



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

İL-18 GENİ PROMOTÖR POLİMORFİZMLERİNİN
ALOPEŞİ AREATA İLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan

Sümeyya Deniz ÇELİK

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Doç. Dr. H. Ömer ATEŞ

TOKAT – 2015

IL-18 GENİ PROMOTÖR POLİMORFİZMLERİNİN ALOPESİ
AREATA İLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: 21/12/2015

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Başkan : Doç. Dr. H. Ömer ATEŞ

Üye : Doç. Dr. Akın YILMAZ

Üye : Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ

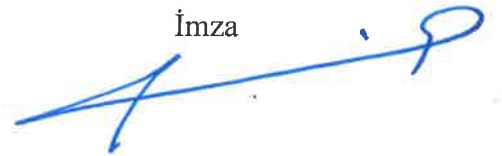




Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulunun 08/12/2015 tarih ve 27/01 sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. H. Ömer Ateş

Mühür
İmza



T.C.

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(21/12/2015)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Sümeyya Deniz ÇELİK

İmzası

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren, manevi desteğini her zaman hissettiğim ve bundan sonraki eğitim hayatım süresince de desteğine ihtiyaç duyacağım Anabilim Dalı Başkanımız ve danışman hocam Sayın **Doç. Dr. H. Ömer ATEŞ**' e,

Eğitimim süresince bilgilerinden her zaman faydalandığım Anabilim Dalı Hocalarımız, **Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU**, **Yrd. Doç. Dr. Serbülent YİĞİT** ve **Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ**' a,

Tezimin deney ve yazım aşaması süresince bilgi ve desteklerini esirgemeyen, her konuda sabır ve ilgi ile yaklaşan Anabilim Dalı Asistanlarımız, **Arş. Gör. Nihan BOZKURT**, **Arş. Gör. Saime SEZER** ve **Arş. Gör. Emel ENSARİ**' ye,

Eğitimim süresince beraber ders aldığım, güzel anılar paylaştığım ve manevi desteklerini hep hissettiğim sevgili arkadaşlarım **Gül DURSUN**, **Kübra ŞAHİN**, **Sema ATASEVER** ve **Çisem Nildem DOĞAN**' a

Hayatımın her anında bana en büyük sevgi ve hoşgörüyü veren, hayallerimin ardından gitmemde bana en büyük yardımı sağlayan, emeklerini ödeyemeyeceğim canım **Aileme**

Teşekkürlerimi sunarım...

Sümeyya Deniz ÇELİK

Tokat, Aralık 2015

ÖZET

IL-18 GENİ PROMOTÖR POLİMORFİZMLERİNİN ALOPESİ AREATA İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Alopesi areata (AA), T hücreleri tarafından kıl foliküllerinin hasar görmesiyle sonuçlanan yaygın olarak görülen otoimmün bir hastalıktır. AA'nın etiolojisi günümüzde hala tam olarak anlaşılmış değildir. Hastalığın gelişimini açıklayan şu anki en yaygın hipotez kıl folikülündeki immün ayrıcalığın bozulmasıdır. İnterlökin (IL)-18, IL-1 süper ailesine ait önemli bir proinflamatuvar sitokindir. IL-18 otoimmün, inflamatuvar ve enfeksiyon hastalıklarda anahtar bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada İnterferon-gamma (IFN- γ) uyarıcı bir faktör olan IL-18 geni -137G>C ve -607C>A polimorfizmlerinin hastalığa yakınlıkla ya da dirençle olan ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi- polimeraz zincir reaksiyonu (ARMS-PZR) metodu kullanılarak 200 AA hastasında ve 173 sağlıklı bireyde IL-18 gen polimorfizmlerinin sıklığı belirlenmiştir.

Çalışma sonuçları incelendiğinde IL-18 -137G>C ve -607C>A polimorfizmlerinin genotip dağılımları hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur (sırasıyla, $p=0.0046$ ve $p=0.000$). Sonuç olarak -137G>C polimorfizminde GG genotipi hastalığa yakınlığa katkıda bulunurken CC genotipi hastalığa olan dirençle ilişkili olabilir. -607C>A polimorfizminde CC genotipi hastalığa yakınlık oluştururken, AA genotipi Alopesi areata' ya karşı koruyucu bir faktör olabilir.

Anahtar Kelimeler: Alopesi areata, İnterlökin-18, Otoimmünite, Polimorfizm, Sitokin

ABSTRACT

INVESTIGATION THE ASSOCIATION OF IL-18 GENE PROMOTER POLYMORPHISMS WITH ALOPECIA AREATA

Alopecia areata (AA) is a common autoimmune disease resulting from damage of the hair follicle by T cells. Etiopathogenesis of AA is not still entirely understood in present. Currently, the most popular hypothesis to explain the development of AA revolves around a loss of immune privilege in hair follicles. Interleukin (IL)-18 is an important proinflammatory cytokine that belongs to the IL1 superfamily. IL-18 plays a key role in autoimmune, inflammatory and infectious disease. In this study we aimed to investigate the associated of -137G>C and -607C>A polymorphisms of IL-18 gene, as a factor stimulating interferon-gamma (IFN- γ), with disease susceptibility or resistance.

The frequency of IL-18 gene polymorphisms were determined using amplification refractory mutation system- polymerase chain reaction (ARMS- PCR) method in 200 AA patients and 173 healthy individuals.

The study results examined genotype distribution of IL-18 -137G > C and -607C >A polymorphisms was found to be significantly different between patients and controls groups (p=0.0046 and p=0.000, respectively). As a result, in -137G>C polymorphism, GG genotype may contribute susceptibility to disease, CC genotype may be associated with resistance to disease. In -607 C>A polymorphism, CC genotype may be associated with susceptibility to disease, while AA genotype may be a protective factor against Alopecia areata.

Key words: Alopecia areata, Autoimmunity, Cytokine, Interleukin- 18, Polymorphism

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ETİK SÖZLEŞME	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ	ix
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. KIL FOLİKÜLÜNÜN BİYOLOJİSİ	3
2.1.1.Kıl Siklusu	3
2.1.2.Kılın İmmünolojisi.....	4
2.2. ALOPESİ AREATA	5
2.2.1. Tarihçe	5
2.2.2. Epidemiyoloji.....	5
2.2.3. Etyopatogenez.....	6
2.2.3.1. Genetik Faktörler.....	7
2.2.3.2. Kıl Folikülü İmmün Ayrıcalığının Bozulması	9
2.2.3.3. Çevresel Faktörler.....	10
2.2.4. Histopatoloji.....	10
2.2.5. Klinik	11
2.2.6. Prognoz	11
2.2.7.Tedavi	12

2.3. SİTOKİNLER	13
2.4. İNTERLÖKİN 18 GENİ	15
3.GEREÇ ve YÖNTEM	20
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI	20
3.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN ALET ve CİHAZLAR	20
3.3. ÇÖZELTİLER	21
3.4.DNA İZOLASYONU	21
3.5. AMPLİFİKASYON REFRAKTER MUTASYON SİSTEMİ- POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU	23
3.6. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİ	26
3.7. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER.....	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	27
4.1. ARAŞTIRMA GRUBUNA AİT BULGULAR.....	28
4.2. DNA’NIN KALİTATİF TAYİNİ	28
4.3. ARMS-PZR ANALİZLERİ.....	29
4.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI	30
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	35
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	51

TABLOLAR LİSTESİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar	20
Tablo 3.2. DNA İzolasyonu Kit Protokolü	22
Tablo 3.3. IL-18 -137G>C ve -607C>A Bölgesinin Amplifikasyonunda Kullanılan Primerler ve ARMS-PZR Ürünlerinin Uzunlukları	23
Tablo 3.4. Çalışmada Kullanılan Bileşenler ve Miktarları	24
Tablo 3.5. IL-18 -607C>A Bölgesinin Amplifikasyonunda Kullanılan ARMS- PZR Programı	25
Tablo 3.6. IL-18 -137G>C Bölgesinin Amplifikasyonunda Kullanılan ARMS- PZR Programı	25
Tablo 3.7. IL-18 -607C>A Polimorfizminin Belirlenmesi İçin ARMS –PZR Yöntemi İle Çoğaltılan Bölge ve Primerlerin Gösterilmesi.....	26
Tablo 3.8. IL-18 -137 G>C Polimorfizminin Belirlenmesi İçin ARMS–PZR Yöntemi İle Çoğaltılan Bölge ve Primerlerin Gösterilmesi.....	26
Tablo 4.1. Tez Çalışmasında Yer Alan Hasta ve Kontrol Gruplarındaki Kişilerin Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı	28
Tablo 4.2. IL-18 -607C>A Polimorfizminin AA Hastalarında ve Kontrol Grupundaki Genotip Dağılımı ve Allel Sıklığı.....	32
Tablo 4.3. IL-18 -137G>C Polimorfizminin AA Hastalarında ve Kontrol Grupundaki Genotip Dağılımı ve Allel Sıklığı.....	34

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Kıl Folikülü Siklusunu	4
Şekil 2.2. Alopesi Areata 'ya Yatkınlık Oluşturan Genlerin Şematik Gösterimi.....	8
Şekil 2.3. Alopesi Areata'nın Patogenik Modeli	9
Şekil 2.4. Alopesi Areata Hastası	11
Şekil 2.5. Yardımcı T Hücre Yanıtının Düzenlenmesi.....	14
Şekil 2.6. IL-18 Geninin 11q23.1 de Lokalizasyonu	16
Şekil 2.7. IL-18 Sistemi	18
Şekil 2.8. IL-18 Geni Promotör Sekansı ve Tek Nükleotit Polimorfizmlerinin (-656, -607, -137, +113 ve +127 Nükleotidleri) Gösterilmesi.....	19
Şekil 4.1. Genomik DNA'nın agaroz jel görüntüsü	28
Şekil 4.2. IL-18 -137G>C Polimorfizmi İçin Elde Edilen ARMS-PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Görüntüsü.	29
Şekil 4.3. IL-18 -607C>A Polimorfizmi İçin Elde Edilen ARMS-PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Görüntüsü.....	29
Şekil 4.4. -607C>A Polimorfizminin Çalışma Grupları Arasındaki Genotip Dağılımının Grafiksel Gösterimi.....	31
Şekil 4.5. -607C>A Polimorfizminin Çalışma Grupları Arasındaki Allel Dağılımının Grafiksel Gösterimi.....	31
Şekil 4.6. -137G>C Polimorfizminin Çalışma Grupları Arasındaki Genotip Dağılımının Grafiksel Gösterimi.....	33
Şekil 4.7. -137G>C Polimorfizminin Çalışma Grupları Arasındaki Allel Dağılımının Grafiksel Gösterimi.....	33

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ**Simgeler**

°C: Santigrat Derece

bç: Baz Çifti

dk: Dakika

gr: Gram

HCl: Hidrojen Klorür

kb: Kilo Baz

kDa: Kilo Dalton

MgCl₂: Magnezyum Klorür

µl: Mikrolitre

ml: Mililitre

mg: Miligram

µg: Mikrogram

mM: Milimolar

NaOH: Sodyum Hidroksit

rpm: Dakikadaki Devir

sn: Saniye

U: Ünite

V: Volt

Kısaltmalar

AA: Alopesi Areata

ARMS: Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi

AT: Alopesi Totalis

AU: Alopesi Universalis

cAMP: Siklik Adenozin Monofosfat

CREB: cAMP Yanıt Elementine Bağlanan Protein

CSIF: Sitokin Sentezini İnhibe Edici Faktör

CTLA4: Sitotoksik T Lenfosit İlişkili Antijen 4

DNA: Deoksiribonükleik Asit

DPCP: Difenilsiklopropenon

EAE: Deneysel Otoimmün Ensefelomiyelit

EDTA: Etilendiamin Tetra Asetik Asit

ELAM: Endotelyal Lökosit Adhezyon Molekül

H4TF-1: Histon 4 Geni Transkripsiyon Faktörü

HLA: İnsan Lökosit Antijeni

ICAM: Hücreler Arası Adhezyon Molekülü

IFN- γ : İnterferon-gamma

IGIF: IFN- γ Uyarıcı Faktör

IgG: İmmüoglobulin G

IL: İnterlökin

IL-18BP: IL-18 Bağlayıcı Protein

IL-18R: IL-18 Reseptörü

IL-2RA: İnterlökin 2 Reseptör A

IRAK: IL-1R-İlişkili Kinaz

KG-1: İnsan Miyelomonosit Hücre Hattı

LPS: Lipopolisakkarit

MAPK: Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz

MHCI: Majör Histokompabilite Gen Kompleksi 1

MHCII: Majör Histokompabilite Gen Kompleksi 2

MIF: Makrofaj İnhibe Edici Faktör

MyD88: Myeloid Farklılaşma Faktörü

NF: Nükleer Faktör

NK: Doğal Öldürücü Hücreler

PI3K: Fosfatidilinozitol-3 Kinaz

Pro- IL-18: IL-18 İnaktif Öncül Proteini

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RA: Romatoid Artrit

SADBE: Skuarikasit Dibütilester

sIL-12R: Soluble IL-12 Reseptörü

SLE: Sistemik Lupus Eritematozus

SNP: Tek Nükleotit Polimorfizmi

TBE: Tris, Borik Asit, EDTA

TGF- β 1: Tümör Büyüme Faktör β 1

Th: Yardımcı T hücresi

TLR: Toll-like Reseptörleri

TNF α : Tümör Nekroz Faktör α

TRAF6: Tümör Nekrozis Faktör Reseptör-İlişkili Faktör 6

UV: Ultraviyole

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Alopesi areata, saçlı deri ve/veya vücutta, aktif büyüme fazındaki kıl foliküllerini hedef alan, çeşitli şekil ve büyüklükteki kıl dökülmesiyle karakterize edilen skarsız, inflamatuvar bir hastalıktır (Sundberg ve ark., 2007; Seok ve ark., 2014). Genel popülasyondaki prevalansı %1–2 arasında olup her yaşta ve cinsiyette görülebilmektedir (Gregoriou ve ark., 2010). Epidemiyolojik çalışmalarda yaşam boyu AA gelişimi riski 1.7 olarak gösterilmiştir (Wang ve McElwee, 2011). Hastalık yaşamın herhangi bir zamanında başlayabilmekle beraber, 20 ile 25 yaşları arasında daha sık görülmektedir (Alzolibani, 2011). AA, kıl kaybının lenfosit hücre aracılı inflamatuvar bir tipidir fakat patogenezi tam olarak anlaşılmış değildir (Alsantali, 2011). Son zamanlarda genetik yatkınlık ve çevresel tetikleyicilerle birlikte organa spesifik otoimmün bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Wasserman ve ark., 2007). Birçok çalışmada AA'nın poligenik bir hastalık olabileceği düşünülmüştür. Bazı genler hastalığa yatkınlıkla diğerleri ise hastalığın şiddetiyle ilişkilendirilmiştir. AA'da sitokinlerin önemli bir patogenik role sahip olduğu bilinmektedir (Madani ve Shapiro, 2000; Kim ve ark., 2008). IFN- γ , tümör nekrozis faktör α (TNF- α) ve interlökinler AA'nın patogenezinde yer almaktadırlar (Gregoriou ve ark., 2010).

İnterlökin 18, hem doğal hem de kazanılmış bağışıklığın düzenlenmesinde görevli olan pleiotropik bir sitokindir. İlk olarak T hücrelerinde IFN- γ uyarıcı bir faktör (IGIF) olarak tanımlanmıştır (Song ve ark., 2013). IL-18, T ve B hücrelerinden, monositlerden, makrofajlardan, dentritik hücrelerden ve epitel hücrelerden salgılanmaktadır. IL-18, yardımcı T hücresi (Th) 1'in farklılaşmasını ve immün yanıtın oluşturulmasını, aynı zamanda T hücreleri ve doğal öldürücü hücreler (=natural killer, NK) aracılığıyla Th1 sitokinlerinin uyarılmasını sağlamaktadır (Park ve ark., 2001). Otoimmün hastalıklarda IL-18, TNF- α , granülosit/makrofaj koloni uyarıcı faktör ve IFN- γ 'nın üretimini uyarırken NK ve T hücrelerinin sitotoksik etkisini artırmaktadır (Kim ve ark., 2014). IL-18 sahip olduğu bu rollerden dolayı otoimmün bir hastalık olan AA'nın oluşmasında ve ilerlemesinde önemli olabilir.

Sitokin üretiminin genetik olarak kontrol edildiği ve sitokin genlerinde bulunan polimorfizmlerin genin transkripsiyonel aktivitesini etkilediği bilinmektedir. Bu polimorfizmler sitokin üretiminde bireysel çeşitliliklere neden olabilmektedir (Kim ve ark., 2008). IL-18 geninin promotör bölgesinde -607. ve -137. pozisyonlarda bulunan SNP'lerin transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını etkilemekte ve IL-18 geninin transkripsiyonel aktivitesini değiştirmektedir. Bu yüzden IFN- γ uyarıcı bir faktör olan IL-18'in promotör bölgesinde bulunan -137G>C ve -607C>A polimorfizmleri hastalığa yatkınlıkla ya da dirençle ilişkili olabilir (Harishankar ve ark., 2007).

Otoimmün hastalıklarda sitokinlerin önemli rollerini göz önünde bulundurursak Türk toplumunda IL-18 -137G>C (rs187238) ve -607C>A (rs1946518) polimorfizimleri ile AA arasındaki bağlantının araştırılması önemli olacaktır. Bu çalışma; IL-18 polimorfizmlerinin Alopesi areata ile olası ilişkisinin toplumumuzda değerlendirilebilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. KIL FOLİKÜLÜNÜN BİYOLOJİSİ

Kıl hayati bir fonksiyonu bulunmamasına rağmen insan için fizyolojik öneme sahip bir yapıdır. Kıl oluşumunda birçok karmaşık hücrel ve moleküler bağlantıya ihtiyaç duyulmaktadır (Freedberg ve ark., 2003, s182). Kıl foliküllerinin dinamik yapısı, çok özel büyüme siklusu ve kompleks organizasyonu aynı zamanda onların hastalıklara yatkın olmasına da neden olmaktadır (Patzelt ve ark., 2008).

