimikrobiyal peptid ailesinin sitolitik ve proinflamatuvar peptid yapısındaki bir üyesidir. T hücreleri ve doğal öldürücü (Natural Killer (NK)) hücrelerin granüllerinde bulunur, bu hücrelerden granzim ve perforinle birlikte salgılanır. CD8+ T lenfositlerin başlıca görevi hedeflenmiş hücre ölümüdür (apoptozis). Granüllerinde bulunan perforin ve granülizin maddelerini salgılayarak enfekte konakçı hücreyi öldürür. Son yıllarda yapılan bir çalışmada psöriazis lezyonlarında granülizin ekspresyonunun artmış olduğu immünohistokimyasal olarak saptanmıştır (Krensky ve Clayberger 2009). Ayrıca *GPLY* gen polimorfizminin kronik Hepatit B gibi enfeksiyon hastalıkları ile ilişkili olduğu belirlenmiştir ancak *GPLY* gen polimorfizmleri ile psöriazis arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda psöriazis hastalığının etiyopatogenezinde *GPLY* gen polimorfizmlerinin rolü araştırılarak psöriazise yatkınlık profili oluşturulmasına katkı sağlanacaktır. Tedavisi oldukça zor olan bu hastalık, hem hastaya hemde topluma maddi manevi yük getirmektedir. Bu hastalık üzerinde yapılan çalışmalar hasta yaşam kalitesi, ulusal ekonomi ve toplumsal refah

açısından önemli olup, aynı zamanda bilimsel birikime katkı sağlayacak ve psöriazis hastalığının tedavisine yönelik araştırmalara ışık tutacaktır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 PSÖRIAZİS

2.1.1 Tanım

Psöriazis; sık görülen, kronik, remisyon ve relapslarla seyreden genetik, immünolojik ve çevresel faktörlerin etyolojide rol oynadığı düşünülen inflamatuvar bir cilt hastalığıdır. Cilt lezyonları iyi sınırlı, eritemli plak veya papüller üzerine yerleşmiş parlak sedefi beyaz skuamlarla karakterize olup halk arasında Sedef Hastalığı olarak da adlandırılır (Griffiths ve Barker 2010).

2.1.2 Tarihçe ve Epidemiyoloji

Psöriazis hakkındaki ilk bilgiler antik çağa kadar uzanmaktadır. Psöriazisin tanımlandığı ilk yazılı belgeler Hipokrates'e ait (M.Ö. 460-377) olup eserinde "psora" ve "lepra" terimlerini kullanmıştır. Yunanca'da "psora" terimi kaşıntılı ve skuamlı deri hastalıkları için kullanılmaktadır. 1841 yılında Viyanalı bir dermatolog olan Ferdinand von Hebra (1816-1880) ise, "psöriazis" ismini bu hastalığa verip hastalığı günümüzdeki haliyle tanımlayan ilk kişi olmuştur (Gürer ve Adışen 2008). Psöriazis çok uzun yıllardır biliniyor olmasına rağmen, öne sürülen teorilerden hiçbiri hastalık veya nedenleri üzerine tam bir açıklama getirememiştir. Günümüzde çok sayıda araştırma merkezi psöriazisi araştırmakta ve yeni tedavi metotları geliştirmeye çalışmaktadır. Her Ekim ayının 29'u Dünya Psöriazis Günü olarak kabul edilmiş olup etkinlikler düzenlenmektedir.

Tüm dünyada yaygın şekilde görülen psöriazisin prevalansı % 1-3 arasında değişmektedir. Dünyanın her yerinde ve her ırkta görülebilen hastalığın sıklığı etnik, coğrafik ve çevresel

faktörlere bağılı olarak değişkenlik göstermektedir. Psöriazise yatkınlık, beyaz ırkta daha belirgindir. Psöriazis, Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'da sık görölmekte birlikte, Japonlar ve Çinliler gibi sarı ırkta, Latin Amerikalılarda, kıızılderililerde, eskimolarda ve zencilerde ise daha az görölmektedir. İklim koşullarından da etkilenen hastalık ekvatora yakın ölkelerde daha az görölürken kutuplara doğru gidildikçe sıklığı artmaktadır.

Cilt lezyonları mevsimsel değişiklik göstermekte olup kış ve ilkbahar aylarında alevlenme eğilimindedir. Hastalığın prevalansı en yüksek Norveç'te olup İngiltere'de % 1.5-1.6, Amerika Birleşik Devletleri'nde % 0.5-2.5 ve Çin'de % 0.2'dir (Griffiths ve Barker 2010, Kerkhof 2008, Gudjonsson vd. 2008, Kundakci vd. 2002). Kundakçı ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise Türkiye'de psöriazis sıklığının % 1.3 olduğu belirlenmiştir. Yaş temel alınarak yapılan çalışmalarda mutlak bir periyot veya aralık gösterilememektedir. Lomholt, Faroe adalarında yaptığı çalışmada başlangıç yaşını 12 olarak bildirmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmada hastalığın başlangıç yaşı 28 iken, Çin'de ise başlangıç yaşı 36 olarak saptanmıştır. Hastalığın başlangıç yaşının bimodal dağılım gösterdiği bildirilmiştir. Erken pik dönemi 16-22 yaşları arasında iken; geç pik dönemi 57-60 yaşlar arası olarak belirtilmiştir. Bununla birlikte kadınlarda psöriazis daha erken yaşlarda ortaya çıkmaktadır ve kadınlarda ortalama psöriazis başlangıç yaşı 16, erkeklerde 22 olarak bulunmuştur (Griffiths - Barker 2012, Lomholt 1963, Henseler ve Christophers 1985). Psöriazis kadın ve erkekleri eşit oranda etkilerken ölkemizde yapılan bir çalışmada psöriazisin kadınlarda 1,5 kat daha sık olduğu bildirilmiştir. (Kundakci vd. 2002).

2.1.3 Klinik

Psöriazis, derinin kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Klinik bulgular kronik bir seyir izleyebilir ve aniden ortaya çıkabilir. Diğer yandan mevcut lezyonlarda gerileme olurken yeni lezyon çıkışları da görülebilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, başlangıç yaşıyla doku antijenleri arasındaki ilişkilere dayanılarak, psöriazisin klinik bulguları benzer, fakat başlangıç yaşları, genetik özellikleri farklı iki tipi olduğu bildirilmiştir. Tip I psöriazis 40 veya 40 yaşından önce başlar. Ailesel geçiş belirgin olarak gözlemlenir ve insan lökosit antjenleri (Human Leucocyte Antigen = HLA) ile ilişkilidir. Lezyonlar generalize olmaya eğilimli olmakla birlikte düzensiz klinik gösterir. Tip II psöriazis 40 yaşından sonra başlayan, ailesel geçişin nadir görüldüğü, HLA ile ilişkisi zayıf olan tipidir. Klinik bulguları tip I'e göre daha hafif olmakla birlikte eklem

ve tırnak tutulumu daha sıktır (Plewig vd. 2000, Güneş ve Altınar 2005, Ortonne 1999). Psöriaziste deri, saçlı deri, eklem ve tırnaklar tutulabilmektedir.

Psöriaziste tutulma olan bölgelerdeki derinin karakteristik özelliklerinden biri hiperproliferasyondur. Proliferatif fazda olan hücre miktarı normal hücre miktarının iki katına çıktığı görülmüştür. Normal bir derideki germinatif tabakada hücrelerin % 60-70'i büyüme fazındayken, psöriazisli deride germinatif hücrelerin % 100'e yakını büyüme fazına geçmiştir. Psöriaziste epidermiste kök hücre oranının yüksek olması, bölünen hücrelerin hücre siklus sayılarının artması ve hücrelerin apoptoza normal deri keratinositlerine kıyasla daha dirençli olmaları ve apoptozun azalmasının sonucu olarak derideki hiperplastik ve hiperkeratotik görünüm ortaya çıkmaktadır (Saraç ve Kapıcıoğlu 2015).

Derideki lezyonlar özellikle diz, dirsek, ekstremitte ekstansörlerine ve lumbosakral bölgeye yerleşir (Bilen 2005). Lezyonların büyüklüğüne ve şekillerine göre punktata, guttata, numuler, plak, üniversal, anüler, geografik gibi isimler alır. Lezyonların morfolojilerine veya yerleşim yerlerine göre psöriazisin farklı klinik tipleri vardır. Lezyonlar morfolojik özelliklerine göre psöriazis vulgaris, guttata, püstüler, eritrodermik, folliküler ve seboreik psöriazis, yerleşim yerlerine göre saçlı deri psöriazisi, palmoplantar psöriazis, invers psöriazis, tırnak psöriazisi, psöriatik artrit, napkin psöriazis, genital ve perianal psöriazis olarak sınıflandırılabilir (Naldi ve Gambini 2007, Meier ve Sheth 2009). Psöriazisli hastaların yaklaşık % 90'ı plak psöriazisli (Psöriazis vulgaris) hastalardır (Griffiths ve Barker 2007).

2.1.3.1 Psöriazis Vulgaris

Psöriazisin en sık görülen klinik formu olup; eritemli, keskin sınırlı, üzeri sedefi-beyaz veya gümüş rengi skuamlarla kaplı plaklarla karakterizedir. Lezyonların şekil ve büyüklükleri farklılık gösterebilir. Lezyonlar çoğunlukla bilateral ve simetrik olarak diz ve dirsekler, saçlı deri, lumbosakral bölge, el ve ayaklara yerleşme eğilimindedir. Lezyonların bu alanları tercih etmesinin sebebi travma ile açıklanmaktadır (Gülekon 2008).

2.1.3.2 Guttat Psöriazis

Guttat psöriaziste kaba görünümlü çok sayıda 1 cm'den küçük psöriatik lezyonlar vardır. Özellikle çocuklarda ve genç erişkinlerde sık görülen bir psöriazis tipidir. Psöriatik aile öyküsü olmayan çocuk ve gençlerde akut deri döküntüsü oluşumu tipiktir. Sıklıkla streptokoksik enfeksiyonlar lezyonları tetikler. Enfeksiyonun gerilemesiyle lezyonlar genellikle kendiliğinden kaybolur. Lezyonlar yaygındır, daha önceden farklı tipte psöriazisi olan hastalar guttat psöriazis olarak alevlenebilir. Çocuklarda genelde haftalar aylar içinde gerilerken, erişkinlerde kronikleşebilmektedir (Gülekon 2008, Naldi ve Gambini 2007).

2.1.3.3 Eritrodermik Psöriazis

Eritrodermik psöriazis sık olarak görülmeyen akut ve kronik formların olduğu, eritemin en baskın özellik olarak gözlendiği psöriazis tipidir. Vücudun % 80 ve daha fazlasını tutabilen yaygın bir formdur. Baştan ayağa kadar yaygın eritem ve pullanma ile karakterizedir. Bazı hastalarda koruyucu bariyer kaybına bağlı enfeksiyon ve sıvı kaybına sekonder elektrolit anormallikleri gibi komplikasyonlar ölüme varan riskler taşır. Kronik plak tip psöriazisin zamanla generalize forma dönüşmesi ile ortaya çıkan bir tablo olabileceği gibi hastalık bazen doğrudan eritrodermik şekilde de başlayabilir. İritan topikal tedavilere yanıt olarak generalize Koebner cevabı şeklinde de ortaya çıkabilir (Boyd ve Mender 1989).

2.1.3.4 Püstüler Psöriazis

Püstüler psöriazis yaşamı tehdit eden komplikasyonları olabilen steril püstüllerle seyreden psöriazisin şiddetli bir formudur. Yaygın olarak halsizlik, ateş, diare, lökositoz ve hipokalsemi ile birlikte görülebilir. Hepatik anormalliklerle ilişkisi gösterilmiştir. Gebelik, enfeksiyonlar, oral glukokortikoidler püstüler psöriazis için tetikleyici olabilir (Lizuka vd. 2003).

2.1.3.5 Palmoplantar Psöriazis

El içi ve ayak tabanında simetrik yerleşim gösteren, keskin sınırlı, eritemli ve kalın yapışık skuamlı plaklarla karakterizedir. Sıklıkla el ve ayaklarda fissürler oluşturur ve buna ağrı eşlik eder. Palmoplantar psöriazisde eritem baskın değildir. Hatta kimi zaman gözlenmez, daha çok

skuam hakimdir (Pettey vd. 2003). Şiddetli seyrettiğinde el hareketlerini kısıtlayıp hastaların sabah tutukluğu benzeri anamnez vermelerine sebep olabilir.

2.1.3.6 Psöriatik Artrit (PsA)

Psöriatik artrit (PsA); negatif romatoid faktörle karakterize olup, psöriazis esnasında görülen artrittir. Artropati, psöriazisin tek sistemik belirtisidir. Artrit psöriazisli hastaların % 5-25'inde gözlenir. % 10–15 olguda psöriatik artrit semptomları deri lezyonları oluşmadan da ortaya çıkabilir. Yapılan çalışmalarda psöriatik artrit ile HLA B27, HLA Cw6, HLA DR4 arasında anlamlı ilişkiler saptanmıştır (Dhir ve Aggarwal 2013).

2.1.3.7 Tırnak Psöriazisi

Psöriazisteki tırnak tutulumlarının oranı tam olarak belli değildir. Yaklaşık olarak psöriazisli hastaların % 50'sinde el tırnağı % 35'inde ayak tırnak tutulumu görülür. Olguların % 5'inde deri tutulumu olmadan tırnak tutulumu görülebilir. Psöriazisteki tırnak tutulumları tırnak matriks tutulumu (pitting, lökonişi, lunulada kırmızı lekeler ve tırnak plağı çukurlaşması) ve tırnak yatağı tutulumu (onkoliz, yağ damlaları veya salmon lekeleri, splinter hemoraji ve hiperkeratoz) bulgularını içermektedir. Çok şiddetli tırnak tutulumu onkomikozla karıştırılabilen kalınlaşmış dökülebilen tırnakla sonuçlanır (Jiaravuthisan vd. 2007).

2.1.3.8 İvers Psöriazis

Deri kıvrımlarında kırmızı parlak ve çoğunlukla skuamsız plaklar şeklinde görülen psöriazis varyantıdır. En sık aksilla, meme altı, antekübital, inguinal ve intergluteal bölgede yerleşir. Lezyonlar canlı kırmızı, keskin sınırlı ve simetrik yerleşimlidir. Sürtünme ve nemden dolayı üzerlerinde skuam bulunmaz (Gudjonsson vd. 2008).

2.1.3.9 Klinik Skorlama

Psöriazis şiddetini belirlemek amacıyla en sık kullanılan klinik skorlama sistemi psöriazis alan şiddet indeksidir. PASI (Psöriazis Area and Severity Index) dört vücut bölgesindeki (baş [b],

gövde [g], üst ekstremité [u], alt ekstremité [a]); eritem (E), indurasyon (I), ve deskuamasyon (D) derecesinin belirlenmesi ile hesaplanır.

Psöriazis şiddeti PASI skoruna göre $PASI < 3$ ise hafif, $3 \leq PASI < 10$ ise orta şiddetli, $PASI \geq 10$ ise şiddetli olarak gruplandırılmıştır. PASI hesaplanırken şu formül kullanılır:

$$0,1x(Eb+Ib+Db) \times Ab + 0,2x(Eu+Iu+Du) \times Au + 0,3x(Eg+Ig+Dg) \times Ag + 0,4x(Ea+Ia+Da) \times Aa$$

2.1.4 Etiyoloji ve Tetikleyici Faktörler

Psöriazisin nedeni tam olarak aydınlatılamamış olup genetik yatkınlığın psöriazis oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir. Ancak çevresel faktörler, enfeksiyonlar, ilaçlar, psikojenik faktörler ve travmanın hastalığın çıkışını tetiklediği ve hastalığın alevlenmesine neden olduğu düşünülmektedir (Neimann vd. 2006).

2.1.4.1 Genetik Yatkınlık

Ailede psöriazisli bir vaka olması psöriazis gelişimi bakımından en net ortaya konmuş bir risk faktörüdür. Psöriazis ya da psöriatik artrit hastalarının yaklaşık olarak % 40'ının birinci derece akrabalarında bu hastalık görülmektedir. Ailede her iki ebeveynde de psöriazis var ise çocuklarda da görülme ihtimali % 50, tek bir ebeveynde var ise bu ihtimal yaklaşık % 16'dır. Aile öyküsü olmayan bir çocukta ise psöriazis gelişme riski % 1-2'dir (Neimann vd. 2006). İkizlerde yapılan çalışmalarda da hastalıkla ilgili yüksek konkordans gözlenmiştir. Monozigot ikizlerde konkordans oranı yaklaşık % 70 iken dizigotik ikizlerde bu oran % 20 civarındadır (Brandrup vd. 1982). Yapılan genetik araştırmalarda ilk olarak kromozom 6p21 lokusunda yerleşen bir psöriazis geni bulunarak *PSORS-1* (psöriazis susceptibility locus 1) adı verilmiştir. Bunu takiben farklı lokalizasyonlardaki diğer psöriazis genleri tanımlanmıştır. Psöriazise neden olduğu bilinen bu genlerdeki çeşitlilik, hastalığın poligenik ve multifaktöriyel olduğu görüşünü desteklemektedir. Son çalışmalarda, psöriazisle ilgili diğer genler *PSORS1:6p21.3*, *PSORS2:17q25*, *PSORS3:4q*, *PSORS4:1q21*, *PSORS5:3q21*, *PSORS6:19p13-q13*, *PSORS7:1p34-35*, *PSORS8:16q12-q13*, *PSORS9:4q28-31* şeklinde dokuz farklı lokalizasyonda tespit edilmiştir (Capon vd. 2002)(Çizelge 2.1).

Psöriaziste HLA sisteminin keşfi, psöriazisin genetik zemininin tanımlanmasına yardımcı olmuştur (Griffiths ve Barker 2007). Psöriazisli hastaların Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHC) sınıf-I antijenlerinden HLA B13, B17, Bw16, Bw17, Bw6, Bw37, Bw57, A30 ve MHC sınıf-II antijenlerinden HLA-DR7'yi taşıdığı gösterilmiştir. Etnik gruptan bağımsız olarak yapılan çalışmalarda en kuvvetli ilişki, HLA-Cw6 ile gösterilmiştir (Szczerkowska-Dobosz 2004). HLA-BW13 ve B13 pozitifliği hastalığın ailevi olduğunu göstermekle birlikte, oldukça yaygın deri tutulumu ve ilerleyici klinikle de ilişkilidir. Psöriazisin bazı klinik formları ile HLA tipleri arasında da pozitif bir ilişki mevcuttur. Generalize püstüler psöriaziste HLA Bw17, psoriatik artritte HLA B27 (Veale ve FitzGerald 2002), eritrodermik psöriaziste HLA B13 ve B17 antijenlerinin birlikteliği bildirilmiştir. Guttat psöriazisli hastalarda HLA Cw6 insidansı artmıştır (Szczerkowska-Dobosz 2004).

