



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**AR *Stu*I GEN POLİMORFİZMİNİN ANDROGENETİK
ALOPESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Serpil KIRMIZI

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ADLİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hatice ERDİ ŞANLI

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. Zeliha KAYAALTI

2014- ANKARA



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**AR *Stu*I GEN POLİMORFİZMİNİN ANDROGENETİK
ALOPESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Serpil KIRMIZI

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ADLİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hatice ERDİ ŞANLI

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. Zeliha KAYAALTI

2014- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalı
Adli Biyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

16.09.2014

Jüri Başkanı
Prof. Dr. İ.Hamit HANCI
Ank.Ü. Tıp Fakültesi

Üye
Prof. Dr. Hatice ERDİ ŞANLI
Ank.Ü. Tıp Fakültesi.

Üye
Doç. Dr. Onur ERDEM
G.A.T.A

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|----------|
| Kabul ve Onay | ii |
| İçindekiler | iii |
| Önsöz | vi |
| Simgeler ve Kısaltmalar | vii |
| Şekiller | viii |
| Çizelgeler | x |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1.Kılın embriyolojisi | 1 |
| 1.2. Kılın anatomisi | 3 |
| 1.3. Kılın histolojik yapısı | 5 |
| 1.4. Saç döngüsü | 8 |
| 1.4.1. Anajen faz | 8 |
| 1.4.2. Katajen faz | 9 |
| 1.4.3. Telojen faz | 9 |
| 1.5.Saç kılının biyokimyasal yapısı | 11 |
| 1.6. Kıl büyümesinin kontrolü | 12 |
| 1.7. Kıl tipleri | 12 |
| 1.8. Kıl rengi | 12 |
| 1.9. Alopesi | 13 |
| 1.9.1. Androjenetik alopesi | 14 |
| 1.9.1.1. Androjenetik Alopesinin Tanımı | 14 |
| 1.9.1.2. Androjenetik Alopesinin Sınıflandırılması | 16 |
| 1.9.1.3. Androjenetik Alopesinin Nedenleri | 21 |
| 1.9.1.3.1.Androjenler | 21 |
| 1.9.1.3.2. Büyüme faktörleri | 24 |
| 1.9.1.3.3. Yaş | 24 |
| 1.9.1.3.4. Genetik faktörler | 25 |
| 1.9.1.4. Androjenetik Alopesinin Klinik Özellikleri | 28 |
| 1.9.1.5. Androjenetik Alopesinin Tedavisi | 29 |

| | |
|---|-----------|
| 1.10. Genetik polimorfizm | 32 |
| 1.10.1. Polimorfizm çeşitleri | 33 |
| 1.10.2. SNP'lerin protein oluşumu üzerine etkileri | 35 |
| 1.11. Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction:PCR) | 36 |
| 1.11.1. PCR'ın aşamaları | 36 |
| 1.11.2. Standart PCR bileşenleri | 38 |
| 1.12. RFLP(Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi: Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi | 40 |
| 1.12.1. Restriksiyon endonükleaz (RE) enzimlerinin sınıflandırılması | 40 |
| 1.13. Gen ekspresyonu | 41 |
| 2. GEREÇ VE YÖNTEM | 44 |
| 2.1.Gereçler | 44 |
| 2.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler | 44 |
| 2.1.2.Kullanılan Araç ve Gereçler | 44 |
| 2.1.3.Deney Protokolü | 45 |
| 2.1.3.1.Çalışma Grubunun Seçilmesi | 45 |
| 2.1.3.2.Çalışma ve Kontrol Grubundan Biyolojik Materyalin Toplanması | 46 |
| 2.1.4.Yöntem | 46 |
| 2.1.4.1. Saç Dökülmesinde Etkili Olduğu Düşünülen AR <i>StuI</i> Restriksiyon Bölgesindeki G→A Polimorfizminin Belirlenmesi | 46 |
| 2.1.4.1.1.Yöntemde Kullanılan Çözeltiler | 46 |
| 2.1.4.2. AR <i>StuI</i> Restriksiyon Bölgesi Gen Polimorfizminin Genotipinin Belirlenmesi | 47 |
| 2.1.4.2.1.Swab Örneklerinden DNA İzolasyonu | 47 |
| 2.1.4.2.2.Genomik DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi ile Belirlenmesi ve %0.5'lik Agaroz Jel Hazırlanması | 48 |
| 2.1.4.2.2.1.Agaroz Jel'e Yükleme İçin Örnek Hazırlanması ve Yürütme Koşulları | 49 |
| 2.1.4.2.3. PCR | 49 |
| 2.1.4.2.3.1.Primer Listesi | 50 |
| 2.1.4.2.3.2.PCR Bileşenleri ve PCR Programı | 50 |
| 2.1.4.2.3.3.PCR Ürünlerinin Jele Uygulanması ve Elektroforez | 52 |
| 2.1.4.2.4.PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimi ile Kesilmesi (RFLP) | 52 |

| | |
|--|-----------|
| 2.1.4.2.4.1.Kullanılan Kesim Koşulları | 53 |
| 2.1.4.2.4.2.Kesim Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezine Uygulanması ve Genotip Tayini | 53 |
| 2.1.5.İstatistiksel Analiz Yöntemi | 54 |
| 3.BULGULAR | 55 |
| 3.1. AR <i>StuI</i> Restriksiyon Bölgesindeki G→A Polimorfizmini Belirlemek Amacıyla Yapılan Analiz Sonuçları | 55 |
| 3.1.1. Genomik DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi ile Belirlenmesinin Sonuçları | 56 |
| 3.1.2. PCR Reaksiyonu ile AR <i>StuI</i> Restriksiyon Bölgesinin Amplifikasyon Sonuçları | 56 |
| 3.1.3. <i>StuI</i> Restriksiyon Enzimi ile Amplifiye Edilen Bölgenin Kesim Sonuçları | 57 |
| 3.1.3.1. DNA Örneklerinin Genotiplendirilmesi | 58 |
| 3.1.3.2. "G/G" Genotipli Homozigot Tipik Bireyler | 58 |
| 3.1.3.3. "A/A" Genotipli Homozigot Atipik Bireyler | 59 |
| 3.1.3.4. "A/G" Genotipli Heterozigot Bireyler | 60 |
| 3.2. AR <i>StuI</i> Restriksiyon Bölgesi Gen Polimorfizminin Araştırıldığı Bireylerin Fenotipik ve Genotipik Açından Değerlendirilmesi | 62 |
| 3.2.1. AR <i>StuI</i> Restriksiyon Bölgesi Genotiplerinin Androjenetik Alopesi ile İlişkisinin Değerlendirilmesi | 62 |
| 3.2.2. AR <i>StuI</i> Restriksiyon Bölgesi Genotiplerinin Androjenetik Alopesi Derecelerine Göre Dağılımının Değerlendirilmesi | 63 |
| 3.2.3. AR <i>StuI</i> Restriksiyon Bölgesi Gen Polimorfizmi-Saç Dökülme Yaşı İlişkisi | 64 |
| 3.2.4. Çalıştığımız Populasyonun Hardy-Weinberg Dengesinin Tespiti | 65 |
| 4. TARTIŞMA | 67 |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER | 73 |
| ÖZET | 75 |
| SUMMARY | 76 |
| KAYNAKLAR | 77 |
| EK-1 | 87 |
| EK-2 | 88 |
| ÖZGEÇMİŞ | 89 |

ÖNSÖZ

Adli yönden, olay yerinde bulunan biyolojik örneklerden hareketle suçluya ulaşılması son yıllarda önem kazanmıştır. Saçlardaki seyreklik veya saçsızlık bireylerin belirgin fiziksel özelliklerinden birisi olduğundan, toplumumuzda alopesiyi belirleyen genlerdeki polimorfizmler ile ilgili çalışmalar genotip- fenotip ilişkisi yönünden değerlendirilebilecek veriler olabilir. Bu çalışmada, alopesiye neden olduğu başka toplumlarda belirlenmiş olan AR *StuI* restriksiyon bölgesi (rs6152) gen polimorfizmlerinin toplumumuzdaki yaygınlığı ve bunun bireylerin saçlarındaki yoğunluğa olan etkisi araştırılacaktır.

Tezimin hazırlanmasında yol gösteren, bilimsel ve sosyal desteğini her zaman yanımda hissettiğim hocam Sayın Prof. Dr. Tülin SÖYLEMEZOĞLU'na,

Tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Hatice ERDİ ŞANLI'ya,

Çalışmalarıma yön veren, araştırmaların ve deneylerin yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen, her türlü durumda anlayışlı davranan danışmanım, sevgili hocam Sayın Doç. Dr. Zeliha KAYAALTI'na,

Örneklerin analizleri için hazırlanmasında emeği geçen, her zaman yanımda olduğunu hissettiğim Dr. Bio. Dilek AKYÜZLÜ'ye,

Tezim için gerekli olan biyolojik materyallerin toplanması aşamasındaki yardımlarından dolayı Uzm. Bio. Yasemin KARTAL'a ve diğer tüm arkadaşlarıma,

Anlayış ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen canım annem Meryem KIRMIZI ve ağabeyim Serkan KIRMIZI'ya sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|----------|---|
| A | Adenin |
| AGA | Androjenetik alopesi |
| bp | Baz çifti (Base pair) |
| C | Sitozin |
| DNA | Deoksiribonükleik asit |
| dNTP | Deoksiribonükleozidtrifosfat |
| DTT | Dithiothreitol |
| EDTA | Etilen diamin tetraasetik asit |
| ETSK | Erkek tipi saç kaybı |
| F primer | Forward Primer |
| g | Gram |
| G | Guanin |
| KTSK | Kadın tipi saç kaybı |
| M | Molarite |
| mg | Miligram |
| ml | Mililitre |
| mM | Milimolar |
| NaCl | Sodyumklorür |
| PCR | Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction) |
| R primer | Reverse Primer |
| RE | Restriksiyon Endonükleaz |
| RFLP | Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi |
| RNA | Ribonükleik Asit |
| SDS | Sodyum Dodesil Sülfat |
| SNP | Tek Nükleotid Polimorfizm (Single Nucleotid Polymorphism) |
| T | Timin |
| TBE | Tris-Borik asit-EDTA |
| TE | Tris-EDTA |
| U | Urasil |
| µg/ml | Mikrogram/mililitre |
| µl | Mikrolitre |

ŞEKİLLER

| | |
|--|----|
| Şekil 1.1. Kılın foliküler yapısı. | 2 |
| Şekil 1.2. Kıl folikülünün görüntüsü | 4 |
| Şekil 1.3. Kıl folikülünün transvers görünümü. | 7 |
| Şekil 1.4. Kıl folikülünün longitudinal görüntüsü | 8 |
| Şekil 1.5. Kıl folikülünün döngüsü I | 11 |
| Şekil 1.6. Kıl folikülünün döngüsü II | 12 |
| Şekil 1.7. Saçlı deri bölgeleri | 16 |
| Şekil 1.8. Norwood- Hamilton saç skalası | 17 |
| Şekil 1.9. Ogata'nın AGA sınıflama skalası | 18 |
| Şekil 1.10. Bouhanna AGA sınıflama skalası | 19 |
| Şekil 1.11. Olsen'in çam ağacı görüntüsü | 20 |
| Şekil 1.12. Olsen'in AGA sınıflaması | 21 |
| Şekil 1.13. Rejyonel saç dansite skalası | 21 |
| Şekil 1.14. Ludwig AGA sınıflaması | 22 |
| Şekil 1.15. Savin saç skalası | 22 |
| Şekil 1.16. Sinclair beş evreli görsel analog skalası | 23 |
| Şekil 1.17. Androjenik etki mekanizması | 26 |
| Şekil 1.18. Genlerde meydana gelebilecek değişiklikler | 28 |
| Şekil 1.19. Transisyon ve transversiyon ile tek nükleotid değişiminin gösterilmesi | 36 |
| Şekil 1.20. İnsersiyon ve çerçeve kayması oluşumunun şematik gösterimi | 37 |
| Şekil 1.21. Delesyon ile kod eksilmesinin şematik gösterimi | 38 |
| Şekil 1.22. SNP | 39 |
| Şekil 1.23. PCR programı | 41 |
| Şekil 1.24. PCR'in aşamaları | 42 |
| Şekil 1.25. Taq-DNA polimeraz enzimi | 43 |
| Şekil 1.26. Gen sentezi başlama aşamasının şematik gösterimi | 47 |
| Şekil 2.1. PCR ile çoğaltılan 416 bp'lik baz dizilimi, AR Stu1-F ve AR Stu1-R primerleri | 58 |
| Şekil 2.2. <i>Stu1</i> enziminin tanıma bölgesi | 60 |

| | |
|---|----|
| Şekil 3.1. AR geninin X kromozomu üzerindeki lokasyonu | 63 |
| Şekil 3.2. Amplifikasyonun jel görüntüsü | 64 |
| Şekil 3.3. <i>StuI</i> restriksiyon enziminin tanıma bölgesi ve kesim ürünlerinin şematik gösterimi | 64 |
| Şekil 3.4. 416 bp'lik amplifikasyon ürününün homozigot tipik bireylerde, <i>Stu I</i> enzimi ile kesim sonucunda oluşan oligonükleotid uzunlukları | 65 |
| Şekil 3.5. 416 bp'lik amplifikasyon ürününün homozigot atipik bireylerde oluşan oligonükleotid uzunlukları | 66 |
| Şekil 3.6. 416 bp'lik amplifikasyon ürününün heterozigot bireylerde oluşan oligonükleotid uzunlukları | 67 |
| Şekil 3.7. AR <i>StuI</i> genotiplerinin tüm popülasyonda dağılımı | 69 |
| Şekil 3.8. Alopesi gruplarının genotip frekanslarının dağılımı | 71 |
| Şekil 4.1. Androjenik etki mekanizması 2 | 75 |

ÇİZELGELER

| | |
|---|----|
| Çizelge 1.1. Standart bir PCR’da bulunması gereken bileşenler ve miktarları | 44 |
| Çizelge 2.1. Amplifikasyonda kullanılan primerler ve özellikleri. | 56 |
| Çizelge 2.2. PCR bileşenleri ile stoktaki ve reaksiyondaki konsantrasyonları. | 57 |
| Çizelge 2.3. AR <i>StuI</i> gen polimorfizmi için PCR şartları. | 58 |
| Çizelge 3.1. Çalışmadaki bireylerin yaş dağılımı. | 61 |
| Çizelge 3.2. Bireylerin fenotip frekansları. | 62 |
| Çizelge 3.3. PCR’da kullanılan primerler, kromozom üzerindeki lokalizasyonları ve amplifiye edilen bölgenin nükleotid dizilimleri. | 63 |
| Çizelge 3.4. <i>StuI</i> enzimi ile kesilen baz çiftlerinin bant uzunlukları. | 67 |
| Çizelge 3.5. AR <i>StuI</i> gen polimorfizmi ile oluşan genotip ve alel frekansları. | 68 |
| Çizelge 3.6. Bireylerin genotipik açıdan değerlendirilmesi. | 69 |
| Çizelge 3.7. Alopesi gruplarının genotip frekanslarının dağılımı | 71 |
| Çizelge 3.8. AR <i>StuI</i> gen polimorfizmi-dökülme yaşı ilişkisi. | 72 |
| Çizelge 3.9. Çalıştığıma grubumuzun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığının tespiti. | 72 |
| Çizelge 4.1. Çalışmaların genel bilgileri. | 76 |
| Çizelge 4.2. Yapılan çalışmalardaki genotip dağılımı ve frekansları | 77 |

1. GİRİŞ

1.1.Kılın Embriyolojisi

Kıl folikülü embriyonik dönemde baştan ayaklara doğru ektodermik orijinli primitif epidermis hücrelerinin mezodermik orijinli mezenşimal hücrelerle etkileşimi sonucu ortaya çıkar (Paus ve Cotsarelis, 2004). Anne karnında ilk kıl folikülleri gebelik döneminin 9. haftasında kaş, dudak ve çene bölgesinde görülmeye başlar. 16. haftada bu bölgelerde kıl shaftı biçimlenir, yaklaşık 22. haftada bütün yüzey foliküllerinin gelişimi tamamlanmıştır (Falco ve ark., 2000; Karıncaoğlu, 2006).

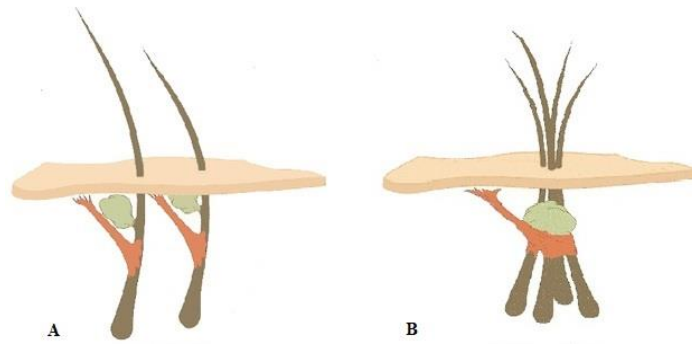
Embriyonik gelişimde ilk olarak epidermis bazal hücrelerinin çekirdekleri merkezde toplanır. Bazal tabaka hücreleri kübik veya silindirik hale gelirler. Epidermis kalınlaşır ve dermise doğru hafif çıkıntı yapar; bu aşamada, ileride kıl matriksini oluşturacak kıl tomurcuğunun oluşumu iyice belirginleşmiştir. Kıl tomurcuğu genişledikçe asimetric hale gelir ve aşağıya doğru oblik biçimde büyür. ‘Hair peg’ olarak adlandırılan hücre kolununun serbest ucu hafifçe konkavdır ve dermal papillayı oluşturacak mezodermal hücre birikimini önüne katarak ilerler. Folikül uzadıkça alt uç bulboz hale gelir ve dermal papillayı sarar. Folikülün arka kenarında iki tomurcuk gözlenmeye başlar. Tomurcukların gözlendiği bu alana “Bulge” alanı adı verilir. Bunlardan üstteki yağ bezi tomurcuğu, alttaki ise errektor pili kasının yapışma yeridir (Ebling, 1987; Topal, 2008). Bulge alanı kıl büyümesinde anahtar role sahiptir çünkü bu alan kıl folikül epitel kök hücrelerini içermektedir (Kumbasar, 2005).

Embriyonik epidermal çıkıntıdan oluşan multipoten kök hücrelerinin stimülasyonu sonucu birbiriyle ilişkili üç epitelyal silindir oluşur. Merkez silindir kıl shaftını oluşturur. En dış silindir dış kök kılıfı, orta silindir iç kök kılıfını oluşturur. Dıştan içe doğru iç kök kılıfında henle ve huxley tabakaları, kütikul, korteks ve medulla oluşur. Doğumdan önceki kıl folikülleri renksiz, ince ve yumuşak olup lanugo ismiyle anılırlar. Anne karnında deri gelişimi boyunca her kıl folikülü iki lanugo kıl

şaftı oluşturur. İlki koyu, ince, uzun lanugo kılları olup bunlar gebeliğin 7-8. ayında dökülür. İkincisi az pigmentli olan ve doğumdan yaklaşık 3-4 ay sonra dökülen lanügo kıllarıdır. Doğumdan sonra kılların bir kısmı güçlü pigmentli kıllara dönüşürken (terminal kıllar), bazıları yine renksiz ve yumuşak (vellus), kalanlar da bu iki tipin arasındadırlar (intermediate). Bir kez folikül yapısı oluştuğundan sonra yaşam boyu yeni kıl folikülü gözlenmez (Karıncaoğlu, 2006; Topal, 2008; Kumbasar, 2005).

Saç tomurcuğu bir çeşit kılıf içinde yer almakta olup hücrelerin bölünmesi esasına göre saçı büyüten temel ünitesidir çünkü papilla adı verilen ve kan damarları açısından zengin kısmı sarar. Söz konusu bölümler damarlar tarafından beslendiği için canlıdır. İşte bu canlı üniteye bir bütün halinde ‘folikül’ adı verilir. Bir folikülün canlı kalabilmesi için damarlar tarafından beslenmesi, sinir uçları tarafından uyarılması ve kaslar tarafından yönlendirilmesi, desteklenmesi gerekmektedir.

Foliküller, insan vücudunda üniteler halinde dizilmişlerdir. Bu üniteler ön saç çizgisi ve kulak üstlerinde olduğu gibi tek bir folikül veya ense bölgesinin üst tarafı yani iki kulak arasındaki oksipital bölgede olduğu gibi ikili, üçlü, dörtlü hatta nadiren daha fazla folikül içerebilir (Şekil 1.1.).



Şekil 1.1. Kılın foliküler yapısı. A-Tek folikül, B- Foliküler ünite

1.2.Kılın Anatomisi

Anajen fazdaki bir terminal kıl folikülünü deriden yüzeye doğru incelediğimizde yedi ayrı anatomik bölgeye ayırabiliriz (Şekil 1.2.).