İnsanlarda kıl folikülü oluşumu embriyogenezde gerçekleşmektedir. Doğumdan sonra ise yeni kıl folikülü oluşumu görülmemektedir (Lu ve ark., 2006). İnsan fetüsünde ilk primordial kıl folikülleri embriyonik gelişimin yaklaşık olarak 9. haftasında oluşmaktadır. Bu foliküller ilk olarak kaş, üst dudak ve çene bölgesinde dağılım göstermektedir kalan diğer foliküler ise 4. ve 5. ayda gelişmektedir (Freedberg ve ark., 2003, s182).

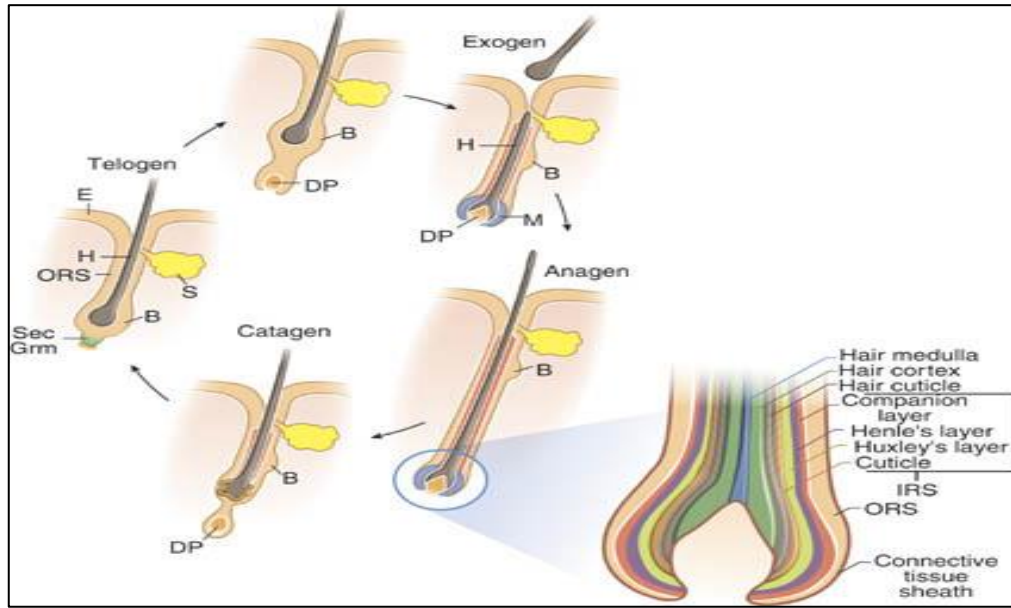
Kıl folikülleri yapısı ve uzunluğuna göre lanugo, vellüs ve terminal olmak üzere 3'e ayrılmaktadır. Lanugo kıllar uzun, yumuşak ve pigmentsizdir. Fetüsü örten bu kıllar doğumdan önce dökülmektedir. Vellüs kıllar ince, kısa ve zayıftır, vücutta lanugo kıllarının yerini alırlar. Terminal kıllar ise uzun, kalın ve pigmentlidir. Bu kıllar birincil olarak saçlı deride ve kaşa bulunmaktadır (Freedberg ve ark., 2003, s188).

2.1.1.Kıl Siklusu

Kıl siklusu birbirine bağlı dört ayrı fazdan oluşmaktadır, bu fazlar sırasıyla: aktif büyüme fazı (anagen), kısa geçici bir dönem olan gerileme fazı (katagen), duraklama (telogen) ve dökülme fazıdır (exogen). Anagen fazda epitelial kök hücrelerden folikül rejenerasyonu gerçekleşmektedir. Anagenin sonunda kıl folikülü katagen aşamaya geçer ve apoptozis karakterli morfolojik ve moleküler değişiklik gösterir. Telogen fazda yeni bir büyüme fazı meydana gelir ve siklus tekrarlanır. Exogen fazda ise yeni siklusun başlamasıyla kıllar dökülmeye başlamaktadır (Şekil 2.1.) (Lu ve ark., 2006).

Anagenin uzunluğu türe ve vücut bölgesine bağlı olarak değişmektedir. İnsan kıl folikülünde anagen uzunluğu saçlı deride en az 2–6 yıl, bacakta 19–26 hafta, kolda 6–12 hafta, bıyık bölgesinde 4–12 hafta arasındadır. İnsan saçlı derisinde anagen faz

genellikle çok uzun sürerken katagen aşaması yalnızca bir hafta telogen fazın süresi ise 1–3 ay arasında değişmektedir. Herhangi bir zamanda insan saçlı derisindeki kıl foliküllerinin yaklaşık olarak %85-90'ı anagen fazda, %13'ü telogen fazda %1'den daha azı katagen fazdadır. Yaşam süresince her bir kıl folikülünün 10–20 kez siklus geçirdiği düşünülmektedir (Freedberg ve ark., 2003, s184–185).



Şekil 2.1. Kıl Folikülü Siklus (Cotsarelis, 2006)

B, bulge; DP, dermal papilla; H, kıl; IRS, iç kök kılıfı; M, matriks; ORS, dış kök kılıfı; S, sebaceous bezi; Sec Grm, ikincil germ.

2.1.2. Kılın İmmünolojisi

Anagen fazdaki kıl folikülü, memeli vücudunda az sayıda bulunan immün ayrıcalıklı bölgelerden birisidir (Christoph ve ark., 2000). Anagen foliküllerin çok sayıda intrafoliküler langerhans hücrelerine, lenfositlere ve perifoliküler makrofajlara sahip olması, anagen fazın immün baskılayıcı aktivitesinin olduğunu düşündürmektedir (Freedberg ve ark., 2003, s184–185). İmmün ayrıcalıklı dokular, sitotoksik immün saldırıları baskılamak için otoantijenlerini ve hücrelerini özel bölgeler içinde tutmaktadır. Kıl folikülündeki immün ayrıcalık, majör histokompabilite gen kompleksi class I geni (MHC D)'in down-regüle edilmesiyle, langerhans hücre fonksiyonunun yetersizliğiyle ve folikül epitelyumunda potansiyel immün baskılayıcıların bölgesel olarak eksprese olmasıyla karakterize edilmektedir. MHC I ekspresyonunun olmaması

veya düşük olması immün ayrıcalıklı kıl folikülü otoantijenlerinin CD8 T lenfositlerince tanınmasını engellemektedir. MHC (-) hücreler ise NK hücreleri tarafından tanınarak elimine edilmektedir (Christoph ve ark., 2000; Ito ve ark., 2008). Bu yüzden sağlıklı kıl foliküllerinde NK hücrelerinin ve T hücrelerinin aktivasyonunu engelleyici moleküller salgılanmaktadır ve bu moleküller immün ayrıcalığın devam etmesine katkıda bulunmaktadır (Ito ve ark., 2008).

2.2. ALOPESİ AREATA

Alopesi areata, saçlı deri ve/veya vücutta kılın bulunduğu herhangi bir bölgede, genellikle yama şeklindeki kıl kayıplarının gelişmesiyle karakterize edilen bir hastalıktır (Agesta ve ark., 2002). Aynı zamanda, genetik yatkınlık ve çevresel tetikleyicilerle birlikte kıl foliküllerini hedef aldığı için organa spesifik otoimmün bir hastalık olarak da değerlendirilebilir (Messenger ve ark., 1997) .

AA'nın klinikte görülen formları arasından Alopesi totalis (AT), saçlı derideki kılların tamamının dökülmesiyle tanımlanırken, Alopesi universalis (AU), saçlı deri ve vücuttaki kılların tamamının dökülmesidir (Lu ve ark., 2006).

2.2.1. Tarihçe

Alopesi areata'nın ilk olarak milattan önce 1.500- 2.000 yılları arasında Ebers papirüslerinde tanımlandığı bilinmektedir. Alopesi (tilki hastalığı) terimini ilk olarak kullanan Hipokrat olmuştur. AA da saçlı deri yüzeyinden kopan saçların karakteristik özelliği olan ünlem işareti ilk olarak Unna tarafından tanımlanmıştır. 1863'te Duckworth, St. Bartholomews hastanesi dermatoloji bölümünde 31.000 hastayı incelemiş ve hastalık insidansının %2-2,5 arasında olduğunu bildirmiştir. 1950 yıllarında ise Anderson, AA insidansının %2 olduğunu rapor etmiştir. Hastalığın etiyolojisi hakkında pek çok hipotez öne sürülmüştür ve 20. yüzyılın başlarında otoimmün tiroid hastalıklarla ilişkili olabileceği önerilmiştir (Sehgal ve Jain, 2002).

2.2.2. Epidemiyoloji

Alopesi areata özellikle hastaların yaşam kalitesini etkileyen en yaygın görülen otoimmün deri hastalıklarından birisidir (Li ve ark ., 2015). Hemen hemen 50 bireyden (erkek, kadın ve çocuk) 1'i yaşamı boyunca AA'dan etkilenmektedir ve dünya

genelinde 100 milyon kişinin etkileneceği tahmin edilmektedir (Lu ve ark., 2006). Dermatologlar tarafından yaygın olarak karşılaşılan AA, dermatoloji kliniğe başvuran hastaların %0,7- 3,8 arasında görülmektedir (Alkhalifah ve ark., 2010). Dünya genelinde prevalansı yaklaşık olarak %0,1'dir fakat bazı etnik gruplarda prevalansı daha fazla olabilmektedir (Kore popülasyonunda %0,9- 6,9) (Hong ve ark., 2006). Yalnızca Amerika Birleşik Devletlerinde 14,5 milyon insan, yaklaşık olarak toplumun %2'si hastalıktan etkilenmektedir. Her cinsiyette, yaşta ve etnik grupta görülebilmektedir. Yaşamın herhangi bir zamanında başlayabilmekle beraber, 20 ile 25 yaşları arasında pik vermektedir. Hastaların yaklaşık % 60'ında 20 yaşından önce görülmektedir, vakaların %70'inde ise 10 ile 25 yaşları arasında meydana gelmektedir (Alzolibani, 2011). Hastalığın gelişimi, tiroid, vitiligo ve psoriasis gibi diğer inflamatuvar hastalıklarla ilişkili olabilmektedir (Wang ve ark., 2013). AA'lı hastalarda otoimmün tiroid hastalığı %8 - 28 arasındaki insidansla muhtemelen başta gelmektedir (Alkhalifah ve ark., 2010).

2.2.3. Etyopatogenez

AA'nın etiyojisi günümüzde tam olarak anlaşılmış değildir. Ancak son zamanlarda yapılan klinik ve deneysel çalışmalardan hastalığın patomekanizmasına ait yeni anahtar görüşler sağlanmış, bunun sonucunda AA'nın organa spesifik, T hücre aracılı otoimmün bir hastalık olduğu ileri sürülmüştür (Ito ve Tokura., 2014). Bodemer ve ark.'ları tarafından yapılan çalışmada AA'lı hastanın saçlı derisinden izole edilen T hücreleri kıl folikülü homojenatlarında kültüre edildikten sonra ciddi kombine immün yetmezliği (SCID) olan farelere enjekte edilmiş bunun sonucunda hem kıl kaybının hem de AA'nın klinik bulgularının indüklendiği görülmüştür. Bu çalışma AA' nın T hücre aracılı bir hastalık olduğunu gösteren en güçlü kanıtlardan birisidir (Bodemer ve ark., 2000).

AA'nın otoimmün bir hastalık olduğunu destekleyen çok sayıda dolaylı kanıt bulunmaktadır. Bunlardan birincisi, diğer otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalardır.

İkincisi, hastalığın aktif döneminde kıl bulbusunun çevresinde lenfotik infiltrasyon görülmesidir. Ayrıca langerhans hücrelerinin etrafında ve bazı kez distrofik kıl foliküllerinin içinde makrofajlar gibi antijen işleyici hücrelerin sayısında bir artış olduğu gösterilmiştir.

Üçüncüsü, hem deride hem de immün sistem organlarında proinflamatuvar değişiklikler meydana gelmektedir. Endotelyum kan damarlarında endotelyal lökosit adhezyon molekülü (ELAM) ve hücreler arası adhezyon molekülü (ICAM) ekspresyonunun up-regüle olması Alopesi'den etkilenmiş kıl folikülleriyle yakından ilişkilendirilmiştir. AA inflamasyonu süresince IL-2 ve IFN- γ gibi aktive olmuş sitokinlerin seviyesindeki değişiklikler de dikkat çekmektedir.

Dördüncüsü, hastalığın aktif döneminde kıl bulbusunda, langerhans hücrelerinin sayısında ve MHC I -II' nin ekspresyonunda artış gözlenmektedir.

Beşincisi, kıl foliküllerine özgü otoantikorlar üretildiği ve hastalıktan etkilenmiş bireyler sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında kıl foliküllerine özgü immünoglobulin G (IgG) otoantikorlarının yoğunluğunda artış olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda kıl foliküllerinin etrafında özellikle aktif lezyonların kenarında immünoglobulin ve komplement birikimi görülmektedir.

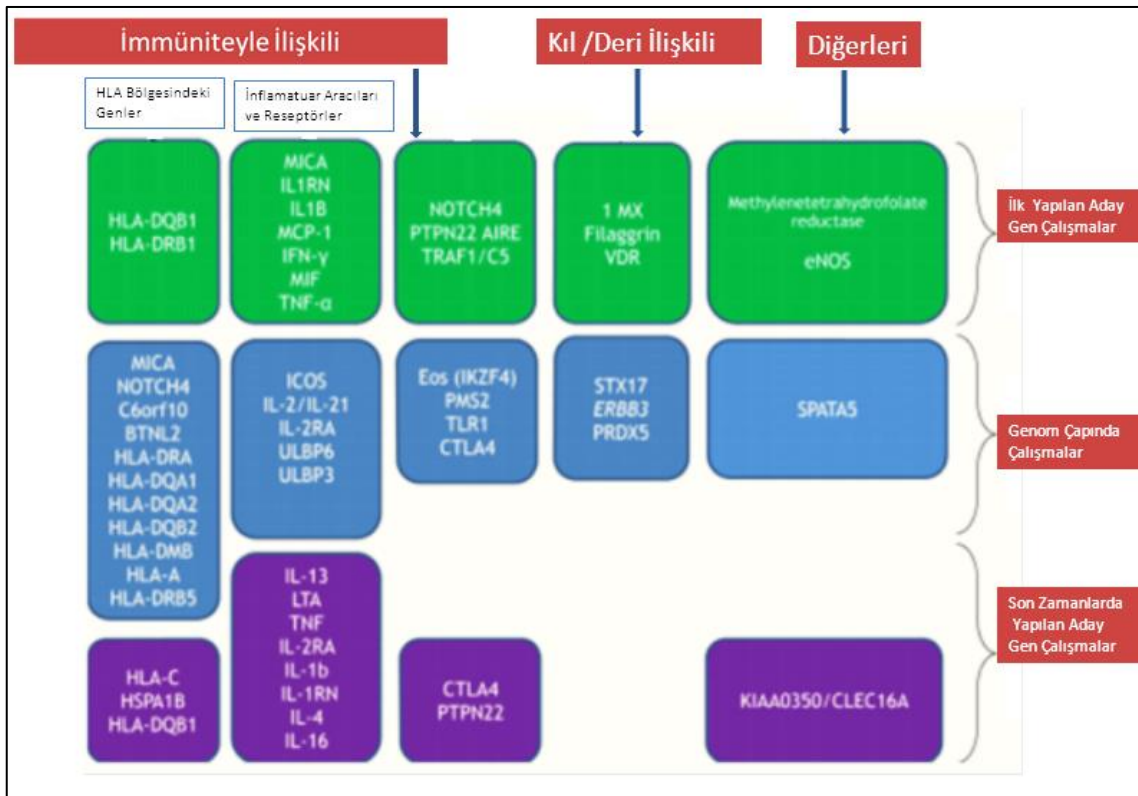
Bu bulgular AA gelişiminin otoimmün hastalık mekanizmalarını kapsadığını ve anagen aşamadaki kıl folikülleri içinde henüz bilinmeyen antijenlerin hedef olduğunu göstermektedir (Lu ve ark., 2006).

2.2.3.1. Genetik Faktörler

AA pathogenezinde genetik faktörlerin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Miao ve ark., 2013). Monozigotik ikizlerde AA'nın benzer zamanlarda oluştuğu ve kıl kaybının benzer şekillerde olduğu rapor edilmiştir. Birkaç çalışmada AA'nın genetik olarak ilişkili insanlarda daha fazla sıklıkla ifade olduğu ve hastaların %10-20'sinin aile üyelerinden en az bir tanesinde AA görüldüğü rapor edilmiştir. AA ve trizomi 21 (Down sendromu) arasında güçlü bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Carter ve Jegasothy trizomi 21'li 214 bireyde AA'lı 19 vaka olduğunu belirlemiştir (Lu ve ark., 2006). Araştırmacılar genetik faktörlerin, AA patogenezindeki immünitenin bozulmasına birlikte katkıda bulunabileceğini ileri sürmüşlerdir (Harishankar ve ark., 2007). Bazı genler hastalığa yatkınlıkla ilişkilendirilirken bazı genlerde hastalığın şiddetiyle ilişkilendirilmiştir (Madani ve Shapiro, 2000). Toll-like reseptörlerinin (TLR) kıl foliküllerine karşı otoimmün atakların oluşmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Kore popülasyonunda yapılan bir çalışmada TLR1 geninde bulunan polimorfizmlerin, AA'ya olan yatkınlıkla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Seok ve ark., 2014). Tazi-

Ahnini ve ark.'ları tarafından otoimmün regülatör (AIRE) genindeki varyasyonların AA ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (Pforr ve ark., 2006).

Genom çapında yapılan ilişki çalışmalarında, sekiz farklı genomik bölgede 139 SNP bulunmuş ve bu bölgelerin birçoğunun otoimmüniteyle ilgili olup T hücre aracılı yolda kritik rollere sahip olduğu rapor edilmiştir. Bu bölgeler içinde sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4 (CTLA4), interlökin 2 reseptör A (IL-2RA) ve insan lökosit antijen (HLA) bölgesindeki birkaç gen bulunmaktadır (Jagielska ve ark., 2012). Bağışıklık düzenleyici role sahip olan HLA DRB1*0401 ve DQB1*0301 gibi çeşitli HLA genleri AA'ya olan yakınlıkla ilişkilendirilmiştir (Alzolibani, 2011). AA'ya yakınlık oluşturduğu düşünülen genler şematik olarak şekil 2.2'de verilmiştir.