Çizelge 2.1 Psöriazis ile ilişkili genler (Türsen 2010).

Lokus	Kromozom Lokasyonu	Aday gen/ Marker	Muhtemel gen fonksiyonu
PSORS1	6p21.3	HLACw- 0602	MHC 1- bağımlı antijen presentasyonu
PSORS2	17q25	SLC9A3R1 / NAT9	Hematopoietik ve polarize epitelyal hücre disregülasyonu
PSORS3	4q32-35	D4S1535	IFN Regülatör Faktör 2 (IRF2) (Transkriptör Faktör)
PSORS4	4q32-35	D4S1535	IFN Regülatör Faktör 2 (IRF2) (Transkriptör Faktör)
PSORS5	3q21	SLC12A8	Potasyum/klorid transporter
PSORS6	19p13-q13	D19S425	Bilinmiyor
PSORS7	1p35-34		Bilinmiyor
PSORS8	16q12-13		Bilinmiyor
PSORS9	4q31-34	D4S1597	Bilinmiyor
PSORSS1	16q12	NOD2 protein	Monositlerde bakteriyel ürünler için intraselüler reseptör

2.1.4.2 Tetikleyici Faktörler

Travma

Mekanik, UV, yanık, cerrahi benzeri fiziksel ve kimyasal travmalar, psikolojik stres gibi dış etkenler genetik predispoze bireylerde psöriazis gelişimini tetikleyerek başlangıç atağı oluşturabilir. Bu etkenler psöriazisi kötüleştirir veya şiddetli relapsa neden olabilir (Kormeili vd. 2004).

İlaçlar

β -bloker, ACE inhibitörleri, antimalaryaller ve lityum gibi medikasyonlar psöriazisi başlatabilir veya tekrarlatılabilir (Kormeili vd. 2004).

Enfeksiyonlar

Çeşitli mikroorganizmaların psöriazisin patogeneğinde etkili olduğu uzun süredir bilinmektedir. Bu mikroorganizmalar; bakteriler (streptokokus pyogenes, stafilokokus aureus), mantarlar (malassezia, kandida albicans) ve virüsler (papilloma virus, retrovirus, endojen retrovirusler)'dir. Genellikle streptokokal boğaz enfeksiyonu esnasında veya sonrasında 'guttat psöriazis' lezyonları ortaya çıkmaktadır. Ovigne vd. 2002 yılında immünfloresan çalışmalarla psöriatik epidermiste streptokokal ürünler veya bunlarla çapraz reaksiyon veren antijenlerin varlığını saptamıştır (Ovigne vd. 2002). Human immunodeficiency virus I'in (HIV-I) psöriazide ciddi alevlenmelere sebebiyet verdiği; Fry ve Baker'ın HIV pozitif kişilerde psöriazis insidans artışını göstermesiyle kanıtlanmıştır (Fry ve Baker 2007).

Psikojenik Faktörler

Hastalığın başlangıcında veya alevlenmesinde ruhsal travmaların önemli bir rol oynadığı, psöriatik olguların genellikle içine kapanık, duygusal gereksinimlerini yansıtamayan, kendine güvensiz ve sosyal ilişkilerde başarısız kişilik yapılarına sahip insanlarda olduğu bilinmekte, bu nedenle psöriazis psikosomatik hastalıklar içerisinde sınıflandırılmaktadır (Gülekon 2008). Psöriazis psikojenik bir etken olarak sayılan stres ile de tetiklenmektedir. Stresin substans P ve vazoaaktif intestinal peptit gibi nöropeptitler aracılığı ile keratinositleri uyarak etkili olduğu bildirilmiştir (Poikolainen vd. 1999).

Sigara

Psöriazisin ortaya çıkmasında ve alevlenmesinde sigara içmenin etkili olduğuna dair birçok çalışma vardır. Keratinositler nikotik ve kolinerjik reseptörlere sahiptir. Sigara içilmesiyle hücrelere kalsiyum girişi olmakta ve böylece hücre döngüsü hızlanmaktadır. Buna ek olarak sigara içmek hücrelerde oksidatif hasara yol açmaktadır (Jankovic vd. 2009). Fazla sigara içmenin hastalığa yakalanma riskini ve klinik ciddiyetini de arttırdığı gösterilmiştir (Fortes vd. 2005).

Alkol

Alkol alımı, var olan psöriazisi sadece şiddetlendirmekle kalmayıp hastalığın doğasını, seyrini ve tedaviye yanıtını da etkilemektedir. Yapılan geniş çaplı bir çalışmada psöriatik hastalar arasında hem alkolizm prevalansında bir artış, hem de daha yüksek bir alkol alımı saptanmıştır. Alkol alımına devam etmek, hem hasta uyumunu önlemekte, hem de tedaviye dirence neden olarak morbiditeye katkıda bulunmaktadır. Alkol almayı bırakmak ise, hastalığın remisyonuna neden olabilmektedir (Higgins 2000).

Güneş ışığı

Ultraviyole ışınlar, orta ve ciddi şiddetteki psöriaziste kullanılabilen bir tedavi yöntemidir. Ekvatora yakın bölgelerde psöriazisin daha az sıklıkta görülmesi, doğal ultraviyolenin psöriazis üzerindeki olumlu etkisini gösterse de şiddetli güneş ışığı maruziyeti hastaların küçük bir kısmında tetikleyici rol oynayabilmektedir. Yaz aylarında bu hastaların lezyonlarında alevlenmeler görülebilir (Elder vd. 2001). 2009'da Rutter vd. nin yaptığı bir çalışmada şiddetli fotosensivitenin eşlik ettiği psöriazisin çoğunlukla kadınları etkilediği, HLA-Cw6 ile ilişkili olduğu ve aile öyküsü olanlarda ultraviyolenin daha fazla etki ettiği görülmüştür (Rutter vd. 2009).

Obezite

Obezite; vücut kitle indeksinin (VKİ) 30 ve üzeri olması, morbid obezite ise 35 ve üzeri olması olarak tanımlanmaktadır (Bremmer vd. 2010). Obezite ve psöriazis arasındaki ilişki ilk kez, İsveç'te 10 yıllık bir çalışmanın ardından Lindegard tarafından saptanmıştır (Lindegard 1986). Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir kohort araştırmasında ise psöriazis gelişimi ve obezite arasında kilo ile doğrusal bir ilişki gösterilmiştir (Azfar ve Gelfand 2008). Obezitenin bir proinflamatuvar durum olduğunun, adipoz dokunun ise immün sistem ve endokrin sistemin

içinde tanımlanması; obez hastaların psöriazis gelişimine yatkınlığının aydınlatılmasında yardımcı olmuştur (Bremmer vd. 2010).

Endokrin Faktörler

Generalize püstüler psöriazisde hipokalseminin hastalığı tetikleyici bir faktör olduğu gösterilmiştir. Ayrıca gebeliğin de hastalık aktivitesini değiştirebileceği düşünülmüştür. 65 gebe hastanın değerlendirildiği bir çalışmada; % 40'ının lezyonlarında iyileşme, % 14'ünde kötüleşme saptanmıştır (Dunna ve Finley 1989, Boyd vd. 1996). Genel olarak psöriazis seyrinde gebelik döneminde bir düzelme sonrasında ise kötüleşme oluyor denilebilir.

2.1.5 Patogenez

Psöriazisin karakteristik özellikleri; keratinosit hiperproliferasyonu, epidermis ve dermiste inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve dermis damarlarında genişlemedir. Bu değişiklikler, doğal ve kazanılmış immün sistemin aktivasyonu ile tetiklenebilmektedir (Victor vd. 2003). Psöriaziste mitoz hızı artmış, hücre yenilenme zamanı (turnover time) hızlanmış ve hücrelerin yaşam süreci azalmıştır. Normalde 26-28 gün olan epidermal yenilenme süreci Psöriazis te 3-4 güne inmiştir. Bu kısalmış süreç kendini klinik olarak kalın skuamaların oluşumu şeklinde göstermektedir. Enerjinin çoğu mitotik aktivite için harcandığından protein sentezi için harcanan enerjinin azalması ile tonoflaman ve keratohyalin sentezi azalır ve olgunlaşma eksik kalır. Psöriazis lezyonlarında mikrovasküler yapı değişiklikleri bulunmaktadır. Dermisteki damarlarda genişleme ve kıvrılmalar, üst dermiste perivasküler hücre infiltrasyonu görülür. Özellikle venöz kapiller ve prekapiller venüller etkilenmektedir (Burgdorf vd. 2008). Lezyonların klinik görünümü çoğunlukla epidermal değişiklikleri yansıttığından bir dönem patolojik olayların primer kaynağının keratinositler olduğu düşünülmekteydi. Son yıllarda olayın temelinde immunolojik mekanizmaların olduğu ortaya çıkarılmıştır ve çalışmalar sonucu elde edilen veriler Psöriazisin T hücre aracılı otoimmün inflamatuvar bir hastalık olduğunu düşündürmektedir (Krueger ve Bowcock 2005).

Psöriazisin immun sistem hastalığı olduğunu destekleyen gözlem ve bulgular şunlardır:

1. Ağırıklı olarak T hücrelerinin efektör işlevlerini baskılayan siklosporine iyi yanıt gözlenmesi,
2. Psöriazis olmayan bir vericiden alınan kemik iliğinin psöriazisli hastaya transplantasyonu sonrası psöriazisin iyileşmesi; psöriazisi olan bir vericinin iliğinin, transplante edildiği kişide psöriazis oluşturması,
3. Ağır kombine immun yetmezliği olan farelere psöriatik hastaların lezyon olmayan derisinin transplantasyonu ve otolog periferik beyaz kan hücrelerinin verilmesi sonrası psöriazis gelişmesi,
4. İmmun sistemde özgün hedefleri olan biyolojik ajanlara iyi yanıt alınması,
5. İmmun sistemin hücre ve moleküllerinin manipülasyonu ile oluşturulan hayvan modelleri (Wolk vd. 2009).

2.1.5.1 T Lenfositler

Herhangi bir antijene maruz kalınması durumunda derinin antijen sunucu hücreleri (Dendritik hücre (DH)) bu antijeni hücre içine alır. DH'ler içerisinde antijenler işlenerek peptidler haline getirilir ve bu peptidler hücre içindeki MHC'ler ile birleşerek MHC-peptid kompleksi olarak hücre yüzeyine taşınır. Bu esnada immatür DH olgunlaşır, migrasyon yeteneği artar ve bölgesel lenf nodlarına doğru hareket eder. Lenf nodlarına ulaşan DH'ler yüzeyindeki antijeni sunmak için T lenfositlere bağlanır (Gupta vd. 2004). Bu bağlanma 'immunolojik sinaps' olarak isimlendirilir.

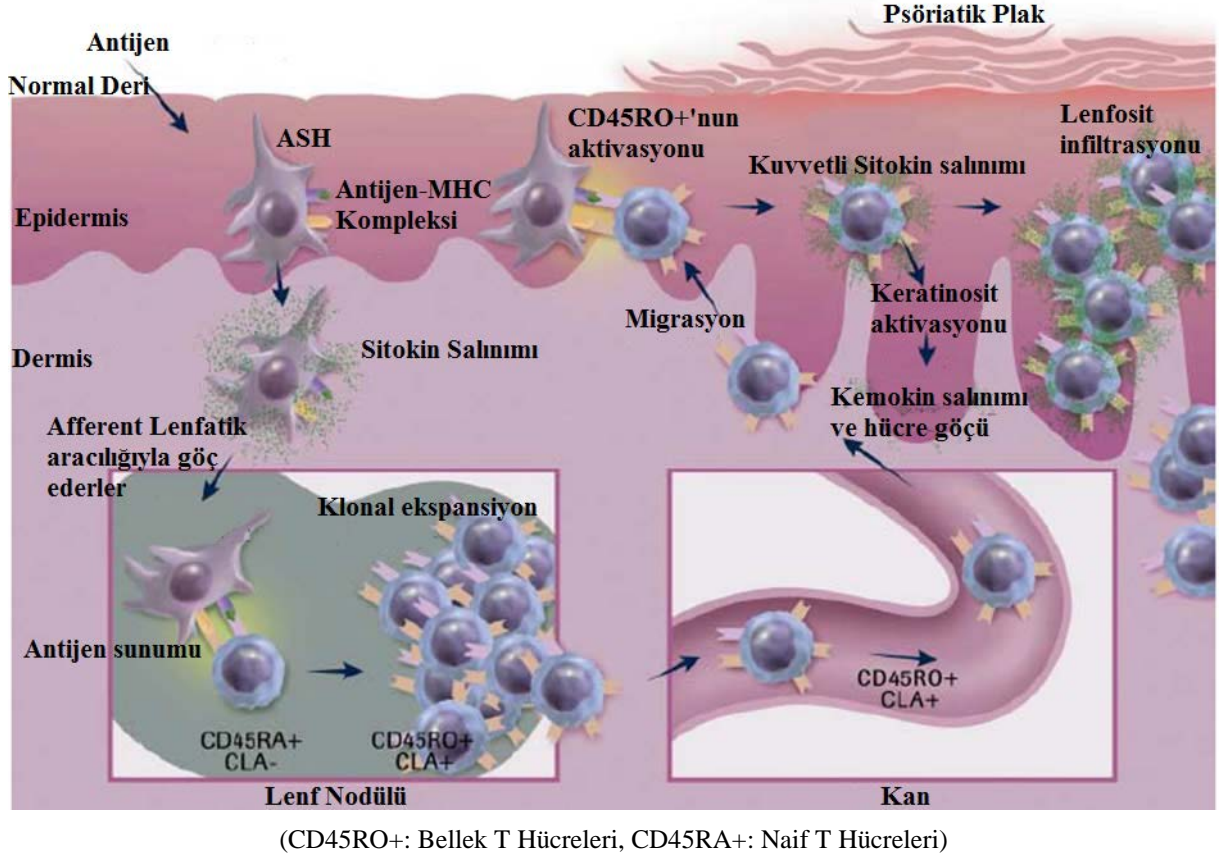
T lenfositin, DH yüzeyindeki antijeni tanınması ve aktifleşmesi sonucu 3 tip T lenfosit oluşmaktadır (Bilgiç 2011).

1. Efektör T hücresi olarak adlandırılan, sürekli inflamasyonlu dokuya göç ederek efektör fonksiyonlarını yerine getirip apoptozla ölen hücreler,
2. Efektör-bellek T hücresi olarak adlandırılan sürekli kan ile periferik dokular arasında hareket eden dokuda bir uyarın ile karşılaşınca sitokin salın hücreler,
3. Santral bellek T hücresi olarak adlandırılan ve lenf nodu ile kan arasında hareket eden, ancak ikinci bir uyarın olduğunda çoğalarak efektör fonksiyonlarını yerine getiren hücreler.

Psöriazis lezyonlarındaki T lenfositlerin büyük bir çoğunluğunu efektör bellek T hücreleri oluşturur. Psöriaziste ve diğer inflamatuvar cilt hastalıklarında efektör–bellek T hücrelerinin deriye hareketini sağlayan CLA (cutaneous lymphocyte-associated antigen)'dir (Bilgiç 2011). Doğal T lenfositler ürettikleri sitokinlerin türü ve işlevlerine göre Th1, Th2, Th17 ve Treg (reglatuvar T hücreleri) olmak üzere 4 farklı hücre tipine polarize olur. Psöriazis te bu polarizasyonu belirleyen temel faktörün dendritik hücrelerden salınan sitokinler olduğu düşünülmektedir. Psöriazis, Th1 paterni bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Naldi ve Gambini 2007). Sonuç olarak psöriazis te henüz tanımlanmamış antijene spesifik CLA+ efektör-bellek tipi T lenfositleri, Th1, Th17, alt gruplarına polarize olmakta ve uyarı halinde dokudan salgılanan kemokinler aracılığıyla deriye geçerek efektör fonksiyonları yerine getirmektedir (Bilgiç 2011) (Şekil 2.1).

2.1.5.2 Dendritik Hücreler

Psöriatik lezyonlarda bol miktarda dendritik hücre varlığı saptanmıştır. Bunlar Langerhans hücreleri, dermal dendrositler, plazmositoid ve myeloid dendritik hücrelerdir. Dendritik hücreler hem antijenin alınıp işlenmesini ve T lenfositlere sunumunu sağlar, hem de salgıladığı sitokinler aracılığıyla T hücrelerinin hangi yöne polarize olacağını belirler. Psöriazis lezyonlarında plazmositoid dendritik hücrelerin sayıca arttığı ve IFN- α yolağının aktive olduğu saptanmıştır. Myeloid dendritik hücreler ise TNF- α üretmekte, T hücrelerinin Th1, Th17 polarizasyonunu sağlamaktadır (Griffiths ve Barker 2007, Bilgiç 2011).



Şekil 2.1 Normal ve psöriatik deride T hücre yanıtının oluşturulması (Prinz 2003).

2.1.5.3 Nötrofiller

Erken lezyonlarda epidermis içerisinde ve özellikle de parakeratoz alanlarında yoğun olarak bulunur. Nötrofiller, lökosit elastaz enzimleri sayesinde keratinosit proliferasyonuna neden olur ve epidermal antijenlerin ortaya çıkmasını kolaylaştırır. Hastalığın özellikle püstüler ve guttat psöriazis formlarında çok önemli rol oynamaktadır (Griffiths ve Barker 2007).

2.1.5.4 Makrofajlar

Hastalık patogenezinin en önemli katkıları, patogenezdaki en önemli sitokinlerden TNF- α 'yı en bol üreten hücre olmalarıdır. Ürettikleri IL-6 ve IL-8 aracılığıyla keratinositleri uyarırlar (Bilgiç 2011).

2.1.5.5 Keratinositler

Keratinositler çok sayıda sitokin üreterek derideki inflamatuvar reaksiyonu yönetirler. TGF- α üreterek vasküler endotelial büyüme faktörünü (VEGF) artırır, anjiogenezisi ve keratinosit proliferasyonunu uyarırlar (Victor vd. 2003). Psöriazisteki epidermal proliferasyonu uyaran en temel faktör Th1 ve Th17 hücrelerince üretilen IL-20 ve IL-22'dir. IL-22 keratinosit proliferasyonunun yanısıra antimikrobial peptidlerden β -defensinlerin yapımını da uyarır (Wolk vd. 2009).