1) Kıl bulbusu: Foliküler yapının en derin kısmıdır ve foliküler yapıyı çevreler. Bulbusun en geniş olan bölgesine Auber'in kritik hattı denir. Bu hattın altında kalan kısımda kıl büyümesini sağlayan mitotik aktivite ve ayrıca iç kök kılıfının oluşumu gerçekleşir.

2) Alt bölüm (inferior): Saçı dikleşmesinde görev alan kıl kasının (errector pili muscle) yapıştığı bölgeden folikülün tabanına kadar olan bölgedir. Folikül tabanında saç soğanı (hair bulb)bulunur. Saç soğanı; saç matriksi ve dermal papilla hücrelerinden oluşur.

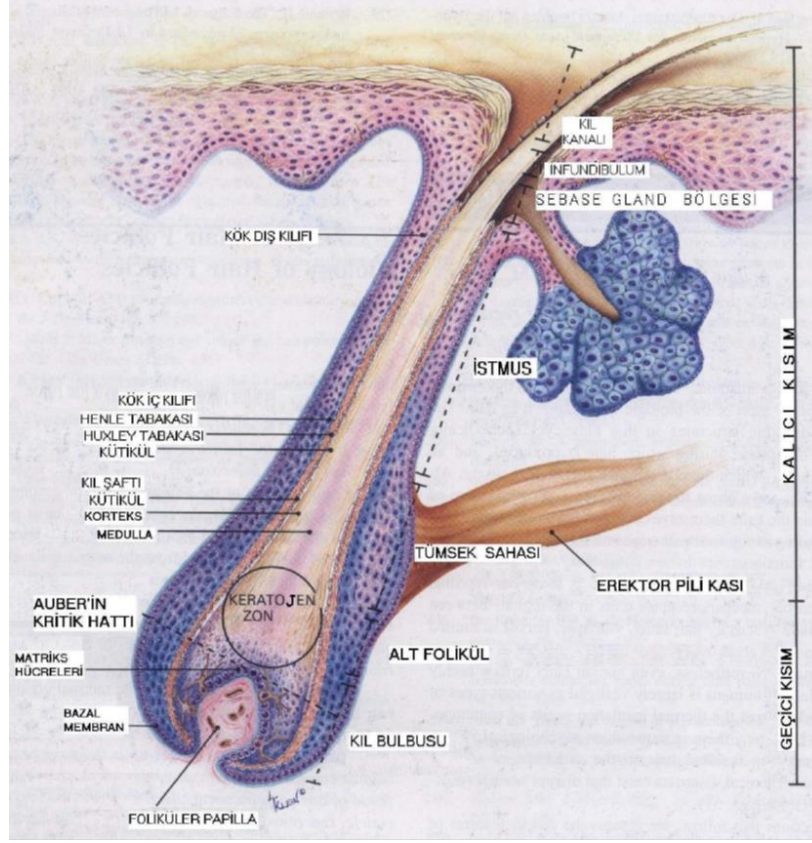
3) Bulge (çıkıntı) alanı: Erektör pili kasının yapıştığı ve folikül kök hücrelerinin yoğun olduğu bölge.

4) Orta bölüm (istmus): Yağ bezinin girişi ile kıl kasının (errector pili muscle) yapıştığı bölgeye kadar olan kısım. Arrector pili kasının yapıştığı bölgeye BULGE Bölgesi (Bulge Region) denir. Bu bölge Kök Hücre çalışmalarında büyük önem taşımaktadır.

5) Sebace bez

6) Üst bölüm (infundibulum): Saçın çıkış deliğinden, yağ bezinin (sebaceous gland) foliküle bağlandığı noktaya kadar olan kısım.

7) Kıl kanalı bölgesi: Deri yüzeyinden epidermal-dermal bileşkeye kadar olan bölgedir(Coşkun ve ark., 2006; Topal, 2008; Kumbasar, 2005).



Şekil 1.2. Kıl folikülünün görüntüsü

Katagen fazın başında kıl matriksi kaybolur ve papillayı çevreleyen epitel hücreleriyle yer değiştirir. Epitel hücrelerin nükleusu piknotiktir (yoğunlaşmış kromatin içeren) ve folikülün alt kısmında apoptoz gerçekleşir. Epitel hücreler yukarı doğru hareket eder. Epitel hücreler yukarı doğru hareket ettikçe geride büzülmüş fibröz kök kılıfı kalır ve buna da “stela” denir. Epitel hücreler üst kısımda “club” kıl oluştururlar. Katagen dönemin başlarında club hücrelerde çekirdek bulunurken merkezden dışa doğru kornifikasyonun başladığı dönemde nükleus kaybolmaya başlar (Rebora ve ark., 2005; Kumbasar, 2005).

Katagen fazın sonunda telogen faz başlar ve kıl papillası iğsi şekilli nükleuslardan oluşan hücrelerle dolar. Papilla epitel hücrelerin altında yer alır ve buna sekonder kıl germ veya telogen germ ünitesi denir. Bu ünitenin üstünde telogen club gittikçe kornifiye olur ve santrifugal bir yayılım gösterir. Bu kornifikasyon yaklaşık 3 ay

boyunca devam eder ve sonunda kıl sapı folikülden ayrılır (Rebora ve ark., 2005; Kumbasar, 2005; Topal, 2008).

1.3. Kılın Histolojik Yapısı

Kıllar epidermal epitelin invajinasyonu sonucunda oluşan elonge keratinize yapılardır. Kılların rengi ve büyüklüğü ırka, yaşa, cinsiyete ve vücut bölgesine göre değişir. Avuç içi, ayak tabanı, dudak, glans penis, klitoris, labia minora dışında her yerde bulunurlar. İnsan vücudunda ortalama 5 milyon kıl folikülü bulunmaktadır. Erişkin bir insanın saçla kaplı deri yüzeyi yaklaşık 1000 cm² dir. Her cm² ye ortalama 100 saç teli düşmektedir. Normal bir erişkinin saçlı derisinde ortalama 100 bin saç teli vardır. Bu rakam beyaz ırk içindir. Sarı ırkta bu sayı 140 bin civarında, esmer ırkta 110 bin civarındadır (Guarrera ve ark., 1996). Her kıl, epidermal invajinasyondan yani kıl folikülünden gelişir (Guarrera ve ark., 1998) . Kıl folikülü horizontal kesitte histolojik olarak 3 ayrı bölümden oluşur (Kumbasar, 2005).

1) Kütikül: En dışta kalan, kornifiye hücrelerden oluşan tabakadır (Karıncaoğlu, 2006). Kütikül hücrelerinin uzunluğu ortalama 120 mm, eni ise 20-80 mm'dir. Kütikül, transmisyon elektron mikroskopisi ile horizontal kesit alınarak incelendiğinde dıştan içe doğru A- tabakası, ekzo-kütikül ve endo-kütikülden oluşmaktadır. A-tabakasının sabit bir genişliği vardır ve sülfürden zengindir. Ekzo ve endo-kütikülün genişlikleri değişkendir. Kütikül membranı çok sayıda gamma-glutamil-lisin izopeptit çapraz bağları içerir ve bu da kütikül membranının kimyasal maddelere karşı gösterdiği yüksek direnci açıklar. Kütikül hücre membran kompleksinde önemli yapılardan birini 18-metileikozonaik asit oluşturur. Proteinlere kovalent olarak bağlanan bu yapı saçın kuru kalmasını engeller, kılın su içeriğini kontrol eder ve kılı mekanik travmalardan korur (human hair:a unique composite).

2) Korteks: İğsi şekilli kornifiye hücre tabakalarından ve keratin filamanlarından oluşur. Korteks hücreleri çok sayıda fibril içerir ve bu fibriller spiral şekilde dizilmiş

olup parmak izi patterni olarak tarif edilirler. Korteks hücrelerinin ultrastrüktürel yapısı kılın gerilebilmesini sağlar.

3) Medulla: Gevşek santral bir akstan ve kornifiye, kuboidal hücrelerin oluşturduğu 2 veya 3 tabakadan oluşur. Medulla hücrelerinin içerdiği keratin yumuşaktır, düşük oranda sülfür içerir ve küçük partiküllerden oluşur. Bu partiküller yumuşak keratinizasyon için tipiktir (Karıncaoğlu, 2006; Kumbasar, 2005).

Kıl folikülü merkezden periferine doğru iç kök kılıfı, dış kök kılıfı, vitröz membran, fibröz kılıf olmak üzere 4 adet katmandan oluşur(Şekil 1.3. , Şekil 1.4.).

1-) İç kök kılıfı: Kutikülanın dışında yer alır. Üç tabakadan oluşur.

-Kütiküla Katı: Kıl kütikülü gibi üst üste ince şeritlerden oluşur. Sülfür proteinlerinden zengindir. Kıl shaftını aşınmadan korur.

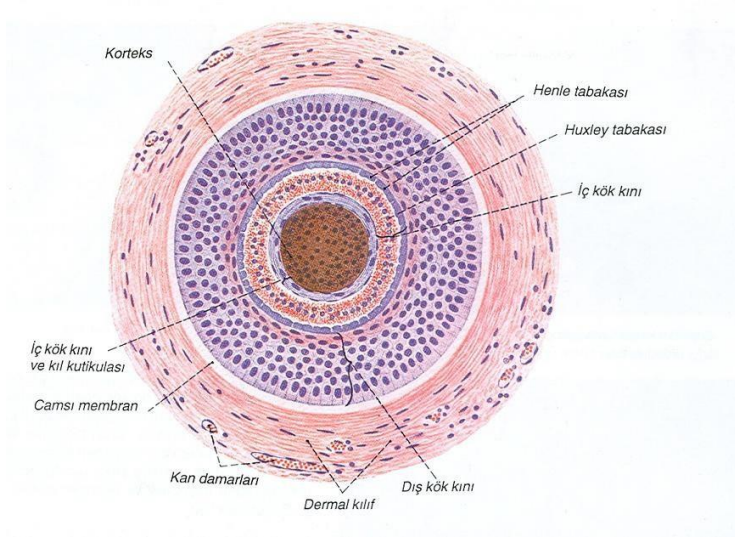
-Huxley Katı: Yassılaştırmış bir veya iki sıra hücreden oluşur. Kıl shaftının geometrik şeklini oluşturur.

-Henle Katı: Kübik şekilde tek sıra hücrelerden oluşur ve eksternal örtüye yapışık tek kattır.

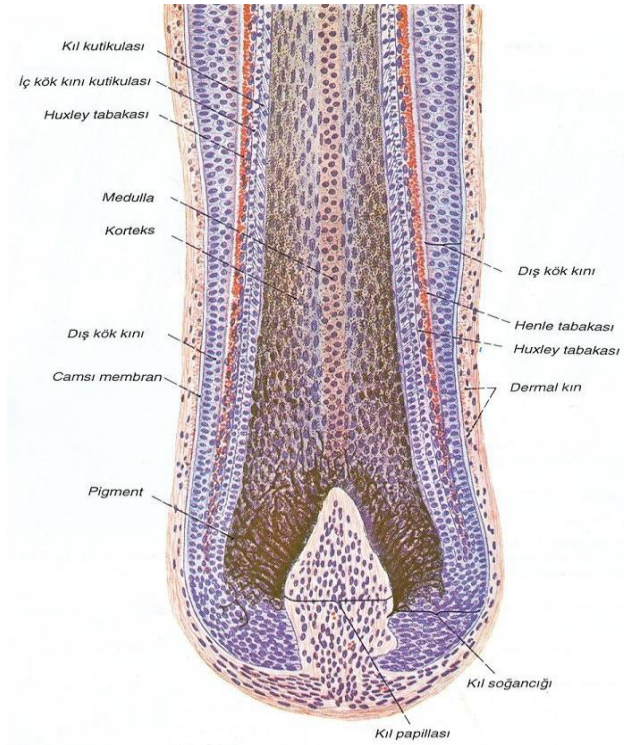
2-) Dış kök kılıfı: Epidermis hücrelerinin kıl folikülünü çevrelemesi sonucu meydana gelir. Dış kök kılıfındaki hücrelerin içi glikojenle doludur. Folikülün alt segmenti boyunca iç kılıfa sıkıca tutunmuştur. İstmus düzeyine kadar keratinize değildir. Bu düzeyden sonra iç kök kılıfı kaybolur ve dış kök kılıfı keratinize olur. Dış kök kılıfının kök hücre rezervuarı olma, beslenme ve oksijen için kıl folikül silendir merkezine doğru transit yol oluşturma, enerji deposu olma gibi görevleri vardır.

3-)Vitröz membran (hyalin bazal membran): Papilla ve dış kök kılıfı ile fibröz kılıf arasında yer alan hücresel olmayan kısımdır.

4-)Fibröz kılıf: Dış kök kılıfının ve vitröz membranın dışındaki kollajen lifler, birkaç elastik lif ve fibroblastlardan oluşan bağ dokusu ile çevrili bölgedir (Hanneken ve ark., 2003; Sinclair ve ark., 2001; Prodi ve ark., 2008).



Şekil 1.3. Kıl folikülünün transvers görünümü.(Topal, 2008)



Şekil 1.4. Kıl folikülünün longitudinal görüntüsü(Topal, 2008)

1.4.Saç Döngüsü

Saçlar, sürekli olarak büyümezler. Her saç büyüme ve dinlenme periodunun ard arda gerçekleştiği bir döngü içerisindedir. Her saçın döngüsü diğerlerinden bağımsızdır. Dinlenme periodunun sonunda saç diğer saça yol açacak şekilde dökülür. Saç döngüsünde 3 faz görülür :

1- Anajen Faz (Büyüme Fazı)

2- Katajen Faz (Geçiş Fazı)

3- Telojen Faz (Dinlenme Fazı)

Normal bir saç derisinde saçların % 85'i anajen, %15'i telojen ve % 1'den azı katajen fazdadır (Falco ve ark., 2000).

1.4.1.Anajen faz:

Anajen kelimesi latince ana (yukarı, gelişme, büyüme) ve genein (üretme, doğma, meydana gelme) kelimelerinin bir araya gelmesiyle oluşturulmuş büyüme meydana getirme anlamına gelmektedir (Göksügür ve ark., 2006). Anajen dönem altı evreden oluşmaktadır. Anajen dönemin ilk beş evresine proanajen denir. Bu dönemde yeni oluşan kıl kökünün folikülün içine doğru gittikçe uzadığı görülür. Altıncı evrede (metaanajen) kıl shaftı yukarıda deri yüzeyinin üst kısmına kadar aşağıda ise subkutan doku seviyesine kadar uzanmaktadır (Göksügür ve ark., 2006; Coşkun ve Çiçek, 2006; Chamberlain ve ark., 2003). Anajen fazın süresi türe, kılın bulunduğu vücut bölgesine, yaşa ve cinsiyete bağlı olarak değişiklik gösterir. İnsanlarda bu sürenin saçlı deride 2-6 yıl, bacaklarda 19-26 hafta, kollarda 6-12 hafta, bıyık bölgesinde 4-14 hafta olduğu tahmin edilmektedir. Anajen faz vertikal ve frontal bölgede daha uzun, temporal bölgede daha kısadır (Göksügür ve Kılıç, 2006; Coşkun ve Çiçek, 2006).

Olgun bir folikülün kıl kökü dermise veya subkutan dokuya uzanır. En dıştaki tabaka hyalinize bir hal alır ve sebace kanal seviyesinde kaybolur. Büyüyen anajen saç kıl köküne sıkıca bağlıdır ve ağırlı oluşturacak şekilde güç uygulayarak çekilebilir. Günlük ortalama saç büyümesi 0.35 mm'dir (Falco ve ark. 2000).

1.4.2.Katajen faz:

Anajen dönemin sonunda kıl folikülü apoptozise uğrar. Bu döneme katajen dönem denir. Katajen evreyi hangi sinyallerin başlattığı bilinmemekte ancak deride programlı hücre ölümlerinden sorumlu genlerdeki değişikliklerin rol oynadığı düşünülmektedir. Folikülün en alt kısmında involüsyon ve regresyon oluşur. Papiller hücreler ve etrafındaki konnektif doku kılıfı artıkları yoğunlaşır. Kontraksiyona uğrayarak folikül epitelinin arkasından yukarıya doğru çekilir ve papilla telojen faz süresince de burada kalır. Bu dönemde bulbus ile kıl shaftının tamamen ayrıştığı görülür (Coşkun ve Kılıç, 2006; Lavker ve ark., 2003). Katajen faz 7-21 gün sürer (Kligman, 1959). Diğer bazı araştırmalara göre bu faz birkaç günde sonlanacak şekilde kısadır. Büyüme aniden sonlanır, bulbus keratinize olur ve epidermise doğru hareket eder. Sadece ufak bir epitelyal hücre kümesi nonkeratinize olarak kalır, bu da sonraki saçın temelini oluşturabilir (Falco ve ark., 2000).

1.4.3.Telojen faz:

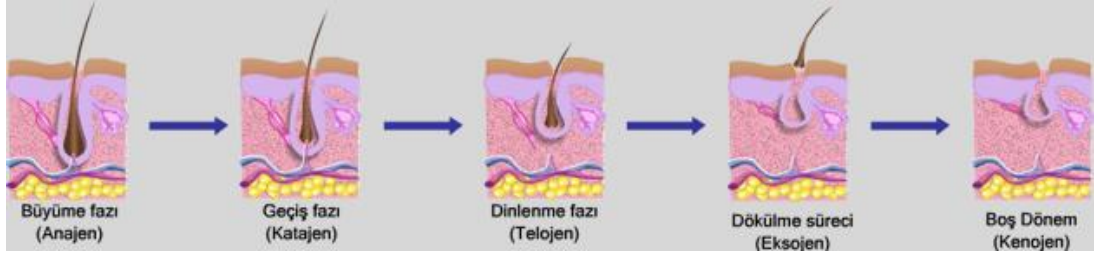
Bu faz esnasında folikülün alt ucu hemen yağ bezi açıklığının aşağısındadır ve epitelyal kese ile çevrili golf sopası şeklinde saçlar vardır. Bu kesenin hemen altından daha önce büyüyen saçın yerleştiği derin bölgeye fibröz bir alan uzanır. Saçlı derideki telojen faz 3-4 ayda sonlanır. Telojen sonunda saç taramayla veya spontan olarak dökülür.

Rezidüel epitelyal veya kök hücreleri derin dermise giderler, burada papilla ile etkileşirler ve yeni bir anajen faz başlar. Böylece normal olarak kaybedilen tüm saçlar golf sopası şeklindedirler ve genellikle epitelyal kese içerirler (Falco ve ark., 2000).

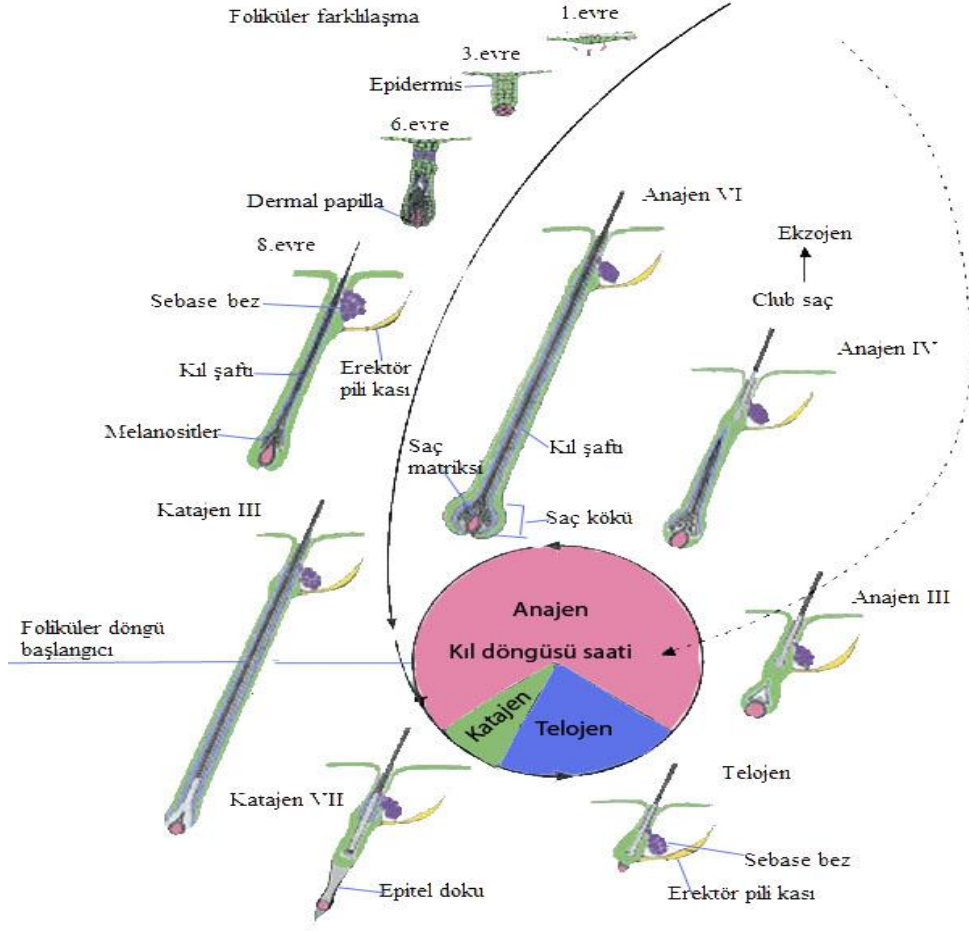
Son zamanlarda insan saç döngüsünde iki önemli terim ortaya atılmıştır. Bunlar; eksojen (teloptosis) ve kenojendir (Rebora ve ark., 2004).