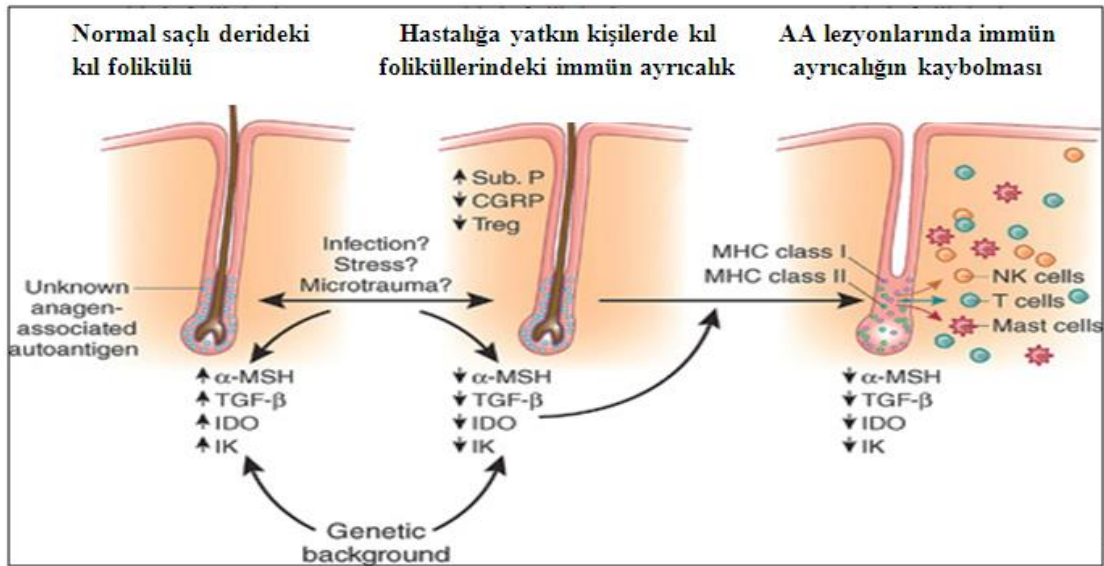
Şekil 2.2. Alopesi Areata 'ya Yakınlık Oluşturan Genlerin Şematik Gösterimi

(Biran ve ark., 2015)

2.2.3.2. Kıl Folikülü İmmün Ayrıcalığının Bozulması

AA, T hücreleri tarafından kıl foliküllerinin hasar görmesiyle sonuçlanan otoimmün bir hastalık olarak düşünülmektedir (Xing ve ark., 2014). Hastalığın gelişimini açıklayan şu anki en iyi hipotez kıl folikülündeki immün ayrıcalığın kaybolmasıdır (Lu ve ark., 2006). Normal şartlar altında kıl folikülleri kıl büyümesinin anagen fazı süresince kısmen immün ayrıcalıklı bölgeler olarak düşünülmektedir. Böylece CD8+T hücreleri tarafından otoantijenler tanımlanamamakta ve kıl büyümesi normal olarak devam etmektedir. Anagen faz süresince MHC I antijenleri çok düşük oranda eksprese olmakta ve bölgesel anagen kıl bulbusu tarafından immün baskılayıcı sitokinler üretilmektedir (Gregoriou ve ark., 2010).

Kıl folikülündeki immün ayrıcalık bazı uyarıcılar tarafından bozulduğunda, MHC I moleküllerinin ektopik ekspresyonuyla kıl folikülü otoantijenleri otreaktif T hücrelerine maruz kalmaktadır (Şekil 2.3.). AA lezyonlarında, kıl matriks epiteliumunda ve subinfindibulum epiteliumunda MHC I ekspresyonu yüksek derecede olmaktadır. Araştırmacılar tarafından ektopik MHC I ekspresyonundaki artışın IFN- γ tarafından uyarıldığı düşünülmektedir (Ito ve Tokura, 2014).



Şekil 2.3. Alopesi Areata'nın Patogenik Modeli (Gilhar., 2010)

2.2.3.3. Çevresel Faktörler

AA'nın mekanizmasının temelinde genetik olduğu belirlense de büyük olasılıkla genetik olmayan faktörlerde hastalığın seyrini etkileyebilmektedir. Çevresel faktörler tedaviye olan dirençte, hastalığın süresinde, kıl kaybının şeklinde ve derecesinde etkili olabilmektedir (Lu ve ark., 2006). AA'nın tetikleyicileri arasında fizyolojik ve zihinsel stres, virüs enfeksiyonları, travma bulunmaktadır ve kıl folikülü otoantijenlerini hedef alan otoreaktif T hücrelerinin aktivasyonuna sebep olabilmektedirler (Ito ve Tokura., 2014). Stres, otoimmün hastalıkların potansiyel bir başlatıcısı olarak görülmektedir ve yalnızca dolaylı kanıtlar olmasına rağmen AA'nın gelişimi üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir (Lu ve ark., 2006). Virüs enfeksiyonlarının AA'da kıl kaybını tetikleyici önemli bir faktör olduğu son yıllarda tartışılan bir konudur. Hepatit B, hepatit C ve Epstein-barr virüsleri hastalığın tetikleyicileri arasında gösterilmektedir (Ito ve Tokura, 2014).

2.2.4. Histopatoloji

AA fenotipik olarak kıl kaybı, histolojik olarak ise kıl folikülü bulbusu etrafında T hücre infiltratı ile karakterize edilmektedir (Xing ve ark., 2014). Hastalık anormal bir kıl siklusu içermekte ve anagen foliküller tam olgunlaşmadan telogen faza geçmekte veya bazıları distrofik anagen aşamada kalabilmektedir. AA'nın histolojik olarak görünümü hastalığın dönemine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Buna rağmen hastalığın her aşamasında AA'dan etkilenmiş deri bölgelerinde eozonofillerin sayısında artış görülmektedir ve bu olay kullanışlı bir tanı özelliğidir (Alkhalifah ve ark., 2010). Akut aşamada, kıl bulbusu etrafında arı kovanını andıran mononükleer hücre birikimi AA histopatolojisindeki en karakteristik değişimdir. Özellikle klinik olarak aktif hastalıkta CD4 ve CD8 hücrelerinin sayısında yükselme olduğu görülmektedir (Ito, 2013). Subakut aşamada, çok sayıda telogen aşamadaki kılın katagen aşamaya geçtiği görülmektedir. Kronik aşamada ise kıl folikülü minyatürizasyonu dikkat çekmekte ve minyatürize olmuş anagen kıl folikülleri normal vellüs foliküllerinden daha az derinde bulunmaktadır. Saçlı derideki terminal kılların vellüs kıllarına oranı azalmaktadır ve muhtemelen bu azalma 1:1 oranında olmaktadır. İyileşme aşamasında terminal/vellüs oranı normale dönmektedir ve anagen kılların oranında artış gözlenmektedir.

İyileşme döneminde ise inflamasyon ya çok az görülmekte ya da hiç görülmemektedir (Alkhalifah ve ark., 2010).

2.2.5. Klinik

AA'da aniden oluşan kıl kayıpları yamalarla sınırlanmakta ve yamalar geniş bir şekilde yayılmış veya yoğun bir şekilde birleşmiş olabilmektedir (Şekil 2.4) (Lu ve ark., 2006). Hastalığın teşhisi genellikle, hasta öyküsü alınması, klinik inceleme ve histolojik bulgular yardımıyla yapılmaktadır (Dy ve Whiting, 2011). Hastalık gerçekte herhangi bir kıl bölgesinde meydana gelebilmekle birlikte dermatoloji kliniklerinde vakaların yaklaşık olarak %90'ında saçlı derinin etkilendiği görülmektedir. Yamalarda sıklıkla görülen ünlem işaretindeki kıllar karakteristik bir bulgudur. Hastalık sıklıkla asemptomatik olmakla beraber birkaç vakada saç kaybı başlamadan önce kaşıntı, yanma, hassasiyet ve ağrı olduğu rapor edilmiştir (Alkhalifah ve ark., 2010). Tırnak değişiklikleri AA ile ilişkili olabilmektedir. Tırnak değişikliklerinin görülme sıklığı %10–66 arasındadır ve bu değişiklikler tırnakların birinde, birkaçında veya hepsinde olabilmektedir (Gilhar ve Kalish, 2006).



Şekil 2.4. Alopesi Areata Hastası (Biran ve ark., 2015)

2.2.6. Prognoz

AA'nın doğal seyri tahmin edilemez. Bazı hastalar da yaşam süresince bir kez görülürken diğer hastalarda nüks görülebilmektedir (Spano ve Donovan, 2015).

Hastaların %80'inde ilk bir yıl içinde ve herhangi bir zamanda aniden kıl büyümesi spontan olarak meydana gelebilmektedir (Villasante ve Miteva, 2015). Hastaların bazısında kılların tamamı yeniden büyürken bazılarında ise kıl kaybı aynı derecede ya da daha fazla olarak kalabilmektedir (Spano ve Donovan, 2015). Spontan veya tedavi sonucu oluşan kıllar başlangıçta az pigmentli veya pigmentsizdir fakat zamanla asıl rengine dönmektedir (Alkhalifah ve ark., 2010). Kötüye giden bir prognozun belirteçleri arasında ailesel AA öyküsü, otoimmün hastalıklarla birliktelik, tırnak değişiklikleri, hastalığın erken yaşta görülmesi, aşırı derecede kıl kaybının olması ve atopi bulunmaktadır (Madani ve Shapiro, 2000).

2.2.7. Tedavi

AA'da yeniden saç büyümesini indükleyen sayısız tedavi olmasına rağmen hastalığın seyrinde bir değişiklik de görülmeyebilir. Hastalığın tedavisinde topikal kortikosteroidler, sistemik kortikosteroidler, intralezyonel kortikosteroidler, minoksidil, antralin, immünmodülatörler, PUVA gibi farmakolojik tedaviler kullanılmaktadır (Alsantali, 2011).

Hastalığın tedavisinde intralezyonel kortikosteroid enjeksiyonunun etkili olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur. Kortikosteroidler dermisin derinine veya subkutisin üstündeki dermisin tam aşağısına enjekte edilmektedir. Topikal kortikosteroidlerin ilaç olarak verilen birçok formu bulunmaktadır (-krem, jel, merhem, losyon ve köpük-). Bu tedavi sonrasında hastalığın tekrar etme oranının % 37- 65 arasında olduğu rapor edilmiştir. Sistemik kortikosteroidler yaygın olarak kullanılan ilaçlı tedavilerden birisidir. Yapılan bir çalışmada bir ay 300 mg prednisone alan hastaların % 41'inde tam bir cevabın olduğu rapor edilmiştir. %5 Minoksidil ve %0,5 antralin kombinasyonunun kullanıldığı bir çalışmada ise ciddi seviyede olan 51 AA'lı hasta bu kombinasyonla tedavi edilmiş ve hastaların %11'inde kozmetik olarak kabul edilebilir bir saç büyümesi gözlemlenmiştir (Alsantali, 2011).

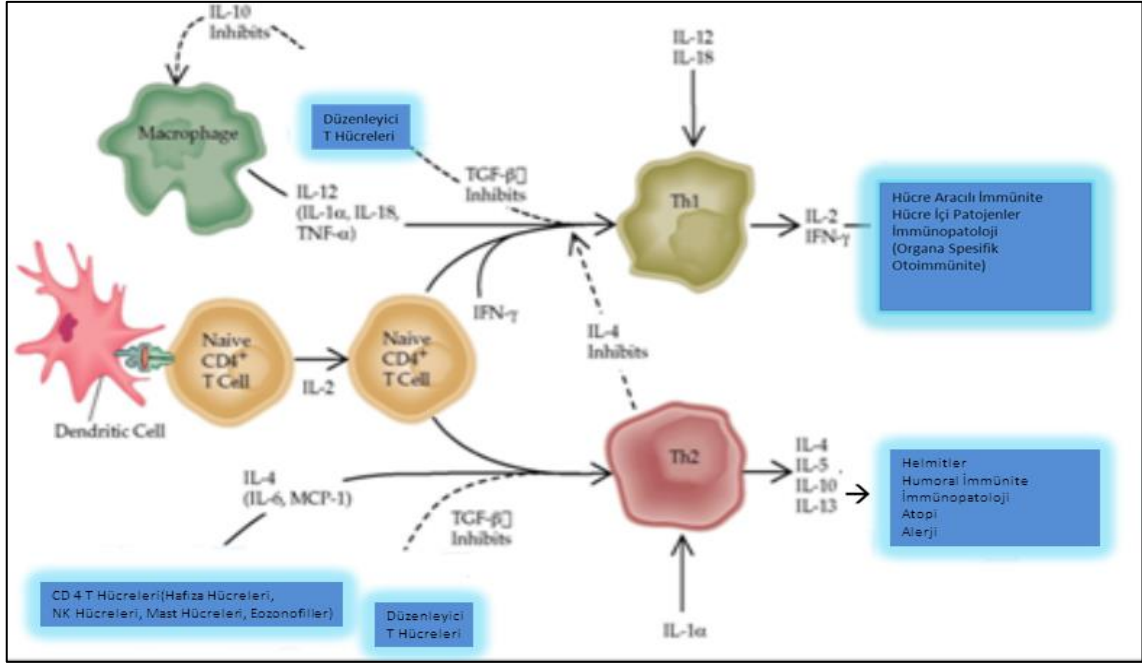
Topikal duyarlaştırıcılardan olan, difenilsiklopropenon (DPCP) ve skuarikasit dibütilester (SADBE) AA'nın tedavisinde kullanılmaktadır (Alsantali, 2011). Topikal duyarlaştırıcıların etki mekanizmasının antijenik olarak yarışmaları, CD4/CD8 oranını değiştirmeleri, proinflamatuvar sitokinlerin modülasyonu ve perifoliküler lenfositleri apoptoza uğratması olduğu düşünülmektedir (Durdu ve ark., 2015).

PUVA (Psoralen + Ultraviyole A) türban, dilüye edilmiş Psoralen solüsyonunun seçici olarak saçlı deriye pamuk havlulu türbanla beraber 20 dakika uygulandığı bir metottur. Hastanın saçlı derisi Ultraviyole A radyasyonuna maruz bırakılır ve bu tedavi yöntemi haftada 2–3 kez uygulanmaktadır. Tedavi edilmiş hastaların %70’inde etkili olduğu gösterilmiştir (Alsantali, 2011).

Alopesi areata psikosomatik bir hastalık örneği olarak düşünülebilir çünkü hastanın kendine olan özgüvenine ve vücut görüntüsüne negatif etki yapmaktadır. Hastaların depresyonu atlatabilmesi için birkaç yol bulunmaktadır. Hasta AA’nın doğası hakkında eğitilmeli, psikoterapi, hipnoterapi ve antidepresanlar hakkında bilgilendirilmelidir. Yoğun olarak saç dökülmesi görülen hastalarda peruk gibi saç aksesuarları kullanılabilir. Ayrıca aromaterapi, çinko takviyesi, topikal soğan suyu hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Alsantali, 2011).

2.3. SİTOKİNLER

Sitokinler, immün hücrelerin büyümesinin, farklılaşmasının ve aktivasyonunun düzenlenmesinden sorumlu moleküllerdir (Teixeira ve ark., 2013). Baskın olarak lökositler olmak üzere birçok hücre tipi tarafından üretilmektedirler. Sitokinler genellikle aynı hedef hücre üzerinde birden çok sayıda etkiye sahiptirler ve diğer sitokinlerin üretimleri uyarabilir veya inhibe edebilirler (Khan, 2008). Sitokinler T hücrelerinin gelişiminde ve düzenlenmesinde başlıca bir rol oynamaktadırlar. Gerçekte iki tane yardımcı T hücresi ürettikleri sitokinlere bağlı olarak tanımlanmaktadır. Th1 tipi hücreler IFN- γ ve IL-2 üretirlerken Th2 tipi hücreler IL-4 ve IL-5 sitokinlerinin üretimini yapmaktadırlar (Madani ve Shapiro, 2000). Th1 ve Th2 tipi hücreler tarafından üretilen sitokinler immünpatoloji ve konağın direnci arasındaki dengenin belirlenmesinde önemlidirler. Th2 yanıtı birincil olarak alerjik reaksiyonlar ve antikor üretimini içermektedir. Th1 yanıtı ise enfeksiyon ajanlarının yok edilmesine yardımcı olmaktadır, fakat uzun dönemli bir yanıt konağın zarar görmesine neden olabilmektedir (Şekil 2.5.) (<http://what-when-how.com/>). Sitokin üretiminde ve sinyalinde meydana gelen defektlerin AA gibi otoimmün hastalıkların gelişimine neden olduğu düşünülmektedir (Aytekin ve ark., 2015).



Şekil 2.5. Yardımcı T Hücre Yanıtının Düzenlenmesi (<http://what-when-how.com/>)

Gilhar ve ark.'ları C3H/HeJ farelerine intradermal IFN- γ uygulandığında kıl folikülü epitelyumunda MHC I ve MHC II ekspresyonunun up-regüle olduğunu ve AA gelişiminin arttığını göstermişlerdir (Gilhar ve ark., 2005). Freyschmidt-Paul ve ark.'larının yaptıkları bir çalışmada AA'dan etkilenmiş C3H/HeJ farelerinin derileri, IFN- γ geni silinmiş (-/-) ve yabancı tip C3H/HeJ farelerine (kontrol grubu) tam kalınlıkta deri grefti yöntemi ile aktarılarak AA'nın deneysel olarak uyarılması sağlanmıştır. Yabancı tip farelerin %90'unda AA gelişimi gözlemlenirken IFN- γ geni eksik farelerin hiçbirinde AA gelişimi olmamıştır. IFN- γ (-/-) farelerin deri infiltratlarında CD8 T hücreleri yok ve CD4 T hücreleri önemli derecede azalmışken kontrol grubunun perifoliküler ve intrafoliküler deri infiltratlarında CD4 ve CD8 T hücreleri yoğun olarak görülmüştür. AA'ya dirençli olan IFN- γ (-/-) farelerde immün ayrıcalıklı olarak kabul edilen kıl foliküllerindeki MHC I ve MHC II moleküllerinin anormal ekspresyonlarında kontrol farelerine oranla zayıflama olduğu bulunmuştur. Kontrol grubundan farklı olarak AA dirençli IFN- γ (-/-) farelerin lökositlerinde ne Th1 sitokinleri ne de T-hücre aktivasyon markırları up-regüle olmamıştır. Bu sonuçlar IFN- γ (-/-) farelerde otoantijenlerin transplantasyonlarına yanıt olarak, Th1 hücrelerinin aktivasyonunun başarısız olduğunu ve AA'nın uyarılmasında IFN- γ aracılı Th1 aktivasyonuna ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (Freyschmidt-Paul ve ark., 2006).