2.1.5.6 Sitokinler ve Kemokinler

Psöriazis lezyonlarında aktif T lenfositler tarafından salınan ve tip 1 sitokinler olan IL-1, 6, 8, 12, TNF- α , IFN- γ ve ayrıca IL-23, IL-17, IL-20, IL-18 düzeyleri yüksektir. Hastalıkta görülen kronik inflamasyon ve keratinosit proliferasyonuna bu sitokinlerin neden olduğu bilinmektedir. IL-8, nötrofil kemotaksisini, keratinosit proliferasyonunu ve anjiogenezisi uyarır. IL-20, keratinosit proliferasyonunu sağlar ve derideki inflamatuvar reaksiyonları düzenler. IFN- γ , tüm lenfosit alt grupları ve endotel hücrelerinin aktivasyonunu ve çok sayıda sitokin salınımını sağlar TNF- α psöriazisteki inflamasyon, anjiogenez açısından son derece önemlidir (Victor vd. 2003, Wolk vd. 2009).

2.1.5.7 Regülatör Hücreler

Psöriaziste temel sorunun immun stimülasyon mu yoksa immun reaksiyonu sınırlayan/yatıştırıcı mekanizmaların işlevsel bozukluğu mu olduğu bilinmemektedir. Treg hücrelerinin, fonksiyonel bozuklukları nedeniyle, Th1 ve Th17 hücrelerini inhibe edememeleri patogeneizde önemli olabilir (Bilgiç 2011).

2.2 GRANÜLİZİN

2.2.1 Tanımlama

Granülizin, insan sitotoksik T lenfositleri (CTL'ler) ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin granüllerinde bulunan sitolitik bir antikmikrobiyal peptiddir (AMP). Granülizinin öneminin anlaşılması için öncelikle AMP'ler iyi bilinmelidir.

Canlı organizmalar endojen antibiyotikler ve dezenfektanlar gibi işlev gören çeşitli AMP'ler üretirler (Lehrer ve Ganz 1999, Gallo ve Kenneth 1998, Kumar vd. 2001). Bu peptidlerin çoğu, enfeksiyona karşı doğal bağışıklık efektörleridir. Evrimsel olarak korunmuş olan bu peptidler genellikle pozitif yüklüdür ve hem hidrofobik hem de hidrofilik bölgeleri vardır, bu da molekülün sulu ortamlarda çözünebilmesini ve lipid bakımından zengin membranlara girmesini sağlar. AMP bir kez hedef mikrobiyal zar içine girdiğinde, hedef hücreleri çeşitli mekanizmalarla öldürür (Izahpanad ve Gallo 2005). Canlılardaki AMP'ler üç ana yapısal gruba ayrılmıştır. Grup1; sekropinler, bombininler, magaininler ve temporinleri içeren sistein kalıntılarından yoksun lineer peptidlerden oluşur. Grup 2; böcek ve memeli defensinlerini içeren intramoleküler disülfid bağı oluşturan sisteini eşit sayıda bulunduran peptitlerden oluşur. Grup 3 peptitleri prolin ve arginin ile birlikte yüksek oranda sıradışı aminoasit içeriğine sahiptir ve bu sınıfa domuz PR-39 ve sığır Bac-5 dahildir (Andreu ve Rivas 1998, Kumar vd. 2001). AMP'ler tipik olarak 12-50 amino asit uzunluğunda ve net pozitif bir yüke sahiptir. Bunun aksine, granülizin 129 amino asit uzunluğunda, 14 negatif ve 20 pozitif yük içerir. Bu yüzden, işlevsel olarak diğer antimikrobiyal peptidlerle ilişkili olmasına rağmen, yapısal olarak ayrı bir sınıfın parçasıdır (Kumar vd. 2001). 1800'den fazla AMP tanımlanmıştır (Url-2) ve bunların 20'den fazla tipi memeli derisinde lokalizedir (Lai ve Gallo 2009).

Memelilerdeki AMP sınıflandırmasını genel olarak 3 grup altında toplayabiliriz (Çizelge 2.2); Katelisinler, Defensinler ve Sapozinler.

Çizelge 2.2 İnsan antimikrobiyal peptidlerinin temel özellikleri (Izahpanad ve Gallo 2005).

	Katolisidinler	Defensinler		Sapozinler
	IL-37	α -Defensinler	β -Defensinler	Granülizin
Yapı	Katolisidin öncüsü Lineer amfipatik α -Heliks	β -sarmal 6 sistein motifi	β -tabaka 6 sistein motifi	α -heliks Katyonik
	37 amino asit, diğer işlenmiş formlar	Disülfid köprüler C 1-6; 2-5; 3-5	Disülfid köprüler C 1-5; 2-4; 3-6	Amfipatik
Kaynak	Keratinositler, nötrofiller, mast hücreleri akciğer, testis, gut, lenfositler tarafından inflamasyon ve hasar görülen bölgelerde üretilir. Ter ve tükürükte bulunur.	Nötrofil granüller (HNP 1-4) Bağırsak Paneth hücreleri ve genital bölge (HD 5,6)	Deri, akciğer ve bağırsak epitel hücreleri Nötrofiller	T hücreleri
Düzenleme	Yapısal ve uyarılabilir	Yapısal	Yapısal ve uyarılabilir	Yapısal ve uyarılabilir
Antimikrobiyal özellikler	Geniş spektrum	Geniş spektrum	Geniş spektrum	Geniş spektrum
Diğer özellikler	Anjiyogenez Mast hücre kemotaksisi Yara iyileşmesi	Aktifleştirilmiş monositlerde TNF-a ve IL-1 ekspresyonunu artırır. Artmış salgı	Bellek T hücreleri ve olgunlaşmamış dendritik hücrelerin kemotaksisi Prostaglandin üretiminin artması	Sitotoksik tümörler Apoptozisin artması Doku reddi

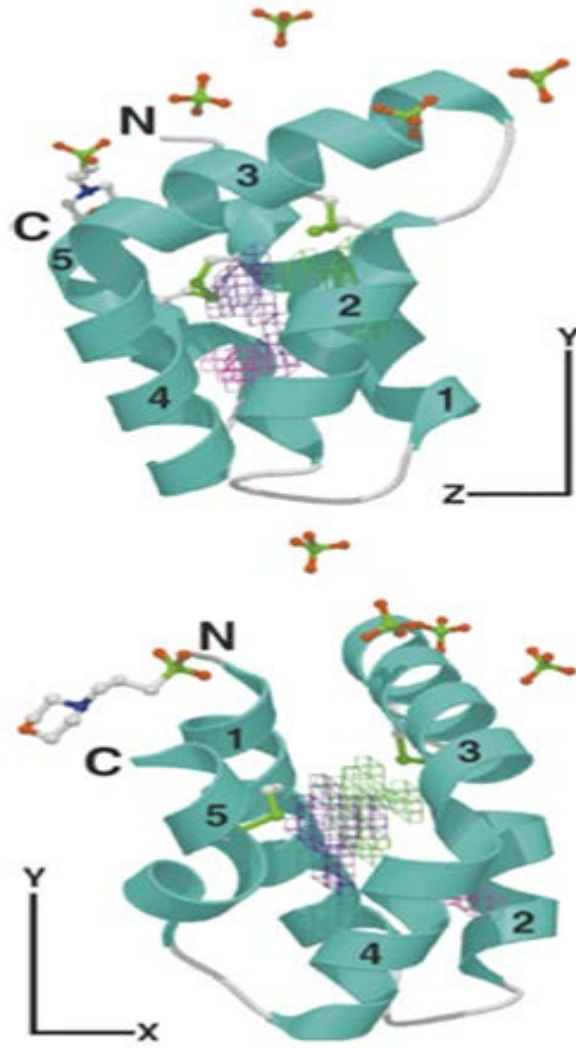
Katolisidinler enfeksiyon veya epitelyal yaralanmayı takiben konak yanıtının ilk safhasında önemli rol oynar (Palffy vd. 2009). İnsan katolisidin molekülünün, sistein proteaz inhibitörü işlevini görerek, *Escherichia coli* ve methisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) patojenlerine karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Zaiou vd. 2003).

Defensinler, antimikrobiyel peptidlerin geniş bir grubunu oluştururlar ve katolisidinler gibi keratinosit ve mukozal epitelyal hücrelerde bulunur. Bu katyonik peptidler, 6 ile 8 sistein aminoasiti içeren karakteristik disülfid köprülerine sahiptir. Disülfid bağlarının sırası, defensinleri α , β , θ olmak üzere 3 alt sınıfa ayırır. İnsanda, sadece α ve β -defensinler bulunmaktadır. İnsanlarda, nötrofiller (HNP1-4) ve paneth hücreleri (HNP5, 6) tarafından ifade edilen 6 adet α -defensin (insan nötrofil peptidi [HNP] 1-6) tespit edilmiştir. α -defensinler, özellikle adenoviruslara karşı güçlü antiviral aktivite sergilerler (Izahpanah vd. 2005, Smet vd.

2005, Harder ve Schröder 2005). Bunun yanı sıra 4 adet de insan β -defensini (HBD1-4) epitel ve periferik kan hücrelerinde ifade edilir. HBD1-4 geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye ve bağışıklığı düzenleme fonksiyonuna sahiptir. HBD1 epitelde yapısal olarak ifade edilirken HBD2-4 sadece pro-inflamatuvar sitokinler ve mikrobiyal ürünler varlığında ifade edilebilir. Bunlara ek olarak Th17 sitokinleri olan IL-17A ve IL-22 HBD2'nin indükleyicisidir (Morizane ve Gallo 2012).

Granülizin, son grup olan sapozin benzeri proteinleride (SAPLIP) içeren sapozin ailesinin bir üyesidir. Sapozinler, çeşitli lipid parçalayan enzimlerin aktivatörleri olarak işlev gören küçük lizozomal proteinlerdir. (Munford vd. 1995). Memelilerdeki sapozin grubu proteinlere sapozin A-D, NK-lizin, pulmoner sürfaktan protein-B (SP-B), lipid hidrolaz, açiloksiasil hidrolaz, asit sfingomiyelinaz ve granülizin gibi örnekler verilebilir. SAPLIP ailesinde sistein rezidüleri korunmuştur. Ailenin diğer üyeleri altı sistein rezidüsü içerirken farklı olarak granülizin beş sistein rezidüsü içermektedir.

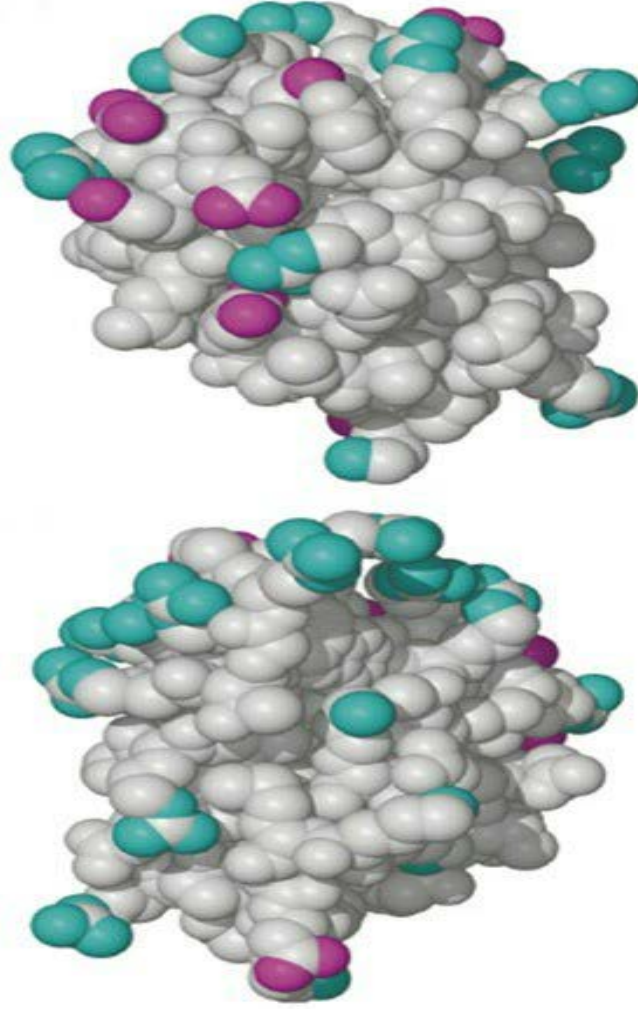
Bu sisteinlerin protein yapısı ve fonksiyonu için önemli olan intramoleküler disülfid bağları oluşturabileceği düşünülmüş Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) spektroskopisi ile bu görüş doğrulanmıştır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Granülizinin 3 boyutlu yapısının gösterimi. 1-5 arasındaki rakamlar heliksleri, N ve C ise N ve C terminalini belirtir. Disülfid bağları 1. ve 5. Helikslerle 2. ve 3. heliksleri birbirine bağlar (Anderson vd. 2003).

Sitolitik granüllerde bulunduğu ve çeşitli hüresel hedefleri parçaladığı için 519, Granülizin olarak yeniden adlandırılmıştır (Kumar vd. 2001).

Granülizin, katelisin ve defensinler gibi epitel hücreler tarafından üretilmez, T hücreleri tarafından deriye getirilir (Jongstra vd. 1987). CTL'ler, tek bir transkriptten 15kDa ve 9 kDa'lık iki granülizin peptidi üretirler. 15 kDa peptidin hem amino hem de karboksi uçlarından işlenmesi sonucu granülizinin 9 kDa formu oluşturulur (Kumar vd. 2001). Granülizin, kısa ilmeklerle birbirine bağlanmış beş alfa (α) heliksten oluşmuş olup (Şekil 2.1) AMP'lere benzer şekilde pozitif yüklü (Şekil 2.3) ve hidrofobik bir yüzeyden oluşur (Izadpanah ve Gallo 2005).

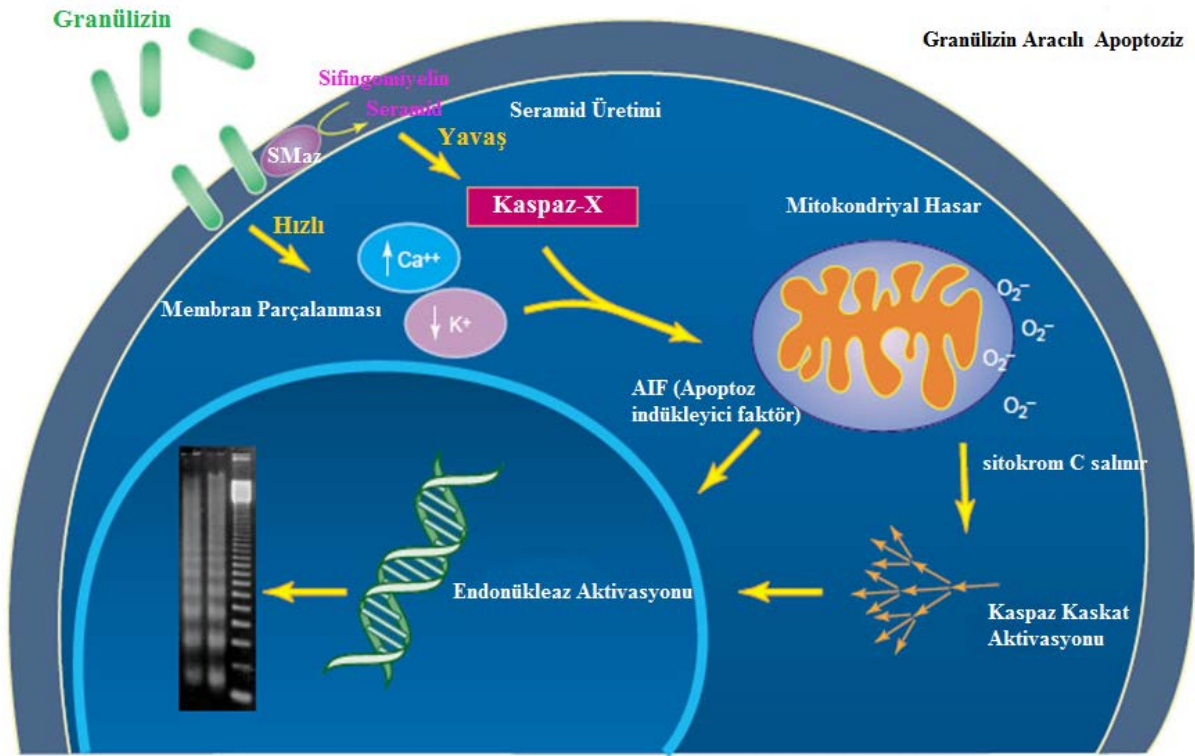


Şekil 2.3 Granülizinin yapısında yer alan pozitif ve negatif yükler. Pozitif yükler yeşil, negatif yükler pembe olarak renklendirilmiştir (Anderson vd. 2003).

Andreu ve ark. Granülizin 3. heliksinin antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu Wang ve ark. ise merkez bölgesindeki 2. ve 4. helikse (Şekil 2.1) karşılık gelen peptitlerin bakteri ve tümör hücrelerine karşı litik aktivite gösterdiği bildirmiştir (Krensky ve Clayberger 2005, Anderson vd. 2003).

Lipozomlarla yapılan araştırmalar, pozitif yüklü granülizinin negatif yüklü fosfolipidlere bağlandığını göstermiştir (Kaspar vd. 2001). Pozitif rezidüleri, granülizinin hedef mikrop veya tümör hücrelerinin negatif yüklü yüzeyine yönelmesini sağlar. Birden fazla granülizin molekülü, 1, 2 ve 3 numaralı helikal doğrultusunda yuvarlanarak zarın bütünlüğünü bozabilir (Şekil 2.2). Buda 'makaslama' hareketi ile granülizinin litik yüzeyini daha da ortaya çıkarmasına ve zara daha derinlemesine nüfuz ederek onu bükmesine veya yırtmasına izin verecektir (Krensky ve Clayberger 2005).