Eksojen kıl shaftının atıldığı zamanı tanımlamak için kullanılmıştır (Rebora ve ark., 2002). Eksojen gerçekte bir fazı temsil etmez, fakat yeni anajenden önce gerçekleşen bir süreçtir. Yeni terminal anajen kıl tarafından meşgul edilen folikülden dökülen çomak (club) saçtaki hareketi gösterir. Bununla birlikte süresi 'faz' diyebilmek için çok kısadır.

Kenojen; (Yunanca boş anlamına gelen bir kelimedenden türer) tek bir kelime ile lag faz, latens periyodu veya boş folikül fenomenini tanımlar (Rebora ve ark., 2004). Kenojenin ergenlik öncesi dönemdeki erkek çocukta meydana gelmesi, androjenetik alopesinin ana patogenetik mekanizmasının testosteron ve 5α -redüktazın sırasıyla eksikliği ve yokluğu olduğu düşünüldüğünde, bu fenomenin fizyolojik olduğunu, muhtemelen de kıl folikülünün gerçek dinlenme periyodunu yansıttığını gösterir. Kenojende kıl folikülü komplet olarak boştur ve inaktiftir (Rebora ve ark., 2002; Guarrera ve ark., 1998; Guarrera ve ark., 1996). Saç siklusu genetik kontrol altındadır ve farklı vücut bölgelerinde değişiklikler gösterir (Falco ve ark., 2000).(Şekil 1.5. , Şekil 1.6.)



Şekil 1.5. Kıl folikülü döngüsü I



Şekil 1.6. Kıl folikülü döngüsü II(Paus ve Cotsarelis, 2004)

1.5.Saç Kılının Biyokimyasal Yapısı

Kıllar, tırnaklar gibi ana maddesi keratin olan sert kıvamlı uzantılardır. Saç; içerdiği az miktardaki suyun yanı sıra karbonhidratlar, üre, ürik asit, serbest aminoasitler, fosfolipitler, kolesterol, yağ asitleri ve en önemlisi keratin açısından zengindir. Keratin proteini hücre içerisinde sitoplazmada oluşur ve yapısında birçok farklı aminoasit vardır. Saçı oluşturan keratinler değişik molekül ağırlıkları olan birbirinden farklı yapılarda proteinlerdir. Serin, sistein, arginin ve metyonin aminoasitleri (proteinleri oluşturan yapı taşları) açısından zengin olan keratinin yapısında bulunan disülfid bağları ise saç keratininin suda çözünmesini engeller ve oldukça sabit bir yapıya sahip olmasını sağlar. Buna rağmen tırnaklarımıza göre kendini geliştirme ve yenileme konusunda neden ilerleyen yaşlarda zafiyete uğradığı henüz anlaşılabilmiş değildir.

1.6. Kıl Büyümesinin Kontrolü

Kıl döngüsü hormonal ve nöral faktörlerin kontrolü altındadır. Östrojen, tiroid hormonu, glukortikoid, retinoid, prolaktin, büyüme hormonu, androjenler, prolaktin, tiroksin ve kortizol kıl döngüsünü kontrol eden hormonal faktörlerdir. En yüksek etkiyi gösteren hormonlar androjenlerdir. Bu etkenlerin yanı sıra genetik yatkınlık da saç döngüsünde büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalara göre hormonlar, genetik yatkınlık ve diğer fizyolojik faktörler saç döngüsü kontrolünde kompleks olarak çalışmaktadır.

1.7.Kıl Tipleri

İnsan vücudundaki kıllar; renk maddesi miktarı, kıl uzunluğu, medulla uzunluğu ve shaft çapına göre dört grupta sınıflandırılır.

1-) Lanugo kılları: Doğuma kadar anne karnında iken oluşan ve doğumdan sonra dökülen kıllardır. Medulla içermezler.

2-) Vellüs kılları: İnce, çok az renkli, boyu 1 cm'yi aşmayan kıllardır. Medulla içermezler.

3-) İntermediyer kıllar: Genital bölgelerde bulunan ince cansız kıllardır. Ergenlikte androjenik hormonların etkisi ile kalın ve renkli kıllara dönüşebilirler.

4-) Terminal kıllar: Sert, kalın, koyu renkli kıllardır. Medulla içerirler.

1.8. Kıl Rengi

Kılların rengi melanositler tarafından belirlenir. Kıllar sadece anajen evrede renklenirler. Çünkü melanojenik aktivite anajen dönemde gerçekleşir. Anajen

folikülde melanositler matriks bölümünde bulunurlar ve renk maddesi üretirler. Saçı renklendiren 3 melanin vardır:

- 1) Ömelanin: Kahverengi-siyah rengi belirler.
- 2) Feomelanin: Sarı rengi belirler
- 3) Eritromelanin: Kıızıl rengi belirler.

Renk maddeleri kıl kökünde korteks kısmında daha yoğun olarak bulunur. Yeni oluşan kıllarda renklenme görülmez. Kılın rengindeki değişiklik renk maddesi yoğunluğuyla ilişkilidir.

1.9. Alopesi

Alopesinin sözlük anlamı, saçların kısmen veya tamamen dökülmesi; saç dökülmesidir. Saçlı derideki kıl foliküllerinin çeşitli nedenlerle tamamen veya kısmen yok olması veya azalması durumuna da alopesi denir. Alopesiler geleneksel olarak skar dokusunun olup olmasına ve lokalize veya difüz bir paternin oluşuna göre sınıflandırılırlar.

Alopesiler ile ilgili çok sayıda sınıflama bulunmaktadır. Difüz-fokal, sikatrisyel-nonsikatrisyel, konjenital-edinsel, anagen-telogen alopesi, geçici-kalıcı, erkek tipi-kadın tipi, erken tip-geç tip alopesi olarak sınıflandırılabilir (Baransu ve ark., 1994).

Tüm bu sınıflamalar içinde alopesili hastaları birbirinden ayırmak için aşağıdaki sınıflama tercih edilebilir (Kumbasar, 2005).

A. Sikatrisyel alopesiler

- 1) Gelişimsel bozukluklar ve herediter hastalıklar
- 2) Enfeksiyöz
- 3) Neoplazi
- 4) Fiziksel/kimyasal ajanlar
- 5) Sebebi bilinmeyen dermatozlar

B. Nonsikatrisyel alopesiler

- 1) Androjenetik alopesi
- 2) Nonsikatrisyel alopesi ile giden herediter sendromlar
- 3) Alopesi areata
- 4) Sistemik hastalıklarla ilişkili nonsikatrisyel alopesiler
- 5) Travmatik nonsikatrisyel alopesiler

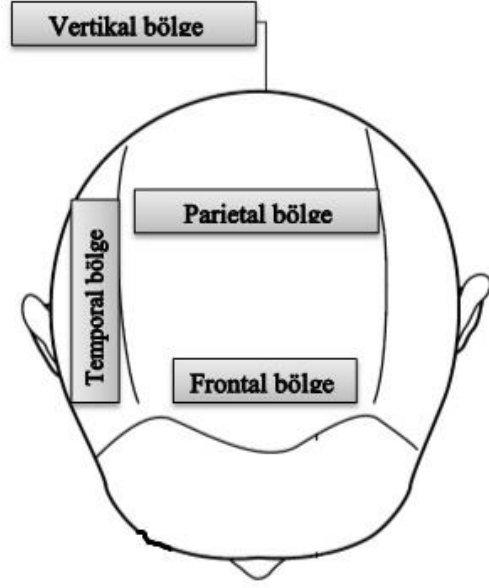
Biz bu çalışmamızda androjenetik alopesiye sebep olduğu düşünülen genlerden birinin (AR *StuI* restriksiyon bölgesi) polimorfizmini araştıracağız.

1.9.1. Androjenetik Alopesi

1.9.1.1. Androjenetik Alopesinin Tanımı

Androjenetik alopesi terimi 1960 yılında Orentreich tarafından kullanılmıştır. Orentreich'in terimi androjen varlığında genetik olarak duyarlı kıl foliküllerinin minyatürize olmasını içerir (Orentreich, 1960; Chartier ve ark., 2002).

Androjenetik alopesi (AGA), hem kadın hem de erkeklerde en sık görülen saç dökülmesidir (Forslind, 2000; Sinclair, 1999; Hoffman, 1999). AGA terimi erkeklerde Erkek Tipi Saç Kaybı(ETSK) ve kadınlarda Kadın Tipi Saç Kaybı(KTSK) olarak bilinmektedir (Kaufmann, 2002). Bu terimlerin ayrı ayrı kullanılmasının nedeni androjen metabolizmasının ve oluşumdan sonra hastalığın seyrinin erkek ve kadınlarda aynı olmamasıdır (Yip ve ark., 2011). AGA, genetik yatkınlığı bulunan kişilerde androjenlerin etkisi sonucunda terminal kılların vellus kıllara dönüşmesi ile birlikte frontal saç çizgisinin çekilmesi, frontal ve verteksteki saçların yoğun olarak inceliş oksipitoparietal bölgedeki saçların sağlam kalması ile karakterize olan nonsikatrisyel alopesidir. Şekil 1.7. de saçlı deri bölgeleri gösterilmiştir.



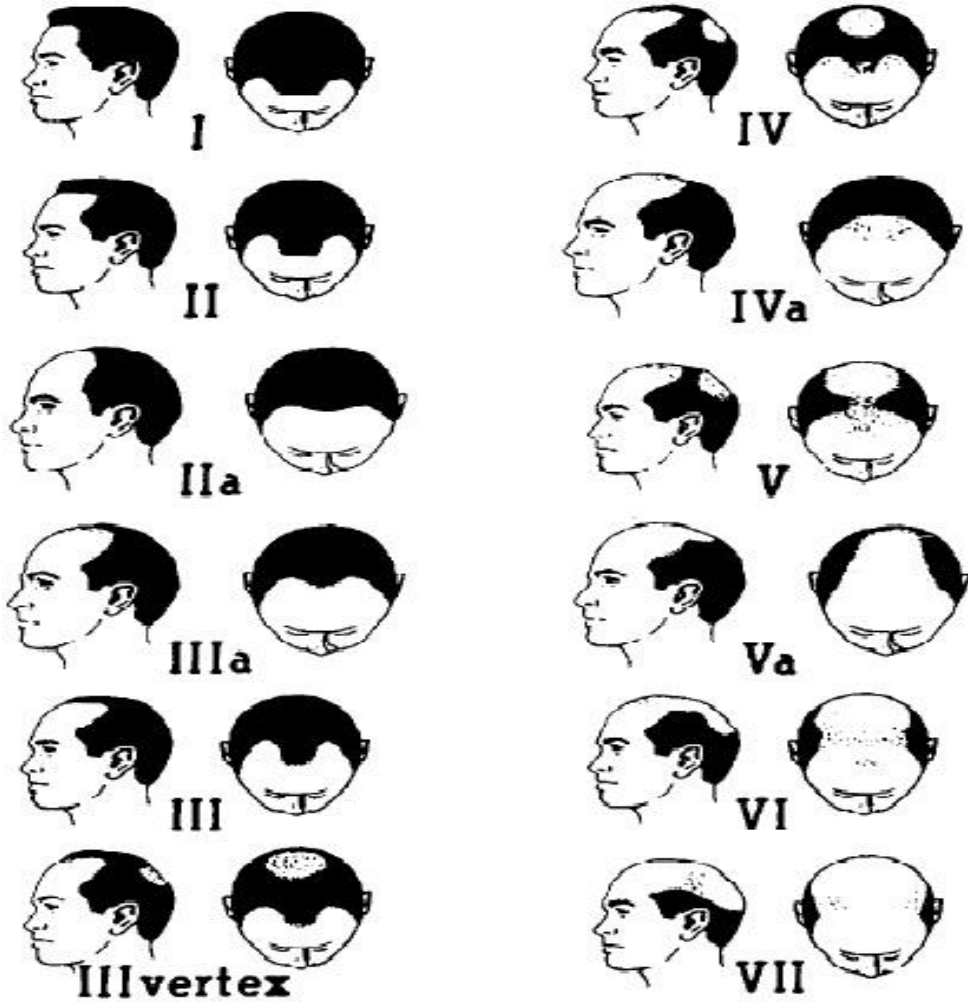
Şekil 1.7. Saçlı deri bölgeleri.

AGA, farklı çalışmalarda farklı yaş aralıkları verilmiş olsa da sıklıkla 20 ve 30'lu yaşlarda başlar, ilerleyen yaşlarda artarak devam eder. AGA'nin kadın ve erkekte görülen ortak özellikleri; minyatürizasyonun olması, etkilenen saçlarda anagen sürenin kısalıp telogen sürenin uzamasıdır (Lavker ve ark., 2003; Sinclair ve Dawber, 2001; Ellis ve Harrap, 2001).

Bu benzerliklere rağmen AGA'nin erkekte ve kadında ortaya çıkan klinik özellikleri farklıdır. Erkeklerde frontal çizginin(alın çizgisinin) gerilemesi, frontal ve verteksteki saçların inceliş oksipital bölgedeki saçların sağlam kalması tipiktir. Kadınlarda, erkeklerde görülen tipte AGA olmakla beraber, kellik ileri derecede olmaz. Kadınlarda AGA'de tipik olarak santral kısımda progresif bir incelmeye olur, frontal saç çizgisi korunur (Tosti ve ark., 1999).

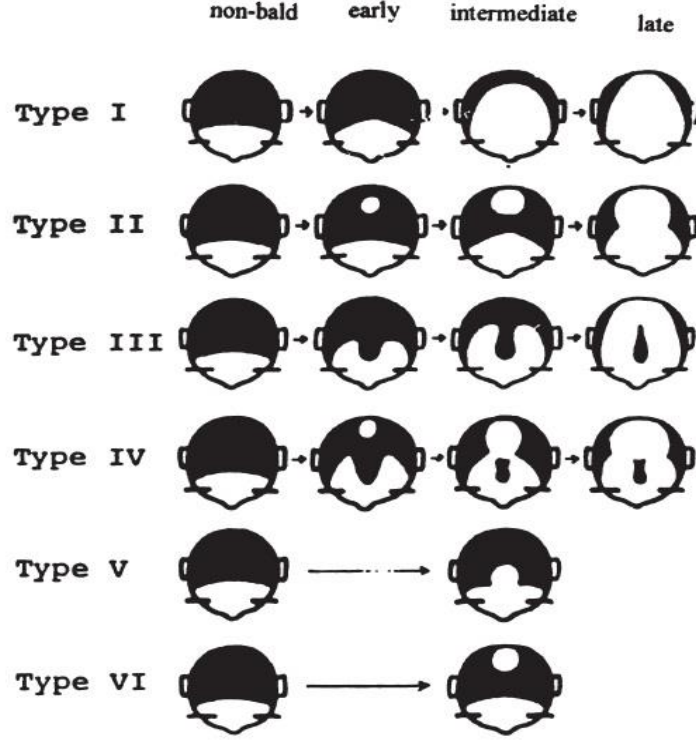
1.9.1.2. Androgenetik Alopesinin Sınıflandırılması

Erkeklerde görülen AGA ile ilgili ilk klinik sınıflama Hamilton tarafından tanımlanmıştır (Hamilton, 1951). Bugün halen yaygın olarak kullanılmakta olan bu sınıflama AGA'yi 8 ayrı tipte değerlendirmiştir. Norwood, Hamilton'un yapmış olduğu sınıflandırmayı modifiye ederek yeni bir sınıflandırma geliştirmiştir (Lavker ve ark., 2003). Norwood, 2 farklı sınıflama önermiştir. Birincisi, standard Hamilton sınıflamasının modifiye şeklidir. İkincisi, Tip A varyantı olarak tanımlanan klasifikasyondur. Buna göre Norwood IIA, IIIA, IVA ve VA olmak üzere toplam 4 tane A varyantı tanımlamıştır (Norwood, 1975) (Şekil 1.8.).



Şekil 1.8. Norwood-Hamilton saç skalası (Bouhanna, 2000).

1953'te Ogata kellik derecelerini 20 farklı derecede sınıflandırmış ve bu derecelerin her birini 6 evreye ayırmıştır. Derecelendirmesini kel olmayan, erken kellik, orta ve geç kellik olarak yapmıştır (Ogata, 1953) (Şekil 1.9.).



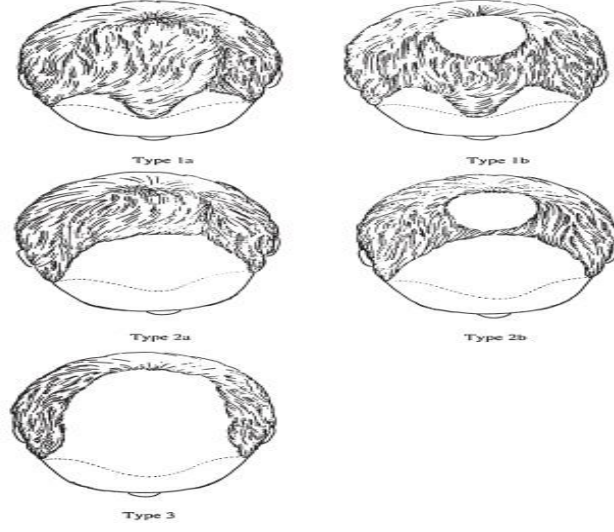
Şekil 1.9. Ogata'nın AGA sınıflama skalası.(Bouhanna, 2000)

1969'da Feit Hamilton'dan daha detaylı bir sınıflama öne sürdü. Bu sınıflamada 16 kategorinin 12 farklı çeşidi bulunmaktadır (Feit, 1969).

1970'de Setty Hamilton'ın sınıflamasını 3 gruba ayırdı: totopilosis(Hamilton tip-I), indentato-pilosis (Hamilton tip II-V), indentato-circulo-pilosis (Hamilton tip VI-VII) (Setty, 1970).

1975'te Rook ve Dawber sınıflamayı 5 evrede tanımladılar (Rook ve Dawber, 1975). Aynı yıl Norwood Hamilton'dan daha detaylı bir sınıflama yapmıştır (Norwood, 1975).

1976'da Bouhanna AGA'yı ikisi alt grupta olan beş farklı evreye ayırdı (Bouhanna, 2000) (Şekil 1.10.).



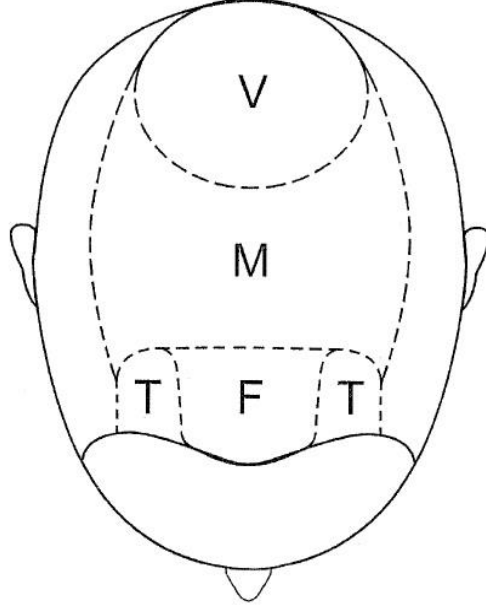
Şekil 1.10. Bouhanna AGA sınıflama skalası. (Bouhanna, 2000)

Olsen 1994 yılında yaptığı çalışmada KTSK'nın yoğun saç seyrelmesi şeklinde olmayabileceğini, frontal bölgede çam ağacı şeklinde saç dökülmesi olabileceğini belirtmiştir. Bu tanımlamada alopesi frontal saç çizgisi ve orta çizgiyi içine almaktadır (Olsen, 2001) (Şekil 1.11.).