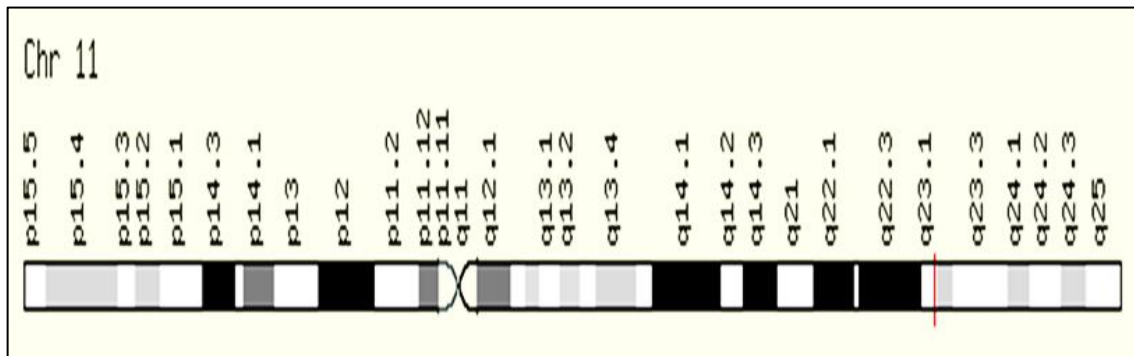
Ülkemizde yapılan bir çalışmada Arca ve ark.'ları AT ve AU hastalarında IFN- γ 'nın serum seviyesinin kontrol grubundan daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (Arca ve ark., 2004). Bertolini ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada kıl folikülü immün ayrıcalığının bozulmasında anahtar bir rol oynadığı düşünülen CD8 T hücreleri ile AA' da sayıca artış gösteren mast hücreleri arasındaki bağlantı üzerine odaklanılmış ve AA hastalarında perifoliküler mast hücrelerinde tümör büyüme faktörü ve IL-10 miktarının azaldığı gösterilmiştir (Bertolini ve ark., 2014). AA hastalarının periferik kan ve saçlı deri biyopsi örneklerinde çok sayıda otoreaktif T lenfositleri bulunmuştur. Happle ve Hoffmann tarafından hastalığın patogenezinin IL-1 β , IFN- γ , IL-2 ve IL-10 içerdiği gösterilmiştir. IL-1 β 'nın in vitro kıl büyümesini inhibe ettiğini ve in vivo da kıl büyümesinin inhibisyonunda önemli faktörlerden biri olabileceği gösterilmiştir (Bodemer ve ark., 2000). AA'dan etkilenmiş saçlı deride özellikle hastalığın ilk aşamalarında IL-1 β 'nin aşırı derecede eksprese olduğu belirlenmiştir (Gregoriou ve ark., 2010). IL-1, kıl kaybının majör bir tetikleyicisi olarak bilinmektedir ve AA'nın başlangıç aşamalarında IL-1'in anormal ekspresyonu, kıl büyümesi üzerine sitokinlerin negatif bir etkisi olarak düşünülmektedir (Aytekin ve ark., 2015). Lenfositler tarafından üretilen bir sitokin olan makrofaj inhibe edici faktör (MIF), AA'nın patogenezinde anahtar bir rol oynamaktadır. AA hastalarında MIF'in seviyesi önemli derecede yükselmiştir (Gregoriou ve ark., 2010). Ülkemizde yapılan bir çalışma da Aytekin ve ark.'ları IL12 (1188A/C), IL17 (A7488G) ve IL23R (+2199A/C) genlerinde bulunan SNP'lerin AA ile olan ilişkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda IL12 (1188A/C) ve IL23R (+2199A/C) gen polimorfizmleriyle anlamlı bir sonuç bulamazken IL17(A7488G) gen polimorfizmiyle AA arasında anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur (Aytekin ve ark., 2015).

2.4. İNTERLÖKİN 18 GENİ

IL-18 geni, IL-1 sitokin ailesinin bir üyesidir ve aynı zamanda doğal ve kazanılmış immün yanıtın düzenlenmesinde önemli roller almaktadır (Wei ve ark., 2014). Okamura ve ark.'ları tarafından yapılan çalışmalarda farelere ısı ile öldürülmüş *Propionibacterium acnes* enjekte edildikten sonra dolaşımında bu bakteriler T hücre mitojenleriyle karşılaştığında özellikle IFN- γ 'nın daha yüksek seviyede salındığı görülmüştür. Daha sonra in vivo da T hücre mitojenleri yerine bir mitojen olan

lipopolisakkarit (LPS) kullanıldığında da IFN- γ üretiminin uyarıldığı görülmüştür. LPS, IFN- γ üretici hücreleri doğrudan uyaramayacağı için bazı aracı moleküllerin olması gerektiği düşünülmüştür. Gerçekte bu aracı moleküller, LPS'yi takiben bakteri enjekte edilmiş farelerin karaciğer ekstratlarında belirlenmiştir. Fare karaciğer ekstratlarından 18,3 kDa'luk bir faktör homojen olarak izole edilmiştir. Başlangıçta bu molekül IFN- γ indükleyici faktör olarak tanımlanmıştır, daha sonra IL-18 olarak yeniden adlandırılmıştır (Kohka ve ark., 1998). Monositler, makrofajlar, dentritik hücreler, epitelial hücreler, keratonositler, sinoviyal fibroblastlar gibi immün ve immün olmayan hücrelerde IL-18 üretimi olduğu belirlenmiştir (Wei ve ark., 2014). IL-18, TNF- α , granülosit/makrofaj koloni uyarıcı faktör ve IFN- γ 'nın üretimini uyarırken NK hücrelerinin ve T hücrelerinin sitotoksik etkisini artırmaktadır (Harishankar ve ark., 2007). Aynı zamanda IL-4, IL-10 ve IL-13 üretimini uyarmaktadır ve B hücrelerinde IgE ekspresyonunu artırmaktadır (Khan, 2008).

IL-18 geni 20,8 kb uzunluğunda 11. kromozom üzerinde lokalize olmaktadır ve 6 ekzon içermektedir (Şekil 2.6.). Bu ekzonlardan ilk ikisi kodlanmamaktadır. Ekzon I ve ekzon II'nin upstream bölgesinde 2 promotör bölgesi lokalize olmaktadır. Ekzon I de promotör upstream (PU.I) bağlanma bölgesi bulunduğu için IL-18 geninin LPS tarafından sürekli olarak transkripsiyonu artırılmaktadır. Ekzon II de interferonların bağlanması için interferon konsensus dizisi bağlayıcı protein (ICSBP) bağlanma bölgesi bulunmaktadır ve interferonlar tarafından IL-18 ekspresyonu aktive edilebilmektedir (Matsui ve ark., 2003; Rıhs ve ark., 2012). Ayrıca promotör bölgesinde Nükleer faktör (NF)- κ B tanıma bölgesinin bulunması IL-18 gen ekspresyonun düzenlenmesinde NF κ B' nin de katıldığı göstermektedir (Gracie ve ark., 2003).



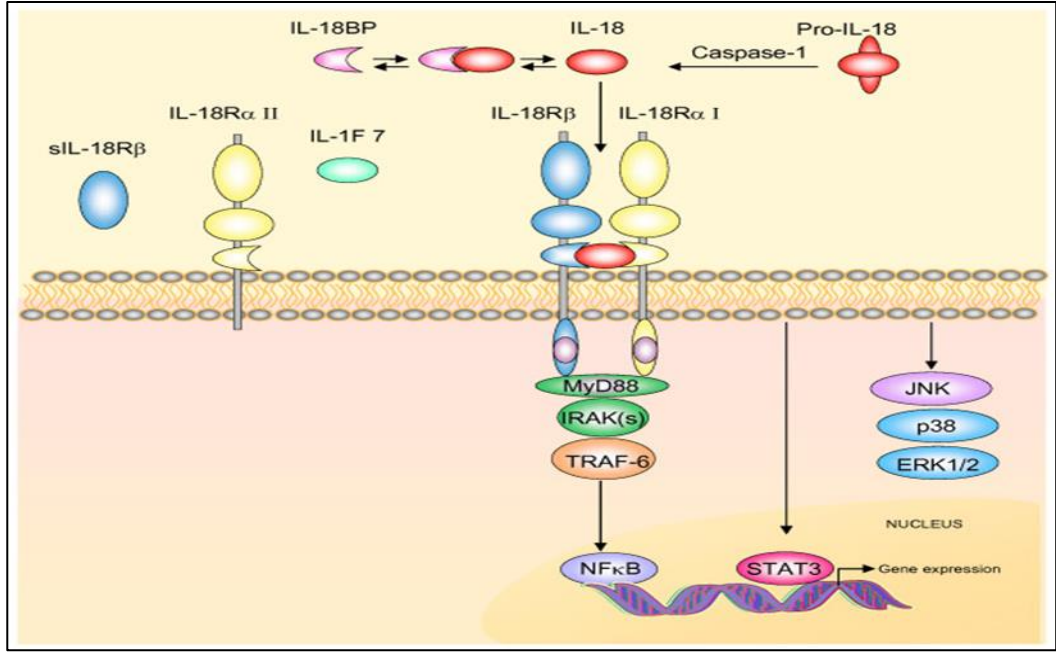
Şekil 2.6. IL-18 Geninin 11q23.1 de Lokalizasyonu (<http://www.genecards.org>)

IL-18, IL-1 sitokin ailesinin üyelerinden özellikle IL-1 β ile bazı benzer özellikler paylaşmaktadır (Sedimbi ve ark., 2013). Bunlardan birincisi IL-18, IL-1 β 'a benzer olarak tipik sinyal peptidi eksik olan 24 kDa ağırlığında ve 193 amino asitten oluşan inaktif öncül bir protein (Pro- IL-18) olarak sentezlenmektedir (Gaggero ve ark., 2004). Normal şartlar altında pro-IL-18 karaciğerde kupffer hücreleri ve doku makrofajlarında büyük miktarda depolanmaktadır (Matsui ve ark., 2003). IL-1 β 'a gibi pro- IL-18 de IL-1 β dönüştürücü enzim olan kaspaz-1 tarafından biyolojik olarak aktif formuna dönüştürülmektedir (Lotito ve ark., 2007). Aynı zamanda proteaz 3, serin protein elestaz, kathepsin G gibi çeşitli hücre dışı enzimlerle pro- IL-18, biyolojik olarak aktif olan formuna dönüştürülmektedir (Alboni ve ark., 2010). İkincisi, bu sitokinler yaklaşık olarak %17 oranında benzer sekansa sahiptirler. Üçüncüsü, gen regülasyonu seviyesinde benzer sinyal moleküllerini kullanmaktadırlar (Sedimbi ve ark., 2013).

IL-18 reseptörü (IL-18R), heterodimerik bir hücre yüzey reseptörüdür ve interlökin 1/ toll like reseptör süper ailesinin üyesidir. IL-18 R α ve IL-18 R β olmak üzere iki alt birimden oluşmaktadır. Her iki alt birimde de üç tane hücre dışı immünoglobulin benzeri domain ve bir tane hücre içi Toll/IL-1 reseptör domaini bulunmaktadır. IL-18 bağlayıcı protein (IL-18BP) devamlı olarak salgılanan bir proteindir ve IL-18'in etkisi IL-18BP tarafından negatif olarak düzenlenmektedir. IL-18BP, olgun IL-18'e yüksek bir afiniteyle seçici olarak bağlanmaktadır ve IL-18'in IL-18 R α ile olan etkileşimini engellemektedir (Lotito ve ark., 2007; Alboni ve ark., 2010). İnsan karsinoma/epitelial hücre hatlarında, IL-18BP'nin ekspresyonunun ve salgılanmasının IFN- γ tarafından uyarıldığı gösterilmiştir (Sedimbi ve ark., 2013). IL-18'in etkisinin diğer bir negatif düzenleyicisi IL-1 ailesinin üyesi olan IL-1F7 dir. IL-1F7, IL-18BP'e bağlanarak IL-18R kompleksinin oluşumunu engellemektedir (Alboni ve ark., 2010).

IL-18 sinyal yolağının etkisi, adaptör myeloid farklılaşma faktörü (MyD88)'in güçlendirmesiyle meydana gelmektedir. Bu olay IL-1R-ilişkili kinaz (IRAK)/tümör nekrozis faktör reseptör-ilişkili faktör 6 (TRAF6) yolağının aktivasyonuna izin vererek NF- κ B'nin çekirdeğe translakosyonuna ve bunun sonucunda gen transkripsiyonunun değiştirilmesine yol açmaktadır (Şekil 2.7.). IL-18 sinyalinde mitojen aktive edici

protein kinaz (MAPK) ve fosfatidilinozital-3 kinaz (Pi3K)'nın da rolü olduğu düşünülmektedir (Alboni ve ark., 2010).



Şekil 2.7. IL–18 Sistemi (Alboni ve ark., 2010).

Giedraitis ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada IL–18 geni promotör sekansı incelenmiş ve bu bölgede 5 farklı SNP belirlenmiştir (Şekil 2.8.). Aynı çalışmada IL–18 ve IFN- γ 'nın ekspresyonu analiz edilmiştir. Bu sitokinlerin ekspresyonları arasında bir ilişki olduğu, aynı zamanda -607. pozisyonda C veya -137. pozisyonda G allelleri için homozigot olan hastalar diğer genotiplerle karşılaştırıldığında, IL–18 mRNA'sının daha yüksek olduğu bulunmuştur (Giedraitis ve ark., 2001). Siklik adenosin monofosfat (cAMP) molekülü, cAMP yanıt elementine bağlanan protein (CREB) olarak bilinen spesifik bir transkripsiyon faktörüyle bir genin transkripsiyonunun artmasını uyarabilmektedir. CREB, transkripsiyonunu aktive edeceği genin promotör bölgesinde 8 baz çiftlik spesifik bir tanıma bölgesine CRE konsensus dizisine bağlanmaktadır. IL–18 geninin promotör bölgesinde, CRE sekansı, -607. pozisyonu içine almaktadır. -607. pozisyonda C nükleotidinden A nükleotidine olan değişim CRE sekansını bozmaktadır. Bu yüzden CC genotipinin transkripsiyonel aktivitesi diğer genotiplerden daha yüksek olmaktadır. -137. pozisyonda G nükleotidinden C nükleotidine olan değişim, histon 4 geni transkripsiyon faktörü (H4TF–1) bağlanma bölgesini, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktörün promotör

bölgesinde bulunan bilinmeyen bir faktörün bağlanma bölgesine dönüştürmektedir. Giedraitis ve ark.'ları H4TF-1 nükleer faktörünün -137. pozisyonundaki C alleline bağlanmadığı için -137/C allelinde IL-18 mRNA ekspresyonunun daha düşük olduğunu öne sürmüşlerdir (Xu ve ark., 2007).