Granülizin ve bazı granülizin peptidleri hücre ölümünü indüklemesine rağmen bugüne kadar sitotoksisite için herhangi bir spesifik granülizin reseptörü tanımlanmamıştır (Krensky ve Clayberger 2005). Granülizin, yüke dayalı olarak hedef hücre yüzeyine bağlandıktan sonra hücre yüzeyinde kanal oluşumunu sağlar. Bunun sonucunda hücre içine kalsiyum akışı ve hücre içi depolardan kalsiyum salınması artarken, sitozolik potasyum seviyesi kalsiyuma bağımlı bir potasyum pompasının aktivasyonunun sonucu olarak azalır (Okada vd. 2003). Hücre içindeki kalsiyumda artış-potasyumda azalış ve granülizin varlığı (eğer ATP mevcutsa) mitokondriyal hasara yol açar. Mega kanallar açılır ve hem sitokrom c hem de apoptoz indükleyici faktör (AIF) salınır. Elektron taşınımı engellenir ve reaktif oksijen türleri artar. Sitokrom c salımı, AIF ile birlikte endonükleaz aktivasyonunu ve standart apoptozu tetikleyen bir kaspaz kaskadını başlatır (Şekil 2.4). Bu olaylar birkaç dakika içinde meydana gelirken aynı zamanda granülizin tarafından seramid üretimi için sfingomiyelinaz aktifleştirilerek yavaş bir şekilde sfingomiyelinden seramid üretimini artırılır. Böylece granülizin tarafından daha yavaş bir sitotoksisite yolu da indüklenmiş olur (Gamen vd. 1998).



Şekil 2.4 Granülizin hücre ölüm mekanizmasındaki rolü (Anderson vd. 2003).

Granülizin aynı zamanda lökosit alt grupları için bir kemoatraktan olup hem monositleri hem de dendritik hücreleri aktive edebilir ve proenflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu indükleyebilir (Krensky ve Clayberger 2009).

2.2.2 Granülizin'in Klinikteki Önemi

Granülizin, enfeksiyonlar, kanser, transplantasyon, cilt problemleri ve üreme komplikasyonları gibi sayısız hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca birçok çalışmada, bulaşıcı hastalıklara verilen konak yanıtında da granülizin önemi gösterilmiştir. 1998'de ilk kez 9 kDa rekombinant granülizin in vitro olarak uygulanmasıyla patojen bakteri, mantar ve parazitlerin geniş bir yelpazesini öldürdüğü saptanmıştır. Granülizin önemi ortaya çıkaracak en önemli çalışmalardan biri olarak granülizin doğrudan veya perforinle birlikte intraselüler *Mycobacterium tuberculosis*'i (*Mtb*) öldürmesi gösterilebilir (Stenger vd. 1998). Ayrıca *Mtb*'yi öldürme kapasitesine sahip CD4+ ve CD8+ T lenfositlerinin büyük miktarlarda granülizin içerdiği ve öldürmenin perforin veya Fas-Fas Ligand etkileşimine bağlı olmadığı gösterilmiştir. Böylece granülizin kendine özgü bir öldürme mekanizması kullandığı da kanıtlanmıştır.

Mycobacterium leprae'nin (cüzzama neden olan ajan) çalışmalarında ilk kez granülizin ifadesinin bulaşıcı bir hastalığın klinik durumu ile korele olduğunu gösterilmiştir. Kutanöz lepra lezyonlarında granülizin ifadesinin tüberküloz lezyonları ile karşılaştırıldığında altı kat daha fazla miktarda olduğu bulunmuştur (Ochoa vd. 2001).

Viral ajanlar tarafından enfekte hücelere karşı granülizin etkinliği araştırıldığında granülizin varicella-zoster replikasyonunu bloke ederek enfekte hücrelerin apoptozunu tetiklerken (Hata vd. 2001), Human Immunodeficiency Virus (HIV) replikasyonu üzerinde ise hiçbir etkisinin bulunmadığı saptanmıştır (Mackewicz vd. 2000).

Granülizin ifadesi çeşitli kanserler ile de ilişkilendirilmiştir. Tümörsüz hastalar kontrollere benzer düzeylerde granülizin eksprese ederken, kanser hastalarında granülizin düzeylerinde anlamlı bir azalma ($p < 0.005$) saptanmıştır. Fakat perforin seviyeleri tüm gruplarda benzer şekilde koreledir. Bu çalışma, dolaşımdaki NK hücrelerinde bozulmuş granülizin ekspresyonunun tümör progresyonuyla korele olduğunu göstermiştir (Kishi vd. 2002).

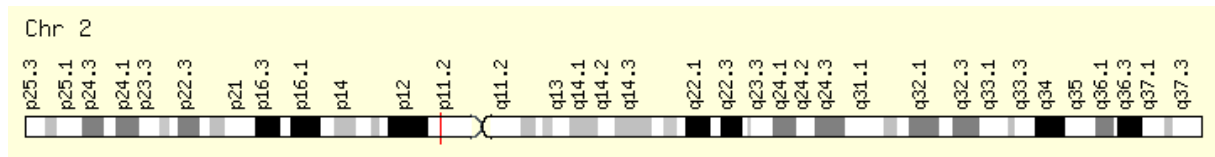
Granülizin ekspresyonunun akut rejeksiyon ve steroid direnci için bir biyobelirteç olduğu Sarwal vd. (2001) tarafından gösterilmiştir. Socal vd. (2000) akciğer, Sarwal vd. (2001) böbrek rejeksiyonunda granülizin ifadesinin artmış olduğunu göstermişlerdir. Kotsch vd.

(2004) idrar tortusundaki (urinary sediment) artmış granülizin mRNA ekspresyonunun hem erken hem de gecikmiş renal allograft ret için iyi bir biyobelirteç olduğunu bildirmişlerdir.

Granülizinin, folikülit, psöriazis, akne, liken planus ve viral veziküller dahil çeşitli cilt hastalıklarında önemli bir hasar aracısı olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (Oono vd.2004, Raychaudhuri vd 2004, McInturff vd. 2005, Ammar vd. 2008, Morizane vd. 2005). Chung vd. (2008) hem Stevens-Johnson sendromunda (SJS) hem de toksik epidermal nekrolizde (TEN) yayılmış keratinosit ölümünde granülizinin önemli bir aracı olduğunu göstermiştir.

2.2.3 GNLY Gen Polimorfizmleri

Tek Nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), bir baz çiftinin popülasyonun >% 1'inde yer değiştirmesi olarak tanımlanır ve en yaygın olarak genomun kodlanmayan bölgelerinde bulunur. Genom boyu bağlantı çalışmaları (GWAS); hastalıklı (hasta) bir grup ile sağlıklı (kontrol) bir grubun tüm allel frekenasları karşılaştırılarak klinik olarak tanımlanmış bir hastalıkla (fenotip) ilişkili DNA'daki SNP'leri belirlemeyi amaçlar. Uluslararası HapMap Projesi, GWAS tarafından değerlendirilebilecek ortak SNP'lerin çoğunu tanımlamıştır. Tüm bu çalışmalara göre kromozom 2 içinde *GNLY* geninde (Şekil 2.5) tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) rapor etmişlerdir. Elgarhy vd. (2015)'nin yaptığı bir çalışmada granülizin ifadesinin artması ile psöriazis şiddeti arasında pozitif bir korelasyon immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Fakat şu ana kadar *GNLY* gen polimorfizmleri ile psöriazis arasında herhangi bir çalışma yapılmamıştır.



Şekil 2.5 GNLY geninin kromozom üzerindeki yeri (Url-1).

GNLY ile ilişkilendirilen ve bu tez çalışmasında araştırılan rs7908 ve rs10180391 polimorfizmleri sırasıyla *GNLY*'de ekzon 6, 3'Untranslated Region (3'UTR) ve downstream 500'de bulunmaktadır. Kromozom 2:85.698.633 lokasyonundaki C bazının yerine G bazının geçmesi ile oluşan varyant *GNLY* rs7908 (C/G) polimorfizmi olarak tanımlanmıştır. *GNLY* rs7908 lösin yerine valin aminoasitinin geçtiği mutasyona neden olan yanlış anlamlı bir

varyanttır. Kromozom 2:85.699.222 lokasyonundaki C bazının yerine T bazının geçmesi ile oluşan varyant *GPLY* rs10180391 (C/T) polimorfizmi olarak tanımlanmıştır. Literatürde *GPLY* rs7908 ve rs1018091 polimorfizmleri ile hastalıklar arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışma mevcut değildir.

BÖLÜM 3

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 HASTA GRUBU

Çalışmamıza Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Deri ve Zührevi Hastalıklar Polikliniğine başvuran hastalardan psöriazis tanısı konulmuş 56 kadın ve 44 erkek, toplam 100 hasta dahil edildi. Hastalara, araştırmanın amacı ve içeriği ile ilgili bilgilendirme yapıp, onam formu okutulup imzalatıldı. Bu çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından (Proje numarası 2015-50737594-04) desteklenmiş olup çalışmamızın etik kurul onayı 28.05.2015 tarihinde 2015-24-26/05 numaralı etik kurul toplantısında (Ek A) alındı.

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların yaşı, cinsiyeti, tırnak tutulumu, hastalık başlangıç yaşı, psöriazis tipi ve ailede psöriazis hikayeleri kaydedildi. Hastalar aile öyküsüne (aile öyküsü bulunan ve bulunmayan), hastalık başlangıç yaşına (tip I \leq 40 yaş ve tip II $>$ 40 yaş), tırnak tutulumuna ve PsA varlığına göre gruplara ayrıldı.

3.2 KONTROL GRUBU

Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Deri ve Zührevi Hastalıklar Polikliniğine herhangi bir kronik, enflamatuvar ya da infeksiyöz hastalığı olmayan, rutin kontrolleri için başvuran 43 erkek ve 57 kadın toplam 100 sağlıklı kişi kontrol grubuna dahil edilmiştir.

Hastalar ve sağlıklı kontrollerin rutin kontrolleri sırasında verdikleri kandan 2 ml'si alınarak *GNLY* rs7908, rs10180391 gen polimorfizmleri çalışıldı. Çalışmalar Bülent Ecevit Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında yapıldı.

3.3 METOD

3.3.1 Kullanılan Araç ve Gereçler

3.3.1.1 Kullanılan Cihazlar

- Thermal Cycler (BIO-RAD T100™)
- Buzdolabı (Bosch)
- Santrifüj (Nüve NF 048)
- Vorteks (Nüve NM 110)
- Isı Bloğu (Inovia UHB-1)
- Etüv (Nüve EN 500)
- Mikropipet seti (Thermo Scientific- FinnpiPETte)
- Mikrodalga Fırın (Altus ALMD 17B)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Thermo Scientific EC 300XL)
- Elektroforez Tankı (JUNYI®)
- Jel Görüntüleme Sistemi (Völber Lourmat Bio-Print ST4)
- Derin Dondurucu (Bosch)
- Otoklav (Nüve)
- Hassas Terazı (Rad-Wag)

3.3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

- E.Z.N.A.® Blood DNA Mini Kit (Omega)
- % 99'luk Etil Alkol
- EDTA
- T1503 SIGMA Trizma® base
- Asetik Asit
- Ethidium Bromide
- Orange G (SNP Biyoteknoloji)
- Agarose (Biomax)
- PCR Buffer-(NH₄)₂SO₄ (Thermo Scientific)
- dNTP Mix (Fermantes)

- MgCl₂ (Thermo Scientific)
- Distile Su (Ezcacıbaşı)
- Taq DNA Polimeraz (Thermo Scientific)
- Primerler (Eurofins Genomics)
- BbvCI (New England Biolabs)
- AseI (Thermo Scientific)
- 100bp Marker (Thermo Scientific)

3.3.1.3 DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar

DNA izolasyonu için E.Z.N.A.[®] Blood DNA Mini Kit (Omega) kullanılmıştır. Kit içeriği çizelge 3.1’de verilmiştir. Kit içeriği kullanım klavuzunda verilen bilgiler doğrultusunda aşağıdaki şekilde kullanıma hazırlanmıştır.

HBC Buffer: 80 mL buffer üzerine 32 mL izopropanol eklenmiştir.

DNA Wash Buffer: 25 mL üzerine 100 mL % 100’lük etil alkol eklenmiştir.

Çizelge 3.1 E.Z.N.A.[®] Blood DNA mini kit (Omega) içeriği.

Kimyasal Adı	Miktarı
BL Buffer	60 mL
HBC Buffer	80 mL
DNA Wash Buffer	3x25 mL
Elution Buffer	160 mL
OB Protease Solution	6 mL

3.3.1.4 Elektroforez İçin Kullanılan Kimyasallar

TAE Tamponu (50X Stok Solüsyonu)

- 242 g Tris base
- 57.1 ml glacial acetic acid
- 37.2 g Na₂EDTA.2H₂O
- H₂O ile 1 litreye tamamla. pH 8.0 ile 8.5 arasında olmalı

Yürütme Tamponu

1litre 1X Tris-Asetik Asit-EDTA (TAE) için;

- 20 ml 50X Stok Solusyona 980 ml H₂O eklenir.

% 3 Agaroz Jel Çözeltisi

- 200 ml 1X TAE Buffer
- 6 g Agarose
- 12µl Ethidium Bromide

% 1.5 Agaroz Jel Çözeltisi

- 200 ml 1X TAE Buffer
- 3 g Agarose
- 12µl Ethidium Bromide

3.3.2 Periferik Kandan DNA Elde Edilmesi

3.3.2.1 Prensip

Hücreler tüm nüklezları inhibe eden bir koatropik tuz (guanidin HCL) varlığında proteinaz K ile kısa bir süre inkübe edillir. Bu inkübasyon sonucunda hücreler parçalanır. Açığa çıkan genomik DNA pürüfikasyon filtre tüpünde bulunan fiber glas yapıya seçici olarak bağlanır. Fiber glas yapıya bağlanan genomik DNA'yı kontamine edici hücresel elemanlardan arındırmak ve ortamdaki diğer moleküllerden ayrılması için yıkama ve satrifüj işlemleri uygulanır. Bu işlem özel bir inhibitör uzaklaştırıcı tampon ve yıkama tamponu ile gerçekleştirilir. Son olarak düşük yoğunluklu tuz elüsyonu ile fiber glasa bağlı genomik DNA bu yapılardan ayrıştırılır.

3.3.2.2 Protokol

Hasta ve kontrollerden tam kan tüpüne 2 ml kan alındı ve DNA, OMEGA E.Z.N.A® Blood DNA izolasyon kiti kullanılarak elde edildi. Kit içinde bulunan ve 1.5 ml hacme sahip tüplerin içine konan 250 µl kan üzerine; 250 µl Buffer BL, 5 µl RNase A ve 25 µl OB proteaz enzimi eklendi ve bu karışım 10 saniye vortekslendikten sonra önceden 65°C'ye ayarlanmış su

banyosunda 10 dakika inkübe edildi. Süre bitiminde su banyosundan alınan tüplerin üzerine 260 µl saf alkol eklendi ve HiBind® DNA spin kolona aktarıldı. Dakikada 10.000 devir hız ile 1 dakika santrifüj edildikten sonra, alttaki tüp atılarak yeni tüp kondu ve spin kolondaki içeriğin üzerine 500 µl HBC Buffer ilave edildi. Santrifüj aşaması tekrarlandıktan sonra 700 µl Wash Buffer eklendi ve 1 dakika santrifüj edildi. Wash Buffer ile yıkama aşaması tekrarlandıktan ve spinler yeni tüpe yerleştirildikten sonra önceden 65°C'ye ayarlanmış inkübatörde ısıtılmış 75 µl Elution Buffer eklendi. Dakikada 10.000 devir hız ile 1 dakika yapılan santrifüj sonrası tüpler değiştirilmeden yine 75 µl Elution Buffer eklendi ve son kez 10.000 devir/dak ile 1 dakika santrifüj edildi. Üstteki spin kolon atılarak alttaki tüpte bulunan DNA yeni tüpe aktarıldı ve bu aşamaların sonucunda yaklaşık 40-60 ng/µl konsantrasyonda 150 µl DNA elde edildi.

3.3.3 PCR İle İlgili Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

3.3.3.1 *GNLV* rs7908 (C/G) Gen Polimorfizmi

Kromozom 2: 85.698.633 lokasyonundaki C bazının yerine G bazının geçmesi ile oluşan *GNLV* rs7908 (C/G) polimorfizmi çalışıldı. Araştırılmakta olan gen bölgesi 5'- TGT TCA GTA GGG TCA GGT GG-3'(F) ve 5'-GAT TCT GGA TCG AGG AAG CG -3'(R) primer çiftleri kullanılarak amplifiye edildi (Url-3, Eurofins Genomics). Toplam 25 µL hacim içinde her primerden 1.5 pmol, 30 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3), 80 mmol/L KCl, 1.0 mmol/L MgCl₂, her bir dNTP'den 0.6 mmol/µL, 4 ünite Taq DNA polimeraz ve 3 µL DNA içeren PCR karışımı kullanıldı. "Biorad T100™ Thermal Cyclers" cihazı ile aşağıdaki çalışma protokolünde çalışıldı.

95°C 3 dakika.....1 Döngü.....(İlk Denatürasyon)
95°C 1 dakika.....}..... (Denatürasyon)
56°C 1.5 dakika.....}.....35 Döngü (Bağlanma)
72°C 1 dakika.....}.....(Uzama)
72°C 7 dakika.....}.....1 Döngü.....(Son uzama)

Amplifikasyon sonunda elde edilen ürünler % 1.5'lik agaroz jelde koşturularak bant boyları (225 bp) görüntülendi.

3.3.3.2 *GNLY* rs10180391 (C/T) Gen Polimorfizmi

Kromozom 2: 85.699.222 lokasyonundaki C bazının yerine T bazının geçmesi ile oluşan *GNLY* rs10180391 (C/T) polimorfizmi çalışıldı. Araştırılmakta olan gen bölgesi 5' - AAG CAA CAG AAG TCT CAG CC-3'(F) ve 5'-CTG CCA AGA GAG AAG CGA AC -3'(R) primer çiftleri kullanılarak amplifiye edildi edildi (Url-3, Eurofins Genomics). Toplam 25 µL hacim içinde her primerden 1.5 pmol, 30 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3), 80 mmol/L KCl, 1.0 mmol/L MgCl₂, her bir dNTP'den 0.6 mmol/µL, 4 ünite Taq DNA polimeraz ve 3 µL DNA'dan oluşan PCR karışımı kullanıldı, "Biorad T100™ Thermal Cycler" cihazı ile aşağıdaki çalışma protokolünde çalışıldı.

95°C 3 dakika.....	1 Döngü.....	(İlk Denatürasyon)	
95°C 1 dakika.....	}.....	(Denatürasyon)	
55°C 1.5 dakika.....		35 Döngü	(Bağlanma)
72°C 1 dakika.....		(Uzama)
72°C 7 dakika.....		1 Döngü.....	(Son uzama)

Amplifikasyon sonunda elde edilen ürünler % 1.5'lik agaroz jelde koşturularak bant boyları (209 bp) görüntülendi.