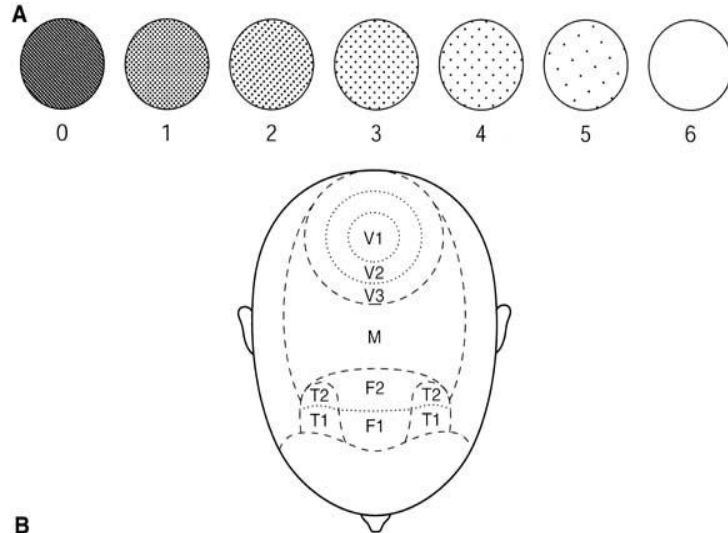
Şekil 1.11. Olsen'in çam ağacı görüntüsü

Olsen 2001 yılında erkekte ve kadında görülen AGAyı 4 ayrı alanda tanımlamıştır. Bunlar vertex, frontal, bitemporal ve orta kısımdır. Bu sınıflamaya göre saç dökülmesi bir veya daha fazla alanda olabilir (Olsen, 2001) (Şekil 1.12.).



Şekil 1.12. Olsen'in AGA sınıflaması. V: Verteks, M:Orta(tepe)bölge, T:Temporal, F:Frontal (T alanları ve F birlikte frontoparietal bölge olarak adlandırılır.) (Olsen, 2001)

Olsen, daha önce tanımlamış olduğu AGA'yi 4 ayrı grupta değerlendiren skalasını değiştirerek 2003 yılında rejyonel saç dansite skalası adı altında yeni bir sınıflama açıklamıştır (Olsen, 2003) (Şekil 1.13.). Bu sınıflamaya göre 6 evrede değerlendirilen saç yoğunluğu, evre 1'de saç kaybı yokken, evre 6'da total saç kaybını ifade etmektedir (Kumbasar, 2005).



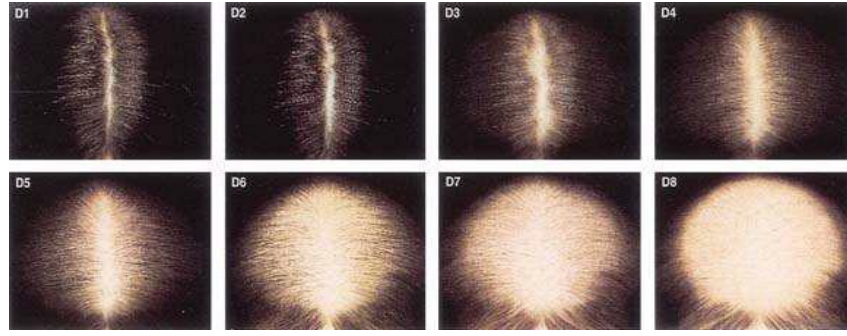
Şekil 1.13. Rejyonel saç dansite skalası(Kumbasar, 2005)

1977 yılında Ludwig kadın tipi saç kaybının kesin özelliklerini tanımladı ve şiddetine göre Ludwig I, II ve III olacak şekilde 3 sınıfa ayırdı (Ludwig, 1977) (Şekil 1.14.).



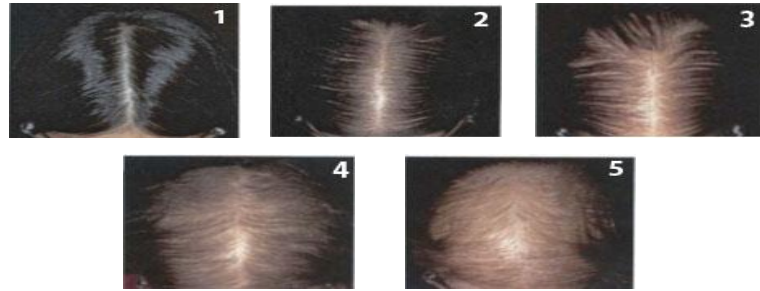
Şekil 1.14. Ludwig AGA sınıflaması (Kumbasar, 2005)

Savin, AGA olan kadınlarda yapmış olduğu çalışmasında tepe bölgesinde orta hatta seyrelme sonucunda oluşan genişlemeyi esas alarak AGA'yi 8 ayrı grupta değerlendirmiştir (Kumbasar, 2005) (Şekil 1.15.).



Şekil 1.15. Savin saç skalası (Kumbasar, 2005)

Sinclair ve ark. KTSK tanısında “five point visual analogue skalasını” geliştirmişlerdir. Bu skalaya göre evre 1 ve 2'de saç kaybı dönem dönem veya sürekli iken, evre 3, 4 ve 5'te saç kaybı tepe bölgesinde genişleme şeklinde kendini gösterirken, saç dökülmesi dönemleri artmıştır veya dökülme süreklidir (Sinclair ve ark., 2011) (Şekil 1.16.).



Şekil 1.16. Sinclair beş evreli görsel analog skalası (Sinclair ve ark., 2011).

1.9.1.3. Androjenetik Alopesinin Nedenleri

Son on yıl içinde kıl döngüsü ve alopesilerin mekanizmasının anlaşılabilmesi için çok sayıda araştırma yapılmıştır. 1994 yılında Dallob ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada AGA oluşumunda tip 2 5 α -redüktaz enziminin rol oynadığının bulunması saç araştırmalarını oldukça ileri götürmüştür (Dallob ve ark., 1994; Rebora, 2004). Bugüne kadar yapılan tüm çalışmalar sonucunda AGA oluşumunda kompleks olarak rol alan faktörler şunlardır:

- 1- Androjenler
- 2- Büyüme faktörleri
- 3- Yaş
- 4- Genetik faktörler (Kumbasar, 2005)

1.9.1.3.1. Androjenler:

Androjenler, anne karnında erkek fenotipin oluşması, sekonder seksüel karakteristikler olan pubik, koltuk altı ve yüzde kıllanma ve kas kitlesinin gelişimi için gerekli olan steroid hormonlardır. Steroid hormonları etkilerini hücre içi reseptörlere bağlanarak ve hormon/reseptör kompleksi oluşturarak gösterirler. Androjenlerde birer steroid olduklarından etki gösterebilmeleri için hücre içerisinde bulunan çeşitli reseptörlere bağlanmak zorundadırlar. Kafa derisinde androjen duyarlılığı ve androjen reseptörlerinin dağılımı bölgeye özeldir. Bu durum bize neden sadece tepe ve şakaklardaki saçların tamamen döküldüğünü, ancak çok ileri seviyelerde bile oksipital bölgedeki saçların korunduğunu açıklar.

Erkeklerde en yüksek miktarda görülen ve baskın etkisi olan androjen testesterondur. Lokal ve sistemik kaynaklı testosteron ya doğrudan dermal papilla veya saç soğanı hücrelerinin içinde bulunan androjen reseptörlerine bağlanır ya da androjen reseptörlerine bağlanmada beş kat daha etkili olan dihidrotestosterona (DHT) metabolize olur (Yip ve ark., 2011). Testesteron 5 α -redüktaz tip II enzimi ile birçok farklı dokuda kendisinden beş kat daha etkili olan bir hormona, DHTa

dönüşebilir. Kadınlarda testesteron hormonu miktarı erkeklere göre daha düşük orandadır ve fizyolojik aktiviteler için etkili steroidlerin öncüllerindedir (Kaufmann, 1996).

Yapılan bazı çalışmalarda erkeklere kastrasyon yapıldığında AGA'nin gelişmediğini bildirmiştir. Diğer bazı çalışmalarda ergenlik öncesi kastrasyonun genç saç çizgisini koruduğu ve saçlı deride sebum üretimini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca hasta yaşından bağımsız olarak yapılan kastrasyonun da saç dökülmesini engellediği görülmüştür. Kastrasyon sonrasında hastalara tekrar testesteron uygulaması yapıldığında erkek tipi kellik ve saçlı deride artmış sebum üretimi ortaya çıktığı görülmektedir. Bütün bu bilgiler androjenlerin AGA'nin oluşumunda etkin rol oynadığını desteklemektedir (Kaufman, 1996; Hoffman, 1999; Kumbasar, 2005).

Psödohermafroditten etkilenen erkeklerde 5α -redüktaz enziminde mutasyon oluşmaktadır. Bu hastalarda AGA'nin gelişmemesi, normal testesteron düzeyi ve düşük DHT düzeyinin olması ile açıklanmaktadır (Kumbasar 2005, Kaufman 1996, Hoffman 2004).

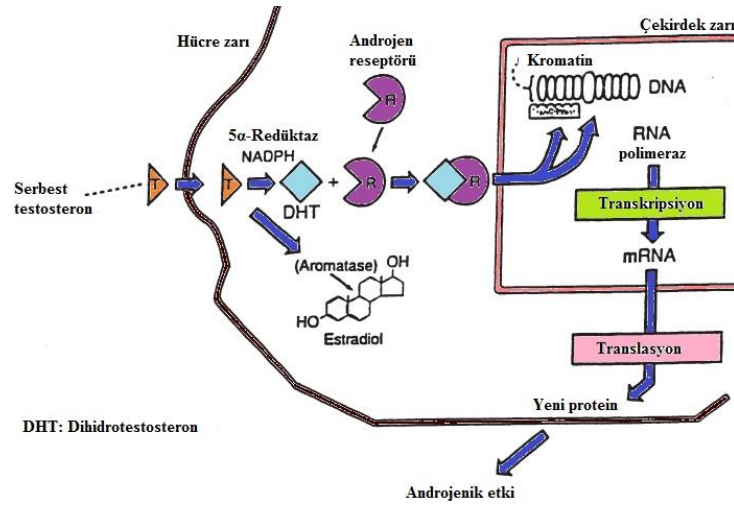
5α -redüktaz enzimi iki tip olarak karşımıza çıkar. Tip 1 5α -redüktaz enzimi yağ bezlerinde bulunur. Tip 2 5α -redüktaz enzimi ise dermal papilla, kılın dış kök kılıfı ve saç foliküllerinin proksimal iç kök kılıfında bulunur (Sinclair ve Dawber, 2001). Androjen reseptörleri ve 5α -redüktaz enzimi eksik olan kişilerde AGA görülmez. Bu veriler bizi DHT'un AGA oluşumu için gerekli olduğu sonucuna götürmektedir.

Hem kadın hem de erkek AGAlerde 5α -redüktaz enzim düzeyinin normal hastalara göre 2 kat artmış olarak bulunduğu görülmüştür; bu da 5α -redüktaz enziminin AGA oluşumundaki önemli rolünü açıklamaktadır (Kaufman, 1996). Legro ve ark. AGA tanısı konulmuş 20 erkek ve 60 kadın hasta üzerinde yaptıkları çalışmada 5α -redüktaz enzim aktivitesinde artış olduğunu belirtmişlerdir (Legro ve ark., 1994).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda 3-beta-hidroksistroid dehidrogenaz (3β -HSD), 17-beta-hidroksistroiddehidrogenaz, aromataz, 3α -17 β -androstanediol glukuronid (3α -diol G) enzimlerinin de androjen metabolizmasında rol oynadığı belirlenmiştir.

17-beta-hidroksistroiddehidrogenaz, zayıf etkili 17-ketosteroidlerin ve etkili 17-ketosteroidlerin birbirine dönüşümünden sorumludur. 3-beta-hidroksistroid dehidrogenaz, dihidroepiandesteron ve androstenediolü, andestenedione'ye ve testesterona dönüştürür (Kaufman, 1996). Yapılan diğer çalışmalar da AGA'lı hastalarda 3α -17 β -androstanediol glukuronid düzeyinde artma ve seks hormonu bağlama proteini (SHBG) düzeyinde azalma olduğunu göstermiştir.

P-450 Aromataz enzimi androjenleri östrojenlere dönüştürür, iç ve dış kök kılıfında lokalizedir. Bu enzimin düzeyi 5α -redüktaz enzimi ile ters orantılıdır. 5α -redüktaz enzim düzeyinin yüksek, P-450 aromataz düzeyinin ise düşük olması AGA olan erkek ve kadın hastalardaki fenotipik farklılığı açıklamaktadır (Sawaya ve Price, 1997) (Şekil 1.17.).



Şekil 1.17. Androjenik etki mekanizması (Norwood ve ark., 2000).

Östrojenin ise kadınlarda normal koltukaltı ve pubik kılların gelişiminde etkili olmasına rağmen, her iki cinstede saç büyümesindeki rolü henüz açık değildir ve androjenler kadar etkili olmadığı savunulmaktadır. Saç folikülü içinde steroid metabolizması oldukça karmaşıktır ve steroid hormonları ve bunların reseptörlerinin

yanı sıra östrojen, progesteron ve androjen reseptör sinyal yolları arasında bir karşılıklı etkileşim olduğu muhtemeldir (Yip ve ark., 2011).

Futterweit ve arkadaşları yaygın saç dökülmesi görülen AGA tanılı 109 kadın hastada endokrin bozuklukları araştırmışlardır. Kontrol grubu olarak 24 sağlıklı kadın hasta değerlendirilmiştir. Hastaların %38,5'inde androjen miktarında yükseklik olduğunu göstermişlerdir (Futterweit ve ark., 1988).

1.9.1.3.2.Büyüme Faktörleri

AGA'nin oluşumunda ve kılların büyüme döngüsünde sadece androjenlerin değil başka faktörlerin de rol oynadıkları yapılan çalışmalarla desteklenmiştir.

Signorello ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada, vertekste kellik olan hastaların serum insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) düzeyinin kellik olmayan hastalara göre daha yüksek olduğunu bildirmiştir (Signorello ve ark., 1999). Platz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada IGF-1 ve IGF bağlayıcı protein (IGFBP-3) ilişkisini araştırmışlardır. Vertekste kelliği olan orta yaş üstü hastalarda IGFBP3 düzeyi düşük, IGF-1 düzeyi yüksek olarak bulunmuştur (Platz ve ark., 2000).

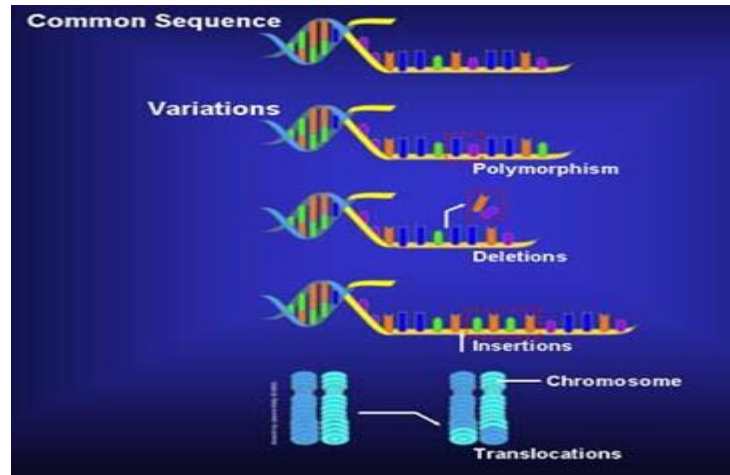
1.9.1.3.3.Yaş

Kadında ve erkekte AGA başlama yaşında farklılıklar vardır. Erkeklerde, 30 ve 40'lı yaşlarda en yüksek değere ulaşır ve saç kaybı hayat boyunca artarak devam eder. Kadınlarda ise 30 veya 50'li yaşlarda en üst düzeye ulaşır. Kadınlarda menapoz sonrası artan AGA saç yoğunluğunda azalma, saç dökülmesi ve saçlarda incelme şikâyetlerine neden olur. Menapoz sonrası başlayan kellik erken dönemde başlayan kelliğe göre çok daha yavaş seyreder (Olsen, 2001). AGA'de yaşlanma önemli bir faktördür. AGA prevalansı ilerleyen yaş ile artmaktadır (Yip ve ark., 2011).

1.9.1.3.4.Genetik Faktörler

AGA'nin genetik özellikleri bugüne kadar yapılan çalışmalarda tam bir netliğe kavuşturulamamıştır. Sıklıkla genetik geçişin maternal olduğu düşünülse de literatürde otozomal dominant geçişten bahsedilmektedir (Ellis ve Harrap, 2001). Bu bilgiler 1916 yılında Dorothy Osborn tarafından yapılan çalışmayı temel almaktadır (Ellis ve Harrap, 2001; Hanneken ve ark., 2003). Bu çalışmada 22 aile değerlendirilmiş, erkeklerde otozomal dominant, kadınlarda otozomal resesif geçiş olduğu düşünülmüştür (Osborn, 1916; Ellis ve Harrap 2001). Kuster ve Happle 1984 yılında poligenik hipotezi öne sürmüşlerdir. Poligenik kalıtım, 4-gen modeli kullanılarak açıklanabilir. ETSK ve KTSK'da bu genler başlangıç, ilerleme, desenlenme ve şiddetli evrenin yaşlarını belirleyebilir. Sadece 1 gen geçişi olduğunda az sayıda saç kaybı olur. 2 veya 3 gen geçişinde orta yaşta saç dökülmesi başlar ve 4 gen geçişinde ise erken yaşta saç kaybı görülür. Tek gen ile kalıtım gösteren hastalıkların sıklığı 1/1000'in üzerine nadiren çıkmaktadır(Kuster ve Happle, 1984; Yip ve ark., 2011).

Kelliğe neden olan genlerin; tek nükleotid polimorfizmleri(single nucleotide polymorphisms-SNPs), kısa tandem veya mikrosatellit tekrarlar, insersiyon(ekleme) mutasyonlar, delesyon(eksilme) mutasyonlar ve kopya sayısı değişiklikleri(copy number variation-CNV) ile DNA dizi değişimlerine sebep olabilecekleri düşünülmektedir (Yip ve ark., 2011) (Şekil.1.18.).



Şekil 1.18. Genlerde meydana gelebilecek değişiklikler.

Bunlardan SNPler insan genomunda tespit edilmiş en yaygın genetik varyasyon çeşididir. Veri tabanlarına alınmış yaklaşık olarak 17.8 milyon civarında SNP tespit edilmiştir. Bu nedenle tıpkı diğer hastalıklarda olduğu gibi kellikte de SNP'ler en yaygın olarak çalışılan DNA sekans çeşitliliklerindedir.

Promoter gen bölgesindeki DNA hipermetilasyonu gen transkripsiyon mekanizmasını bloke eder ve genin ifadesini durdurur. Bu sırada hipometil DNA ise gen transkripsiyon mekanizması çalıştığı için genin ifadesini başlatmaya çalışır. Saçsız deride vertex ve oksipital bölgeler arasındaki androjen reseptör gen(AR) duyarlılığı ve ifadesinin farklılığı farklı AR metilasyonunu izzah edebilir ve bu durumun da farklı bölgelere özgü saç minyatürizasyonuna sebep olduğu düşünülmektedir. Kellik için çalışılan SNP AR gen bölgesinin ekzon 1 kısmındadır. Bu SNP kel yaşlı ve genç erkeklerin %100'ünde bulunmuştur fakat yapılan çalışmalar kel olmayan yaşlı erkeklerin çoğunda da bu durumun varolduğunu göstermiştir. Bu sonuçlara bakarak şu yorum yapılabilir: Bu SNP erkeklerde kellik için gereklidir ancak yeterli değildir. Bu özel SNP babadan oğula değil anneden oğula geçmektedir çünkü SNP X kromozomu üzerinde bulunmaktadır. Günümüzde AR ile ETSK arasındaki ilişki için en olası açıklama kodlanmayan DNA düzenleyici elemanlarındaki değişikliklerin AR gen bölgesine denk gelmesi olarak kabul edilmektedir.

Ellis ve arkadaşları 2001 yılında AR geni ile AGA arasındaki ilişkiyi belirlemek için AGA tanısı almış orta yaş ve üstü hastalar ile sağlıklı erkek hastalarda AR gen polimorfizminin alel sıklığını araştırmışlardır. AR *StuI* restriksiyon bölgesi, orta yaş AGA'li hastaların % 98.1'inde ve orta yaş üstü AGA'li hastaların %92.3'ünde, kontrol grubunda ise %76.6 oranında bulunmuştur. AR geninde veya yakınında olan fonksiyonel mutasyonlar AGA'li kişilerde bu genin yüksek oranda ekspresyonunu açıklamaktadır (Ellis ve ark., 2001).

Hillmer ve Richards'ın yaptıkları iki ayrı araştırmada ETSK ile kromozom 20p11 lokusu arasında sağlam bir ilişki belirtmişlerdir. Ancak bu lokus gen ifadesi

açısından fakir bir bölgede bulunduğu için ETSK üzerindeki kesin etkisi tam olarak bilinmemektedir (Richards ve ark., 2008; Hillmer ve ark., 2008). Bu çalışmalardan Richards ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada dört ayrı Avrupa topluluğu incelenmiş ve her yedi erkekten birinin ETSK ile ilişkili SNPleri barındıran AR ve 20p11 kromozomlarının ikisinde bulundurduğu ve diğerlerine göre yedi kat daha fazla riskli grupta olduğu belirtilmiştir (Richards ve ark., 2008). Hillmer yaptığı bir başka çalışmada ETSK ile 3q26 kromozomu arasında güçlü bir ilişki tespit etmiştir, ancak bu gen de ifade edilmeyen bölgede olduğu için kabul görmemektedir (Hillmer ve ark., 2008).