-1324	CTACTTGATC	CCACTTCGTG	CTTTCATGTT	AATTGGCCCA	ATTGGACTCT
-1274	ACAGTTGGAA	GGTGAAAAC	TACTATTTCA	ACTTGAGTCA	CGTATGTATT
-1224	CTTATCATAT	ACTTCTTAA	GGTACTATTT	TTTTTCTTCT	GATAGTCACC
-1174	ACACCAAGCA	CTTCCAGCCA	CCCTGCCACA	GACTTCCTTT	GTAATCACTG
-1124	TTGAAGGACA	TGATGTTTTT	ATGACTTCCC	GAAATGAAA	CCCTATCTTG
-1074	TTTTTAAAAAC	AAACAAACCA	CAAAAAAGTA	GTGTTTATGT	AAGCATTTTG
-1024	TTCCCTGACT	CTAGGAACCC	CTCTGTTTTT	ATATCAACTC	TGTAAGTGGCA
-974	AAACACAAAA	ACAAAATGCC	ACCTTGCTAA	TTCCCTTCCT	AGCAAAGTAA
-924	TACAGTTTAG	CACATGTTCA	AGAAAAAAT	GGCTAAGAAA	TTTTGTTTTCC
-874	ACTAATTATT	TTCAAGACTG	TGATATTTAC	ACTCTGCTCT	TCAAACGTTA
-824	CATTTTATAA	GACTATTTTT	TAACATGTTG	AACATAAGCC	CTAAATATAT
-774	GTATCCTTAA	ATTGTATTTT	AAATATTTTA	GGTCAGTCTT	TGCTATCATT
-724	CCAGGAATAG	AAAGTTTTAA	CACTGGAAAC	TGCAAGTAAA	TATTTGCCCT
-674	CTFACCTGAA	TTTTGGTA ⁹ _T C	CCTCTCCCCA	AGCTTACTTT	CTGTTGCAGA
-624	AAGTGTA ⁹ _A AAA	ATTATTA ⁹ _A AT	AAAATCTTAA	TGATGGTATC	CGTGTGGCTT
-574	GCATCTGATA	CAGCAGATAA	AGAAGTTTTA	TGAAAATGGA	CTCCTGTTCC
-524	ACTGAAAAGT	AAATCTTAAT	GGCCTGTATC	AACTATCCTT	TGACACCATA
-474	TTGAGCTTGG	GAGGAAGGGG	AAGTCCTGAA	TGAGGTTATA	AAGTAAAAGA
-424	AAATATTTGC	AAAATGTTCC	TTTTTTTAAA	ATGTTACATT	TTAGAAATAT
-374	TTTAAGTGTT	GTAACATGTT	AGGAATTACC	CCAATAGGAC	TGATTATTCC
-324	GCATTGTAAA	ATAAGAAAAA	GTTTTGTGCT	GAAGTGTGAC	CAGGAAGTCT
-274	GAAAATGAAG	AGAGACAGAT	GACAAAAGAA	GATGCTTCTA	ATGGACTAAG
-224	GAGGTGCTTT	CTTAAAGTCA	GAAAGAGATA	CTCAGAAAGA	GGTACAGGTT
-174	TTGGAAGGCA	CAGAGCCCCA	ACTTTTACGG	AAGAAAA ⁹ _C AT	TTCATGAAAA
-124	TAGTGATATT	ACATTAAAAG	AAGTACTCGT	ATCCTCTGCC	ACTTTATTTT
-74	GACTTCCATT	GCCCTAGGAA	AGAGCCTGTT	TGAAGGCGGG	CCCAAGGAGT
-24	GCCGACAGCA	GTCTCCTCCC	TCCACCTTCT	TCCTCATTCT	CTCCCCAGCT
+27	TGCTGAGCCC	TTTGCTCCCC	TGGCGACTGC	CTGGACAGTC	AGCAAGGAAT
+77	TGCTCTCCAG	TGCATTTTGC	CCTCCTGGCT	GCCAAC ⁹ _C CTG	GCTGCTAAAG
+127	⁹ _T GGCTGCCAC	CTGCTGCAGT	CTACACAGCT	TCGGGAAGAG	GAAAGGAAC

Şekil 2.8. IL-18 Geni Promotör Sekansı ve Tek Nükleotit Polimorfizmlerinin

(-656, -607, -137, +113 ve +127 Nükleotidleri) Gösterilmesi (Giedraitis ve ark., 2001)

IL-18 sitokininin hastalıklarla olan ilişkisi incelendiğinde inflamatuvar ve enfeksiyon hastalıklarında önemli bir rol oynadığı görülmektedir. IL-18, immün cevabın Th1 ya da Th2 tipi olmasını kontrol etmesinden dolayı otoimmün hastalıklarda da rol almaktadır (Harishankar ve ark., 2007). Romatoid artrit ve sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi otoimmün hastalıklarda IL-18'in plazma seviyesinde önemli bir yükselme olduğu gözlemlenmiştir (Kim ve ark., 2014). Son zamanlarda prostat ve özafagus kanserleri gibi bazı kanser türlerinde IL-18'in salgılandığı rapor edilmiştir. Bazı araştırmalarda hastalığın ilerlemesiyle ilişkili olarak kanser hastalarının büyük çoğunluğunda IL-18'in serum seviyesinde artış olduğu gösterilmiştir (Yang ve ark., 2014).

3.GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI

Bu çalışmaya Gaziosmanpaşa Üniversitesi Dermatoloji Ana Bilim Dalı polikliniğine başvuran 18–45 yaş arası Alopesi areata tanısı konulmuş 200 hasta ve kendisinde ve akrabalarında AA olmayan 173 bireyden oluşan kontrol grubu dahil edilmiştir. Yapılan çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Etik Kurulu tarafından 14.10.2014 tarihli 14-KAEK–203 numaralı kararıyla onaylanmıştır. Araştırmaya katılan her birey ayrıntılı olarak bilgilendirilmiş ve onam formu alınmıştır.

3.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN ALET ve CİHAZLAR

Tez çalışmasında kullanılan cihaz isimleri ve markaları Tablo 3.1. de ayrıntılı bir şekilde verilmiştir.

Tablo 3.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar

Cihaz Adı	Marka
PZR (Thermal Cycler)	5 Prime Thermal Cycler, 5PRİMEG102
Bilgisayar	Exper, intelcore
Jel Görüntüleme Cihazı	Transilluminator
Santrifüj	Mikro 120, Hettich Zentrifugen
Vorteks	VELP Scientifica, F20220176
Su Banyosu	Memmert
Hassas Terazı	KERN, ABJ 220-4M
Manyetik Karıştırıcı	VELP Scientifica, F20520162
PH Metre	İhanna, 507702
Mikrodalga fırın	Arçelik MD554
Elektroforez Tankı	Clever Scientifica, MHCHOİCE
Elektroforez Güç Kaynağı	Consort, EV26
Buzdolabı	İndesit, TN5 FNF

3.3. ÇÖZELTİLER

Agaroz jel hazırlamasında kullanılan çözeltiler;

Jel yapımında kullanılan Tris-Borik Asit-EDTA (TBE 5X) tamponunun hazırlanması için; 54 gr Trisma baz (Bioshop, Lot 1L22940), 27,5 gr Borik asit (Carlo Erba, Lot 0L057180L) ve 20 ml 0,5 M EDTA total hacim 1000 ml olacak şekilde distile su içerisinde manyetik karıştırıcı kullanılarak çözdürüldü.

TBE 5X tamponunun hazırlanmasında kullanılan 0,5M Etilendiamin Tetra Asetik Asit (EDTA)'nın hazırlanması için; 18,16 gr EDTA (Ambresco, Lot 3228B038) 80 ml distile su eklenerek manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Çözülmenin oluşabilmesi için yaklaşık olarak 2 gr sodyum hidroksit (NaOH) (Riedel-de Haën, Lot 70440) karışıma eklendi ve pH=8,0 olacak şekilde hidrojen klorür (HCl) (Riedel-de Haën, Lot 80460) ile pH ayarlaması yapıldı. Solüsyon distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Solüsyon 121°C de 20 dk. otoklavlanarak oda sıcaklığında saklandı.

Etidyum bromür solüsyonunun (10 mg/ml) hazırlanması için; 0,1 gr Etidyum bromür (Serva, 090107), 10 ml distile su içerisinde bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Etidyum bromid solüsyonunun saklanacağı tüp alüminyum folyo ile kaplandı ve +4°C de muhafaza edildi.

3.4. DNA İZOLASYONU

Hasta ve kontrol grubundan alınan kanlar EDTA'lı tüp içerisinde izolasyon işlemine kadar +4 °C de buzdolabında saklandı. Deoksiribonükleik asit (DNA) izolasyonu GeneJET genomik DNA pürifikasyon kiti (Thermo Scientific, Lot 00147139) protokolüne uygun olarak yapıldı. DNA izolasyonunun aşamaları Tablo 3.2. de ayrıntılı olarak gösterilmiştir. DNA izolasyonu sonrasında her bir örnekten 4 µl alınarak %2'lik agaroz jelde yürütüldü ve elde edilen DNA'nın kalitesi incelendi.

Tablo 3.2. DNA İzolasyonu Kit Protokolü

BASAMAK	İŞLEM
1.	İçerisinde 5ml kan bulunan EDTA'lı tüplerden, 200 µl kan 1,5 ml'lik ependorflara alındı. Üzerine 20 µl proteinaz K ve 20 µl RNaz solüsyonu eklenerek 1–2 sn. vorteks yapıldı. Oda sıcaklığında 2 dakika bekletildi.
2.	Karışımın üzerine 400 µl lizis solüsyonu eklenerek karışım homojen olana kadar vortekslendi ve 55°C'lik su banyosunda 10 dk. inkübe edildi.
3.	Toplam olarak 640 µl olan karışıma 200 µl saf etanol (Merc, Almanya) eklendi ve tüpler vortekslendi.
4.	Toplam olarak 840 µl olan karışım ependorftan spin kolona aktarıldı ve 11.000 rpm (dakikadaki devir) de 1 dk. santrifüj edildi.
5.	Spin kolon yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne alındı ve yıkama işlemlerine geçildi. 500 µl wash buffer 1(yıkama solüsyonu 1) eklendi ve 11.000 rpm de 1 dk. santrifüj edildi. Spin kolon yeni bir toplama tüpüne alındı.
6.	Üzerine 500 µl wash buffer 2 (yıkama solüsyonu 1) eklenerek 13.000 rpm de 3 dk. santrifüj edildi. Spin kolon DNA'nın en son saklanacağı 1,5 ml'lik ependorfların içerisine alındı.
7.	Son olarak 200 µl elution buffer spin kolon membranının merkezine bırakıldı ve 2 dk. oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 13.000 rpm de 1 dk. santrifüj edildi.
8.	Saf DNA örneği -20 °C de saklandı.

3.5. AMPLİFİKASYON REFRAKTER MUTASYON SİSTEMİ-POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi, tek nükleotit değişimleri ve küçük delesyonlar içeren mutasyonların belirlenmesi için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem yüksek derecede spesifiktir. Haplotiplerin doğrudan belirlenebilmesi için kullanılan genel bir metottur. ARMS-PZR yöntemi, diziyeye spesifik polimeraz zincir reaksiyonu primerlerinin kullanılmasını temel almaktadır ve yalnızca örnek içinde hedef allel varsa DNA'nın amplifiye olmasına izin vermektedir. ARMS reaksiyonunu takiben PZR ürününün varlığı ya da yokluğu hedef allelin varlığı ya da yokluğu için bir belirteçtir (Lo ve ark., 1991; Little, 2001).

Bu çalışmada IL-18 geni -137 G>C ve -607 C>A polimorfizmlerinin belirlenebilmesi için ARMS-PZR yöntemi kullanıldı. Bu metot yardımıyla haplotipler doğrudan belirlenebilmiştir. Baz değişimlerinin belirlenebilmesi için kullanılan primerler ve internal kontrol primerleri Tablo 3.3. de verilmiştir.

Tablo 3.3. IL-18 -137G>C ve -607C>A Bölgesinin Amplifikasyonunda Kullanılan Primerler ve ARMS-PZR Ürünlerinin Uzunlukları

Gen Adı	SNP ID	Primerler	PZR Ürün Boyu
IL-18 (-137G/C)	rs187238	Genel Primer; 5'-AGGAGGGCAAATGCACTGG-3'	
		G alleli için; 5'-CCCCAACTTTTACGGAAGAAAAG-3'	261 bç
		C alleli için; 5'-CCCCAACTTTTACGGAAGAAAAC-3'	261 bç
		İnternal Kontrol; 5'-CCAATAGGACTGATTATTCCGCA-3'	446 bç
IL-18 (-607C/A)	rs1946518	Genel Primer; 5'-TAACCTCATTCAGGACTTCC-3'	
		C alleli için; 5'-GTTGCAGAAAGTGTA AAAAATTATTAC-3'	196 bç
		A alleli için; 5'-GTTGCAGAAAGTGTA AAAAATTATTAA-3'	196 bç
		İnternal Kontrol; 5'-CTTTGCTATCATTCCAGGAA-3'	301 bç

Çalışmada kullanılan ARMS-PZR komponentleri; Son konsantrasyon 12,5 mM olacak şekilde dNTP karışımı (Thermo Scientific, Lot 00213116), Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific, Lot 00215954), 1.25 ml Taq Buffer KCl-MgCl₂ (Thermo

Scientific, Lot 00213242), 25 mM MgCl₂ (Thermo Scientific, Lot00211626), dH₂O, primerler ve genomik DNA'dır. Her bir örnek için iki farklı tüp hazırlanmıştır. IL-18 -137G>C polimorfizminde G allelinin belirlenebilmesi için 1. tüpe IL-18 -137 G primeri (Thermo Scientific, 20516833), Genel primer (Thermo Scientific, 20516832) ve internal kontrol primeri (IDT, 69940990) eklenmiştir. C allelinin belirlenebilmesi için 2.tüpe IL-18 -137 C primeri (Thermo Scientific, 20516835), Genel primer (Thermo Scientific, 20516832) ve internal kontrol primeri (IDT, 69940990) eklenmiştir. IL-18 -607C>A polimorfizminde C allelinin belirlenebilmesi için 1.tüpe IL-18 -607C primeri (Thermo Scientific, 20516836), Genel primer (Thermo Scientific, 20516831) ve internal kontrol primeri (IDT, 69940991) eklenmiştir. A allelinin belirlenebilmesi için 2.tüpe IL-18 -607 A primeri (Thermo Scientific, 20516834), Genel primer (Thermo Scientific, 20516831) ve internal kontrol primeri (IDT, 69940991) eklenmiştir. Son hacim 25 µl olacak şekilde reaksiyon gerçekleştirilmiştir (Tablo3.4.).

Tablo 3.4. Çalışmada Kullanılan Bileşenler ve Miktarları

PZR-ARMS Bileşenleri	Miktarları (µl/Tüp)
Steril su (ddH ₂ O)	16.8µl
Taq Buffer KCl-MgCl ₂ (1.25 ml)	2.5 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1.5 µl
dNTP mix (12,5 mM)	0.3 µl
Primerler (Genel primer, allele spesifik primer)	0.8 µl
İnternal Kontrol Primeri	0.2 µl
Taq DNA polimeraz (5U/ µl)	0.1 µl
Genomik DNA	2 µl

IL-18 -607 ve -137 bölgelerinin amplifikasyonunda kullanılan ARMS-PZR reaksiyonu için PZR şartları sırasıyla Tablo 3.5. ve Tablo 3.6. da ayrıntılı bir şekilde

verilmiştir. Reaksiyon sonucunda -137 G>C bölgesi için hem G alleli için hem de C alleli için 261 bç uzunluğunda internal kontrol için 446 bç uzunluğunda ürünler beklenmektedir. -607 C>A bölgesi için A alleli ve C alleli için 196 bç uzunluğunda internal kontrol için 301 bç uzunluğunda ürünler beklenmektedir. IL-18 polimorfizminin belirlenmesi için ARMS-PZR yöntemi ile çoğaltılan bölgeler ve primerler Tablo 3.7. ve Tablo 3.8. de gösterilmiştir. ARMS-PZR ürünleri % 2'lik agaroz jelde yürütülerek değerlendirilmiştir. Çalışmada kullanılan primerler ve ARMS-PZR şartları için Giedraitis ve ark.'larının yaptıkları çalışma referans alınmıştır (Giedraitis ve ark., 2001).

Tablo 3.5. IL-18 -607C>A Bölgesinin Amplifikasyonunda Kullanılan ARMS-PZR Programı

Program	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	94°C	2dk	
Denatürasyon	94°C	20sn	7
Bağlanma	64°C	40sn	
Uzama	72°C	40sn	
Denatürasyon	94°C	20sn	30
Bağlanma	57°C	40sn	
Uzama	72°C	40sn	
Son Uzama	72°C	7dk	

Tablo 3.6. IL-18 -137G>C Bölgesinin Amplifikasyonunda Kullanılan ARMS-PZR Programı

Program	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	94°C	2dk	
Denatürasyon	94°C	20sn	5
Bağlanma	68°C	60sn	
Uzama	72°C	40sn	
Denatürasyon	94°C	20sn	30
Bağlanma	62°C	20sn	
Uzama	72°C	40sn	
Son Uzama	72°C	7dk	

Tablo 3.7. IL–18 -607C>A Polimorfizminin Belirlenmesi İçin ARMS–PZR Yöntemi İle Çoğaltılan Bölge ve Primerlerin Gösterilmesi

*CTTTGCTATCATTCCAGGAATAGAAAGTTTTAACACTGGAAACTGCAAGTAA
ATATTTTGCCCTCTTACCTGAATTTTGGTAGCCCTCTCCCAAGCTTACTTTC
TGTTGCAGAAAGTTGCAGAAAGTGTAATAATTATTARATAAAATTCTAAT
GATGGTTCCGTGTGGCTTGCATCTGATACAGCAGATAAAGAAGTTTTATGAA
AATGGACTCCTGTTCCACTGAAAAGTAAATCTTAATGGCCTGTATCAAATA
TCCTTTGACACCATATTGAGCTTGGGAGGAAGGGGAAGTCCTGAATGAGGTT
A*

R ile gösterilen değişimin olduğu yer, allele spesifik primer koyu renkte, internal kontrol primeri koyu renkte ve italik, genel primer italik, koyu renkte ve altı çizili olarak belirtilmiştir.

Tablo 3.8. IL–18 -137 G>C Polimorfizminin Belirlenmesi İçin ARMS–PZR Yöntemi İle Çoğaltılan Bölge ve Primerlerin Gösterilmesi

*CCAATAGGACTGATTATTCCGCATTGTAAAATAAGAAAAAGTTTTGTGCTGA
AGTGTGACCAGGGAAGTCTGAAAATGAAGAGAGACAGATGACAAAAGAAG
ATGCTTCTAATGGACTAAGGAGGTGCTTTCTTTCTTAAAGTCAGAAAGAGAT
ACTCAGAAAGAGGTACAGTTTTGGAAGGCACAGAGCCCCAACTTTTACGG
AAGAAAARATTTTCATGAAAATAGTGATATTACATTAAGAAGTACTCGTA
TCCTCTGCCACTTTATTTGACTTCCATTGCCCTAGGAAAGAGCCTGTTTGA
AGGCGGGCCCAAGGAGTGCCGACAGCAGTCTCCTCCCTCCACCTTCTTCCTC
ATTCTCTCCCCAGCTTGCTGAGCCCTTTGCTCCCCCTGGCGACTGCCTGGACA
GTCAGCAAGGAATTGTCTCCCAGTGCATTTTGCCCTCCT*

R ile gösterilen değişimin olduğu yer, allele spesifik primer koyu renkte, internal kontrol primeri koyu renkte ve italik, genel primer italik, koyu renkte ve altı çizili olarak belirtilmiştir.

3.6. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİ

Jel elektroforezi, moleküllerin büyüklüklerine, elektrik yüklerine ve diğer fiziksel özelliklerine göre ayrılmasını sağlayan bir yöntemdir. Amino asitler, proteinler ve nükleik asitler gibi önemli biyolojik makromoleküller iyonlaşabilen gruplara sahiptirler ve çözeltinin pH'ına bağlı olarak katyon (+) ya da anyon (-) biçiminde bulunurlar. Net yüklerine bağlı olarak bu moleküller anoda ya da katoda doğru hareket

ederler ve bu sayede moleküllerin birbirinden ayırt edilmesi kolaylaşır (Somma ve Querci).