3.3.4 Jelin Hazırlanması ve Jel Elektrofrezde Görüntüleme

Bir litrelik cam şişe içine 242 g Tris base, 57.1 ml glacial acetic acid ve 37.2 g Na₂EDTA.2H₂O ölçülüp pH 8.0 ile 8.5 arasında olacak şekilde 1 litre 50X TAE tampon çözeltisi hazırlandı. 1X TAE hazırlamak için 1litrelik şişeye 20 ml 50X TAE üzerine 980 ml distile su eklendi.

Konsantrasyonu, PCR sonrası ürünler için %1.5'lik; enzim kesimi sonrası ürünler için %3'lük olacak şekilde tampon çözelti ve agaroz karıştırılarak mikrodalga fırında 80°C'de ısıtıldı. Karışım, 60°C'ye soğutulduktan sonra üzerine % 7'lik olacak şekilde etidyum bromid (Amresco, cat. no: 126K317) eklendi, jel kabına aktarılıp uygun taraklar yerleştirildikten sonra jelin oda ısısında donması sağlandı. Jel donduktan sonra taraklar çıkartıldı. İncelenecek örnekten 5 µL alındı ve daha önceden 5 kat distile su ile sulandırılarak 1X olarak hazırlanmış olan 5 µL jel yükleme solusyonu (DZJY001, lot: 0610J12) ile karıştırılarak her bir kuyucuğa

yüklendi. Jel tankında (JUNYI®) 120 mV güç kaynağı ile 40 dakika yürütülen örneklerin fotoğrafı, jel görüntüleme cihazı ile (Vision-Capt Software) alındı.

3.3.5 Değerlendirme

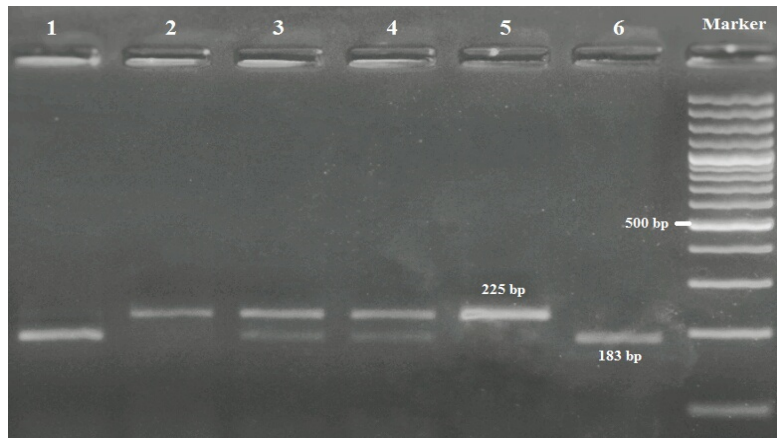
3.3.5.1 *GNLY* rs7908 (C/G) Gen Polimorfizmi

PCR sonrası elde edilen 225 bp uzunluğundaki amplifikasyon ürünü %1.5'lik agaroz jel elektroforezi ile görüntüledikten sonra 8 ünite BbvCI enzimi (Çizelge 3.2) ile kesilmesi için 16 saat 37°C'lik kuru etüvde inkübe edildi.

Çizelge 3.2 Enzimlerin çalışma koşulları.

Enzim	Kesim bölgesi	Çalışma sıcaklığı	İnkübasyon süresi
BbvCI	5'-CC [^] TCAGC-3' 3'-GGAGT [^] CG-5'	37°C	16 saat
AseI	5'-AT [^] TAAT-3' 3'-TAAT [^] TA-5'	37°C	16 saat

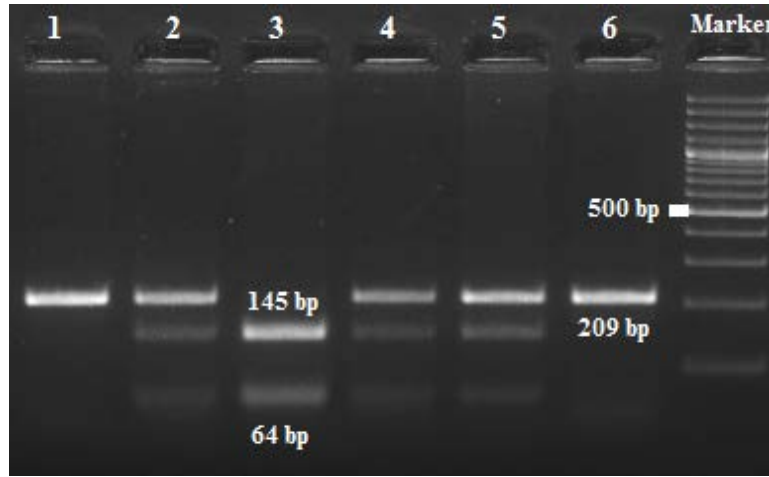
Enzim kesimi sonrası %3'lük agaroz jelde 120 mV güç ile yaklaşık bir saat yürütülerek; C aleli için 183 ve 42 bp, G aleli için 225 bp boylarında bantlar elde edildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 *GNLY* rs7908 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü. 100 bp'lık DNA belirtecinin yanındaki 3,4 nolu örnekler GC; 1,6 nolu örnekler CC ve 2,5 nolu örnekler GG genotipindedir.

3.3.5.2 *GNLY* rs10180391 (C/T) Gen Polimorfizmi

PCR sonrası elde edilen 209 bp uzunluğundaki amplifikasyon ürünü %1,5'lik agaroz jel elektroforezi ile görüntüledikten sonra 4 ünite *AseI* enzimi (Çizelge 3.2) ile kesilmesi için 16 saat 37°C'lik kuru etüvde inkübe edildi. Enzim kesimi sonrası %3'lük agaroz jelde 120 mV güç ile yaklaşık bir saat yürütülerek; C aleli için 209 bp, T aleli için 145 ve 64 bp boylarında bantlar elde edildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 *GNLY* rs10180391 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü. 100 bp'lık DNA belirtecinin yanındaki 2,4,5 nolu örnekler CT; 1,6 nolu örnekler CC ve 3 nolu örnek TT genotipindedir.

3.3.6 İstatiksel Değerlendirme

Çalışmanın analizinde SPSS 18.0 for Windows (Chicago, IL) paket programı kullanılmış olup çalışmamızda yer alan ölçüm değişkenleri ortalama ve standart sapma ile birlikte, kategorik değer alan değişkenler frekans ve yüzde ile gösterilmiştir. Gruplar arasında genotipler bakımından farklılık olup olmadığı ki-kare testi ile ölçüm değişkenlerinin parametrik test varsayımları Shapiro-Wilk testiyle analiz edilmiştir. İki grup arasında farklılık olup olmadığı, parametrik test varsayımlarını sağladığı durumlarda iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, parametrik test varsayımlarının sağlanmadığı durumlarda Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır. Genotipler arasında ölçüm değişkenleri bakımından farklılık olup olmadığı parametrik test varsayımlarının sağlandığı durumlarda tek yönlü varyans analizi (ANOVA), parametrik test varsayımlarının sağlanmadığı durumlarda Kruskal Wallis varyans analizi uygulanmıştır. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirilip ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1 SOSYODEMOGRAFIK VE KLİNİK BULGULAR

Çalışma, Bülent Ecevit Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Deri ve Zührevi Hastalıklar polikliniğinde psöriazis tanısı almış 56 kadın (% 56), 44 erkek (% 44), toplam 100 hasta ve çeşitli sebeplerle Deri ve Zührevi Hastalıkları Polikliniğine başvurmuş herhangi bir otoimmün ve otoinflamatuar hastalığı bulunmayan 57 kadın (% 57), 43 erkek (% 43) toplam 100 kontrol üzerinden yapıldı. Çalışmaya alınan tüm bireylerin yaşları 15-80 yaş arasında değişmekteydi. Hasta grubunun yaşları 20-80 arasında olup yaş ortalaması 41.31 ± 13.46 yıl olarak tespit edildi. Kontrol grubunun yaşları 15-80 arasında olup ortalama yaşı 41.26 ± 11.59 yıl olarak tespit edildi. Her iki gruba ait sosyodemografik özellikler çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Psöriazis hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımı.

	Kontrol n(%)	Hasta n(%)
Erkek	43 (% 43)	44 (% 44)
Kadın	57 (% 57)	56 (% 56)
Yaş	$39,49 \pm 12.06$	$41,31 \pm 13.46$

4.1.1 Psöriazis Hastalarının Klinik Özellikleri

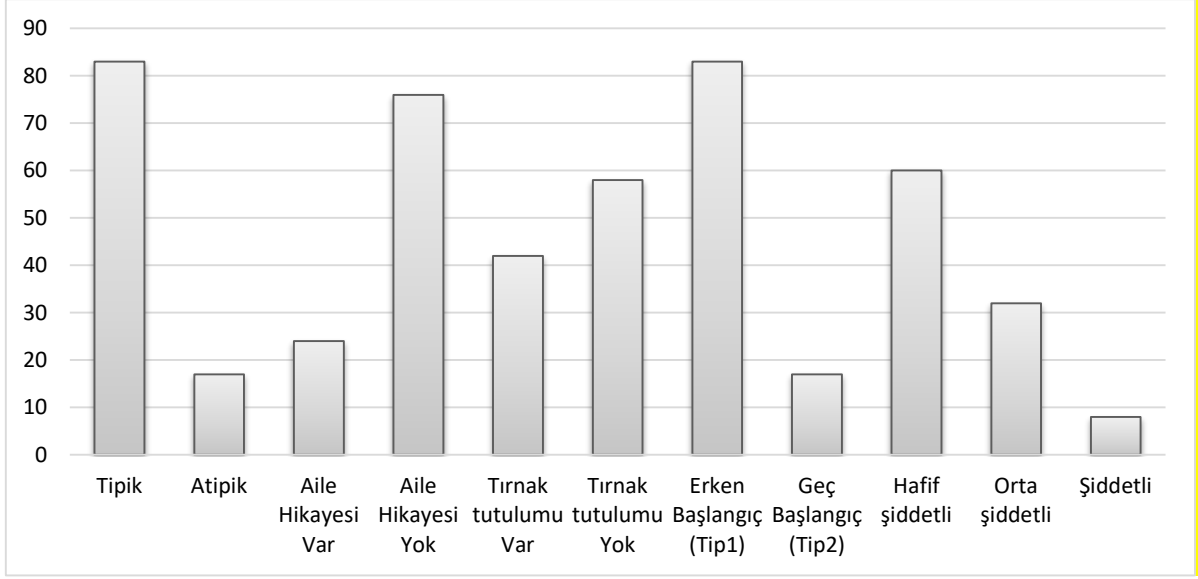
Hastalar psöriazisin klinik tipleri açısından değerlendirildiğinde 100 hastadan 60'ı plak tip psöriazis vulgaris (% 60), 13 tanesi guttat tip psöriazis (% 13), 13 tanesi artrit eşlik ettiği psöriazis (% 13), 3'ü püstüler psöriazis (% 3) ve bir tanesi eritrodermik psöriazis (% 1) olarak tespit edildi. Psöriaziste lezyonlar keskin sınırlı, eritemli, üzeri skuamlı ise tipik (plak+guttat), nadiren tedaviye dirençli ise atipik (Eritrodermik, Artropatik, Püstüler) olarak sınıflandırılmıştır (Özeren vd. 2004).

Çalışmaya dahil edilen hastalar tırnak tutulumu açısından incelendiğinde hastaların 42'sinde (% 42) tırnak tutulumu saptanırken, 58 (% 58) olgunun tırnakları normal olarak değerlendirildi. Hastalar, hastalık başlangıç yaşına göre; erken başlangıçlı psöriazis (40 yaş ve altı) ve geç başlangıçlı psöriazis (40 yaş üstü olarak) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Hastaların 83 tanesinin geç başlangıçlı, 17 tanesinin erken başlangıçlı psöriazisi olduğu belirlendi.

Çalışmaya alınan psöriazis hastalarının 24 tanesinde aile hikayesi varken 76 tanesinde ise aile hikayesi yoktu. Hastaların tanımlayıcı bilgileri çizelge 4.2 ve şekil 4.1' de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Psöriazis hastalarının klinik özellikleri.

Klinik Özellik	Sınıflandırma	n(%)
Psöriazis tipleri	Tipik (plak+guttat)	83(% 83)
	Atipik (Eritrodermik (n=1) +Artropatik (n=13)+Püstüler (n=3))	17(% 17)
Aile hikayesi	Var	24(% 24)
	Yok	76(% 76)
Tırnak tutulumu	Var	42 (% 42)
	Yok	58(% 58)
PASI skoruna göre psöriazis şiddeti	Hafif	60(% 60)
	Orta	32(% 32)
	Şiddetli	8(% 8)
Hastalık Başlangıç Yaşına Göre	Erken başlangıç (Tip 1 ≤40 yaş)	83 (% 83)
	Geç başlangıç (Tip 2 >40 yaş)	17 (% 17)



Şekil 4.1 Psöriazis hastalarının klinik özellikleri.

4.2 HASTA VE KONTROL GRUPLARININ *GPLY* GEN POLİMORFİZM FREKANSLARININ KARŞILAŞTIRMASI

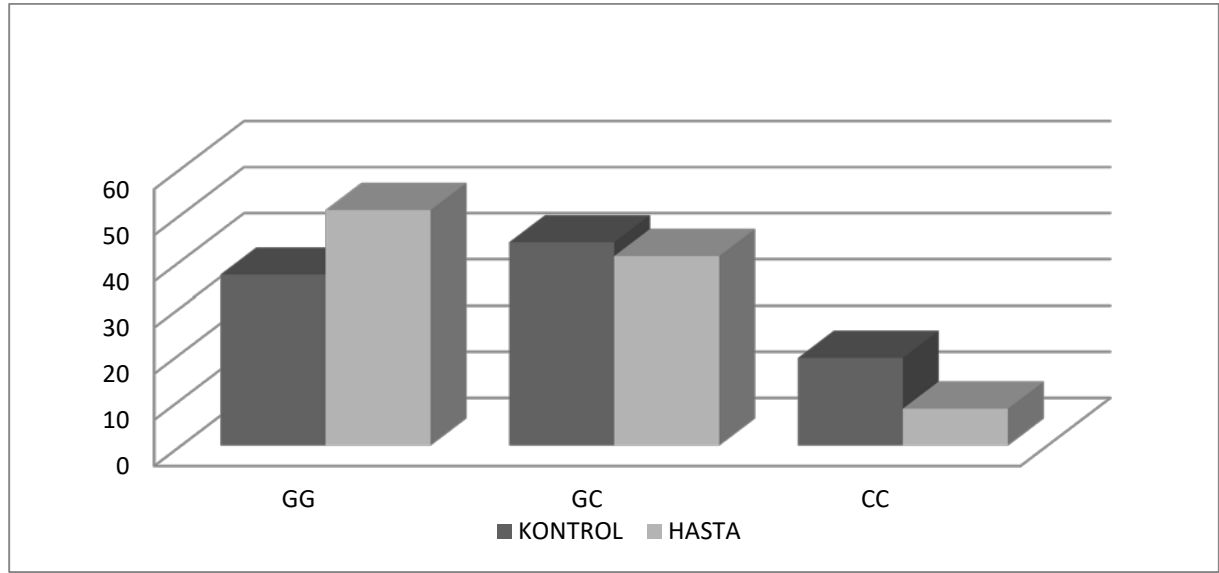
4.2.1 *GPLY* rs7908 (C/G) Gen Polimorfizmi

Psöriazis hastaları ve sağlıklı kontrol grubu *GPLY* rs7908 (C/G) gen polimorfizmi açısından incelendiğinde kontrol grubunun 19'unun (% 19) CC genotipinde, 44'sinin (% 44) GC genotipinde, 37'sinin (% 37) GG genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 8'inin (% 8) CC genotipinde, 41(% 41)'inin GC genotipinde, 51(% 51)'inin GG genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olup, CC genotipinin kontrol grubunda GG genotipine oranla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p=0.031$, $OR=0.305$ $CI=0.121 - 0.773$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.2).

GPLY rs7908 (C/G) gen polimorfizmi için kontrol ve hasta grupları alel frekansları açısından karşılaştırıldığında C alel frekansı kontrol grubunda % 41, hasta grubunda % 28.5 olarak bulundu. G alel frekansı ise kontrol grubunda % 59, hasta grubunda % 71,5 olarak bulundu. Alel frekansları açısından da kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu ($p=0.012$; $OR=0.574$; $CI=0.378-0.870$) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.3 Psöriazis hastalarında ve sağlıklı kontrollerde *GNLY rs7908* gen polimorfizm genotip frekansları.

SNP	Genotip	Sağlıklı kontroller n=100	Pöriazis hastaları n=100	P değeri	OR (95 % CI)
Rs7908 (<i>GNLY</i> C/G)	GG	37 (% 37)	51 (% 51)	0,031	Referans
	GC	44 (% 44)	41 (% 41)		0.676 (0.371 – 1.232)
	CC	19 (% 19)	8 (% 8)		0.305 (0.121 – 0.773)



Şekil 4.2 *GNLY* rs7908 gen polimorfizm genotip frekansları.

Çizelge 4.4 Psöriazis hastalarında ve sağlıklı kontrollerde *GNLY* rs7908 gen polimorfizminin allel dağılımı.