Bir İtalyan çalışmada ise ETSK ile ektodisplasin A2 reseptör geni (EDA2R) arasında güçlü ilişki tespit edilmiştir (Prodi ve ark., 2008). EDA2R'nin androjen reseptör transaktivasyonunu nükleer faktör(NF)-kB yolu veya c-Jun proteini ile etkilediği düşünülmektedir.

ETSK ile ilişkili olmadığı yapılan çalışmalarla belirlenen diğer genler 5 α -redüktaz tip I (SRD5A1), aromataz (CYP19A1), östrojen reseptörü α (ESR1), insülin-benzeri gelişme faktörü-2 (IGF-2) ve insülin genleridir(Ellis ve Harrap, 2001, Sinclair ve Dawber, 2001).

AGA'nin gelişmesinde rol alan çok sayıda gen olabilir. Androjenler üzerindeki etkileri düşünülerek 5 α -redüktaz enzimini kodlayan genler araştırılmıştır. SRD5A1 ve SRD5A2 genleri 5 α -redüktaz tip 1 ve 2 enzimini kodlamaktadır. Bu iki genle ilgili yapılan vaka-kontrol çalışmalarında her iki gende alel sıklığı bakımından bir fark bulunamamıştır.

İnsülin geni, AGA patogenezinde araştırılan diğer bir genidir. Yapılan çalışmalar sonucunda bu gende oluşan fonksiyonel mutasyonların AGA'ye neden olmasının güç olduğu düşünülmektedir (Ellis ve Harrap, 2003).

Büyüme faktörü ve östrojen genleri üzerinde yapılan çalışmalar AGA'de bu genlerin rol oynamadıklarını desteklemektedir (Sinclair ve Dawber, 2001).

Ellis ve ark. 1998 yılında 783 ailede toplam 2959 sağlıklı erkekte yaptıkları çalışmada, AGA olan %81.5 hastanın babasında kozmetik kellik tespit etmişlerdir. Bu durum baba-oğul paternli kalıtıma neden olan predispozan genin Y kromozomunda lokalize olabileceğini düşündürmektedir (Ellis ve Harrap, 2001). Ancak Y kromozomunun rekombinant olmayan kısmı ile ilgili yapılan çalışmalarda ETSK ile bir ilişkisi olmadığı görülmüştür (Yip ve ark., 2011).

Büyük oranda X kromozomu üzerinde lokalize olmasından dolayı KTSK ile AR geni arasındaki ilişkiyi yorumlamak zordur. Bu nedenle X kromozomu inaktivasyonunda(XCI) rastgele inaktive iki gen kopyasından biri yorumlanır. XCI dokuya özgü olduğundan ve şekillerinin analizi periferik kan kullanılarak yapıldığından, saç folikülleri ile doğrudan karşılaştırılabilir olması pek mümkün değildir. ETSK'da etkili olduğu çalışmalarla belirlenen 20p11 kromozomunun KTSK üzerinde az da olsa etkili olduğu belirlenmiş ancak etkisini nasıl gösterdiği kesin olarak belirlenememiştir (Richards ve ark., 2008). Hiperandrojenemik kadınlarda AR geni ekzon 1 üzerinde CAG tekrarlı uzun polimorfizm KTSK, akne ve tüylenme gibi androjen kaynaklı deri hastalıklarının gelişimine neden olmaktadır.

1.9.1.4. Androjenetik Alopesinin Klinik Özellikleri:

Kadınlarda çok nadir durumlar hariç erkeklerdeki gibi gerçek anlamda bir kellik oluşmaz (Coşkun ve Çiçek, 2006; Chamberlain ve Dawber, 2003). Kadınlardaki AGA'nın sıklıkla tipik klinik görünümü frontoparietal bölgede diffuz bir seyreklesme ile beraber frontal saç çizgisinin korunması şeklindedir (Göksüğü ve Kılıç, 2006; Coşkun ve Çiçek, 2006; Lavker, 2003; Rebora ve Guarrera, 2004).

Kadınlar saçlarındaki seyrekleşmeyi ilk önce frontal alan üzerinde farkederler ve zamanla skalp daha görünür bir hale gelmeye başlar (Coşkun ve Çiçek, 2006).

Sıklıkla orta hatta frontal hattın hemen arkasında saç seyrelmesi belirgindir (çam ağacı paterni). Üzerinde hiç saçın olmadığı ufak ‘pencil eraser-sized’ alanlar (yaklaşık olarak 4-6 mm) görülebilir (Göksüğü ve Kılıç, 2006; Chamberlain ve Dawber, 2003). Bu kel alanlar için yapılan bir yorum androjenetik alopesi için tipik olan telojenden sonra gelen geç bir fazdır. Fakat bunu sadece bir geç faza bağlamak foliküler ünitelerdeki bir senkroniyi belirtmektir ki bu da kadın tipi saç kaybında kanıtlanmamıştır (Chamberlain ve Dawber, 2003).

Post pubertal birçok kadında beraberinde diffuz saç kaybı olsun olmasın şakak bölgesindeki saçlarda ufak derecelerde bilateral olarak çekilmeler görülür. Bazı kadınlarda bu çekilmeler belirgindir. Venning ve Dawber % 13 premenaposal kadında ve % 37 postmenaposal kadında frontotemporal çekilmeyi bildirdiler (Venning ve Dawber, 1988; Kligman, 1959; Rebora ve Guarrera, 2002). Öte yandan erkeklerde de kadın tipi kellik nadir değildir. Birch ve ark. yaptıkları çalışmada 331 kel erkeğin 20’sinde (%6) kadın tipi saç kaybı tespit etmişlerdir (Birch ve ark., 2002; Kligman, 1959).

1.9.1.5. Androjenetik Alopesinin Tedavisi:

Bugüne kadar AGA’nın etyolojisi ve patogenetik mekanizmasının yetersiz anlaşılması tedavide spesifik efektif bir metodun gelişmesini büyük ölçüde geciktirdi. Bu durum; kayıt dışı, etkinliği ispatlanmamış çok sayıda değişik etkinlikte tedavi alternatiflerinin ortaya çıkmasına yol açtı. Kadınlardaki AGA’da tedavilerin etkinliğiyle ilgili az sayıda çalışma vardır. Hala bugün iyi belirlenmiş bir tedavi yoktur. Tedavide yaklaşım olarak AGA hafif-orta dereceli ve siddetli AGA olarak 2 gruba ayrılabilir (Sinclair ve Dawber, 2001; Ellis ve Harrap, 2001; Tosti ve ark., 1999).

Hafif-orta dereceli AGA: Bu grubun farmakolojik tedavisinde topikal minoksidil ve antiandrojenler yer alır (Hoffman, 1999). Topikal minoksidil güvenli ve iyi tolere edilen bir tedavi şeklidir (Kligman, 1959; Chartier ve ark., 2002). Etkinliği çift kör, plasebo kontrollü çalışmalarda gösterilmiştir (Coşkun ve Çiçek, 2006). Topikal minoksidilin kadınlarda erkeklerden daha etkili olduğu görülmüştür (Hoffman, 1999). De Villez ve arkadaşlarının % 2'lik topikal minoksidil solüsyonu ile yaptıkları 308 AGA'lı kadın hastadan oluşan çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada hastaların yaklaşık % 60'ında yeniden saç büyümesinin saptandığı belirtilmiştir (De Villez ve ark., 1986). Sonuçta topikal minoksidil solüsyonunun kadın tipi AGA tedavisinde plasebodan anlamlı şekilde daha etkili olduğu söylendi (Chariter ve ark., 2002). % 2 minoksidil ile yapılan 33 AGA'lı kadından oluşan çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada kadın tipi AGA'lı hastaların % 60'ında minimal ile orta derecede saç büyümesi saptandı (Kaufman, 2002). Olsen ve arkadaşlarının yaptığı 28 AGA'lı kadından oluşan çalışmada % 2 topikal minoksidil etkili bulunmuştur (Olsen, 2001; Sinclair ve Dawber, 2001). 381 AGA'lı kadında %2 ve %5 topikal minoksidil ile yapılan randomize, plasebo kontrollü bir çalışmada %5 ve %2'lik topikal minoksidilin plaseboya üstün oldukları, %5 topikal minoksidilin, %2 topikal minoksidile üstün olduğu saptandı (Olsen, 2001). Spesifik antiandrojenler kadınlardaki AGA'nın tedavisinde yıllarca kullanılmışlardır. En sık kullanılanlar siproteron asetat ve spironolaktondur (Chamberlain ve Dawber, 2003; Hoffman, 1999). Siproteron asetat androjen reseptör antagonistidir ve bilinen en güçlü antiandrojenlerdendir. Kadınlarda hirsutizm, akne, AGA gibi hiperandrojenik durumlarda sıklıkla kullanılır (Kligman, 1959; Hoffman, 1999). AGA'lı 20 kadında siproteron asetatın etkisinin araştırıldığı bir çalışmada frontokraniyal skalp bölgesinden yapılan trikogramlarda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde anajenlerde artış ve telojenlerde azalış saptandı. Sonuçta tedavi etkin bulundu (Rebora, 2004). Vexiau ve ark. yaptığı 66 AGA'lı kadın içeren, minoksidil %2 ile siproteron asetat'ın kıyaslandığı çalışmada hiperandrojenizm bulguları olmayan kadınlarda minoksidil daha etkinken, hiperandrojenizm bulguları gösteren kadınlarda siproteron asetat daha üstün bulunmuştur (Vexiau ve ark., 2000; Ellis ve Harrap, 2001). Bazı yazarlara göre serum ferritin seviyesi yüksek olduğunda siproteron asetat'a cevap daha iyidir (Kligman, 1959; Hoffman ve Happle, 1999).

Spironolakton, androjenin androjen reseptörüyle etkileşimini direkt olarak inhibe eder. Ek olarak androjen sentezinde gerekli sitokrom P-450 bağımlı 17 beta-hidroksilaz ve desmolas'ın seviyelerini azaltır (Hoffman ve Happle, 1999). Spironolakton ile yapılan bir çalışmada, spironolakton alan kadınlarda hiçbir tedavi almayanlara göre daha az saç kaybı görülmüştür (Kligman, 1959). Östrojenler, dolaşımdaki serbest testosteronu azaltan seks hormon bağlayıcı globülin (SHBG) miktarını artırarak LH serbestleştirici hormonun salınımını inhibe edip gonadal androjen sentezini azaltarak indirekt olarak antiandrojenik gibi davranır. Östrojenler AGA'nın ilerleyişini geciktirirler de saç büyümesindeki etkilerini gösteren hiçbir çalışma yoktur (Hoffman ve Happle, 1999).

Finasterid, tip II 5-alfa redüktaz inhibitörüdür (Kligman, 1959). Testesteronun dihidrotestesterona dönmesini engeller (Kaufman, 1996). AGA'lı erkeklerin tedavisinde günde 1 mg dozda etkin iken postmenapozal AGA'lı kadınlarda etkisiz bulunmuştur (Kligman, 1959; Hoffman ve Happle, 1999; Hoffman, 2004; Sinclair ve Dawber, 2001; Sawaya ve Price, 1997). Whiting ve ark. finasteridin AGA'lı erkek ve AGA'lı postmenapozal kadınlarda etkisini araştıran çalışmalarında finasteridin AGA'lı erkeklerde etkili iken postmenapozal AGA'lı kadınlarda etkisiz olduğunu bulmuşlardır (Whiting ve ark, 1996; Sinclair ve Dawber, 2001). Price ve arkadaşları finasteridin postmenapozal kadınlardaki etkisini araştıran 137 postmenapozal AGA'lı kadından oluşan, çift kör, plasebo kontrollü, randomize, çok merkezli bir çalışma yapmışlar ve finasteridin saç büyümesini artırmadığı gibi saç seyrelmesini de azaltmadığını saptamışlardır. Sonuç olarak bu çalışmada finasteridin postmenapozal AGA'lı kadınlarda etkisiz olduğu bildirilmiştir (Price ve ark, 2000; Legro ve ark., 1994).

Tretinoin, epitelde hücre proliferasyonu ve differansiasyonunu ilerletir ve düzenler ve aynı zamanda vasküler proliferasyonu ilerletebilir. Bu faktörler kıl büyümesinin ilerlemesinde önemlidir. 56 AGA'lı hastada topikal tretinoini yalnız ve % 0.5 minoksidil ile kombinle kullanıldı. 1 yıl sonra topikal tretinoin ve % 0.5 minoksidil kombinasyonu hastaların % 66'sında terminal kıl gelişimine neden oldu. Tek başına tretinoin ise hastaların yaklaşık % 58'inde kıl gelişimine sebep oldu. Bu sonuçlar

gösterdi ki düşük konsantrasyonlu minoksidil ile retinoidler alopesi tedavisinde tek başına minoksidilden daha etkin olabilirler (Venning ve Dawber 1988).

Simetidin, histamin H2 reseptör antagonistidir. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda simetidin antiandrojenik aktivitesi saptanmıştır. Bu çalışmalarda simetidin dihidrotestesteronun kompetitif inhibitörü olduğu saptanmış ve 10 AGA'lı kadında yapılan çalışmada simetidin 7 hastada iyi ile çok iyi arasında yeniden saç büyümesine neden olduğu saptanmıştır. Fakat simetidin AGA'lı kadınlarda ilk basamak tedavisi olarak değil sadece seçilmiş hastalarda kullanılmalıdır (Tosti ve ark. 1999).

Şiddetli AGA: Şiddetli AGA'sı olan kadınlar buna rağmen medikal tedaviye cevap verebilirler. Topikal minoksidil ile oral antiandrojenlerin kombinasyonu sıklıkla en iyi sonucu verir. Ayrıca şiddetli AGA'da peruk takma, skalp cerrahisi gibi yöntemler uygulanabilir (Kocatürk, 1981; Hoffman ve Happle, 1999). Saçsız skalbın doku ekspansiyonu yaparak veya bunsuz eksizyonu, skalp flepleri ve saç transplantasyonu ilerlemiş AGA tedavisinde revizyona uğrayarak ve gelişerek yıllardır kullanılmaktadır. Kadınlarda mini ve mikrogreft tekniği ile saç transplantasyonu önerilir. Genel olarak kadınlarda skalp cerrahisi erkeklerdekinden daha az başarılıdır (Kumbasar, 2005; Futterweit ve ark., 1988).

1.10. Genetik Polimorfizm

DNA (Deoksiribonükleik asit) molekülü üzerinde bulunan ve herhangi bir ürünün sentezi için gerekli bilgiyi içeren özel nükleotid bölgesine gen adı verilir. İnsan DNA'sı yaklaşık 3×10^9 baz çiftinden oluşan, 23 çift kromozom içerisinde 30,000'den fazla gen bulduran, heliks şeklinde yapıdır. İki insan arasındaki DNA'nın yaklaşık %99.9'u benzerdir ve insanlar arasındaki farklılıklar DNA zincirindeki %0,01'lik küçük değişikliklerden kaynaklanmaktadır.

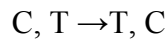
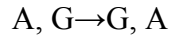
Normal bir popülasyonda bir karakter için iki veya daha fazla fenotip bulunuyorsa ve fenotiplerden her biri popülasyonda %1'den daha büyük sıklıkta görülüyorsa bu duruma “genetik polimorfizm”, bulunma sıklığı %1'den daha az olursa “genetik mutasyon” adı verilir. Polimorfizmler, zararsız ya da ılımlı mutasyonlar olarak tanımlanabilirler, genetik bir hastalığa sebep olmayıp, canlıların üreme kapasitelerini etkilemezler, dolayısı ile nesilden nesile aktarılabildiklerinden frekansları fazladır. Mutasyonlarda ise canlıların üreme kapasiteleri ve canlılıklarını sürdürebilme özellikleri doğrudan etkilendiğinden toplumdaki frekansları fazla değildir (Gonzalez, 1999).

1.10.1. Polimorfizm Çeşitleri

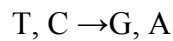
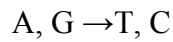
Popülasyon içerisindeki polimorfizmler oluş nedenlerine göre; tek nükleotid değişim (Single Nucleotide Polymorphism-SNP), insersiyon ve delesyon olmak üzere üç başlık altında gruplandırılabilirler. (Şekil.1.19.)

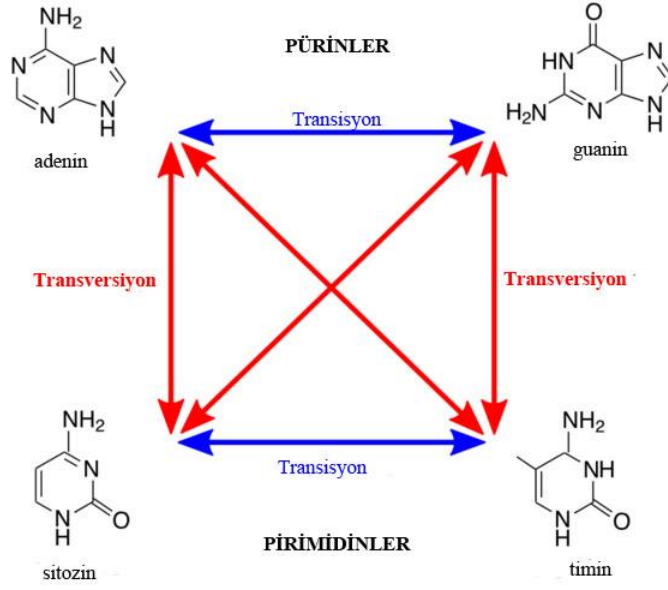
Tek Nükleotid Değişim (Single Nucleotide Polymorphism: SNP): DNA dizisinde her 2000-2500 bazda bir tek baz farklılığı gözlenir. Bu da aynı tür içerisinde genom farklılığının bir göstergesidir. Tek nükleotid değişim polimorfizminin bazı alt grupları vardır.

- Transisyon: Dizi içindeki bir pürin bazının (A, G) diğer bir pürin bazına veya bir pirimidin bazının (T, C) diğer bir pirimidin bazına dönüşmesine transisyon denir.



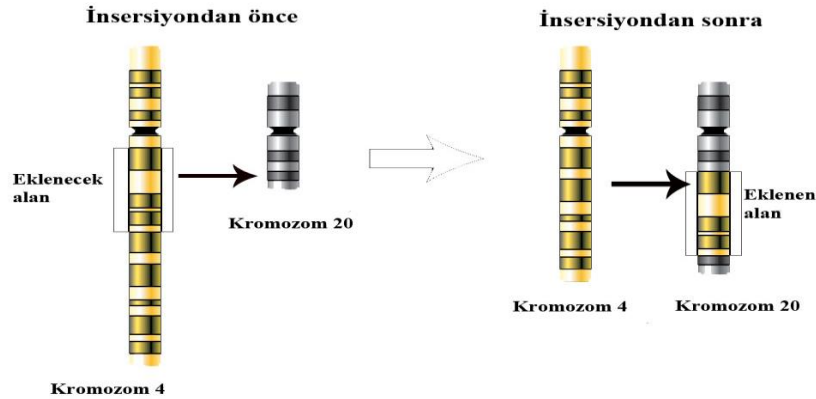
- Transversiyon: Dizi içindeki bir pürin bazının (A,G) bir pirimidin bazına (T,C) veya bir pirimidin bazının bir pürin bazına dönüşmesine transversiyon denir.





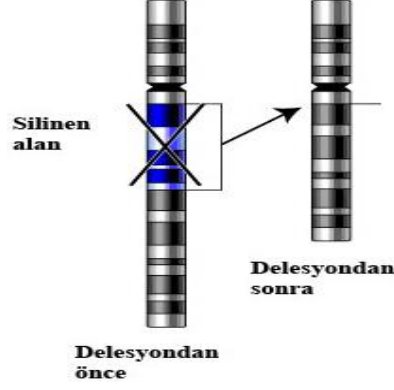
Şekil 1.19. Transisyon ve transversiyon ile tek nükleotid değişimin gösterilmesi (<http://commons.wikimedia.org/>)

- İnsersiyon: DNA içerisine tek bir nükleotid ya da nükleotidlerin eklenmesine insersiyon denilmektedir. Nükleotidlerin eklenmesi, genin normal uzunluğundan daha uzun olmasına neden olur. Bu protein kodlayan bir gen ise, proteinin amino asit dizisinde artma olur. İnsersiyonla tek bir nükleotid eklendiğinde bile çerçeve kayması oluşarak tüm proteinin amino asit dizilimi değişebilir dolayısı ile sentezlenecek olan proteinin tamamen yapısı bozulabilir (Şekil.1.20.).



Şekil 1.20. İnsersiyon (nükleotid eklenmesi) ve çerçeve kayması oluşumunun şematik gösterimi.