Yapılan bu çalışmada PZR ürünleri, Brom Fenol Mavisı ve gliserol (BBF, Lot;0LB0054) içeren takip boyası ile %2'lik agaroz (SİGMA, ABD, Lot SLBD2493V) jele, yüklenerek sonuçlar incelendi.

%2'lik jel hazırlanırken; 2 gr agaroz ve 100 ml TBE 1X tampon çözeltisi erlenmayer içerisinde karıştırılıp mikro dalga fırında ısıtılarak agarın karışım içerisinde homojen olarak erimesi sağlandı. Homojen şekilde erimiş olan karışıma 3µl Etidyum bromür eklendi ve karıştırıldı. Karışıma eklenen etidyum bromür, DNA'nın çift zincirine bağlanarak ultraviyole (UV) ışığı altında fluoresan etki göstermektedir ve böylece DNA jelde görünür hale gelmektedir. Karışım, önceden tarakları yerleştirilmiş olan jel tabağına döküldü ve baloncuk oluşmamasına dikkat edildi. Jel, donması için oda sıcaklığında yaklaşık olarak 30 dk. bekletildi. Jel donduktan sonra taraklar dikkatli bir şekilde çıkartıldı ve jel, elektroforez tankına jel tabağı içerisinde yerleştirildi. Elektroforez tankı içerisine, jelin yüzeyini geçecek şekilde TBE 1X tamponundan eklendi. PZR ürünlerinden 10 µl alındı ve temiz bir parafilm üzerinde 1 µl takip boyasıyla karıştırıldı daha sonra jele yüklendi. PZR ürünlerinin değerlendirilebilmesi ve reaksiyonun istenilen uzunluktaki doğru bölgeyi çoğalttığını belirleyebilmek için marker (Thermo scientific, Lot; 00164725), PZR ürünleriyle birlikte jele 2 µl kadar yüklendi. PZR ürünleri 123 voltta (V) 20 dk. kadar yürütüldü. Yürütme işlemi bittikten sonra jel, jel görüntüleme cihazında UV ışık altında incelendi ve Quantum ST4 programında görüntülendi.

3.7. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Verilerin istatistiksel analizi için Epi İno Software 3.2.2 programı ve Openepi 3.01 (<http://www.openepi.com>) yazılım programları kullanıldı. Genotip dağılımı ve Hardy-Weinberg denkliği Ki kare testi ile araştırıldı. P değeri 0.05'den küçük bulunan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. ARAŞTIRMA GRUBUNA AİT BULGULAR

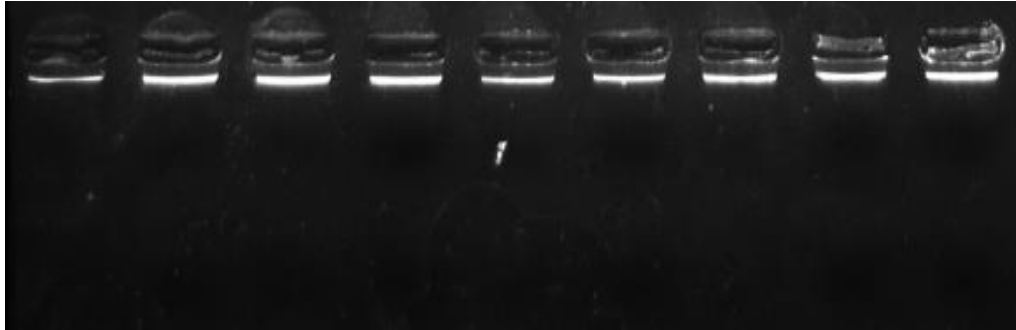
Bu tez çalışmasında, IL-18 geninin promotör bölgesinde bulunan polimorfizmler ARMS-PZR yöntemi kullanılarak belirlendi. Çalışma gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 4.1. de verilmiştir.

Tablo 4.1. Tez Çalışmasında Yer Alan Hasta ve Kontrol Gruplarındaki Kişilerin Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı

	Alopesi areata hastaları (N=200)	Kontrol grubu (N=173)	P
Cinsiyet			
Kadın	77 (%38)	67 (%39)	0.963
Erkek	123 (%62)	106 (%61)	
Yaş			
Yaş ortalaması	36.62±9.6	37.38±11.31	0.483

4.2. DNA'NIN KALİTATİF TAYİNİ

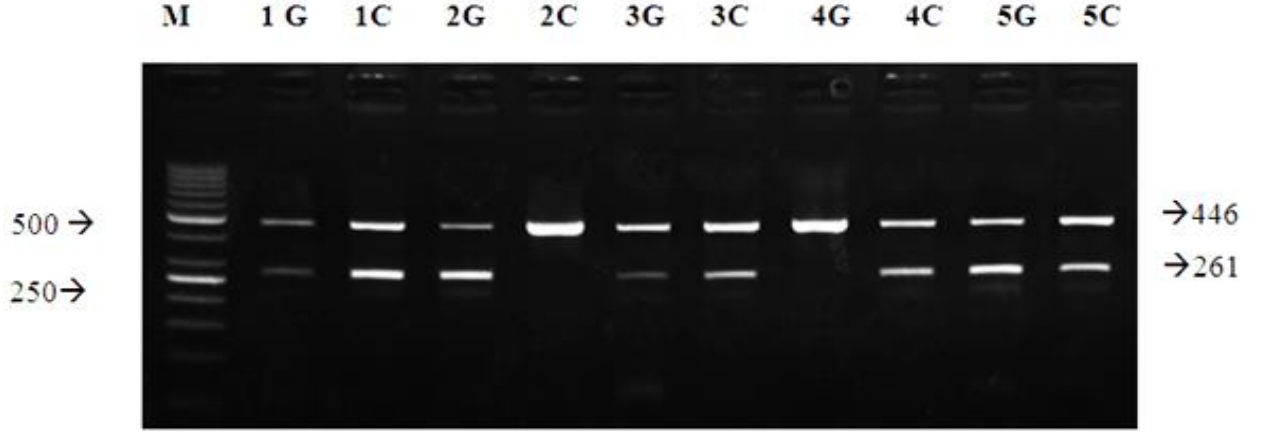
Elde edilen genomik DNA'lar %2'lik agaroz jelde 120 V' da 20 dk. yürütülerek analiz edildi Şekil 4.1. de gösterildi.



Şekil 4.1. Genomik DNA'nın agaroz jel görüntüsü

4.3. ARMS-PZR ANALİZLERİ

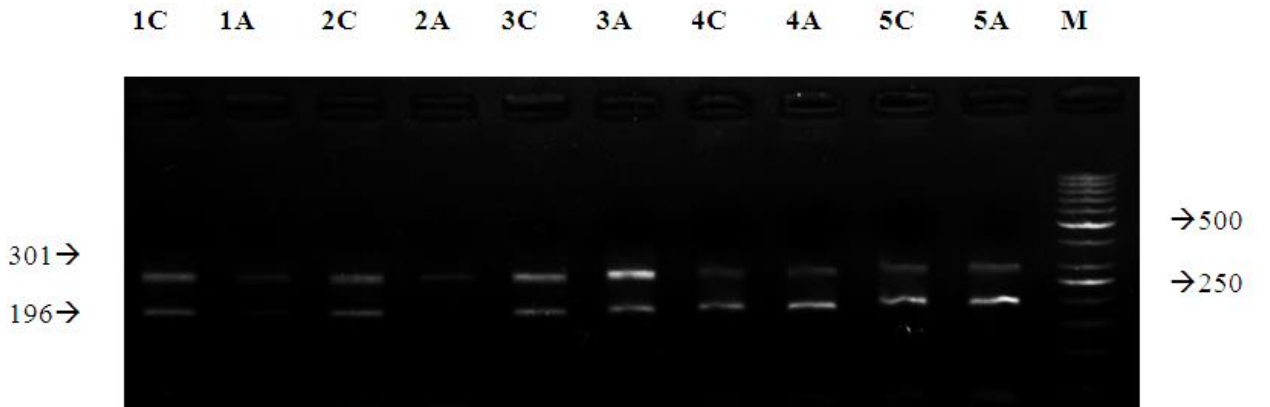
IL-18 -137 G>C polimorfizmine ait G ve C allelinin boyu 261 bç. pozitif internal kontrolün boyu 446 baz çiftidir. ARMS ürünleri %2'lik jelde 123V'da 20dk. yürütüldü (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. IL-18 -137 G>C Polimorfizmi İçin Elde Edilen ARMS-PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Görüntüsü. (M: Marker, 50 bp DNA ladder)

Jel görüntüsü incelendiğinde; 1. Hastanın genotipi GC, 2. Hastanın genotipi GG, 3. Hastanın genotipi GC, 4. Hastanın genotipi CC, 5. Hastanın genotipi GC' dir.

IL-18 -607 C>A polimorfizmine ait C ve A allelinin boyu 196 bç. pozitif internal kontrolün boyu 301 baz çiftidir. ARMS ürünleri %2'lik jelde 123V'da 20dk. yürütüldü(Şekil4.3.).



Şekil 4.3. IL-18 -607C>A Polimorfizmi İçin Elde Edilen ARMS-PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Görüntüsü. (M: Marker, 50 bp DNA ladder)

Jel görüntüsü incelendiğinde;

1. Hastanın genotipi CC
2. Hastanın genotipi CC
3. Hastanın genotipi CA
4. Hastanın genotipi CA
5. Hastanın genotipi CA' dır.

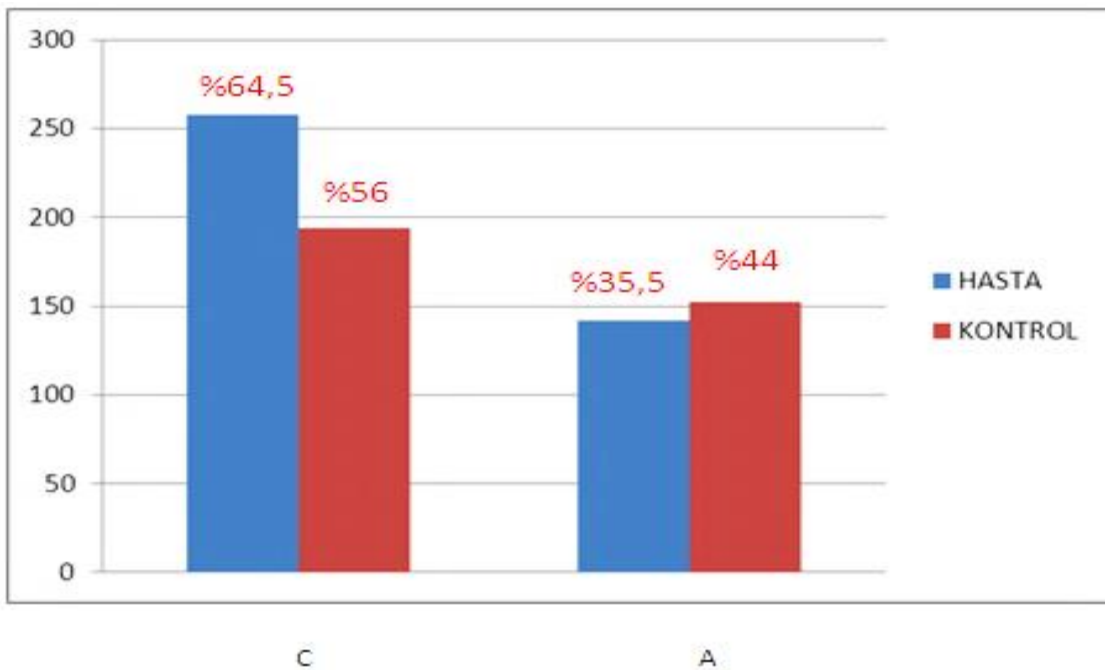
4.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI

IL-18 geninde bulunan -607C>A polimorfizminin çalışma grupları arasındaki dağılımı incelendiğinde; 200 hasta birey arasında CC genotipine sahip 75 (%37,5) CA genotipine sahip 108 (%54) ve AA genotipine sahip 17 (%8,5) birey, 173 sağlıklı birey arasında ise CC genotipine sahip 30 (%17,3) birey, CA genotipine sahip 134 (%77,5) birey ve AA genotipine sahip 9 (%5,2) birey mevcuttur.

Allel dağılımı incelendiğinde hasta grubunda C alleleline sahip 258 (%64,5), A alleleline sahip 142 (%35,5) birey vardır. Kontrol grubunda ise C alleleline sahip 194 (%56), A alleleline sahip 152 (%44) birey bulunmaktadır (Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.). -607C>A polimorfizminin genotip ve allel dağılımı istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur. CC genotipinin CA+AA genotiplerine oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunurken CC+CA' nın AA genotipine oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 4.2.).



Şekil 4.4. -607 C>A Polimorfizminin Çalışma Grupları Arasındaki Genotip Dağılımının Grafikselleştirilmesi

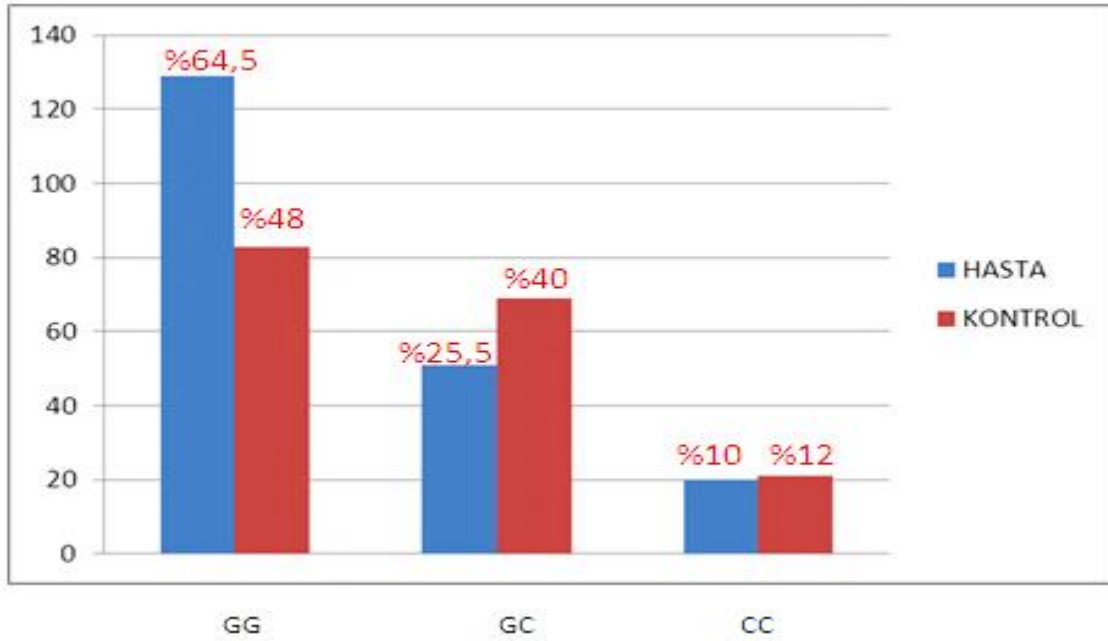


Şekil 4.5. -607 C>A Polimorfizminin Çalışma Grupları Arasındaki Allel Dağılımının Grafikselleştirilmesi

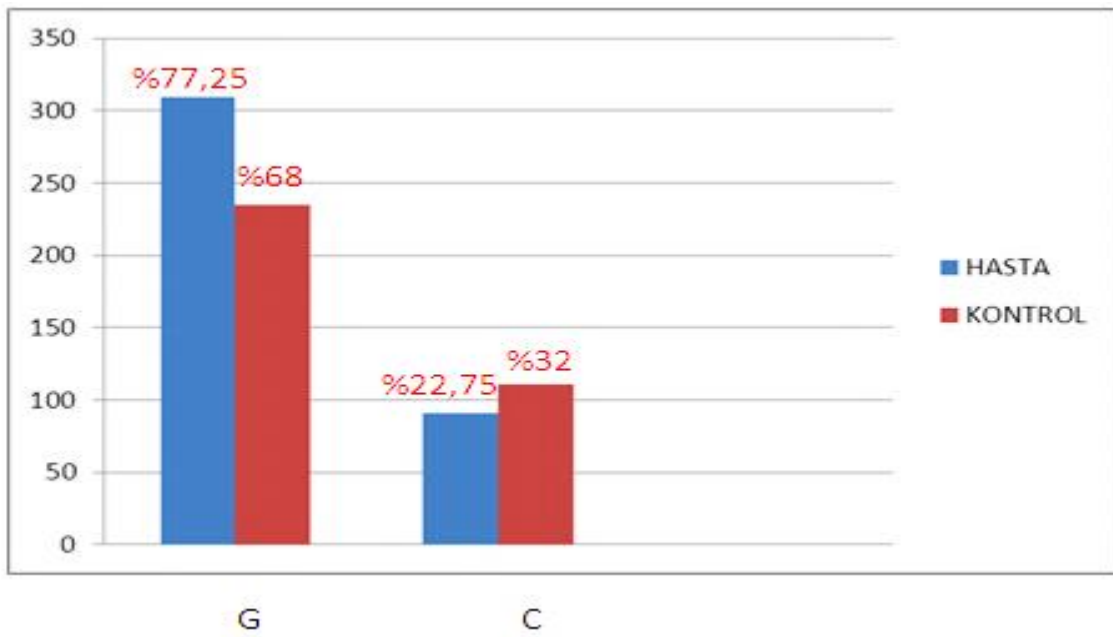
Tablo 4.2. IL-18 -607 C>A Polimorfizminin AA Hastalarında ve Kontrol Grubundaki Genotip Dağılımı ve Allel Sıklığı

IL-18 -607 C>A	Alopesi Hastaları n=200(%)	Kontrol Grubu n=173 (%)	P	OR(%95CI)
Genotipler				
CC	75 (%37,5)	30 (%17,3)		
CA	108 (%54)	134 (%77,5)	0.0000	
AA	17 (%8,5)	9 (%5,2)		
CC: CA+AA	75: 125	30: 143	0.00001	2.85(1.76–4.68)
CC+CA: AA	183: 17	164: 9	0.22	
Alleller				
C	258 (%64,5)	194 (%56)		
A	142 (%35,5)	152 (%44)	0.010	1.42 (1.06–1.91)

IL-18 geninde bulunan -137 G>C polimorfizminin çalışma grupları arasındaki dağılımı incelendiğinde ise; 200 hasta birey arasında GG genotipine sahip 129 (%64,5), GC genotipine sahip 51 (%25,5) ve CC genotipine sahip 20 (%10) birey, 173 sağlıklı birey arasında ise GG genotipine sahip 83 (%48) birey, GC genotipine sahip 69 (%40) birey ve CC genotipine sahip 21 (%12) birey mevcuttur. Allel dağılımı incelendiğinde hasta grubunda G alleleline sahip 309 (%77,25), C alleleline sahip 91 (%22,75) birey vardır. Kontrol grubunda ise G alleleline sahip 235 (%68), C alleleline sahip 111 (%32) birey bulunmaktadır (Şekil 4.6. ve Şekil 4.7.). -137 G>C polimorfizminin genotip ve allel dağılımı istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur. GG genotipinin GC+CC genotipine oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunurken GG+GC' nin CC genotipine oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 4.3.).