SNP	Alel	Sağlıklı Kontroller n=100	Psöriazis Hastaları n=100	P değeri	OR (% 95 CI)
rs 7908	G	% 59	% 71.5	0.012	0.574 (0.378-0.870)
	C	% 41	% 28.5		

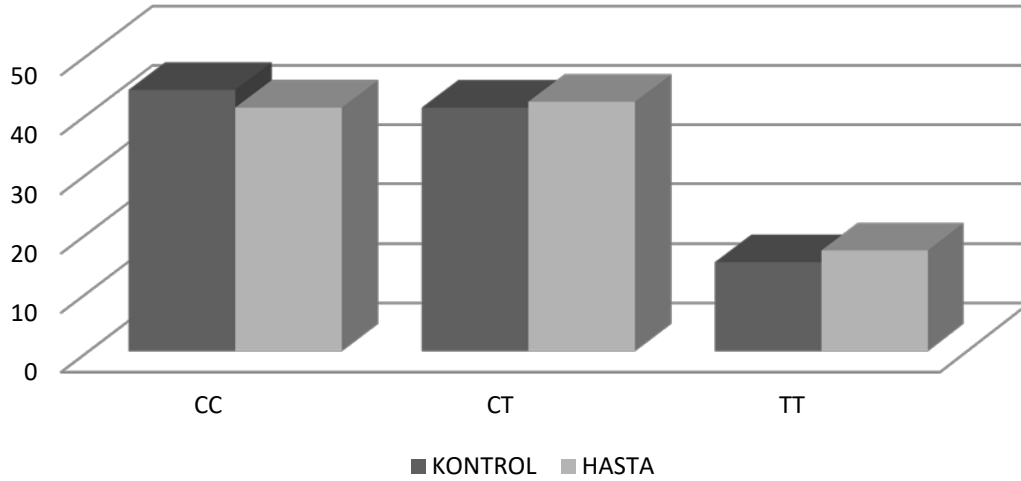
4.2.2 *GNL*Y rs10180391 (C/T) Gen Polimorfizmi

Psöriazis hastaları ve sağlıklı kontrol grubu *GNL*Y rs10180391 (C/T) gen polimorfizmi açısından incelendiğinde kontrolün 44'ü (% 44) CC genotipinde, 41'i (% 41) CT genotipinde, 15'i (% 15) TT genotipi olarak saptandı. Hasta grubunun ise 41'inin (% 41) CC genotipinde, 42'sinin (% 42) CT genotipinde, 17'sinin (% 17) TT genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0.886$, $OR=1.216$; $CI=0.539-2.746$) (Çizelge 4.5, Şekil 4.3).

*GNL*Y rs10180391 (C/T) gen polimorfizmi için kontrol ve hasta grupları allel frekansları açısından karşılaştırıldığında C allel frekansı kontrol grubunda % 64.5 hasta grubunda ise % 62 bulundu. T allel frekansı ise kontrol grubunda % 35.5 hasta grubunda ise % 38 olarak bulundu. Allel frekansları bakımından kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0.678$; $OR=1.114$; $CI=0.741 - 1.672$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.5 Psöriazis hastalarında ve sağlıklı kontrollerde *GNL*Y rs10180391 gen polimorfizm genotip frekansları.

SNP	Genotip	Sağlıklı Kontroller n=100	Pöriazis hastaları n=100	P değeri	OR (95 % CI)
Rs10180391 (<i>GNL</i> Y C/T)	CC	44(% 44)	41 (% 41)	0.886	Referans 1.099 (0.600 – 2.013) 1.216 (0.539 – 2.746)
	CT	41 (% 41)	42 (% 42)		
	TT	15 (% 15)	17 (% 17)		



Şekil 4.3 GNLV rs10180391 gen polimorfizm genotip frekansları.

Çizelge 4.6 Psöriazis hastalarında ve sağlıklı kontrollerde GNLV rs10180391 gen polimorfizminin allel dağılımı.

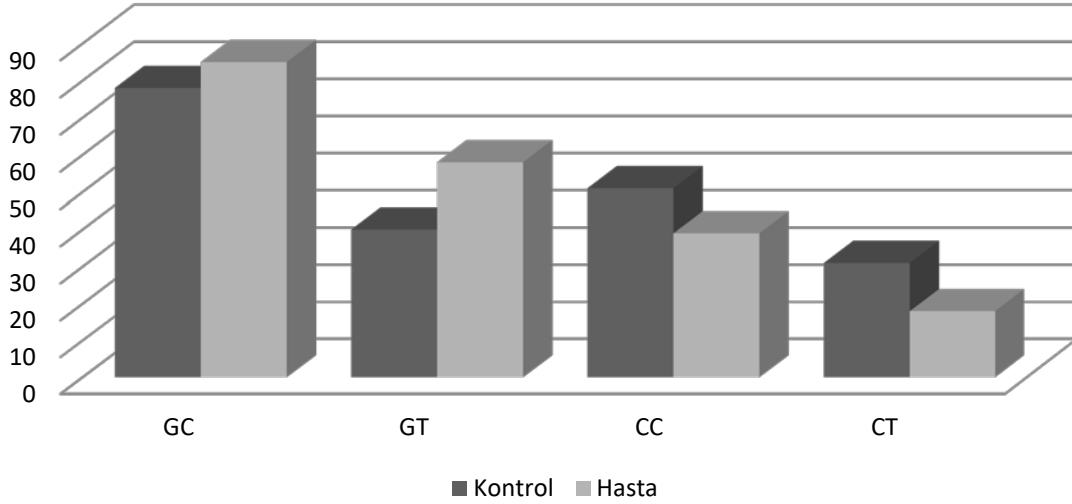
SNP	Alel	Sağlıklı Kontroller n=100	Psöriazis Hastaları n=100	P değeri	OR (% 95 CI)
rs 10180391	C	% 64.5	% 62	0.678	1.114 (0.741-1.672)
	T	% 35.5	% 38		

4.2.3 GNLV rs7908 (C/G) ve rs10180391 (C/T) Polimorfizmleri Haplotip Analizi

Çalışmamızda GNLV rs7908 (C/G) ve rs10180391 (C/T) gen polimorfizmleri ile haplotip açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.4).

Çizelge 4.7 Psöriazis hastalarında ve sağlıklı kontrollerde GNLV rs7908/GNLV rs 10180391 haplotip dağılımları.

Haplotip rs7908/ rs10180391	Sağlıklı Kontroller n=100	Psöriazis Hastaları n=100	P değeri	OR (% 95 CI)
GC	% 39	% 42.5	0.036	Referans
GT	% 20	% 29	0.269	1.331 (0.802-2.208)
CC	% 25.5	% 19.5	0.180	0.702 (0.418-1.178)
CT	% 15.5	% 9	0.060	0.533 (0.276-1.028)



Şekil 4.4 *GNLY* rs7908-rs10180391 gen polimorfizmlerinin haplotip dağılımı.

4.3 HASTA GRUBU KLİNİK ÖZELLİKLERİNİN, POLİMORFİZMLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI

4.3.4 Psöriazis Tipine Göre *GNLY* rs7908 (C/G) ve *GNLY* rs1018039 (C/T) Gen Polimorfizimlerinin Karşılaştırılması

Psöriazis tipi (tipik, atipik) ve sağlıklı kontrol grubu *GNLY* rs7908 (C/G) ve *GNLY* rs10180391(C/T) gen polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Psöriazis hastalarının % 15'i tipik, % 85'i atipik psöriazise sahiptir.

rs 7908 (C/G) polimorfizminde; atipik psöriazis hastaların 5'i (% 33.3) GG genotipine, 7'si (% 46.7) GC genotipine, 3'ü (% 20) CC genotipine sahipken; tipik psöriazis hastaların 46'sı (% 54.1) GG genotipine, 34'ü (% 40) GC genotipine, 5'i (% 5.9) CC genotipine sahiptir. rs10180391 (C/T) polimorfizminde; atipik psöriazis hastaların 7'si (% 46.7) CC genotipine, 6'sı (% 40) CT genotipine, 2'si (% 13.3) TT genotipine sahipken; tipik psöriazis hastaların 34'i (% 40) CC genotipine, 36'sı (% 42.4) CT genotipine, 15'i (% 17.6) TT genotipine sahiptir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 Psöriazis alt tiplerinde (Tipik/Atipik) *GNLy* rs7908 ve *GNLy* rs10180391 genotip frekansları.

SNP	Genotip	Psöriazis Alt Tipi	
		Tipik	Atipik
rs7908	GG	46 (% 54.1)	5 (% 33.3)
	GC	34 (% 40)	7 (% 46.7)
	CC	5 (% 5.9)	3 (% 20)
rs10180391	CC	34 (% 40)	7 (% 46.7)
	CT	36 (% 42.4)	6 (% 40)
	TT	15 (% 17.6)	2 (% 13.3)

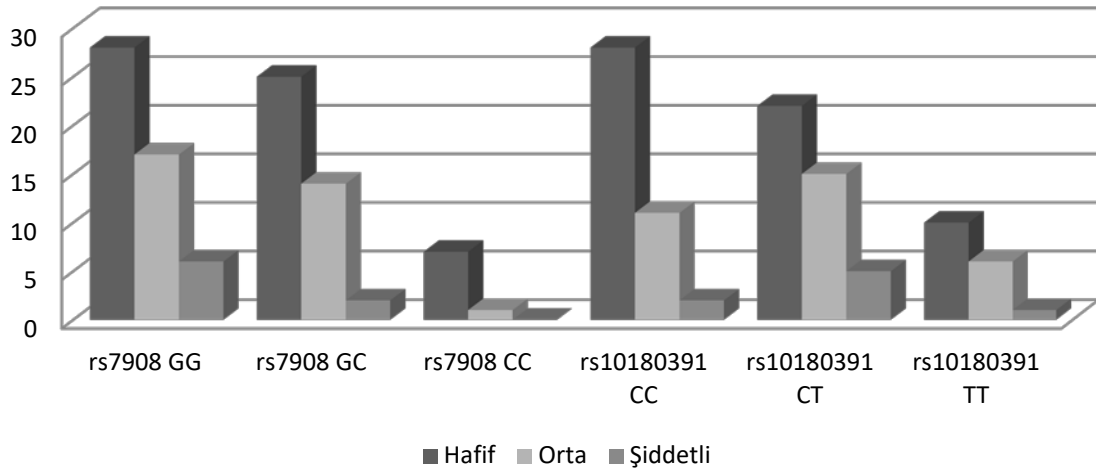
4.3.5 Psöriazis Şiddetine (PASI) Göre *GNLy* rs7908 (C/G) ve *GNLy* rs10180391 (C/T) Gen Polimorfizimlerinin Karşılaştırılması

GNLy rs10180391 (C/T) ve *GNLy* rs7908 (C/G) genotipleri ile psöriazis şiddeti (PASI) karşılaştırıldığında; rs7908 GG genotipini taşıyanların 28'i (% 46.7) hafif, 17'si (% 53.1) orta, 6'sı (% 75) şiddetli, GC genotipini taşıyanların 25'i (% 41.7) hafif, 14'ü (% 43.8) orta, 2'si (% 25) şiddetli, CC genotipini taşıyanların 7'si (% 11.7) hafif, 1'i (% 3.1) orta şiddetli psöriazis hastası olup CC genotipine sahip şiddetli hasta saptanmamıştır (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.5). Genotip dağılımı açısından üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0.278$).

Rs10180391 CC genotipini taşıyanların 28'i (% 46.7) hafif, 11'i (% 33.4) orta, 2'si (% 25) şiddetli, CT genotipini taşıyanların 22'si (% 36.7) hafif, 15'i (% 46.9) orta, 5'i (% 62.5) şiddetli, TT genotipini taşıyanların 10'u (% 16.7) hafif, 6'sı (% 18.8) orta, 1 kişide şiddetli psöriazis hastası olup genotip dağılımı açısından üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0.583$).

Çizelge 4.9 Psöriazis şiddetine (PASI) göre *GNLY* rs7908 (C/G) ve *GNLY* rs10180391 (C/T) gen polimorfizmlerinin karşılaştırılması.

SNP	Genotip	Psöriazis Şiddeti (PASI)			P Değeri
		Hafif	Orta	Şiddetli	
rs7908	GG	28 (% 46.7)	17 (% 53.1)	6 (% 75)	0.278
	GC	25(% 41.7)	14 (% 43.8)	2 (% 25)	
	CC	7 (% 11.7)	1 (% 3.1)	0 (% 0)	
rs10180391	CC	28 (% 46.7)	11 (% 33.4)	2(% 25)	0.583
	CT	22 (% 36.7)	15(% 46.9)	5 (% 62.5)	
	TT	10/% 16.7)	6 (% 18.8)	1 (% 12.5)	



Şekil 4.5 Psöriazis şiddeti ile *GNLY* rs7908/rs10180391 gen polimorfizmleri arasındaki dağılım.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Psöriazis etyolojisi net olarak bilinmeyen keskin sınırlı, eritemli, sedefi beyaz skuamlarla karakterize bir dermatozdur (Neimann vd. 2006). Genetik faktörlerin hastalığın başlangıç yaşına, klinik belirtilerine, tipine ve şiddetine katkısı olduğu bilinmektedir. Genetik farklılıkların immün hücre ve keratinositleri aktive edecek uyarıyı vererek (*PSORS2*) ve/veya primer antijen sunumunu etkileyerek (HLA-Cw6 lokusuyla ilişkili *PSORS1*) hastalığın gelişimine yol açabileceği hipotezi ileri sürülmektedir (Gudjonsson ve ark 2004, Galadari vd. 2005).

Psöriazis son yıllarda ülseratif kolit, crohn hastalığı, romatoid artrit, ankilozan spondilit ve behçet hastalığının içinde yer aldığı Immun Mediated Inflammatory Disease grubunda sınıflandırılmaktadır (Davidovici vd. 2010). Son 25 yılda psöriazis patogenezi üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda hastalığın T-lenfosit aracılı bir hastalık olduğu görüşü ağırlık kazanmıştır (Saraç ve Kapıcıoğlu 2015). Psöriazis etiyopatogenezinde en çok kabul edilen mekanizma, bu süreçte sitokinlerle kemokinlerin asıl rol aldığı ve lenfosit aktivasyonunun anahtar basamak olduğu, devamında ise keratinosit hiperproliferasyonu ile inflamasyonun tetiklenmesidir (Gottlieb ve Bos 2002, Ferahbaş 2004).

Granülizin, sitotoksik T lenfositleri (CTL) ve doğal öldürücü hücrelerin (NK) granüllerinde bulunan pozitif yüklü sitolitik bir antikimikrobiyal peptid (AMP) çeşidi olup; ilk kez efektör T lenfositleri tarafından ifade edilen genlerin araştırılması sırasında tanımlanmıştır (Krensky ve Clayberger 2005, Jongstra vd. 1987). Granülizinin çeşitli enfeksiyonlar, kanser, transplantasyon, cilt problemleri ve üreme komplikasyonları başta olmak üzere çok sayıda hastalıkla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Krensky ve Clayberger 2009).

Yapılan bu tez çalışmasında otoinflamatuvar bir hastalık olan psöriazis ile GWAS çalışmalarıyla *GNLV* geninde tanımlanmış *GNLV* rs7908(G/C) ve *GNLV* rs10180391(C/T) gen polimorfizmleri arasındaki ilişki değerlendirildi. Literatürde psöriazis ile *GNLV* gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. *GNLV* gen polimorfizmlerinin rolü kronik karaciğer hastalığı ve HIV ile enfekte hasta gruplarında araştırılmıştır. (Park vd. 2012, Hou vd. 2015). Ayrıca çalışmamızda daha önce *GNLV* gen polimorfizm çalışmalarında kullanılan yöntemlerden farklı olarak Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem, diğer metodlara göre daha ucuz, nesnel, basit, hassas ve hızlı bir yaklaşım sunmaktadır (Bowles vd. 1993).

Çalışmamızda yer alan psöriazisli hasta ve kontrol grubu arasında yaş dağılımları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p=0.230$). Aykol vd. (2011) 640 psöriazisli vaka üzerinde yaptıkları araştırmada, hastalığın geniş bir yaş dağılım gösterdiğini (1-77 yaş) ve hastalık üzerinde birey yaşının bir faktör olarak etki etmediğini ileri sürmüştür. Çalışmamıza dahil edilen hasta ve kontrol grubu arasında da cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı tespit edilmiştir ($p=0.887$). Psöriazis her iki cinsiyette de eşit sıklıkla görülmekte ancak kadınlarda daha erken yaşlarda başlayabilmektedir (Barker 2001). Aykol vd.nin 2011 yılında psöriazisli bireyler üzerine yapmış oldukları çalışmada kadın/erkek oranı 1 olarak rapor edilmiştir, araştırmamızda da bu oran 1 olarak bulunmuştur (Aykol vd. 2011).

Granülizin; 2 numaralı kromozomun p11.2 lokasyonundaki *GNLV* geni tarafından kodlanır. *GNLV* geninin 6 ekson içerdiği tespit etmiştir. *GNLV* rs10180391 (C/T) gen polimorfizmi C bazının yerine T bazının geçmesi ile oluşan Downstream varyant 500 bölgesinde tanımlanmış olan bir SNP olup yabancı aleli sitozin (C) olarak bildirilmiştir. Çalışmamız sonucunda kontrol grubunun 44'ünün (% 44) CC genotipinde, 41'inin (% 41) CT genotipinde, 15'inin (% 15) TT genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 41'inin (% 41) CC genotipinde, 42'sinin (% 42) CT genotipinde, 17'inin (% 17) TT genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0.842$, OR=1.236; CI=0.592-2.580). Alel frekansları açısından da kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p=0.886$). Hou vd. 2015'te çalışmamızdan farklı olarak *GNLV* rs1866139 ve rs11127 gen polimorfizmleri ile HBV enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Sonuçlarımızla benzer şekilde yapılan bu araştırmada da *GNLV* rs1866139 ve *GNLV* rs11127 ile HBV enfeksiyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi

saptanamamıştır. Bu durum *GPLY* rs10180391 ve *GPLY* rs11127 polimorfizmlerinin protein aktivitesi ve/veya miktarında etkili olmamasından kaynaklanıyor olabilir.

GPLY rs 7908 genindeki C/G tek nükleotid polimorfizmi (SNP), kromozom 2:85.698.633 lokasyonundaki C bazının yerine G bazının geçmesi ile oluşan, 6. ekzonun 3'UTR bölgesinde tanımlanmış olan bir varyant olup yabancı aleli C olarak bildirilmiştir. *GPLY* rs7908'deki C→G tek nükleotid değişimi ile granülizinde Lösin→Valin aminoasit dönüşümü (Leu150Val) meydana gelmektedir. Literatürde rs7908 polimorfizmi ile ilişkilendirilmiş herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Çalışmamız sonucunda kontrol grubunun 19'unun (% 19) CC genotipinde, 44'sinin (% 44) GC genotipinde, 37'sinin (37%) GG genotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunun ise 8'inin (% 8) CC genotipinde, 41'inin (% 41) GC genotipinde, 51'inin (% 51) GG genotipinde olduğu saptandı. Genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış olup, CC genotipinin kontrol grubunda GG genotipine oranla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (p=0.031). *GPLY* rs7908 (C/G) gen polimorfizmi için kontrol ve hasta grupları alel frekansları açısından karşılaştırıldığında C allelinin psöriazis hastalığına karşı koruyucu etki oluşturduğu bulunmuştur (p: 0.012, O.R: 0.574 (0.378 - 0.870) Aynı zamanda PASI skoruna göre hasta grubu hafif, orta, yüksek olarak sınıflandırıldığında; iki polimorfizm açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Fakat *GPLY* rs7908 polimorfizmi için CC oranının GG ve GC ye göre hafif şiddetli hastalarda orta şiddetli ve şiddetli hastalara göre sayıca fazla olduğu tespit edilmiştir. Yani hastalık şiddetine bağlı olarak CC genotip frekansının da azaldığı görülmüştür. Ancak bu azalış vaka sayısının düşük olması nedeniyle istatistiksel anlam yakalayamamıştır.