- Delesyonlar: DNA dizisi içerisinde tek bir nükleotidin ya da nükleotidlerin kırılıp ayrılması delesyon olarak adlandırılmaktadır. DNA üzerindeki bir delesyon, genin normal uzunluğundan daha kısa olmasına neden olur (Emir ve Özden, 2006) (Şekil 1.21.).

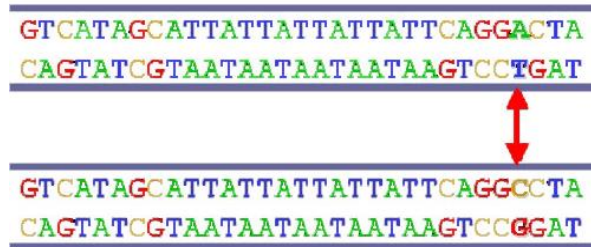


Şekil 1.21. Delesyon ile kod eksilmesinin şematik gösterimi

1.10.2. SNP'lerin Protein Oluşumu Üzerine Etkileri

Tek nükleotid polimorfizmi; DNA üzerindeki bulunduğu nokta ve oluş şekline göre, proteinin yapı ve fonksiyonu üzerinde değişik etkiler yapabilmektedir:

- Kodlanan bölgede oluşan sessiz (silent) bir SNP, amino asit farklılığı oluşturmuyorsa, sentezlenen proteinin yapı ve fonksiyonunda herhangi bir değişikliğe neden olmayacaktır.
- DNA üzerinde meydana gelen bir SNP, tesadüfen “Dur” kodonunu (TAA, TAG, TGA) oluşturuyorsa, SNP'nin bulunduğu noktadan itibaren protein sentezi duracak ve yarım kalan protein aktif bir şekilde fonksiyonlarını tam anlamıyla yerine getiremeyecektir.
- SNP, bir genin sentezi ile ilgili düzenlemeleri içeren promotor bölgede meydana geliyor ise; transkripsiyonla oluşan mRNA düzeyi ve stabilitesi, dolayısı ile gen ekspresyon düzeyi değişecektir (Williams ve Hayward, 2001).(Şekil 1.22.)



Şekil 1.22. SNP

1.11. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction: PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu ilk defa 1985 yılında Kary Mullis tarafından bulunmuş ve araştırmacı bu buluşu ile 1993 yılında kimya dalında Nobel Ödülünü kazanmıştır. PCR reaksiyonunun bulunması moleküler genetik alanında bir devrim olmuştur.

PCR, nükleik asitlerin in-vitro (hücre dışında) olarak bir tüp içerisinde çoğaltılmasını sağlayan yöntemdir. Bu yöntemle, bir organizmanın DNA'sında bilinen herhangi bir bölgenin çok hızlı ve başarılı bir şekilde klonlanması sağlanır (Kubista ve ark., 2006).

PCR analizi; moleküler biyoloji, insan genetiği, evrim, farmakoloji, toksikoloji, kriminoloji ve paleontoloji gibi çok geniş disiplinlerde;

- Farmakogenetik ve toksikogenetik çalışmalarda,
- Mutasyon ve polimorfizm çalışmalarında,
- Adli Tıp'ta,
- In vitro mutasyon oluşturulmasında,
- Genetik bozuklukların teşhisinde,
- Sekanslama amacıyla DNA hazırlanmasında,
- Enfekte hastalıklarda virüs ve bakterilerin teşhisinde,
- Fosillerden DNA amplifiye edilmesi ve evrimin aydınlatılmasında,
- Onkogenlerin belirlenmesinde,
- Doğum öncesi genetik tanı konulması gibi çalışmalarında yaygınlıkla

kullanılmaktadır (Butler, 2005; Wright ve Wynford-Thomas, 1990).

1.11.1. PCR'in Aşamaları

PCR başlıca 3 aşamadan oluşmaktadır(Şekil 1.23. ; Şekil 1.24.).

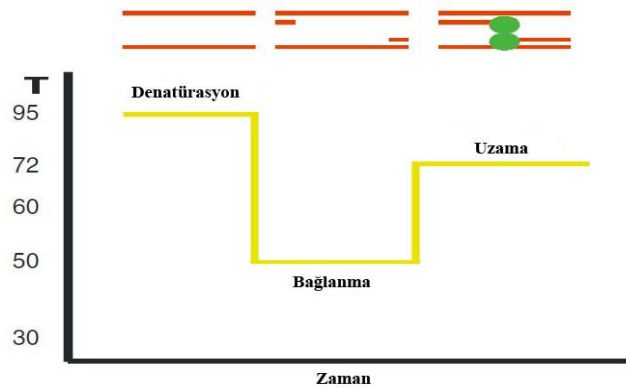
1- Denatürasyon: Amplifiye edilecek DNA denatüre edilerek tek sarmal haline getirilir. Genomik DNA, kuru kan, semen, saç, mumyalanmış kalıntılar ve fosillerden

elde edilebilir. Bu amaçla, çift sarmal DNA tek zincirlere ayrılana dek yaklaşık 90-95 °C'de 5-15 dakika ısıtılır.

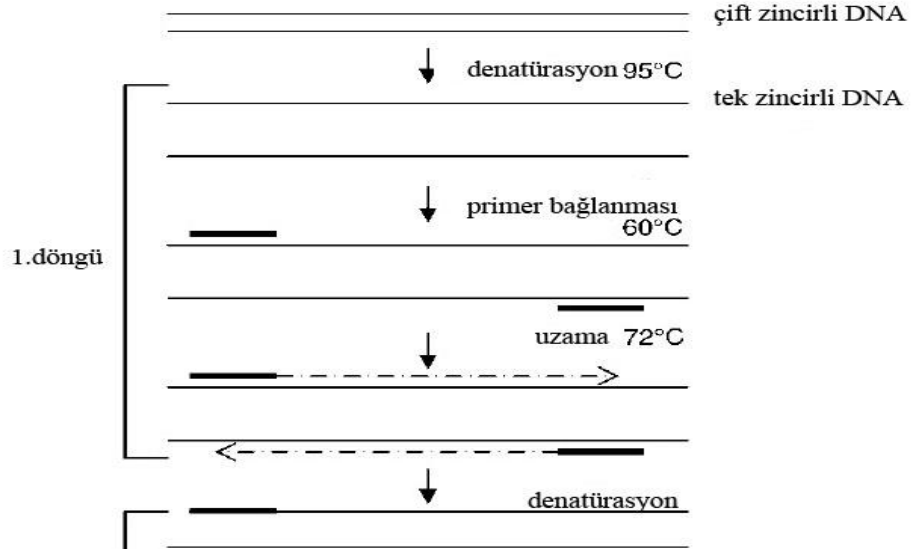
2- Primerlerin Hedef Bölgelerle Birleşmesi (Annealing): Primerler, amplifiye edilen segmentin yanındaki dizilere spesifik olarak bağlanan 17-30 nükleotid uzunluğundaki sentetik oligonükleotidlerdir. Reaksiyon sıcaklığı, primerlerin Tm değerlerine göre 50-70 °C arasında bir değere düşürülür ve böylelikle DNA üzerinde komplementer olduğu bölgeye bağlanması sağlanır. Bağlanma yeri hedeflenen DNA bölgesinin çoğalmaya başladığı noktadır.

3- Zincir Uzaması (Elongation): Orjinal DNA zincirlerine komplementer iki yeni zincirin sentezini başlatmak üzere, DNA polimeraz ve deoksiribonükleozid trifosfat'lar (dNTP) karışıma eklenir. Taq polimeraz primerin 3'-hidroksil ucuna nükleotidleri ekler. Ekleme işi hedef DNA boyunca devam eder ve DNA her zaman 5' ucundan 3' ucuna doğru uzar. Böylece hedef DNA'nın birçok komplementer kopyaları elde edilir. DNA sentezi 70-75 °C arasında gerçekleşir.

Bu üç basamağın defalarca tekrarlanması sonrasında her bir döngü sonunda kalıp DNA iki katına çıkar. Dolayısıyla bu basamaklar 30-40 kez tekrarlanırsa (reaksiyonun tekrar veya döngü sayısı) kalıp DNA teorik olarak 230-240 kez çoğalmış olur. Böylelikle incelenecek bölgenin milyarlarca kez çoğaltılmasıyla PCR ürününün (amplikon) kolay analiz edilmesi olanaklı hale gelir. PCR metodu ile 50-100 bp kadar kısa ve 2.5 kbp kadar uzun DNA dizileri çoğaltılabilmektedir.



Şekil 1.23. PCR programı (Kubista ve ark., 2006).



Şekil 1.24. PCR'in aşamaları (Pusterla ve ark. 2006).

1.11.2. Standart PCR Bileşenleri

Standart bir PCR'da bulunması gereken bileşenler; kalıp DNA örneği, sentetik oligonükleotid primerler, dNTP'ler (A,T,C,G), Taq DNA Polimeraz enzimi ve tampon çözeltilerdir (Wilson, 1997).

1) Kalıp DNA örneği:

Nükleer, mitokondriyal, bakteriyal ve plazmid DNA olabilir. DNA herhangi bir biyolojik materyalden (kan, kıl, tükürük, vücut sıvısı, ter, tırnak, doku vd.) elde edilebilir.

2) Sentetik oligonükleotid primerler:

DNA üzerindeki çoğaltılacak her bir bölge için bir çift (Forward:F ve Reverse:R) primer kullanılmalıdır. Primerler;

- genom üzerinde sadece tek bir bölgeyi komplementer olarak tanımalı, DNA üzerinde başka bölgeye bağlanmamalı,
- 17-30 nükleotid uzunluğunda ve Tm değerleri birbirine yakın olmalı,
- kendi içerisinde ve birbirleri arasında komplementer yapı oluşturmamalı,

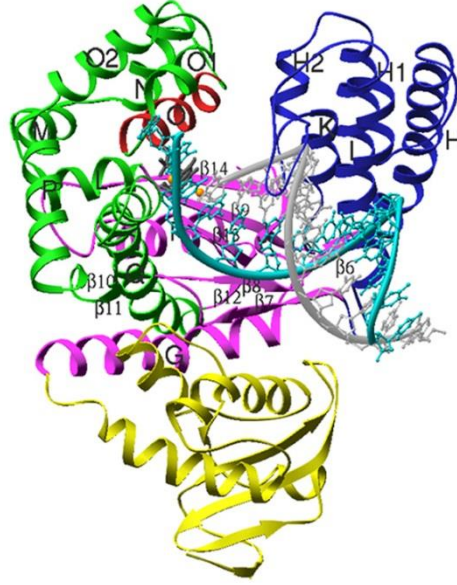
- Primerlerdeki A, T, C, G bazları olabildiğince eşit ve heterojen olarak dağılmalıdır (Pusterla ve ark., 2006).

3) dNTP'ler (A,T,C,G):

dNTP karışımındaki A, T, C ve G bazları eşit derişimde olmalıdır.

4) Taq DNA Polimeraz enzimi:

Thermus aquaticus adlı bakteriden elde edilen ısıya dayanıklı bir enzimdir. Taq DNA polimeraz, maksimum aktivite gösterdiği 72 °C'de dNTP'leri tanıyarak ayırabilme ve saniyede yaklaşık 100 dNTP'yi diziyeye katabilme yeteneğindedir. Denatürasyon aşaması uzun olan PCR'larda Hot Star Taq DNA Polimeraz enzimleri tercih edilmelidir. (Şekil.1.25.)



Şekil 1.25.Taq-DNA polimeraz enzimi (<http://medicalab.blogspot.com/2012/07/polymerase-chain-reaction.html>)

5) Tampon karışımı:

Tampon içerisinde Tris, magnezyum (Mg), KCl, çeşitli deterjanlar ve tuzlar bulunur. Reaksiyon tamponunda kullanılan MgCl₂ nonspesfik amplifikasyonu nötralize ederken, KCl, Taq polimeraz'ın sentez hızını artırmaktadır.

Çizelge 1.1. Standart bir PCR’da bulunması gereken bileşenler ve miktarları

| Bileşen | 50 µl’lik Reaksiyon Tüpündeki Konsantrasyonu |
|---------------------------------------|--|
| 10X PCR Buffer | 1X |
| MgCl ₂ (25mM stok çözelti) | 1-5mM |
| dNTP mix | Her birinden 0.2 mM |
| Primer 1 | 0.2-0.5 µM |
| Primer 2 | 0.2-0.5 µM |
| Taq DNA Polimeraz | 1.25-2.5 Unit |
| Genomik DNA | 200 ng |

1.12. RFLP (Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi: Restriction Fragment Length Polymorphism) Yöntemi

Restriksiyon endonükleaz (RE) enzimleri, 4-6 baz uzunluğundaki DNA fragmanlarını tanıyan ve bu dizilimlere yakın bölgelerden veya bu dizilimler içerisindeki spesifik yerlerden DNA’yı kesen enzimlerdir (Murray, 2000; Pearson, 1985).

Restriksiyon enzimi ilk defa 1970 yılında Hamilton Smith ve Kent Wilcox tarafından izole edilmiş (Roberts ve Macelis, 1991) ve bu yıldan sonra hızla rekombinant DNA teknolojisinde, protein üretilmesinde, gen dizilimlerinin belirlenmesinde ve polimorfizm çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde 200’ün üzerinde farklı DNA dizilimini tanıyan, yaklaşık 3000’den fazla restriksiyon enzimi bulunmaktadır. RE enzimlerinin büyük bir kısmı bakterilerden, çok az bir kısmı da virüs ve ökaryotlardan izole edilmiştir (Aggarwal, 1995).

1.12.1. Restriksiyon Endonükleaz (RE) Enzimlerinin Sınıflandırılması

Tip I: Bu restriksiyon endonükleaz (RE) enzimleri hem metilasyon hem de modifikasyon yapabilir. Hedef dizilimlere bağlanmalarına rağmen kesimi dizilim dışında ve rasgele gerçekleştirirler. Kesim olayında belirleyici faktör enzimin metilasyon aktivitesidir.

Tip II: Moleküler biyoloji alanında restriksiyon enzimlerinden bahsedildiğinde Tip II enzimleri kastedilmektedir. Tip II restriksiyon enzimleri dizilimdeki bir bölgeyi tanıyarak tam hedef nükleotidden kesim yapabilen enzimlerdir (Pingoud ve Jeltsch, 1997). Bu özelliklerinden dolayı klonlama ve moleküler biyoloji araştırmaları için oldukça idealdirler.

Tip III: Tip I'ler gibi metilasyon ve modifikasyon yapabilen restriksiyon enzimlerdir. Dizilimi tanırlar fakat rasgele ve yakın yerden kesim işlemini gerçekleştirirler. Bu nedenle tip III enzimleri klonlamada ve moleküler genetik çalışmalarında kullanılmamaktadır (Meisel ve ark., 1995).

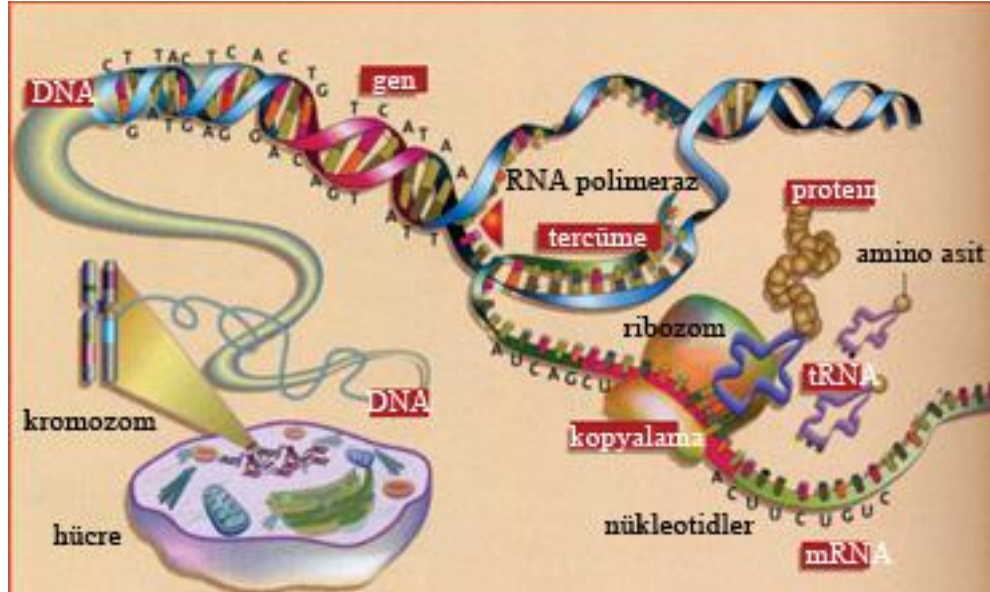
Restriksiyon enzimleri ile kesim işleminden sonra; agaroz jelde görüntülenen farklı uzunluktaki oligonükleotidlere göre, nokta mutasyonlar, polimorfizmler, insersiyon ve delesyonlar belirlenebilmektedir. RE'ler sadece o bölgeye spesifik olduklarından doğru ve güvenilir sonuçlarla alel tiplerini yapılabilmektedir.

Sonuçlar agaroz jelde görüntülenecekse ve kesim sonucunda birbirine yakın uzunlukta oligonükleotidler oluşuyorsa, bu yöntemle ayırım yapmak oldukça zor olmaktadır. Analiz için kaliteli ve fazla miktarda DNA'ya gereksinim duyulmaktadır. Enzim kesiminde inkübasyon süresinden dolayı uzun laboratuvar çalışması gerektirmesi ve kullanılan enzimlerin pahalı olması gibi dezavantajları da bulunmaktadır (Dowling ve ark., 1996).

1.13. Gen Ekspresyonu

Gen ekspresyonu DNA'daki kalıtsal bilginin, özgün yapı ve fonksiyonları olan proteinlere dönüştürülmesi işlemidir. Gen ekspresyonu; replikasyon, transkripsiyon ve translasyon olmak üzere 3 aşamadan oluşmaktadır. Replikasyon ve transkripsiyon çekirdekte, translasyon işlemi ise sitoplazmada gerçekleşmektedir.

1. Replikasyon: DNA'nın kalıtsal bilgileri aktarabilmesi için kendi eşleneğini yapmasıdır. Bu aşamada DNA polimeraz, DNA ligaz, topoizomeraz gibi enzimler görev almaktadırlar.
2. Transkripsiyon: DNA'dan mRNA oluşmasıdır. Bu aşamada önce DNA öncül mRNA'ya dönüşür. Sonra "splicing: uç uca birleştirme" işlemi ile intronlar (öncül mRNA'dan çıkarılarak protein sentezine katılmayan DNA dizileri) çıkarılır ve ekzonlar (kesintilere uğramış bir genin olgun mRNA da yer alan DNA dizileri) olgun mRNA oluşumuna katılırlar. Bu işlem sırasında RNA polimeraz II enzimi görev almaktadır.
3. Translasyon: Transkripsiyonla RNA'ya kopyalanan genetik bilginin bir protein veya polipeptit zinciri haline dönüştürülmesidir. Bu işlem sitoplazmadaki ribozomlarda gerçekleşmektedir (Şekil 1.26.).