Şekil 4.6. -137 G>C Polimorfizminin Çalışma Grupları Arasındaki Genotip Dağılımının Grafiksel Gösterimi



Şekil 4.7. -137 G>C Polimorfizminin Çalışma Grupları Arasındaki Allel Dağılımının Grafiksel Gösterimi

Tablo 4.3. IL-18 -137 G>C Polimorfizminin AA Hastalarında ve Kontrol Grubundaki Genotip Dağılımı ve Allel Sıklığı

IL-18 -137G>C	Alopesi Hastaları n=200(%)	Kontrol Grubu n=173 (%)	P	OR(%95CI)
Genotipler				
GG	129 (%64,5)	83 (%48)		
GC	51 (%25,5)	69 (%40)	0.0046	
CC	20 (%10)	21 (%12)		
GG: GC+CC	129: 71	83: 90		0.0013
GG+GC: CC	180: 20	152: 21	0.52	
Alleller				
G	309 (%77,25)	235 (%68)	0.002	1.60(1.16–2.22)
C	91 (%22,75)	111 (%32)		

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

AA, T hücre bağımlı organa spesifik ve klinikte aniden oluşmuş kıl kaybı ile karakterize edilen otoimmün bir hastalıktır (Bertolini ve ark., 2014). Genel popülasyonun yaklaşık olarak %1-2'sini etkilemektedir. AA, her yaşta ve cinsiyette görülebilmektedir (Gregoriou ve ark., 2010). Hastalıkta yaygın olarak etkilenen bölge saçlı deri olmasına rağmen kaş, kirpik gibi deride kılın olduğu tüm bölgeler etkilenebilmektedir (Jagielska ve ark., 2012). Hastalığın ilerlemesini ve başlamasını etkileyen faktörler arasında genetik, stres, hormonlar, diet, enfeksiyon ajanları ve aşılarda bulunmaktadır (Ucak ve ark., 2014). AA'nın etiyolojisi günümüzde tam olarak anlaşılmış değildir ancak son zamanlarda yapılan klinik ve deneysel çalışmalardan hastalığın patomekanizmasına ait yeni anahtar görüşler sağlanmıştır. Bu çalışmalarda AA'nın patogeneğinde, kıl folikülündeki immün ayrıcalığın bozulmasının etkili olduğu ileri sürülmüştür (Wang ve McElwee, 2011; Ito ve Tokura, 2014). AA süresince MHC I ve MHC II ekspresyonu up-regüle olmakta, kıl foliküllerinin içinde ve etrafında CD8 ve CD4 T lenfosit infiltratları oluşmaktadır. CD8 T lenfositlerinin kıl folikülü hasarının başlıca sorumlularından biri olduğu ve CD4 T lenfositlerinin bu hücrelere yardım ettiği düşünülmektedir. T lenfositleri sitokin üretimi yaptığı için bu gözlemler çeşitli sitokin genlerinin AA'da çalışılmasına neden olmuştur (Kalkan ve ark., 2013).

IL-18 sitokini ilk olarak 1995 yılında Okamura tarafından *Propionibacterium acnes* ve lipopolisakkarit verilmiş fare karaciğerinden izole edilmiştir. IL-18 geni, inflamatuvar ve immün yanıtta kritik rollere sahiptir (Yang ve ark., 2014). IL-18, hedef hücrelerin yüzeyinde IL-18 reseptör α ve IL-18 reseptör β zincirlerine bağlanarak NF- κ B 'yi ve MAPK yolağını aktive ederek çeşitli inflamatuvar sitokinlerin uyarılmasını sağlamaktadır (Wei ve ark., 2014). IL-18, IL-12 ile beraber IFN- γ 'nın üretimini uyararak Th1 aracılı immün cevabın oluşturulmasına yardımcı olmaktadır ayrıca IL-12'nin yokluğunda Th2 tipi sitokinlerinin üretilmesini uyararak tip 2 cevabını da kısmi olarak uyarmaktadır (Kim ve ark., 2014). IFN- γ 'nın en önemli fonksiyonlarından biri, keratinositlerde MHC I ve MHC II ekspresyonunu up-regüle etmesidir (Gilhar ve ark., 2005). Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar, AA'nın uyarılmasında IFN- γ aracılı Th1 aktivasyonuna ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (Freyschmidt-Paul ve

ark., 2006). IL-18 sitokininin IFN- γ üretimi üzerindeki etkisi göz önüne alındığında IL-18 geninin AA'nın gelişiminde önemli bir katkısı olabileceği kanısındayız.

IL-18 hem immün hem de immün olmayan hücrelerde çeşitli sitokinleri, kemokinleri ve adhezyon moleküllerini uyararak inflamatuvar kaskadların etkisini güçlendirmektedir (Zhang ve ark., 2010). ICAM-1, immünoglobulin süper ailesinin üyesi ve aynı zamanda bir membran glikoproteinidir. Hücre-hücre aracılı immün cevapta merkezi bir rol almaktadır. Kohka ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada insan miyelomonosit hücre hattında (KG-1), IL-18'in ICAM-1'in ekspresyonunu seçici olarak up-regüle ettiği gösterilmiştir. IL-18, KG-1 ve Peer T hücreleri arasındaki heterotropik kümelenmeyi uyarmaktadır. Bu durum IL-18'in doku içindeki immün hücre infiltrasyonu aracılığıyla immün regülasyonda potansiyel bir rol oynadığının göstergesi olabilir (Kohka ve ark., 1998). Zhang ve ark.'ları AA'da kıl folikülü siklusunun bozulmasıyla lenfotik infiltrasyon arasında bir bağlantı olduğunu öne sürmüşlerdir (Zhang ve ark., 2015). AA'da görülen lenfotik infiltrasyonda, IL-18 geninin de aracı olabileceğini düşündürmektedir.

IL-18 pleiotropik etkilerinden dolayı kronik inflamatuvar deri hastalıklarında ve otoimmün inflamatuvar hastalıklarda sıklıkla bulunmaktadır (Zhaou ve ark., 2013). Naik ve ark.'larının yaptıkları çalışmalarda insan keratonsitlerinde üretilen IL-18 mRNA'sının ve fonksiyonel proteinin derideki inflamatuvar tepkilerin uyarılmasında geniş bir rol aldığı vurgulanmaktadır. Aynı zamanda bu çalışmada inflamatuvar deri hastalıklarının tedavisinde yeni stratejilerin belirlenmesinde, IL-18'in potansiyel bir molekül olabileceği vurgulanmaktadır (Naik ve ark., 1999). Park ve ark.'ları tarafından malignan deri tümörlerinde IL-18'in yüksek derecede ifade edildiği ve IL-18 üretiminin deri tümörlerinin ilerlemesiyle ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Park ve ark., 2001).

Fizyolojik stres; psoriasis, alopesi areata ve atopik dermatit gibi çeşitli deri hastalıklarında immün sistemi olumsuz bir şekilde etkilemektedir, ancak bu etkinin temel mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir. Takahashi ve ark.'ları endojen katekolaminlerin, epinefrinin ve norepinefrinin in vitro da insan periferik kan mononükleer hücrelerinde IL-18, TNF- α ve IFN- γ 'nın üretimini uyardığını bulmuşlardır. Bazı araştırmalarda IL-18'in stresle ilişkili olabileceği gösterilmiştir

(Zhang ve ark., 2010). Sekiyama ve ark.'ları adrenal kortekste immobilizasyon stresin, adrenokortikotropik hormon ve süperoksit aracılı kaspaz 1 aktivasyonu ile pro-IL-18'i uyardığını ve bunun sonucunda pro-IL-18'in olgun IL-18'e dönüşerek plazmaya salındığını rapor etmişlerdir (Sekiyama ve ark., 2005). Zhang ve ark.'ları dalak lenfositlerinde kontak duyarlaştırıcı yanıtında akut stresin NF- κ B DNA- bağlayıcı protein ve IL-18 mRNA ekspresyonu üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Farelerde 2,4-dinitroflorobenzen uygulanarak kontakt dermatit deneysel olarak oluşturulmuştur daha sonra bu farelere IL-18'i nötralize etmek için IL-18BP uygulandığında inflamasyonun önemli derecede azaldığı görülmüştür. Çalışmada 2 saatlik stres altında hem sağlıklı hem de duyarlaştırılmış farelerin dalak lenfositlerinde IL-18 mRNA'larının arttığı bulunmuştur. Sempatik sinir sisteminin etkisinin belirlenebilmesi için de farelere bir nörotoksin olan 6-hidroksil dopamin verildiğinde IL-18 ekspresyonunun ve NF- κ B'nin aktivasyonunun azaldığı görülmüştür. Tüm bu bulgular stresin norepinefrin yoluyla lenfositlerde IL-18'in ekspresyonu ve NF- κ B'nin aktivasyonunu uyardığını göstermektedir (Zhang ve ark., 2010).

IL-18 geni 11.kromozomun q23.1 bölgesinde bulunmaktadır (Harishankar ve ark., 2007). IL-18 geni, promotör bölgesinin -137. ve -607. pozisyonlarında iki fonksiyonel gen polimorfizmi içermektedir. Giedraitis ve ark.'ları IL-18 geninin promotör sekansını analiz ettiğinde -607. pozisyonda C allelinin A allele ve -137. pozisyonda G allelinin C allele dönüştüğünü göstermişlerdir. Çalışmada -607C>A'nın CC homozigotu olduğu veya -137 G>C'nin GG homozigotu olduğu durumlar diğer genotiplerle karşılaştırıldığında, IL-18 mRNA seviyesinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Tsai ve ark., 2013). IL-18 promotöründeki polimorfizmlerin Th1 ve Th2 sitokin yanıtları arasındaki dengeyi etkileyebileceği düşünülmektedir. Bu durumda daha düşük aktiviteye sahip allelleri taşıyan bireylerin aksine daha yüksek aktiviteye sahip allelleri taşıyanlarda enfeksiyonlara karşı oluşan direnç daha iyiye giderken otoimmün hastalıklara olan yatkınlık da artabilmektedir (Giedraitis ve ark., 2001).

Otoimmün bir hastalık olan SLE de IL-18'in serum seviyesinde bir yükselme olduğu ve bu yükselmenin SLE'nin ilerlemesiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Song ve ark., 2013). Deneysel otoimmün ensefalomiyelit (EAE)'nin akut fazında IL-18 üretiminin yükseldiği ve Lewis sıçanlarında IL-18 antikörlerinin EAE'yi

engelleyebildiği gözlemlenmiştir. İnsanlarda Crohn hastalığında IL-18 üretiminin up-regüle olduğu gösterilmiştir (Giedraitis ve ark., 2001).

Lee ve ark.'ları tarafından 21 AA hastasında ve 22 kontrolde IL-18 ve soluble IL-12 reseptörünün (sIL-12R) serum seviyesi ölçülmüştür. sIL-12R'nin konsantrasyonunda hasta ve kontrol grubu arasında fark gözlemlenmezken IL-18 konsantrasyonunun hasta grubunda daha yüksek oranda olduğu görülmüştür (Lee ve ark., 2010).

Literatürü taradığımız kadarıyla -607C>A ve -137G>C polimorfizmlerinin AA' da birlikte araştırıldığı bir çalışmaya ülkemizde rastlanılmamıştır. Ancak Kore popülasyonunda IL-18 genine ait Ser35Ser ve -137G>C polimorfizmlerinin AA'da incelendiği bir çalışma mevcuttur. Bizim yaptığımız çalışma IL-18 -607C>A polimorfizminin AA'da incelendiği ilk çalışmadır.

Çalışmamızın sonuçları hasta ve kontrol grubunda incelendiğinde IL-18 -607C>A polimorfizmi için hasta grubunda CC genotipi %20,2 oranında ve AA genotipi hasta grubunda %3,3 oranında daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubunda ise CA genotipi %23,5 oranında daha yüksek olarak bulunmuştur. IL-18 -607C>A polimorfizminin genotip dağılımının hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu bulunmuştur (p=0.0000). Allel sıklıkları incelendiğinde hasta grubunda C allelinin %8,5 daha yüksek olduğu, kontrol grubunda ise A allelinin, %8,5 oranında daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara göre C allelinin varlığı hastalığa yakınlıkla A allelinin varlığı ise hastalığa olan dirençle ilişkili olabilir. İstatistiksel olarak allel dağılımı bakımından IL-18 -607C>A polimorfizmi ile AA arasında anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur (p=0.010,OR=1.42).

IL-18 -137G>C polimorfizmi için genotip dağılımı incelendiğinde hasta grubunda GG genotipi %16,5 oranında daha yüksek olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise GC genotipi %14,5 oranında ve CC genotipi %2 oranında daha yüksek olarak bulunmuştur. Allel dağılımı incelendiğinde G allelinin hasta grubunda %9,25 oranında daha yüksek olduğu, C allelinin ise kontrol grubunda aynı oranda daha yüksek olduğu bulunmuştur. Sonuçlarımıza göre G alleli hastalığa yakınlıkla C alleli ise dirençle ilişkili olabilir. İstatistiksel olarak IL-18 -137G>C polimorfizmi hem genotip

($p=0.0046$) hem de allel bakımından AA ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur ($p=0.002$, $OR=1.60$).

Kim ve ark.'ları tarafından Kore popülasyonunda 233 AA hastasında ve 243 kontrol hastasında yapılan çalışmada IL-18 geninin ekzon bölgesinde bulunan Ser35Ser ve -137 G>C polimorfizmlerinin AA gelişimindeki ilişkisi incelenmiştir. Her iki polimorfizm de allel ve genotip dağılımı yönünden AA ile ilişkili bulunmuştur. -137 G>C polimorfizmi için AA grubunda GG genotipi (%82,4) oranında, kontrol grubunda ise (%71,4) oranında gözlenmiştir. GC genotipi hasta grubunda (%15,94), kontrol grubunda (%27,64) oranında bulunmuştur. CC genotipi ise hasta grubunda (%2,14), kontrol grubunda (%1,24) oranında bulunmuştur. Allel dağılımı incelendiğinde AA grubunda G allelinin dağılımı (%89,9), kontrol grubunda ise (%85) oranında bulunmuştur. C allelinin dağılımı hasta grubunda (%10,1), kontrol grubunda ise (%15)'dir. -137G>C polimorfizmi allel dağılımı bakımından incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.023$, $OR=0.64$) (Kim ve ark., 2014).

-137G>C bölgesi için bulduğumuz sonuçlar, Kim ve ark.'larının yaptıkları çalışmanın sonuçları ile karşılaştırıldığında, iki çalışmada da hem GG genotipi hem de G alleli hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olarak bulunmuştur. GC genotipinin ise kontrol grubunda daha yüksek olduğu bulunmuştur. Kore popülasyonunda yapılan çalışmada CC genotipi hasta grubunda (%0,9) oranında daha yüksek bulunurken bizim çalışmamızda CC genotipi kontrol grubunda daha yüksek olarak bulunmuştur (%2).

Sonuç olarak, -607C>A'nın CC homozigotu olduğu veya -137G>C'nin GG homozigotu olduğu durumlar diğer genotiplerle karşılaştırıldığında IL-18 mRNA seviyesinin daha yüksek olduğu ve AA grubunda IL-18'in seviyesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda IL-18 polimorfizimlerinin genotip dağılımı incelendiğinde AA grubunda -607 CC genotipinin %20,2 oranında yükseldiği ve -137 GG genotipinde %16,5 oranında bir yükselme olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar IL-18 -607C>A ve -137G>C polimorfizmlerinin etkisiyle hasta grubunda IL-18 protein seviyesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olabileceğini ve IL-18 seviyesindeki bu yükselmenin AA'ya olan bireysel yatkınlığı etkileyebileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızın sonuçları literatürü destekler niteliktedir.

Bizim çalışmamız Türk popülasyonunda, IL-18 genindeki iki SNP'nin de (rs1946518, rs187238) AA gelişimi ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. IL-18'in otoimmün hastalıklarla olan ilişkisi, akut stres durumunda seviyesinin yükselmesi ve IFN- γ 'nın AA gelişimindeki etkisi düşünüldüğünde, IFN- γ uyarıcı bir faktör olan IL-18'in AA gelişimine olan katkısının iyi anlaşılması için daha ileriki çalışmalara ihtiyaç vardır. Alopesi areata'nın patogenezinin anlaşılmasına yönelik olarak yapılacak olan bu çalışmalar gelecekte hastalık için daha spesifik tedavilerin geliştirilmesinde yol gösterici olacaktır.