GPLY gen polimorfizmleri için yapılan haplotip analizi sonucunda ise psöriazis hastaları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Fakat *GPLY* rs7908 C allelinin kontrol grubundaki frekansı hasta grubundaki frekansının yaklaşık 1.4 katıdır. Dolayısıyla C alleli psöriazis için koruyucu bir etki sağlıyor gibi görünmektedir. Buda psöriazisde *GPLY* rs7908 SNP'sindeki C allelinin koruyuculuğunu destekleyen bir veridir. *GPLY* geninden alternatif splicing mekanizması kullanılarak aynı hücrede 4 farklı protein varyantının sentezlendiği tespit edilmiştir. *GPLY* rs7908 (C/G) değişikliği 1-3. varyantta 3'UTR bölgesine denk geldiğinden protein dizisinde bir değişikliğe sebep olmamaktadır. 3' UTR bölgesi mRNA'nın stabilizasyonunu, çekirdek dışına çıkmasını, subselüler lokalizasyonunu etkileyerek gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel olarak düzenler (Mignone vd. 2002). Ayrıca 3'UTR bölgesindeki nükleotid değişimleri ciddi patolojilere

sebebiyet vermektedir (Conne vd. 2000). Bu sonuçlar ışığında *GNLY*'nin 6. ekzonu içeren ve 3'UTR bölgesinde yer alan rs7908 C allelinin granülizin protein miktarını ya da aktivitesini azaltarak psöriazise sebep olan karmaşık immün faktörlerin ortadan kalkmasına neden olduğu düşünülmektedir. Aktivite azalmasının nedeni olarak ise rs7908 SNP'sinin proteinde yapmış olduğu aminoasit değişikliği (Lösin→Valin) düşünülebilir. Lösin ve Valin aminoasitlerinin ikisinde nonpolar ve hidrofobik özelliktedir. Valin aminoasitinin yapısal olarak Lösin aminoasitinden farkı bir metilen(-CH₂) grubunu eksik taşımasıdır. Bu eksiklik molekül içi etkileşimleri değiştirerek granülizin aktivitesini düşürmüş olabilir. Bu hipotezin aydınlatılabilmesi için biyokimyasal çalışmalara ihtiyaç vardır.

Elgarhy vd. nin 2015'te yaptıkları çalışmada bulgularımızı destekler nitelikte olup psöriazis lezyonlarında granülizin ekspresyonunun artmış olduğu immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Benzer şekilde Raychaudhuri vd. de (2004) psöriazis plaklarındaki lezyonel T hücreleri ve dermal dendrositlerde granülizin seviyelerinin arttığını ifade etmişlerdir. Bunun yanısıra Elgarhy vd. (2015)'nin yaptığı çalışmada granülizin ifadesinin artması ile psöriazis şiddeti arasında pozitif bir korelasyon olduğu da belirlenmiştir. Ayrıca Marijana vd. nin 2015'te yapmış oldukları çalışmada da psöriazisli hastaların epidermisinde sağlıklı olanlara oranla CD8+ T lenfositlerinin fazla miktarda bulunduğunu ve bunların sitozollerinde perforin, granzim B, granülizin gibi sitolitik moleküllerin fazla miktarda olması; bu maddelerin psöriazis patogenezinde rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu grubun hipotezine göre, Th ve Tc hücreleri tarafından salgılanan tip 1 ve tip 17 sitokinler, keratinositlerin çoğalmasını uyarırken, CD8+ T hücreleri keratinositlerin çoğalmasını kısıtlayıcı bir etki göstererek deri homeostazını koruyor olabilir. Klinik tablo ve lezyon oluşumu bu iki mekanizma arasındaki dengeye ve birinin predominasyonuna bağlıdır. CD8+ T hücre sitotoksitesi, sitozolünde bulunan granzim B, perforin ve granülizin içeriği ile doğrudan ilişkilidir. Jongh vd. 2005 yılında psöriatik keratinositlerde AMP'lerin aşırı ifadesi olduğunu keratinosit hiperproliferasyonu ve anormal farklılaşmasından bağımsız olarak bulmuştur. Ve AMP'lerin aşırı ifadesini doğal ya da adaptif immünitinin işareti olarak yorumlamışlardır.

Psöriazis patogenezinde rol oynayan interlökin (IL)-12, IL-23, IL-22, IL-17, IL-6, IFN- γ sitokinleri ve tip I interferonlar reseptörlerine bağlandığında, Janus kinaz (JAK)1 ve JAK2 proteinleri aktive olur. Bu aktivasyon psöriatik deri lezyonlarının oluşumuyla ilgili genlerin transkripsiyonuna yol açan sinyal yollarını aktiveleştirir (Papp vd. 2016). Kim vd. nin 2017 yılında yayınladıkları araştırmada psöriazis hastalarında *JAK2* rs784919 genindeki T allelinin

hastalık riskini 0.77 kat azalttığını yani T varyant allelinin bizim çalışmamızdaki C varyant alleli gibi koruyucu bir etki sağladığı gösterilmiştir. IL-17 proinflamatuvar sitokinlerin, antimikrobiyal peptidlerin ve kemokinlerin salınmasından sorumludur (Lowes vd. 2008, Ouyang 2010). Özer vd. nin psöriazis ile *IL-17F* His161Arg polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmak için yaptıkları çalışmanın sonuçları da bulgularımızı destekler nitelikte olup, C allelinin koruyucu bir faktör olduğu gösterilmiştir (Özer vd. 2014).

Paukkonen vd. (1992) psöriatik plak oluşumunun CD8+ T hücrelerinin epidermise infiltrasyonu ile korele olduğunu göstermiştir (Paukkonen vd. 1992). Daha sonraki çalışmalarda kandaki yüksek CD8+ T hücre miktarının psöriazis şiddeti ile korele olduğu ve bu hücrelerin kanla lezyonlara aktif olarak geçtiği tespit edilmiştir (Sigmundsdóttir vd. 2001).

2012 yılında Kore’de Park vd. tarafından *GPLY* genindeki genetik varyasyonların konağın Hepatit B Virüs (HBV) enfeksiyonuna karşı yanıtını etkileyip etkilemediğini belirlemek amacı ile *GPLY* gen polimorfizmleri (5’UTR rs2886767 (C> T), intron rs1561285 (G> C) ve 4. ekzon rs11127 (T> C)) ile HBV kaynaklı kronik karaciğer hastalığı arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmada da genetik varyasyonların koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır (p<0.015). Park vd. çalışmanın sonuçlarını; HBV ile enfekte olmuş hücrelerin konak CD8+ T veya NK hücreleri aracılığıyla uzaklaştırılmasının, HBV temizlenmesinde *GPLY* genetik varyasyonunun önemli bir faktör olduğu şeklinde yorumlamıştır (Park vd. 2012).

Birçok çalışmada granülizin ile dermatoz arasındaki ilişki araştırılmıştır. Liken Planusda (LP) granülizinin normal deriye göre 100-200 kat daha fazla ifade edildiği Pivarcsi vd. (2004) tarafından gösterilirken hem Stevens-Johnson Sendromu (SJS) hem de Toksik Epidermal Nekrolizdeki (TEN) yaygın keratinosit ölümlerinde anahtar rol oynadığı da Braff vd. tarafından 2005 yılında belirlenmiştir. Granülizinin dendritik hücreler ve makrofajlar üzerinde kemoatraktan ve stimule edici etkileri olan bir alarmin gibi davranarak CTL proliferasyonunu arttırdığı Tewary vd. (2010) tarafından gösterilmiştir. Yapılan bu tez çalışmasından elde ettiğimiz veriler sonucunda da *GPLY* genindeki rs7908 C/G polimorfizminin granülizinin alarmin görevini azaltarak psöriazisin immünopatogenezindeki hücrelerin normal seyrinde işlevlerine devam etmelerini sağlamış olabileceği görüşü ileri sürülebilir.

Bu çalışmada *GPLY* rs7908 ve rs10180391 SNP’lerine bakılmış olup; rs7908 deki C allelinin psöriazis hastalığı için koruyucu özellikte olduğu ve hatta psöriazis şiddetiyle ters orantılı

olduğu saptanmıştır. Literatürde *GNLY* gen polimorfizmleri ve immün hastalıklar arasındaki etkileşimleri inceleyen çok az sayıda çalışma bulunması, psöriazis patogenezinin oldukça karmaşık olması nedeni ile granülizinin psöriazisteki etkisinin aydınlatılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Psöriazis prevalansı İngiltere’de % 1.5-1.6, Amerika Birleşik Devletleri’nde % 0.5-2.5 ve Çin’de % 0.2’dir (Griffiths ve Barker 2010, Kerkhof 2008, Gudjonsson vd. 2008, Kundakci vd. 2002). Hastalık prevalansının toplumlara göre değişiklik göstermesi nedeniyle araştırmamızın farklı etnik gruplar üzerinde de çalışılması psöriazisteki *GNLY* rolünün aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır.

Ayrıca immün sistem kaynaklı farklı hastalık patogeneplerinde klinik ve fonksiyonel olarak yapılacak çalışmalara da ihtiyaç olduğu görölmektedir.

BÖLÜM 6

SONUÇ VE ÖNERİLER

Psöriazisin dünya nüfusunun yaklaşık % 1-3'ünde ve her yaşta görülmesi, toplum sağlığı içindeki önemini giderek arttırmaktadır. Günlük aktivitelere engel oluşturan fiziksel harabiyet yanında, utanç, endişe, suçluluk, sosyal geri çekilme, toplumdan dışlanma, iş bulmada zorluk, cinsel sorunlar, depresyon ve hatta intihar eğilimi gibi psikososyal hayatı olumsuz yönde etkileyen bir çok duygu ve duruma yol açabilir. Bu nedenle, etkilenen bireylerin yaşam kalitesini en az kalp hastalığı, diabetes mellitus, kanser ve depresyon gibi hastalıklar kadar düşürebilmektedir. Öngörülemez remisyon ve alevlenmelerle giden kronik bir seyir göstermesi, hastaların yaşamları boyunca sürecek olan bir tedavi ve takip sürecine alınmasını gerektirmektedir. Psöriazisin oluşumundaki temel patoloji keratinositlerin hiperproliferasyonu ve inflamasyondur. Normalde 26-28 gün olan epidermal yenilenme süreci kısalmıştır. İmmün sistem hücreleri olan T lenfositler ve keratinositler arasındaki etkileşim psöriazis patogenezinde rol oynamaktadır. Psöriazisli dokuda T-lenfosit sayısı ve aktivasyonu artmıştır. T lenfositlerin fazla çoğalması sonucunda çeşitli inflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin ve büyüme faktörlerinin aşırı salınımı gerçekleşmektedir. T lenfositleri granüllerinde granzim, perforin, granülizin gibi litik peptidler barındırır. Bu peptidleri kodlayan genlerdeki değişiklikler psöriaziside etkileyecektir.

Çalışmamızda psöriazis ile *GPLY* rs7908 (C/G) ve *GPLY* rs10180391 (C/T) gen polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılmış olup elde edilen sonuçlar aşağıda sıralanmıştır:

1. *GPLY* rs10180391 (C/T) gen polimorfizmi için genotip ($p=0.886$) ve alel frekansları ($p=0.678$) açısından psöriazis hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.
2. *GPLY* rs7908 (C/G) gen polimorfizmi; genotip ($p=0.031$) ve alel frekansları ($p=0.012$) açısından psöriazis hastaları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında CC genotipi kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup koruyucu olduğu saptanmıştır

(OR=0.305 CI=0.121 – 0.773). C allelinin de benzer şekilde koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (OR=0.574 CI=0.378 – 0.870).

3. *GPLY* rs10180391 (C/T) ve *GPLY* rs7908 (C/G) genotipleri ile psöriazis şiddeti (PASI) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ancak CC genotipini bulunduran hastaların % 11.7'i hafif, % 3.1'i orta, % 0'ı şiddetli grubundadır. Yani CC genotipinin hastalığın şiddeti ile ters orantılı olduğu görülmektedir.
4. *GPLY* geninden alternatif splicing mekanizması kullanılarak aynı hücrede 4 farklı protein varyantının sentezlendiği tespit edilmiştir. *GPLY* rs7908 (C/G) değişikliği 1-3. varyantta 3'UTR bölgesine denk geldiğinden protein dizisinde bir değişikliğe sebep olmamaktadır. 3' UTR bölgesi mRNA'nın stabilizasyonunu, çekirdek dışına çıkmasını, subselüler lokalizasyonunu etkileyerek gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel olarak düzenler (Mignone vd. 2002). Conne vd. e göre 3'UTR bölgesindeki nükleotid değişimleri ciddi patolojilere sebebiyet vermektedir (Conne vd. 2000). Bu bilgiler göz önünde bulundurulduğunda buradaki nükleotid değişikliğinin granülizin düzeyini düşürücü bir etki yaptığı düşünülmektedir. *GPLY* rs7908 (C/G) değişikliği 4. varyantda ise 6. ekzona denk gelerek gen ürünüde aminoasit değişikliğine yol açar. Bu değişim proteinin α -sarmalında Lösin→Valin dönüşümü olarak kendini gösterir. Lösin ve Valin aminoasitlerinin ikiside nonpolar ve hidrofobik özelliktedir. Valin aminoasitinin Lösin aminoasitinden farkı bir metilen (CH₂) grubunu eksik taşımasıdır. Bu eksiklik molekül içi etkileşimleri değiştirerek granülizin aktivitesini düşürmüş olabilir. Bu hipotezin aydınlatılabilmesi için biyokimyasal çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Yaptığımız bu çalışma sonucunda *GPLY* rs7908 C allelinin psöriazis için koruyucu etki gösterdiği ve hastalığın şiddetini düşürdüğü, rs10180391 SNP'sinin (*GPLY*'nin downstream 500) ise psöriazis patogenezinde etkin bir rolünün olmadığı tespit edilmiştir.

GPLY rs7908 ve *GPLY* rs10180391 gen polimorfizmlerinin psöriazis gelişim riski ve hastalık seyri üzerine olan etkilerinin tam olarak anlaşılabilmesi için çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yapılacak olan çalışmalar psöriazis hastalarında yeni tedavi ve ilaç metodları geliştirilmesi açısından önem taşıyacaktır.