Şekil 1.26. Gen sentezi başlama aşamasının şematik gösterimi

Transkripsiyonda; DNA üzerinde bulunan, başlama noktasından gen bölgesinin sentezlendiği kısma doğru olan bölge "downstream"(+1...); başlama noktası öncesinde bulunan ve kor promotor, promotor bölge ve TATA kutusu gibi gen sentezinin başlatıcılarını içeren bölge ise "upstream(...-1)" olarak tanımlanır. Transkripsiyonu yapılacak genin önünde bulunan, yaklaşık 250 nükleotid

uzunluğundaki (-1 ile -250) transkripsiyonun başladığı bölgeye “promotor bölge” denilir. Bu bölgenin içinde bulunan ve TATA bölgesini de içeren yaklaşık 30 nükleotid uzunluğundaki (-1 ile -30) bölge ise “kor promotor” olarak isimlendirilir. Transkripsiyonu gerçekleştiren RNA Polimeraz II enziminin aktivitesini yapabilmesi için promotor bölgeye bağlanması gerekmektedir (Conaway ve Conaway, 1993; Butler ve Kadonaga, 2002).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereçler

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

| | |
|--|--------------------------|
| Restriksiyon enzimi (<i>StuI</i>) | Neb (New England Biolab) |
| Primerler | Alpha DNA, Montreal |
| NEBuffer 4 | New England Biolab |
| PCR Buffer, 10X | Qiagen |
| Deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP Mix) | Fermentas |
| Agaroz | Prona |
| Etidyum bromür | Applichem |
| 6X loading çözeltisi | Fermentas |
| Saf etanol | Sigma-Aldrich |
| DNA's RNA's free water | Bome |
| Hot Star Taq DNA polimeraz | Qiagen |
| Fenol-kloroform-izoamil alkol (25:24:1) | Applichem |
| Sodyum dodesil sülfat (SDS) | Applichem |
| Proteinaz K | Fermentas |
| 100 bp ladder | Fermentas |
| Sodyum klorür (NaCl) | Sigma-Aldrich |
| Dithiothreitol(DTT) | Sigma |
| Tris | Merck |
| EDTA | Sigma |

2.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

| | |
|------------------------|---------|
| Steril eküvyon çubuk | Whatman |
| Jel görüntüleme cihazı | Syngene |

| | |
|---|-------------------------|
| Laminar flow kabin | Esco |
| Thermal Cycle PCR cihazı | Techne Tc 512 |
| Soğutmalı santrifüj | Hettich |
| Mikro santrifüj | Hettich |
| Otoklav | Nüve |
| Su banyosu | Nüve |
| Etüv | Nüve |
| Su pürifikasyon sistemi | Human UP 900 Scholar-UV |
| Vorteks karıştırıcı | Biosan |
| Dijital hassas terazi | Mettler Toledo |
| pH metre | Mettler Toledo |
| Yatay elektroforez cihazı | Scie-Plas |
| Güç kaynağı | Bio-Rad |
| Mikrodalga fırın | Arçelik |
| Ependorf tüpler (1.5 ml. ve 0.2 ml'lik) | Axygen Genuine |
| Otomatik mikro pipetler | Eppendorf, Rainen |
| Pipet uçları (100 µl, 1000 µl, 5 ml, 10 ml) | Finntip |
| Manyetik Karıştırıcı | Mirak |
| Steril eldiven | TopGloves |
| Derin dondurucu | Regal |
| Cam malzemeler | |
| Parafilm | |

2.1.3. Deney Protokolü

2.1.3.1. Çalışma Grubunun Seçilmesi

Araştırmaya değişik oranda saç yoğunluğuna sahip bireyler alınmıştır. 182 kişiden oluşan çalışma grubumuzu 18-73 yaş arası bireyler oluşturmaktadır. Gönüllülerle yapılan ön görüşmeden sonra bireyler çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve steril eküvyon çubuğa yanak içi epitel hücreleri svab şeklinde alınmıştır.

Bu çalışma; Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulunun 12 Aralık 2011 tarih, 41-868 sayılı kararı ile onaylanmıştır. Çalışmamız, Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

2.1.3.2. Çalışma Grubundan Biyolojik Materyalin Toplanması

Çalışmamızda biyolojik materyal olarak, değişik saç yoğunluklarına sahip bireylerden oluşan gönüllülerden steril eküvyon çubuğa alınan yanak içi epitel hücreleri kullanılmıştır ve bu svablardan DNA izolasyonu yapılmıştır. Tüm DNA örnekleri analizlere alınmaya kadar -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

2.1.4. Yöntem

Çalışmamızda toplumumuzdaki değişik saç yoğunluklarına sahip bireylerin AR *StuI* restriksiyon bölgesi G→A polimorfizmi PCR-RFLP (Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi) tekniği ile belirlenmiştir.

2.1.4.1. Saç Dökülmesinde Etkili Olduğu Düşünülen AR *StuI* Restriksiyon Bölgesindeki G→A Polimorfizminin Belirlenmesi

2.1.4.1.1. Yöntemde Kullanılan Çözeltiler

- **%20’lik Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) çözeltisi (500 ml)**
100 gram Sodyum dodesil sülfat (SDS) tartılır. 300 ml distile su içerisinde çözülerek 500 ml’ye tamamlanır.
NOT: Çözelti oda sıcaklığında saklanmalıdır.
- **TE çözeltisi (100 ml)**

0.121 gram tris tartılır ve 80 ml distile su içerisinde çözülür. 0.037 gram EDTA ilave edilir. pH 7.5'a ayarlanır. Distile su ile son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

NOT: → Çözelti +4 °C'de muhafaza edilmelidir.

→ EDTA sıvı konulacak ise 0.5 M EDTA'dan 200 µl konulmalıdır.

- **0.39 M Dithiothreitol (DTT) (5 ml)**

0.3 gram Dithiothreitol (DTT) tartılarak 5 ml distile su içerisinde çözülür.

NOT: Çözelti -20 °C'de muhafaza edilmelidir.

- **1 M Sodyum Klorür (NaCl) (1000 ml)**

58.44 gram sodyum klorür 1000 ml distile su içerisinde çözülür.

NOT: Çözelti +4 °C'de muhafaza edilmelidir.

- **Proteinaz K hazırlanması (1250 µl)**

25 mg Proteinaz K, 1250 µl distile su içerisinde çözülür. 20 µl – 10 µl ve 5 µl'lik hacimlerde ependorf tüplere konur.

NOT: Çözelti -20 °C'de muhafaza edilmelidir.

2.1.4.2. AR *StuI* Restriksiyon Bölgesi Polimorfizminin Genotipinin Belirlenmesi

2.1.4.2.1. Svab Örneklerinden DNA İzolasyonu

Eküvyon çubuğa alınan tükürük örneklerindeki nDNA'yı açığa çıkarabilmek için fenolkloroform- izoamil-alkol ekstraksiyon yöntemi kullanıldı.

1. Ependorf tüplerinin içine konulan svab örneklerinin üzerine;

✓ 45 µl NaCl (1 M),

✓ 40 µl SDS (%10'luk),

✓ 410 µl TE

✓ 7 µl DTT ve

✓ 5 µl Proteinaz K eklenerek kısaca vortekslendi.

2. 56 °C'lik su banyosunda 1.5-2 saat inkübe edildi.

3. İnkübasyondan sonra Fenol-kloroform-izoamil alkol karışımından 500 µl ilave edildi.

4. Ependorf tüpleri 2500 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
5. Alt faz hareket ettirilmeden süpernatant kısmı yeni bir ependorf tüpe alındı ve alt faz atıldı.
6. 1000 µl soğuk saf etil alkol ilave edildi.
7. 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
8. Alkol oluşan pelete zarar vermeden dikkatli bir şekilde uzaklaştırıldı.
9. 500 µl %70'lik oda sıcaklığında etil alkol ilave edildi.
10. 10000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
11. Ependorf tüpün içerisinde bulunan tüm alkol dikkatlice uzaklaştırıldı.
12. Tüpün dibinde kalan alkol de tamamen uçurulduktan sonra 60 µl DNase-RNase free su ilave edildi. Tüm DNA örnekleri diğer analizlere alınmaya kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

Dikkat edilecek hususlar:

- Proteinaz K -20 °C'de muhafaza edilmelidir.
- %10'luk SDS oda koşullarında muhafaza edilmelidir.
- NaCl, TE ve Fenol-kloroform +4 °C'de muhafaza edilmelidir.
- Tüm solüsyonlar gerektiği şekilde sterilize edilmelidir.
- Ependorf tüpleri santrifüj edilirken oryantasyonları belirlenerek yerleştirilmelidir.
[Pelet her zaman görünmeyebilir fakat bu sayede yeri tahmin edilir.]
- Ayrıca DNA çalışmaları için ayrı bir oda oluşturulmalıdır.
- Her izolasyon öncesi ve sonrasında kullanılacak çalışma ortamı ve otomatik pipetler alkol ile temizlenmelidir.
- Pipet setleri ve otomatik mikro pipetler ayrılmalıdır.

2.1.4.2.2. Genomik DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi ile Belirlenmesi ve %0.5'lik Agaroz Jel Hazırlanması

Steril eküvyon çubuğa alınan tükürük örneğinden genomik DNA'nın izole edilip edilmediğinin analizi %0.5'lik agaroz jel elektroforezi ile belirlendi.

1. 0.6 g agaroz tartıldı ve 120 ml 1X TBE çözeltisi bir erlen içinde karıştırıldı.

2. Ağız alüminyum folyo ile kapatıldı ve üzerinde birkaç delik açılarak mikrodalga fırında kaynatıldı.
3. Çözelti oda sıcaklığında 50–60 °C'ye düşünceye kadar bekletildi.
4. Üzerine 8 µl EtBr (10 mg/ml) ilave edildi ve çözelti homojen bir yapı kazanana kadar erlen çalkalandı.
5. Bu karışım jel tarakları yerleştirilmiş jel kalıplarına hava kabarcığı kalmayacak şekilde döküldü. Ayrıca jel üzerinde hava kabarcıkları oluşmuş ise, jel katılaşmaya başlamadan pipet ucu yardımı ile patlatıldı.
6. Jelin katılaşması için bir süre oda sıcaklığında bekletildi.
7. Taraklar ve bariyerler dikkatlice çıkarılarak kalıp elektroforez tankına yerleştirildi. Bu esnada jel kuyucuklarının, yürütme tankının katot elektrot tarafına yerleştirilmesine dikkat edildi.
8. Jelin üzerini kaplayacak miktarda tank içerisine 1X TBE çözeltisi konuldu.

2.1.4.2.2.1. Agaroz Jele Yükleme İçin Örnek Hazırlanması ve Yürütme Koşulları

1. 15 cm uzunluğunda parafilm kesilerek buz kalıbı üzerine yerleştirildi.
2. 1 µl 6X Jel Loading Buffer ve 5 µl DNA örneği parafilm üzerine konuldu ve homojenizasyon için mikropipet yardımı ile yavaşça karıştırıldı.
3. Toplam 6 µl karışım jeli delmeden dikkatli bir şekilde jel kuyucuklarına yerleştirildi.
4. Tank kapağı kapatıldı ve anot ile katot uçlarının bağlantıları takıldı.
5. Güç kaynağı 100 V ve 70 mA'e ayarlanarak, numuneler 45 dakika jel üzerinde yürütüldü.
6. UV ışığında, jel görüntüleme cihazında sonuçlar değerlendirildi.

2.1.4.2.3. PCR

AR *StuI* restriksiyon bölgesi polimorfizminin saç yoğunluğu üzerine etkisini anlamak için DNA örneklerinde SNP' nin olduğu kısmı da içeren bölge Forward ve Reverse

primer çiftleri kullanılarak PCR yöntemi ile amplifiye edildi. Bu işlem TECHNE TC 512 Thermal Cycle cihazı ile gerçekleştirildi ve hedeflenen DNA bölgesinin her biri 2^{35} defa çoğaltıldı. Her PCR analizinde kontrol amacıyla, pozitif ve negatif örnekler de kullanıldı.

2.1.4.2.3.1. Primer Listesi

Amplifikasyon için Forward (F: direkt) ve Reverse (R: karşıt) primerleri kullanıldı. Hedeflenen bölgenin çoğaltılma işlemi Forward primerinin DNA'nın bir ipliğine Reverse primerinin ise diğer ipliğine bağlanmasıyla başlar. Primerler HPSF (High Performance Salt Free) yöntemi ile Montreal'deki Alpha DNA firmasına sentezletirildi. Kullanılan primerler ve özellikleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Amplifikasyonda kullanılan primerler ve özellikleri.

| | F PRİMER | R PRİMER |
|-----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| | 5'- CACAGGCTACCTGGTCCTGG- 3' | 5'- CTGCCTTACACAACCTCCTGG C-3' |
| Uzunluk | 20baz | 22baz |
| GC içeriği | %66,67 | %66,67 |
| Erime Sıcaklığı (T _m) | 63.0 °C | 63.3 °C |
| T _m farkı | 0.3 °C | |

2.1.4.2.3.2. PCR Bileşenleri ve PCR Programı

Standart bir PCR reaksiyonunda PCR Buffer, Hot Star Taq DNA Polimeraz, dNTP karışımı, F Primer, R Primer ve DNA bileşenleri bulunmaktadır.

Çalışmada kullanılan PCR reaksiyonunun bileşenleri, bileşenlerin stok konsantrasyonları, reaksiyondaki miktarları ile reaksiyon karışımındaki final konsantrasyonlarına ait bilgiler Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. PCR bileşenleri ile stoktaki ve reaksiyondaki konsantrasyonları.

| Bileşen | Stok Konsantrasyon | Reaksiyona konulan miktar | 25 µl’lik reaksiyon karışımındaki final konsantrasyon |
|-----------------------------------|---------------------------|----------------------------------|--|
| 10 X PCR Buffer | 10X | 2,5 µl | 1X |
| dNTP karışımı | 2mM | 2 µl | 200 µM |
| F Primer | 10 pmol/ µl | 0,5 µl | 10 pmol/ µl |
| R Primer | 10 pmol/ µl | 0,5 µl | 10 pmol/ µl |
| Hot Star Taq DNA Polimeraz | 5 U/ µl | 0,125 µl | 1,25 U |
| DNA | | 5 µl | ~200 ng |
| Steril H2O | | 17 µl | |

AR *StuI* restriksiyon bölgesi polimorfizmi için Çizelge 2.3’te belirtilen koşullar doğrultusunda PCR gerçekleştirildi.

Çizelge 2.3. AR *StuI* restriksiyon bölgesi polimorfizmi için PCR şartları.

| Şartlar | °C | Süre (dakika) |
|-------------------------|-----------|----------------------|
| Başlangıç denatürasyonu | 94 °C | 10 |
| Denatürasyon | 94 °C | 1 |
| Bağlanma | 60 °C | 1 |
| Uzama | 72 °C | 1 |
| Son uzama | 72 °C | 5 |
| | 4 °C | ∞dakika |
| Siklus sayısı | 35 döngü | |

PCR sonucunda AR *StuI* restriksiyon bölgesi için 416 bp'lik PCR ürünleri elde edildi. Bu ürünün baz dizilimi ve primer dizilimleri Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. PCR ile çoğaltılan 416bp'lik baz dizilimi, AR *StuI*-F ve AR *StuI*-R primerleri.

PCR ürünleri, agaroz jel elektroforezinde yürütülünceye kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

2.1.4.2.3.3. PCR Ürünlerinin Jele Uygulanması ve Elektroforez

PCR işleminin ardından istenilen dizinin amplifikasyonunun doğru olarak gerçekleştiğini kontrol etmek amacıyla 8 µl PCR ürünü ile 1 µl 6X Jel Loading Buffer ile karıştırılarak %1'lik normal agaroz jele yüklendi. Bu jelin hazırlanması için 1.2 gr agaroz tartılarak 120 ml 1XTBE içerisinde çözüldü ve bölüm 2.1.4.2.2' de yapıldığı gibi işleme devam edildi. Ayrıca 100 bp DNA ladder'dan 1 µl, 6X Jel Loading Buffer'dan 1 µ ve distile sudan 6 µl karıştırılarak yükleme yapıldı. Jel 100 Volt ve 70 Amperde 45 dakika elektroforeze tabi tutuldu ve PCR ürünleri UV ışığında, jel görüntüleme sistemi ile değerlendirildi.

2.1.4.2.4. PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimi ile Kesilmesi (RFLP)

DNA sarmalı özgül restriksiyon enzimleri ile kesildiği zaman farklı uzunluklarda fragmentler oluşur ve bu fragmentler agaroz jel elektroforezinde yürütüldüğünde farklı seviyelerde bantlar oluşturur.

Çalışmamızda AR *StuI* restriksiyon bölgesindeki G→A polimorfizmini belirlemek için, amplifikasyon sonucunda oluşan PCR ürünü, *StuI* Restriksiyon enzimi ile kesildi. PCR ürününün RFLP yöntemi ile kesim işlemi negatif ve pozitif örnekler de kontrol amacıyla analizlere alındı.

2.1.4.2.4.1. Kullanılan Kesim Koşulları

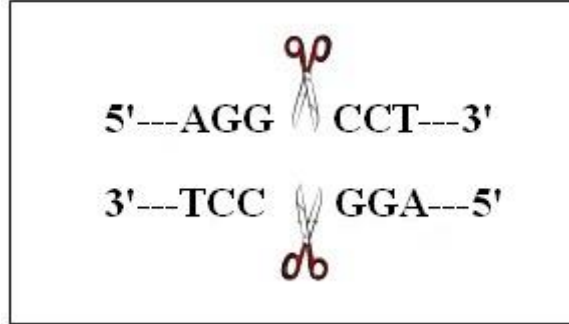
- AR *StuI* restriksiyon bölgesi için kesim koşulları:

8 µl Nükleaz Free H₂O

2 µl NEB4

15 µl PCR ürünü

0.25 µl *StuI* olmak üzere her bir örnek için toplam hacim 25.25 µl'dir. Enzim kesimi için 37°C'de bir gece inkübe edildi.



Şekil 2.2. *StuI* enziminin tanıma bölgesi:

2.1.4.2.4.2. Kesim Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrezine Uygulanması ve Genotip Tayini

AR *StuI* restriksiyon bölgesi genotipleme için çoğaltılan PCR ürünlerinin restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucunda elde edilen ürünler 6X yükleme boyası ile (8 µl kesim ürünü 1 µl boya ile karıştırıldı) bölüm 2.1.4.2.3.3'te anlatıldığı şekilde % 2.5'lik jelle yüklendi ve elektroforeze tabi tutuldu. Sonuçlar UV ışığında, jel görüntüleme sistemi ile değerlendirildi.

2.1.5. İstatistiksel Analiz Yöntemi

Tüm istatistiksel analizlerde SPSS V16 kullanılmıştır. AR *StuI* restriksiyon bölgesinde yer alan G→A tek nükleotid polimorfizminin frekansları direkt olarak hesaplanmıştır. Kategorik veriler için χ^2 testi, grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney-U testi kullanılmıştır. Veriler ortalama±S.S ve median, minimum, maksimum değerleri kullanılarak değerlendirilmiştir. P<0,05 ve p<0,01 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. AR *StuI* Restriksiyon Bölgesindeki G→A Polimorfizmini Belirlemek Amacıyla Yapılan Analiz Sonuçları

Çalışmamıza, Kasım 2012-Haziran 2013 tarihleri arasında, Türkiye'nin farklı bölgelerinde yaşayan farklı saç yoğunluğuna sahip bireyler olmak üzere toplam 182 gönüllü katılmıştır. Genetik analizler için bireylere ait ağız içi svap örnekleri kullanılmıştır. Çalışmada kontrol grubunda 91 ve alopesi grubunda 91 birey bulunmaktadır. Bu bireylerin yaş ortalaması $38,95 \pm 10,23$ 'dür (18-73 yaş). (Çizelge 3.1)

Çizelge 3.1. Çalışmadaki bireylerin yaş dağılımı.

| | N | Minimum | Maksimum | Ortalama |
|----------------|-----|---------|----------|-------------------|
| Alopesi | 91 | 22 | 65 | $39,99 \pm 9,71$ |
| Kontrol | 91 | 18 | 73 | $37,90 \pm 10,69$ |
| Toplam | 182 | 18 | 73 | $38,95 \pm 10,24$ |

Çalışmamızda androjenetik alopesi 6 kategoride incelenmiştir. Bu kategorilere sahip bireylerin genotip frekansı Çizelge 3.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Bireylerin fenotip frekansları.

| Androjenetik Alopesi Tipi | Fenotip Frekansı n: 91 | |
|---------------------------|---------------------------|------|
| | n | % |
| 1.grup (2+2A) | 16 | 17,6 |
| 2.grup (3+3A+3V) | 14 | 15,4 |
| 3.grup (4+4A) | 15 | 16,5 |
| 4. grup (5+5A+5V) | 18 | 19,8 |
| 5. grup (6) | 14 | 15,4 |
| 6. grup (7) | 14 | 15,4 |
| Toplam | 91 | 100 |

3.1.1. Genomik DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi ile Belirlenmesinin Sonuçları

Çalışmada kullanılan 182 örneğin tamamı, izolasyon işleminden sonra agaroz jel elektroforezinde tayin edildi. Her bir örneğin DNA'larının izole edildiği görüldü.

3.1.2. PCR Reaksiyonu ile AR *StuI* Restriksiyon Bölgesinin Amplifikasyon Sonuçları

İnsan AR geni X kromozomu üzerinde q12 lokasyonunda yer alır ve *StuI* restriksiyon enziminin sentezlendiği bölge ekzon1 kısmında 416 baz çiftinden oluşur.

AR *StuI* restriksiyon bölgesi, X Kromozomunun q12 bölgesinde lokalize olan bir genidir. Bu gendeki polimorfizmlerden birisi de rs6152 numaralı SNP'dir. Bu SNP X kromozomu üzerindeki 66765267. noktaya denk gelen nükleotiddir. Bu noktadaki, AR *StuI* restriksiyon bölgesi G→A Tek Nükleotid Polimorfizmi tipik bireylerde nükleotid G iken, atipik bireyler de A'ye değişim göstermektedir.