KAYNAKLAR

- Agesta, N., Zabala, R. ve Diaz-Perez, J.L. 2002. Alopecia areata during interferon alpha-2b/ribavirin therapy. *Dermatology*, 205: 300–301.
- Alboni, S., Cervia, D., Sugama, S. ve Conti, B. 2010. Interleukin 18 in the CNS. *Journal of Neuroinflammation*, 7: 9.
- Alkhalifah, A., Alsantali, A., Wang, E., McElwee, K. J. ve Shapiro, J. 2010. Alopecia areata update Part I. Clinical picture, histopathology, and pathogenesis. *J Am Acad Dermatol*, 62: 177–88.
- Alsantali, A. 2011. Alopecia areata: a new treatment plan. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 4: 107–115.
- Alzolibani, A.A. 2011. Epidemiologic and genetic characteristics of alopecia areata. *Acta Dermatoven APA*, 20, (4).
- Arca, E., Muşabak, U., Akar, A., Erbil, A. H. ve Taştan, H.B. 2004. Interferon-gamma in alopecia areata. *Eur J Dermatol*, 14,(1).
- Aytekin, N., Akcali, C., Pehlivan, S., Kirtak, N. ve Inaloz, S. 2015. Investigation of interleukin-12, interleukin-17 and interleukin-23 receptor gene polymorphisms in alopecia areata. *Journal of International Medical Research*, 43:526–534.
- Bertolini, M., Zilio, F., Rossi, A., Kleditzsch, P., Emelianov, V. E., Gilhar, A. ve diğeri. 2014. Abnormal Interactions between Perifollicular Mast Cells and CD8+ T-Cells May Contribute to the Pathogenesis of Alopecia Areata. *Plos One*, 9, (5).

- Biran, R., Zlotogorski, A. ve Ramot, Y. 2015. The genetics of alopecia areata: New approaches, new findings, new treatments. *Journal of Dermatological Science*, 78: 11–20.
- Bodemer, C., Peuchmaur, M., Fraitag, S., Chatenoud, L., Brousse, N. ve Prost, Y. de 2000. Role of Cytotoxic T Cells in Chronic Alopecia Areata. *J Invest Dermatol*, 114: 112–116.
- Christoph, T., Müller-Röver, S., Audring, H., Tobin, D.J., Hermes, B., Cotsarelis, G. ark. 2000. The human hair follicle immune system: cellular composition and immune privilege. *British Journal of Dermatology*, 142: 862–873.
- Cotsarelis, G. 2006. Epithelial Stem Cells: A Folliculocentric View. *Journal of Investigative Dermatology*, 126: 1459–1468.
- Durdu, M., Özcan, D., Baba, M. ve Seçkin, D. 2015. Efficacy and safety of diphenylcyclopropenone alone or in combination with anthralin in the treatment of chronic extensive alopecia areata: A retrospective case series. *J Am Acad Dermatol*.
- Dy, L. C. ve Whiting, D. A. 2011. Histopathology of alopecia areata, acute and chronic: Why is it important to the clinician?. *Dermatologic Therapy*, 24: 369–374.
- Freedberg, I. M., Eisen, A. Z., Wolff, K., Austen, K. F., Goldsmith, L. A. ve Katz, S. 2003. *Fitzpatrick's Dermatology In General Medicine* (6 Baskı).
- Freyschmidt-Paul, P., McElwee, K.J., Hoffmann, R. J., Sundberg, P., Vitacolonna, M., Kissling, S. ve Zoëller, M. 2006. Interferon- γ -deficient mice are resistant to the development of alopecia areata. *British Journal of Dermatology*, 155 : 515–521.

- Gaggero, A., Ambrosio, A. D., Mezzanzanica, D., Piazza, T., Rubartelli, A., Figini, M. ark. 2004. A novel isoform of pro-interleukin-18 expressed in ovarian tumors is resistant to caspase-1 and -4 processing. *Oncogene*, 23:7552–7560.
- Giedraitis, V., He, B., Huang, W.X. ve Hillert, J. 2001. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. *Journal of Neuroimmunology*, 112: 146–152.
- Gilhar, A. 2010. Collapse of Immune Privilege in Alopecia Areata: Coincidental or Substantial?. *Journal of Investigative Dermatology*, 130: 2535–2537.
- Gilhar, A. ve Kalish, R. S. 2006. Alopecia Areata: A tissue specific autoimmune disease of the hair follicle. *Autoimmunity Reviews*, 5: 64– 69.
- Gilhar, A., Kam, Y., Assy, B. ve Kalish, R.S. 2005. Alopecia areata induced in C3H/HeJmice by interferon-gamma: evidence for loss of immune privilege. *J Invest Dermatol*, 124: 288–9.
- Gracie, J. A., Robertson, S. E. ve McInnes, I. B. 2003. Interleukin-18. *J. Leukoc. Biol.*, 73:213–224.
- Gregoriou, S., Papafragkaki, D., Kontochris, G. T., Rallis, E., Kalogeromitros, D. ve Rigopoulos, D. 2010. Cytokines and Other Mediators in Alopecia Areata. Hindawi Publishing Corporation *Mediators of Inflammation*, 2010 (5).
- Harishankar, M., Selvaraj, P., Rajeswari, D. N., Anand, S. P. ve Narayanan P. R. 2007. Promoter polymorphism of IL-18 gene in pulmonary tuberculosis in South Indian population. *International Journal of Immunogenetics*, 34: 317–320.

- Hong, S. B., Jin, S.Y., Park, H.J., Jung, J.H. ve Sim, W.Y. 2006. Analysis of the Monocyte Chemoattractant Protein 1 -2518 Promoter Polymorphism in Korean Patients with Alopecia Areata. *J Korean Med Sci*, 21: 90–4.
- Ito, T. 2013. Recent Advances in the Pathogenesis of Autoimmune Hair Loss Disease Alopecia Areata. Hindawi Publishing Corporation *Clinical and Developmental Immunology*, 2013(6).
- Ito, T. ve Tokura, Y. 2014. The role of cytokines and chemokines in the T-cell-mediated autoimmune process in alopecia areata. *Experimental Dermatology*, 23: 787–791.
- Ito, T., Ito, N., Saatoff, M., Hashizume, H., Fukamizu, H., Nickoloff, B. J. ark. 2008. Maintenance of Hair Follicle Immune Privilege Is Linked to Prevention of NK Cell Attack. *Journal of Investigative Dermatology*, 128:1196–1206.
- Jagielska, D., Redler, S., Brockschmidt, F. F., Herold, C., Pasternack, S. M., Bartels, N. G. ark. 2012. Follow-Up Study of the First Genome-Wide Association Scan in Alopecia Areata:IL13 and KIAA0350 asSusceptibility Loci Supported with Genome-Wide Significance. *Journal of Investigative Dermatology*, 132: 2192–2197.
- Kalkan, G., Karakus , N., Baş, Y., Takçı, Z., Özüğuz, P., Ateş, Ö., Yigit, S. 2013. The association between Interleukin (IL)-4 gene intron 3 VNTR polymorphism and alopecia areata (AA) in Turkish population. *Gene*, 527: 565–569.
- Khan, M. 2008. *Immunopharmacology*.

- Kim, C.D., Ryu, H.M., Choi, J.Y., Choi, H.J., Choi, H.J., Cho, J.H., Park, S.H. ark. 2008. Association of G-137C IL-18 Promoter Polymorphism With Acute Allograft Rejection in Renal Transplant Recipients. *Transplantation*, 86: 1610–1614.
- Kim, S. K., Park, H. J., Chung, J.H., Kim, J. W., Seok, H., Lew, B.L. ark. 2014. Association Between Interleukin 18 Polymorphisms and Alopecia Areata in Koreans. *Journal Of Interferon & Cytokine Research*, 34(5).
- Kohka, H., Yoshino, T., Iwagaki, H., Sakuma, I., Tanimoto, T., Matsuo, Y. ark. 1998. Interleukin-18/interferon-g-inducing factor, a novel cytokine, up-regulates ICAM-1 (CD54) expression in KG-1 cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 64.
- Lee, D., Hong, S. K., Park, S. W., Hur, D. Y., Shon, J. H., Shin, J. G. ark. 2010. Serum levels of IL-18 and sIL-2R in patients with alopecia areata receiving combined therapy with oral cyclosporine and steroids. *Experimental Dermatology*, 19:145–147.
- Li, Y., Yan, B., Wang, H., Li, H., Li, Q., Zhao, D., Chen, Y. ark. 2015. Hair regrowth in alopecia areata patients following stem cell educator therapy. *BMC Medicine*, 13:87.
- Little, S. 2001. Amplification-refractory mutation system (ARMS) analysis of point mutations. *Current Protocols in Human Genetics*, 9.
- Lo, Y.M.D., Patel, P., Newton, C.R., Markham, A.F., Fleming, K.A. ve Wainscoat, J.S. 1991. Direct haplotype determination by double ARMS: specificity, sensitivity and genetic applications. *Nucleic Acids Research*, 19 (13).

- Lotito, A.P.N., Silva, C.A.A. ve Mello, S.B.V. 2007. Interleukin-18 in chronic joint diseases. *Autoimmunity Reviews*, 6:253 – 256.
- Lu, W., Shapiro, J., Yu, M., Barekatin, A., Lo, B., Finner A. ark. 2006. Alopecia areata: pathogenesis and potential for therapy. *Expert Reviews in molecular Medicine*, 8 (14).
- Madani, S. ve Shapiro, J. 2000. Alopecia areata update. *J Am Acad Dermatol*, 42: 549-66.
- Matsui, K., Tsutsui, H. ve Nakanishi ,K. 2003. Pathophysiological roles for IL-18 in inflammatory arthritis. *Expert Opin. Ther. Targets* , 7, 6: 701-724.
- Messenger, R. ve Simpson, N. 1997. Alopecia areata. In *Diseases of the Hair and Scalp*. Blackwell Science Oxford, 338–69.
- Miao, Y., Kang, Z., Xu, F., Qi, S., Sheng, Y., Han, Y. ark. 2013. Association Analysis of the IL2RA Gene with Alopecia Areata in a Chinese Population. *Dermatology*, 227: 299–304.
- Naik, S. M., Cannon, G., Burbach, G. J., Singh, S. R., Swerlick, R. A., Wilcox, J. N. ark. 1999. Human Keratinocytes Constitutively Express Interleukin-18 and Secrete Biologically Active Interleukin-18 After Treatment with Pro-Inflammatory Mediators and Dinitrochlorobenzene. *J Invest Dermatol*, 113: 766–772.
- Park, Christy. C., Morel, J. C. M., Amin, M. A., Connors,M. A., Harlow, L. A., ve Koch, A. E. 2001. Evidence of IL-18 as a Novel Angiogenic Mediator. *J Immunol*, 167: 1644-1653.

- Patzelt, A., Knorr, F., Blume-Peytavi, U., Sterry, W. ve Lademann, J. 2008. Hair follicles, their disorders and their opportunities,.Drug Discovery Today: Disease Mechanisms, 5(2).
- Pffor, J., Blaumeiser, B., Becker, T., Freudenberg-Hual, Y., Hanneken, S., Eigelshoven, S. ark. 2006. Investigation of the p.Ser2 78Arg polymorphism of the autoimmune regulator (AIR E) gene in alopecia areata. Journal compilation, 68: 58–61.
- Rihs , H.P., Lotz , A., Ruëff , F., Landt , O., Brüning, T. ve Heimsoth, M. R. 2012. Impact of Interleukin-13 and -18 Promoter Polymorphisms in Health Care Workers with Natural Rubber Latex Allergy. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A , 75: 515 – 524.
- Sedimbi, S. K., Hägglöf, T. ve Karlsson, M. C. I. 2013. IL-18 in inflammatory and autoimmune disease. Cell. Mol. Life Sci., 70: 4795–4808.
- Sehgal, V. N. ve Jain, S. 2002. Alopecia areata: past perceptions. International Journal of Dermatology, 41:189–190.
- Sekiyama, A., Ueda, H., Kashiwamura, S., Nishida, K., Kawai, K., Teshima-Konda, S. ark. 2005. Il-18: a cytokine translates a stress into medical science.J.MED.INVEST, 52: 236-239.
- Seok, H., Jeon, H. S., Park, H. J., Kim, S. K., Choi, J. H., Lew, B.L. ark. 2014. Association of HSPA1B SNP rs6457452 with Alopecia Areata in the Korean Population. Immunological Investigations, 43(3), 212–223.

- Seok, H., Suh, D. W., Jo, B., Lee, H. B., Jang, H. M., Park, H. K. ark. 2014. Association between TLR1 polymorphisms and alopecia areata. *Autoimmunity*, 1–6.
- Somma, M. ve Querci, M. (ty) Agarose Gel Electrophoresis. *The Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms*, 5.
- Song, G. G., Choi, S. J., Ji, J. D. ve Lee, Y. H. 2013. Association between interleukin-18 polymorphisms and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*, 40:2581–2587.
- Spano, F. ve Donovan, J. C. 2015. Alopecia areata. *Can Fam Physician*, 61:751-5.
- Sundberga, J.P., Silvaa, K. A., Edwards, K., Black, S., A. Jenson, B. ve King, L. E. 2007. Failure to induce alopecia areata in C3H/HeJ mice with exogenous interferon gamma. *Journal of Experimental Animal Science*, 43:265 – 270.
- Teixeira, A.C., Mendes-Junior, C.T., Marano, L.A., Deghaide, N.H.S., M. Secaf, Elias-Junior, J. ark. 2013. Alleles and genotypes of polymorphisms of IL-18, TNF- α and IFN- γ are associated with a higher risk and severity of hepatocellular carcinoma (HCC) in Brazil. *Human Immunology*, 74:1024–1029.
- Tsai, H. T., Hsin, C. H., Hsieh, Y. H., Tang, C. H., Yang, S. F., Lin, C. W. ark. 2013. Impact of Interleukin-18 Polymorphisms -607A/C and -137G/C on Oral Cancer Occurrence and Clinical Progression. *Plos One*, 8(12).
- Ucak, H., Cicek, D., Demir, B., Erden, I. ve Ozturk, S. 2014. Prognostic factors that affect the response to topical treatment in patchy alopecia areata. *JEADV*, 28: 34–40.

- Villasante, A. C. ve Miteva, F. M. 2015. Epidemiology and burden of alopecia areata: a systematic review. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 8:397–403.
- Wang, E. ve McElwee, K. J. 2011. Etiopathogenesis of alopecia areata: Why do our patients get it?. *Dermatologic Therapy*, 24: 337– 347.
- Wang, E., Chong, K., Yu, M., Akhoundsadegh, N., Granville, D. J., Shapiro, J. ve McElwee, K. J. 2013. Development of Autoimmune Hair Loss Disease Alopecia Areata Is Associated with Cardiac Dysfunction in C3H/ HeJ Mice. *Plos One*, 8 (4).
- Wasserman, D., Guzman-Sanchez, D. A., Scott, K. ve McMichael, A. 2007. Alopecia areata. *International Journal of Dermatology*, 46:121–131.
- Wei, H., Wang, D., Qian, Y., Liu, X., Fan, S., Yin, H.S. ark. 2014. Structural basis for the specific recognition of IL-18 by its alpha receptor. *FEBS Letters* 588:3838–3843.
- Xing, L., Dai, Z., Jabbari, A., Cerise, J. E., Higgins, C. A., Gong, W. ark. 2014. Alopecia areata is driven by cytotoxic T lymphocytes and is reversed by JAK inhibition. *Nat Med*, 20(9), 1043–1049.
- Xu, Q., Tin, S. K., Paramalingam, S. S., Thumboo, J., Koh, D. R. ve Fong, K. Y. 2007. Interleukin-18 Promoter Gene Polymorphisms in Chinese Patients With Systemic Lupus Erythematosus: Association With CC Genotype at Position – 607. *Ann Acad Med Singapore*, 36:91-5.

Yang, J., Chen, L., Xu, B., Xu, J., Sun, J., Shen, W. ark. 2014. Intracellular Distributing and Interferon- γ Secretion of Human Interleukin-18 in BxPC-3 Cells. *Int. J. Med. Sci.*, 11(2), 172-179.

Zhang, J., Li, L., Lu, Q., Xiao, R., Wen, H., Yan, K. ark. 2010. Acute stress enhances contact dermatitis by promoting nuclear factor- κ B DNA-binding activity and interleukin-18 expression in mice. *Journal of Dermatology*, 37: 512–521.

Zhang, X., Zhao, Y., Ye, Y., Li, S., Qi, S., Yang, Y. ark. 2015. Lesional infiltration of mast cells, Langerhans cells, T cells and local cytokine profiles in alopecia areata. *Arch Dermatol Res*, 307:319–331.

Zhou, J., Shang, J., Song, J. ve Ping, F. 2013. Interleukin-18 augments growth ability of primary human melanocytes by PTEN inactivation through the AKT/NF- κ B pathway. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45:308–316.

<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL-18>

<http://what-when-how.com/acp-medicine/cell-cell-interactions-cytokines-and-chemokines-in-immune-response-mechanisms-part-2/>

<http://www.openepi.com>

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Sümeyya Deniz ÇELİK

Doğum Yeri: MERKEZ/TOKAT

Doğum Tarihi: 01.06.1991

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu

Yüksek Lisans: 2013- Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Lisans: 2009- 2013 Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Lise: 2005- 2009 Tokat Mehmet Akif Ersoy Lisesi

Staj Eğitimi

2012- Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Merkezi Genobilim Dalı

2011- Tokat Devlet Hastanesi Bakteriyoloji Laboratuvarı

2010- Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Proje Görevleri

‘Akut Bronşiolitli Bebeklerde Sürfaktan Protein A ve D Polimorfizmlerinin Araştırılması’ (Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi) – Başlıklı projede Yardımcı Araştırmacı

Katıldığı Kongre, Çalıştay ve Sempozyumlar

7- 8 Nisan 2012 VII. Moleküler Biyoloji ve Genetik Kongresi /İstanbul

Posterler

27–30 Ekim 14. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi/ Ölüdeniz Fethiye

Saime SEZER, Ömer ATEŞ, Nihan BOZKURT, Gökür Kalkan, Emel ENSARİ,
Sümeyya Deniz ÇELİK ‘Alopesi Areata’da CTLA–4 Geni 49A/G ve CT60 G/A
Polimorfizmlerinin Analizi’

Sertifikalar

3th Applied Cell Culture and Molecular Biology Researches Course

ISO 9001: 2008 Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitimi

ISO 14001:2004 Çevre Yönetim Sistemi Temel Eğitimi

OHSAS 18001:2007 İş Sağlığı Güvenliği Yönetim Sistemi Temel Eğitimi

ISO 10001: 2004 Müşteri Memnuniyeti Yönetim Sistemi Temel Eğitimi