KAYNAKLAR

- Ammar M, Mokni M, Boubaker S, El Gaid A, Ben Osman A and Louzir H** (2008) Involvement of granzyme B and granulysin in the cytotoxic response in lichen planus. *Journal of Cutaneous Pathology*, 35(7): 630-634.
- Azfar R S and Gelfand J M** (2008) Psoriasis and metabolic disease: epidemiology and pathophysiology. *Current Opinion in Rheumatology*, 20(4): 416.
- Bilen N** (2005) Non-püstüler psoriyazis. *Turkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences*, 1(13): 22-26.
- Bilgiç R** (2011) Psöriazis Hastalarında Serum Asimetrik Dimetilarjinin Düzeylerinin Değerlendirilmesi. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Dermatoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 67s.
- Bowles J and McManus D P** (1993) Rapid discrimination of Echinococcus species and strains using a polymerase chain reaction-based RFLP method. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 57(2): 231-239.
- Boyd A S and Menter A** (1989) Erythrodermic psoriasis: precipitating factors, course, and prognosis in 50 patients. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 21(5): 985-991.
- Boyd A S, Morris L F, Phillips C M and Menter M** (1996) Psoriasis and pregnancy: hormone and immune system interaction. *International Journal of Dermatology*, 35(3): 169-172.
- Braff M H, Di Nardo A and Gallo R L** (2005) Keratinocytes store the antimicrobial peptide cathelicidin in lamellar bodies. *Journal of Investigative Dermatology*, 124(2): 394-400.
- Brandrup F, Holm N, Grunnet N, Henningsen K and Hansen H E** (1981) Psoriasis in monozygotic twins: variations in expression in individuals with identical genetic constitution. *Acta dermato-venereologica*, 62(3): 229-236.
- Bremmer S, Van Voorhees A S, Hsu S, Korman N J, Lebwohl M G, Young M and Foundation N P** (2010) Obesity and psoriasis: from the Medical Board of the National Psoriasis Foundation. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 63(6): 1058-1069.
- Burns T (Ed.), Breathnach S (Ed.), Cox N (Ed.) and Griffiths E (Ed.)** (2004) *Rook's Textbook of Dermatology*. 8th ed, ISBN: 978-1-118-69775-7, Wiley-Blackwell, Oxford (e-book), 4432 pp.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Capon F, Munro M, Trembath R and Barker J** (2002) Searching for the major histocompatibility complex psoriasis susceptibility gene. *Journal of Investigative dermatology*, 118(5): 745-751.
- Catanoso M G, Boiardi L, Macchioni P, Garagnani P, Sazzini M, De Fanti S and Luiselli D** (2013) IL-23A, IL-23R, IL-17A and IL-17R polymorphisms in different psoriatic arthritis clinical manifestations in the northern Italian population. *Rheumatology international*, 33(5): 1165-1176.
- Chung W H, Hung S I, Yang J Y, Su S C, Huang S P, Wei C Y and Yang C H** (2008) Granulysin is a key mediator for disseminated keratinocyte death in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Nature Medicine*, 14(12): 1343-1350.
- Conne B, Stutz A and Vassalli J D** (2000) The 3 [variant prime] untranslated region of messenger RNA: A molecular 'hotspot' for pathology?. *Nature Medicine*, 6(6): 637.
- Davidovici B B, Sattar N, Jörg P C, Puig L, Emery P, Barker J N and Krueger J G** (2010) Psoriasis and systemic inflammatory diseases: potential mechanistic links between skin disease and co-morbid conditions. *Journal of Investigative Dermatology*, 130(7): 1785-1796.
- De Jongh G J, Zeeuwen P L, Kucharekova M, Pfundt R, van der Valk P G, Blokx W and Schalkwijk J** (2005) High expression levels of keratinocyte antimicrobial proteins in psoriasis compared with atopic dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*, 125(6): 1163-1173.
- Dhir V and Aggarwal A** (2013) Psoriatic arthritis: a critical review. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 44(2): 141-148.
- Dunna S F and Finlay A Y** (1989) Psoriasis: improvement during and worsening after pregnancy. *British Journal of Dermatology*, 120(4), 584-584.
- Elder J T, Nair R P, Henseler T, Jenisch S, Stuart P, Chia N and Voorhees J J** (2001) The genetics of psoriasis 2001: the odyssey continues. *Archives of Dermatology*, 137(11): 1447-1454.
- Elgarhy L H, Shareef M M and Moustafa S M** (2015) Granulysin expression increases with increasing clinical severity of psoriasis. *Clinical and Experimental Dermatology*, 40(4): 361-366.
- Ferahbaş A** (2004) Psoriasis tedavisinde yeni biyolojik ajanlar. *TÜRKDERM* 38: 174-184,.
- Fry L and Baker B S** (2007) Triggering psoriasis: the role of infections and medications. *Clinics in Dermatology*, 25(6): 606-615.
- Fortes C, Mastroeni S, Leffondré K, Sampogna F, Melchi F, Mazzotti E and Abeni D** (2005) Relationship between smoking and the clinical severity of psoriasis. *Archives of Dermatology*, 141(12): 1580-1584.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Fortune D G, Richards H L, Griffiths C E and Main C J** (2002) Psychological stress, distress and disability in patients with psoriasis: consensus and variation in the contribution of illness perceptions, coping and alexithymia. *British Journal of Clinical Psychology*, 41(2): 157-174.
- Gottlieb A B and Bos J D** (2002) Recombinantly engineered human proteins: transforming the treatment of psoriasis. *Clinical Immunology*, 105(2): 105-116.
- Griffiths C E and Barker J N W N. Psoriasis. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. eds** (2010) *Rook's Textbook of Dermatology*. (8th ed), Wiley-Blackwell, Oxford, 20(1): 20.54.
- Griffiths C E and Barker J N** (2007) Pathogenesis and clinical features of psoriasis. *The Lancet*, 370(9583): 263-271.
- Gudjonsson J E, Elder J T Psoriasis. In: Wolff K, Goldsmith L A, Katz S I, Gilchrest B A, Paller A M, Leffell D J** (2008) *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. (7th ed), McGraw-Hill, New York, USA, 169-93.
- Gülekon A, Tüzün Y, Gürel M A, Serdaroğlu S, Oğuz O ve Aksungur V L** (2004) Psoriyazis ve benzeri dermatozlar. *Dermatoloji*, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 3.baskı, 745-64 s.
- Güneş A T ve Altın D** (2005) Psoriyazisin tarihçesi ve epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences*, 1(13): 1-4.
- Gürer M A ve Gökalp H** (2012) Psoriasis ve Obezite/Psoriasis and Obesity. *Turkderm*, 46(1), 3.
- Gupta A K, Langley R, Poulin Y, Lui H, Searles G, Carey W and Inniss K** (2004) Pathogenesis of psoriasis and current challenges. *Journal of Cutaneous Medicine & Surgery*, 8(1): 3-7.
- Hata A, Zerboni L, Sommer M, Kaspar A A, Clayberger C, Krensky A M and Arvin A M** (2001) Granulysin blocks replication of varicella-zoster virus and triggers apoptosis of infected cells. *Viral Immunology*, 14(2): 125-133.
- Henseler T and Christophers E** (1985) Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 13(3): 450-456.
- Higgins E** (2000) Alcohol, smoking and psoriasis. *Clin Exp Dermatol* 25(1):107-110
- Horrocks C, Duncan J I, Sewell H F, Ormerod A D and Thomson A W** (1990) Differential effects of cyclosporine A on Langerhans cells and regulatory T-cell populations in severe psoriasis: an immunohistochemical and flow cytometric analysis. *Journal of Autoimmunity*, 3(5): 559-570.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Hou S H, Hu J, Zhang Y, Li Q L and Guo J J** (2015) Effects of interaction between genetic variants in human leukocyte antigen DQ and granulysin genes in Chinese Han subjects infected with hepatitis B virus. *Microbiology and Immunology*, 59(4): 209-218.
- Houchins J P, Kricek F, Chujor C S, Heise C P, Yabe T, McSherry C and Bach F H** (1993) Genomic structure of NKG5, a human NK and T cell-specific activation gene. *Immunogenetics*, 37(2): 102-107.
- Iizuka H, Takahashi H and Ishida Yamamoto A** (2003) Pathophysiology of generalized pustular psoriasis. *Archives of Dermatological Research*, 295(1): 55-59.
- Izadpanah A and Gallo R L** (2005) Antimicrobial peptides. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 52(3): 381-390.
- Jankovic S, Rznatovic M, Marinkovic J, Jankovic J and Maksimovic N** (2009) Risk factors for psoriasis: a case-control study. *The Journal of Dermatology*, 36(6): 328-334.
- Jiaravuthisan M M, Sasseville D, Vender R B, Murphy F and Muhn C Y** (2007) Psoriasis of the nail: anatomy, pathology, clinical presentation, and a review of the literature on therapy. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 57(1): 1-27.
- Kim S Y, Hur M S, Choi B G, Kim M J, Lee Y W, Choe Y B and Ahn K J** (2017) A preliminary study of new single polymorphisms in the T helper type 17 pathway for psoriasis in the Korean population. *Clinical & Experimental Immunology*, 187(2): 251-258.
- Kormeili T, Lowe N J and Yamauchi P S** (2004) Psoriasis: immunopathogenesis and evolving immunomodulators and systemic therapies; US experiences. *British Journal of Dermatology*, 151(1): 3-15.
- Kotsch K, Mashreghi M F, Bold G, Tretow P, Beyer J, Matz M and Volk H D** (2004) Enhanced granulysin mRNA expression in urinary sediment in early and delayed acute renal allograft rejection. *Transplantation*, 77(12): 1866-1875.
- Krensky A M and Clayberger C** (2009) Biology and clinical relevance of granulysin. *Tissue antigens*, 73(3): 193-198.
- Krueger J G and Bowcock A** (2005) Psoriasis pathophysiology: current concepts of pathogenesis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 64(2): 30-36.
- Kundakci N, Türsen Ü, Babiker M O and Gürgey E** (2002) The evaluation of the sociodemographic and clinical features of Turkish psoriasis patients. *International Journal of Dermatology*, 41(4): 220-224.
- Lindgård B** (1986) Diseases associated with psoriasis in a general population of 159,200 middle-aged, urban, native Swedes. *Dermatology*, 172(6): 298-304.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Lomholt G** (1963) *Psoriasis: Prevalence, Spontaneous Course, and Genetics. A Census Study on the Prevalence of Skin Diseases on the Faroe Islands*. Copenhagen, GEC Gad, 31-3.
- McInturff J E, Wang S, Hertz C J, Anderson D and Kim J** (2004) Synthetic granulysin peptides demonstrate antimicrobial and anti-inflammatory activity against *Propionibacterium acnes*. In *Journal Of Investigative Dermatology* (Main St, Malden, Ma 02148 Usa: Blackwell Publishing Inc. Vol. 122, No. 3, pp. A120-A120). 350
- Meier M and Sheth P B** (2009) Clinical spectrum and severity of psoriasis. In *Management of psoriasis* 38(1): 1-20
- Mignone F, Gissi C, Liuni S and Pesole G** (2002) Untranslated regions of mRNAs. *Genome Biology*, 3(3): reviews0004-1.
- Morizane S, Suzuki D, Tsuji K, Oono T and Iwatsuki K** (2005) The role of CD4 and CD8 cytotoxic T lymphocytes in the formation of viral vesicles. *British Journal of Dermatology*, 153(5): 981-986.
- Nagasawa M, Ogawa K, Nagata K and Shimizu N** (2010) Serum granulysin as a possible biomarker of natural killer cell neoplasms. *British Journal of Haematology*, 148(5): 812-814.
- Naldi L and Gambini D** (2007) The clinical spectrum of psoriasis. *Clinics in Dermatology*, 25(6): 510-518.
- Neimann A L, Porter S B and Gelfand J M** (2006) The epidemiology of psoriasis. *Expert Review of Dermatology*, 1(1): 63-75.
- Ochoa M T, Stenger S, Sieling P A, Thoma-Uszynski S, Sabet S, Cho S and Rea T H** (2001) T-cell release of granulysin contributes to host defense in leprosy. *Nature Medicine*, 7(2): 174-179.
- Ong P Y, Ohtake T, Brandt C, Strickland I, Boguniewicz M, Ganz T, Leung D Y** (2002) Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *New England Journal of Medicine*, 347(15): 1151-1160.
- Oono T, Morizane S, Yamasaki O, Shirafuji Y, Huh W K, Akiyama H and Iwatsuki K** (2004) Involvement of granulysin-producing T cells in the development of superficial microbial folliculitis. *British Journal of Dermatology*, 150(5): 904-909.
- Ovigne J M, Baker B S, Davison S C, Powles A V and Fry L** (2002) Epidermal CD8+ T cells reactive with group A streptococcal antigens in chronic plaque psoriasis. *Experimental Dermatology*, 11(4): 357-364.
- Ortonne J P** (1999) Recent developments in the understanding of the pathogenesis of psoriasis. *British Journal Of Dermatology-Supplement*, 140 (1): 1-7.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Özeren M, Köşlü A ve Barutçuoğlu B** (2004) Psoriaziste Lezyonların Morfolojisi, Tutulum Bölgeleri ve Atipik Varyantların Sıklığı. *İstanbul Tıp Dergisi*, 3(1):16-19
- Özer N, Solak Tekin N, Karakaş Çelik S, Çakmak Genç G, Büyükuysal MÇ and Koca R A** (2014) *2nd International Molecular Immunology and Immunogenetics Congress (MIMIC II)*, 27-30 Nisan 2014, Antalya, Türkiye, Functionally Significant Polymorphism in IL-17 Gene is Associated with Psoriasis, 81-82.
- Papp K A, Menter M A, Raman M, Disch D, Schlichting D E, Gaich C and Janes J M** (2016) A randomized phase 2b trial of baricitinib, an oral Janus kinase (JAK) 1/JAK2 inhibitor, in patients with moderate-to-severe psoriasis. *British Journal of Dermatology*, 174(6): 1266-1276.
- Park G H, Kim K Y, Cheong J Y, Cho S W and Kwack K** (2012) Association of GNLY genetic polymorphisms with chronic liver disease in a Korean population. *DNA and Cell Biology*, 31(9): 1492-1498.
- Paukkonen K, Naukkarinen A and Horsmanheimo M** (1992) The development of manifest psoriatic lesions is linked with the invasion of CD8+ T cells and CD11c+ macrophages into the epidermis. *Archives of Dermatological Research*, 284(7): 375-379.
- Peña S V and Krensky A M** (1997) Granulysin, a new human cytolytic granule-associated protein with possible involvement in cell-mediated cytotoxicity. *In Seminars in Immunology*, 9(2): 117-125
- Petty A A, Balkrishnan, R, Rapp S R, Fleischer A B and Feldman S R** (2003) Patients with palmoplantar psoriasis have more physical disability and discomfort than patients with other forms of psoriasis: implications for clinical practice. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 49(2): 271-275.
- Pivarcsi A, Kemeny L and Dobozy A** (2004) Innate immune functions of the keratinocytes. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, 51(3): 303-310.
- Plewig G (Ed.), Wolff H H (Ed.) and Burgdorf W H (Ed.)** (2000) Erythematopapulosquamous diseases. *In Dermatology*. ISBN: 978-3-642-97933-0, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, 571-647
- Poikolainen K, Karvonen J and Pukkala E** (1999) Excess mortality related to alcohol and smoking among hospital-treated patients with psoriasis. *Archives of Dermatology*, 135(12): 1490-1493.
- Prinz J C** (2003) The role of T cells in psoriasis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 17(3): 257-270.
- Raychaudhuri S P, Jiang W Y, Raychaudhuri S K and Krensky A M** (2004) Lesional T cells and dermal dendrocytes in psoriasis plaque express increased levels of granulysin. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 51(6): 1006-1008.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Rutter K J, Watson R E, Cotterell L F, Brenn T, Griffiths C E and Rhodes L E** (2009) Severely photosensitive psoriasis: a phenotypically defined patient subset. *Journal of Investigative Dermatology*, 129(12): 2861-2867.
- Sabat R, Philipp S, Höflich C, Kreutzer S, Wallace E, Asadullah K and Wolk K** (2007) Immunopathogenesis of psoriasis. *Experimental Dermatology*, 16(10): 779-798.
- Sarwal M M, Jani A, Chang S, Huie P, Wang Z, Salvatierra O and Pavlakis M** (2001) Granulysin expression is a marker for acute rejection and steroid resistance in human renal transplantation. *Human Immunology*, 62(1): 21-31.
- Sigmundsdóttir H, Gudjonsson J E, Jonsdóttir I, Ludviksson B R and Valdimarsson H** (2001) The frequency of CLA+ CD8+ T cells in the blood of psoriasis patients correlates closely with the severity of their disease. *Clinical & Experimental Immunology*, 126(2): 365-369.
- Soccal P M, Doyle R L, Jani A, Chang S, Akindipe O A, Poirier C and Pavlakis M** (2000) Quantification of cytotoxic T-cell gene transcripts in human lung transplantation. *Transplantation*, 69(9): 1923-1927.
- Stenger S, Hanson D A, Teitelbaum R, Dewan P, Niazi K R, Froelich C J and Porcelli S A** (1998) An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science*, 282(5386): 121-125.
- Szczerkowska Dobosz A** (2004) Human leukocyte antigens as psoriasis inheritance and susceptibility markers. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 53(5): 428-433.
- Tewary P, Yang D, de la Rosa G, Li Y, Finn M W, Krensky A M and Oppenheim J J** (2010) Granulysin activates antigen-presenting cells through TLR4 and acts as an immune alarmin. *Blood*, 116(18): 3465-3474.
- Türsen Ü** (2010) Psoriasis etyolojisi. *Dermatoz*, 1(2): 91-108.
- Tüzün Y, Gürer M A and Serdaroglu S** (2008) Psoriasis ve benzeri dermatozlar, *Dermatoloji*. Aksungur V L (Ed.), Tüzün Y (Ed.), Gürer M A (Ed.), Serdaroglu S (Ed.), Oğuz O (Ed.), 3th edition, ISBN: 9789759567644, InTech, e-book, 197-220 *İstanbul: Nobel Tıp*, 745-756.
- URL-1** < Genecards Database: <http://www.genecards.org>>, Ziyaret tarihi: 02.05.2017
- URL-2** < Antimicrobial Peptides Database: <http://aps.unmc.edu/AP/main.php>>, Ziyaret tarihi: 02.03.2017
- URL-3** < Primer3 Input Database: <http://primer3.ut.ee/>>, Ziyaret tarihi: 03.10.2015
- Van de Kerkhof P C, Bologna J L, Jorizzo J L and Rapini RP** (2008) eds. *Dermatology*. Mosby, London, 6 (1):125-49.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

Veale D and FitzGerald O (2002) Psoriatic arthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 16(4): 523-535.

Victor F C, Gottlieb A B and Menter A (2003) Changing paradigms in dermatology: tumor necrosis factor alpha (TNF- α) blockade in psoriasis and psoriatic arthritis. *Clinics in Dermatology*, 21(5): 392-397.

Wolk K, Haugen H S, Xu W, Witte E, Waggie K, Anderson M and Johnson-Leger C (2009) IL-22 and IL-20 are key mediators of the epidermal alterations in psoriasis while IL-17 and IFN- γ are not. *Journal of Molecular Medicine*, 87(5): 523-536.

EK AÇIKLAMALAR

Ek A: Etik Kurul Karar Formu

B.E.Ü. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Psoriasisin Patogenezinde Granülizin'in Rolü
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2015-24-26/05

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Bülent Ecevit Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	B.E.Ü Tıp Fakültesi Dekanlığı, 67600 Kozlu-ZONGULDAK
	TELEFON	0 372 26132 60
	FAKS	0 372 261 02 65
	E-POSTA	etikskreteryaya@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji ve Genetik			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	B.E.Ü. Fen- Edebiyat Fakültesi			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ	Üniversite			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz : Yüksek Lisans Tezi					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	12.05.2015		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

Doç. Dr. Günnur ÖZBAKİŞ DENGİZ
B.E.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı
İmza:

B.E.Ü. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Psöriazisin Patogenezinde Grantülizin'in Rolü
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2015-24-26/05

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	Bilimsel Araştırma Projesi (BAP)-12.500 TL
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>	
	İLAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
DİĞER:	<input type="checkbox"/>		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 26/05/2015	Tarih: 2015/03	
	B.E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK'in sorumluluğunda yürütülecek olan ve yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

B.E.Ü. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ (Başkan)	Tıbbi Farmakoloji	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hilal AYOĞLU (Başkan Yrd.)	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ercan GENCER (Bildirimlerden sorumlu üye)	Fizyoloji	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Banu DOĞAN GÜN	Tıbbi Patoloji	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Görevli
Doç. Dr. Ali Uğur EMRE	Genel Cerrahi	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Görevli
Doç. Dr. Sadık TOPRAK	Adli Tıp	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mehmet ARASLI	İmmünoloji	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. İbrahim Etem PIŞKIN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzinli
Doç. Dr. Sibel KOÇAK	Endodonti	B.E.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ayşe Semra DEMİR AKCA	Aile Hekimliği	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Görevli
Yrd. Doç. Dr. Bilgehan AÇIKGÖZ	Halk Sağlığı	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Meltem KÜRTÜNCÜ	Çocuk Sağlığı ve Hemşireliği	B.E.Ü. Sağlık Yüksekokulu	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av. İbrahim Kerem ERTEM	Hukuk	Serbest	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Ecz. Mehmet Kıvanç ERDEM	Eczacı	Serbest	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğret. Aysel KESER	Biyoloji	Zonguldak Atatürk Anadolu Lisesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	

Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ
B.E.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı
İmza:

ÖZGEÇMİŞ

Esra ERMİŞ 01.06.1991 tarihinde Zonguldak'ın Devrek ilçesinde dünyaya geldi. İlk ve orta öğrenimini Pınarönü Köyü İlköğretim okulu ve Gazi İlköğretim okulunda, lise öğrenimini ise Devrek Anadolu Lisesinde başarıyla tamamladı. Lisans eğitimini 2010-2014 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünde alarak lisansüstü eğitimine Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında devam etmektedir.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres:Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi (Yeni Eğitim Bloğu), Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma Laboratuvarı.

İncivez/ ZONGULDAK

Tel: (+90) 372 291 11 00

E-posta: esraermiss@gmail.com