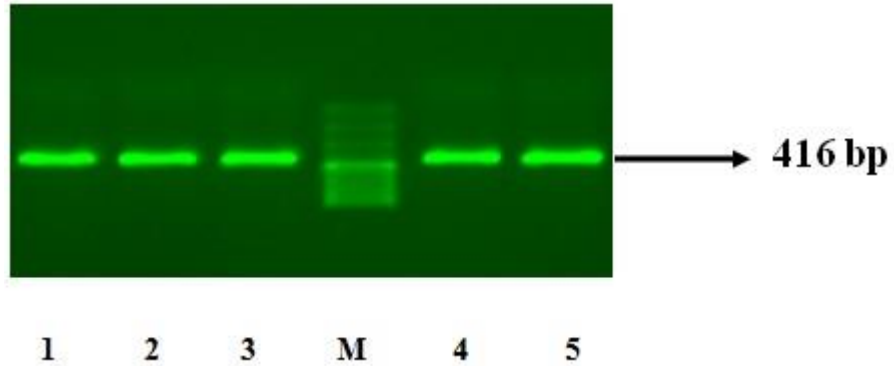
Şekil 3.1. AR geninin X kromozomu üzerindeki lokasyonu

Kullanılan primerler ile amplifiye edilen bölgenin baz dizilimi Çizelge 3.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. PCR’da kullanılan primerler, kromozom üzerindeki lokalizasyonları ve amplifiye edilen bölgenin nükleotid dizilimleri. Kırmızı olan “g” bazı 66765267. noktada bulunan ve G→A değişimini gösteren polimorfik nükleotiddir.

| Primerler | X Kromozomunda Primerlerin Bağlandığı Nokta | Amplifiye Edilen Bölge |
|-----------------|---|--|
| F PRİMER | 5'-CACAGGCTACCTGGTCCTGG-3' | CACAGGCTACCTGGTCCTGG at gaggaacagcaaccttcacagccgagtcggccctggagtg ccacccgagagaggttgcgtccagagcctggagccgccg tgcccgccagcaagggctgccgagcagctgccagcact ccggacgagatgactcagctgccccatccacgttgccctgc tggccccactttccccggcttaagcagctgctccgctgacctt aaagacatcctgagcgaggccagcaccatgcaactcctcag caacagcagcaggaagcagtatccgaaggcagcagcagcg |
| R PRİMER | 5'-CTGCCTTACACAACCTCCTGGC-3' | ggagagcgagggag g cctcgggggctcccacttctccaa ggacaattactagggggcacttcgaccatttctgacaac GC CAAGGAGTTGTGTAAGGCAG |

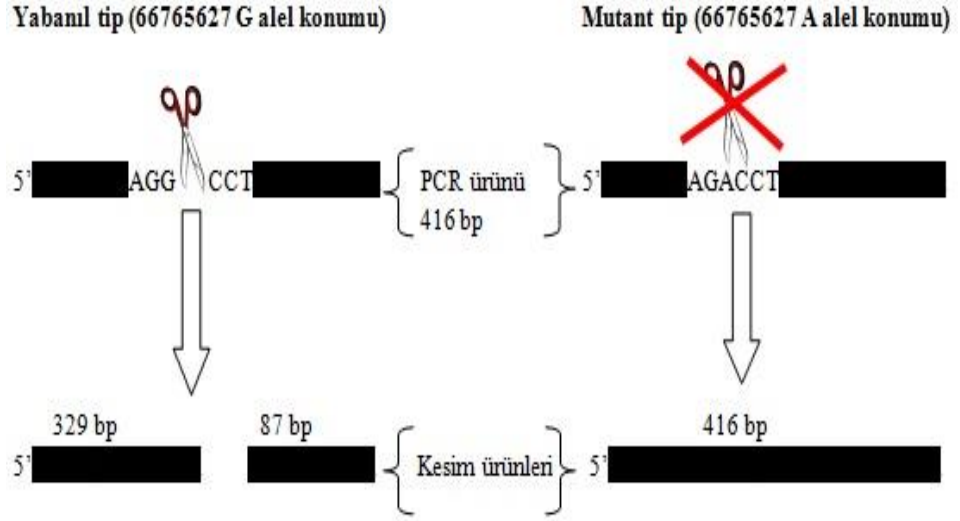
AR *StuI* restriksiyon bölgesindeki G→A polimorfizmini göstermek amacıyla, bu noktayı da içeren 416 bp’lik bölge amplifiye edildi ve sonuçlar jel görüntüleme sisteminde, UV ışık altında değerlendirilerek fotoğraflandı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Amplifikasyonunun jel görüntüsü (M=1000 bp Ladder; 1- 5= 416 bp PCR ürünü).

3.1.3. *StuI* Restriksiyon Enzimi ile Amplifiye Edilen Bölgenin Kesim Sonuçları

AR *StuI* restriksiyon bölgesi G→A genindeki tek nükleotid polimorfizm bölgesini de kapsayacak şekilde çoğaltılan 416 bp’lik PCR ürünü, G→A polimorfizmini belirlemek amacıyla; *StuI* enzimi ile 37 °C’de gece boyu inkübe edildi. *StuI* enzimi 416 bp’lik PCR ürünü Şekil 3.3.’te gösterildiği noktadan keser.



Şekil 3.3. *StuI* restriksiyon enziminin tanıma bölgesi ve kesim ürünlerinin şematik gösterimi.

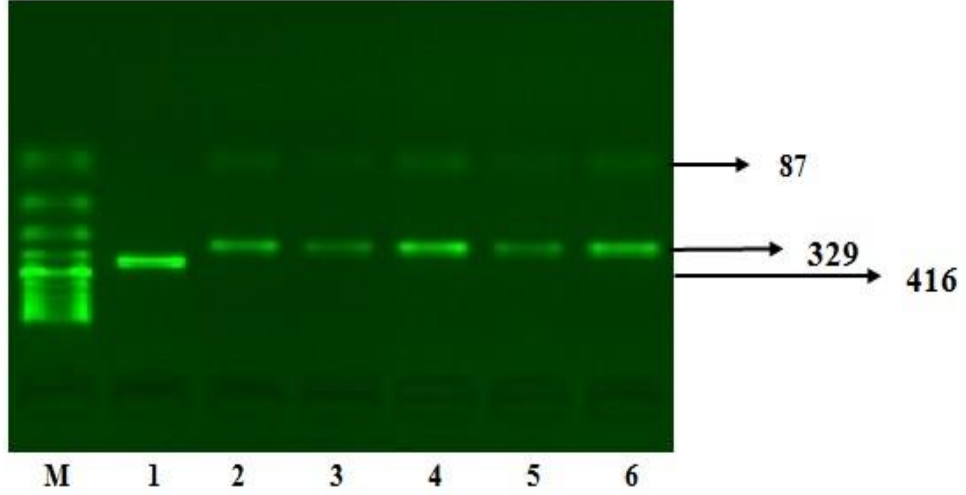
3.1.3.1. DNA Örneklerinin Genotiplendirilmesi

DNA örneklerinin genotiplendirilmesi, restriksiyon enzimi ile kesim sonrası jel analizi sonuçları değerlendirilerek yapılmıştır. Çalışmamızdaki agaroz jel analizlerinin değerlendirilmesi sonucunda üç farklı varyasyon elde edilmiştir:

- ⇔ "GG" homozigot tipik,
- ⇔ "AA" homozigot atipik,
- ⇔ "AG" heterozigot genotip varyantları belirlenmiştir.

3.1.3.2. "G/G" Genotipli Homozigot Tipik Bireyler

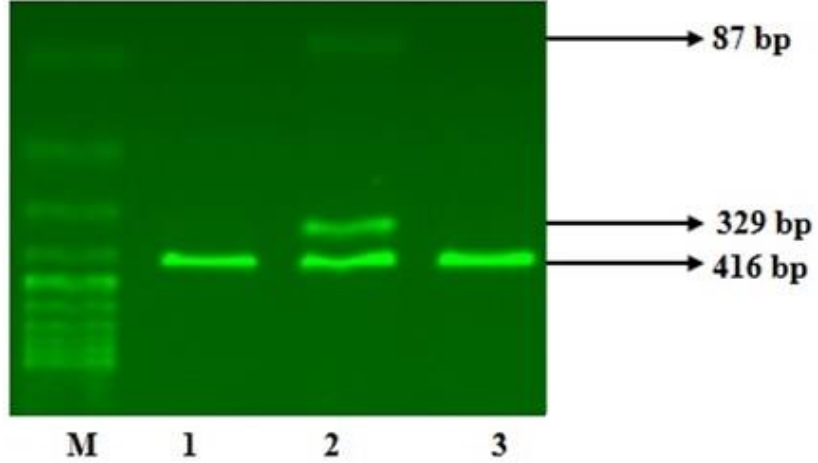
Bireyler homozigot tipik genotipli (GG) ise; *StuI* enzimi 416 bp'lik bölgeyi 5' ucundan AGGCCT dizisini tanıyarak AGG/CCT noktasından keser. Bunun sonucu olarak da 416 bp'lik amplifikasyon ürünü; 329 bp ve 87 bp'lik iki oligonükleotid parçasına ayrılmış olur ve iki bant gözlenir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. 416 bp'lik amplifikasyon ürününün homozigot tipik bireylerde, *Stu I* enzimi ile kesim sonucunda oluşan oligonükleotid uzunlukları (M=100 bp Ladder; 1 homozigot atipik birey= 416 bp uzunluğunda oligonükleotid, 2-6 homozigot tipik genotipli bireyler= 329 bp ve 87 bp uzunluğundaki oligonükleotidler).

3.1.3.3. "A/A" Genotipli Homozigot Atipik Bireyler

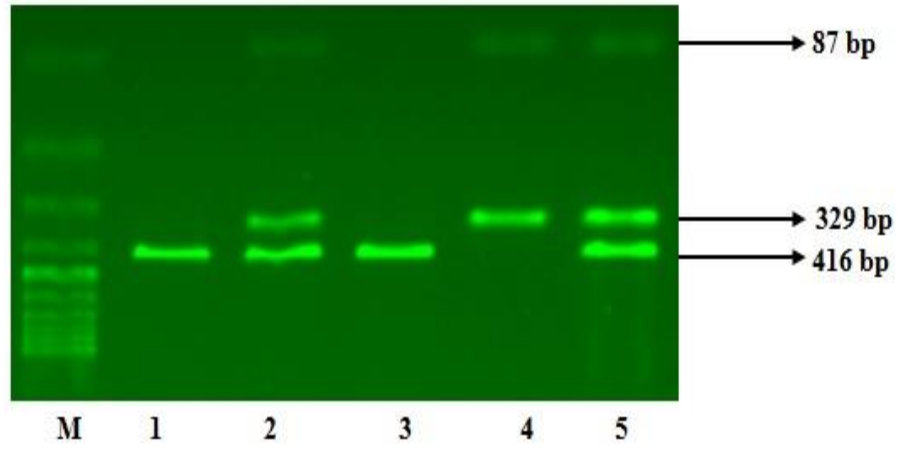
Bireyler homozigot atipik genotipli (AA) ise; *StuI* enzimi AGACCT dizisine bağlanamaz ve bu bölgedeki kesim işlemini gerçekleştiremez ve 416 bp'lik oligonükleotid parçası gözlenir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. 416 bp'lik amplifikasyon ürününün homozigot atipik bireylerde oluşan oligonükleotid uzunlukları (M=1000 bp Ladder; 1 ve 3 homozigot atipik genotipli bireyler= 416 bp uzunluğundaki oligonükleotidler, 2 heterozigot genotipli birey= 416 bp, 329 bp ve 87 bp uzunluğundaki oligonükleotidler).

3.1.3.4. "A/G" Genotipli Heterozigot Bireyler

Bireyler heterozigot genotipli (AG) ise; bireylerin tek DNA ipliğinde "G", diğer DNA ipliğinde "A" olduğundan; *StuI* enzimi ile kesim sonucunda; bir DNA ipliği, "GG" genotipli bireylerde olduğu gibi, 329 bp ve 87 bp olarak iki oligonükleotide ayrılır. Diğer DNA ipliğinde ise "AA" genotipli bireylerde olduğu gibi, kesim işlemi gerçekleştirilemez ve heterozigot genotiplilerin oligonükleotid bantları 416 bp, 329 bp ve 87 bp olarak üç bant şeklinde gözlenir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. 416 bp'lik amplifikasyon ürününün heterozigot bireylerde oluşan oligonükleotid uzunlukları (M=1000 bp Ladder; 1 ve 3 homozigot atipik genotipli bireyler= 416 bp uzunluğunda oligonükleotid, 2 ve 5 heterozigot genotipli bireyler= 416 bp, 329 bp ve 87 bp uzunluğundaki oligonükleotidler, 4 homozigot tipik genotipli birey= 329 bp ve 87 bp uzunluğunda oligonükleotidler).

G→A Tek Nükleotid Polimorfizm bölgesini de kapsayacak şekilde çoğaltılan 416 bp'lik PCR ürününün *StuI* enzimi ile kesim sonucunda oluşan baz çifti uzunlukları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Çizelge.3.4).

Çizelge.3.4. *StuI* enzimi ile kesilen baz çiftlerinin bant uzunlukları.

| GENOTİP | <i>StuI</i> enzimi ile kesim sonucunda oluşan oligonükleotid uzunlukları |
|------------------------|--|
| Homozigot tipik (G/G) | 329 bp, 87 bp |
| Homozigot atipik (A/A) | 416bp |
| Heterozigot (A/G) | 416 bp, 329 bp ve 87 bp |

Çalışmamız sonucunda; farklı saç yoğunluğuna sahip gönüllü bireylerde (n:182; 91 kontrol ve 91 alopesi tanılı birey) AR *StuI* restriksiyon bölgesi gen polimorfizminin; alopesi tanılı bireylerin % 96,7'sinde homozigot tipik (G/G), % 3,3'ünde homozigot atipik (A/A) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda bulunan bireylerin ise %69,2'sinin homozigot tipik (G/G), %5,5'inin heterozigot (A/G) ve %25,3'ünün homozigot atipik(A/A) genotipe sahip oldukları belirlenmiştir. AR *StuI* restriksiyon bölgesi gen polimorfizmi ile oluşan alel frekansları ise; alopesi tanısı konulmuş bireylerde G alel frekansı % 96,7; A alel frekansı ise % 3,3; kontrol grubundaki bireylerde G alel frekansı % 72; A alel frekansı % 28 olarak belirlenmiştir (Çizelge.3.5).

Çizelge.3.5. AR *StuI* gen polimorfizmi ile oluşan genotip ve alel frekansları.

| Polimorfizm | Genotip Frekansı (n:91) | | | |
|---------------------------------|----------------------------|------|---------|------|
| | Kontrol | | Alopesi | |
| | n | % | n | % |
| GG (Homozigot tipik) | 63 | 69,2 | 88 | 96,7 |
| AG (Heterozigot) | 5 | 5,5 | 0 | 0 |
| AA (Homozigot atipik) | 23 | 25,3 | 3 | 3,3 |
| Toplam | 91 | 100 | 91 | 100 |

| Alel | Alel Frekansı (n:182) | | | |
|---------------|--------------------------|------|---------|------|
| | Kontrol | | Alopesi | |
| | n | % | n | % |
| A alel | 51 | 28,0 | 6 | 3,3 |
| G alel | 131 | 72,0 | 176 | 96,7 |
| Toplam | 182 | 100 | 182 | 100 |

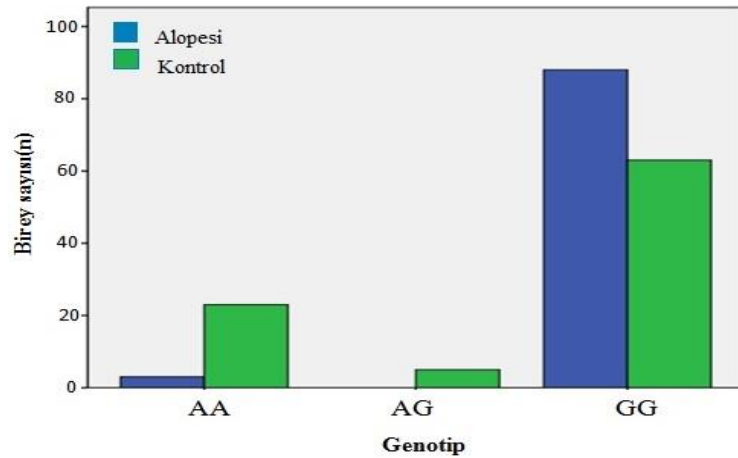
3.2. AR *StuI* Restriksiyon Bölgesi Gen Polimorfizminin Araştırıldığı Bireylerin Fenotipik ve Genotipik Açından Değerlendirilmesi

3.2.1. AR *StuI* Restriksiyon Bölgesi Genotiplerinin Androjenetik Alopesi ile İlişkinin Değerlendirilmesi:

Çalışmamızda yer alan alopesi tanıli bireylerin % 96,7'si, kontrol gurubunda yer alan bireylerin %69,2'si homozigot tipik GG genotipine sahip; alopesi tanıli bireylerin %0, kontrol grubundaki bireylerin %5,5'inin heterozigot AG genotipine; alopesi tanıli bireylerin %3,3'ü, kontrol grubundaki bireylerin %25,3'ünün homozigot atipik AA genotipine sahiptir. (Çizelge.3.6, Şekil.3.7.).

Çizelge.3.6. Bireylerin genotipik açıdan değerlendirilmesi.

| | | | Alopesi | Kontrol |
|---------|----|---|---------|---------|
| Genotip | AA | n | 3 | 23 |
| | | % | 3,3 | 25,3 |
| | AG | n | 0 | 5 |
| | | % | 0 | 5,5 |
| | GG | n | 88 | 63 |
| | | % | 96,7 | 69,2 |
| Toplam | | | 91 | 91 |



Şekil.3.7. AR *StuI* restriksiyon bölgesi genotiplerinin tüm popülasyonda dağılımı

3.2.2. AR *StuI* Restriksiyon Bölgesi Genotiplerinin Androjenetik Alopesi Derecelerine Göre Dağılımının Değerlendirilmesi

Çalışmamızda yer alan alopesi tanısı konmuş bireyler (n:91) “2-2A”, “3-3A-3V”, “4-4A”, “5-5A-5V”, “6”, “7” olmak üzere 6 guruba ayrılmıştır. 2’ den 7’ ye doğru gidildikçe saç dökülme sıklığı artmaktadır. Bu bireylerden;

- 16 tanesi 1.gruba (2-2A),
- 14 tanesi 2.gruba (3-3A-3V),
- 15 tanesi 3.gruba (4-4A),
- 18 tanesi 4.gruba (5-5A-5V),
- 14 tanesi 5.gruba (6) ve
- 14 tanesi 6.gruba (7) dâhil edilmiştir.

Çalışma grubumuzda alopesi tanısı konulmuş bireylerde;

"GG" genotipine sahip bireylerin;

- % 14,8’i (n:13) 1.gruba,
- % 15,9’u (n:14) 2.gruba,
- % 17’si (n:15) 3.gruba,
- %20,5’i (n:18) 4.gruba,
- % 15,9’u (n:14) 5.gruba,
- % 15,9’u (n:14) 6.gruba dâhildir.

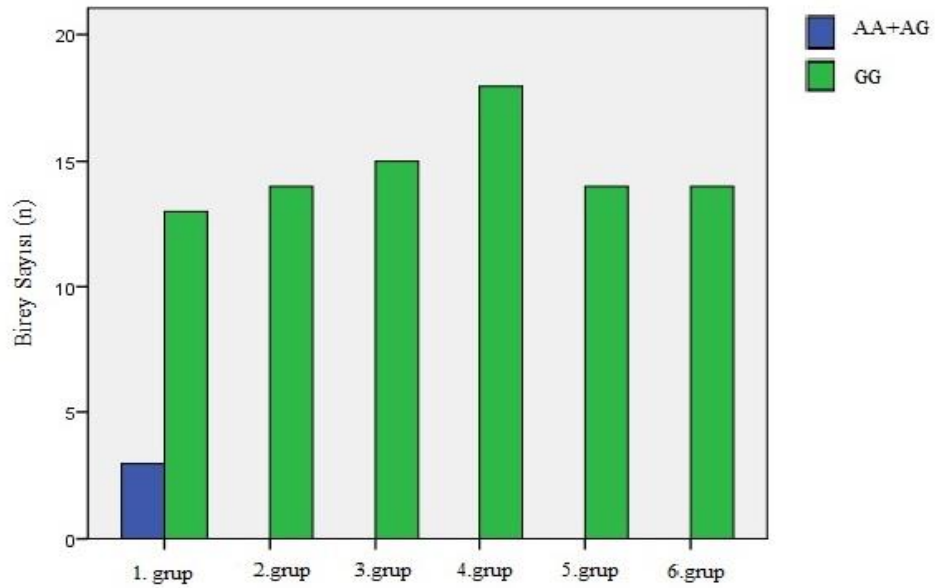
"AA" genotipine sahip bireylerin;

- %100’ü (n:3) 1.gruba dâhildir.

"AG" genotipine sahip birey bulunmamaktadır. (Çizelge.3.7; Şekil.3.8.).

Çizelge.3.7. Alopesi gruplarının genotip frekanslarının dağılımı

| | | AA+AG | GG | Toplam | p | |
|------------------|--------------------------|-------|------|--------|--------|--------|
| Alopesi grupları | 1.grup (2+2A) | n | 3 | 13 | 16 | <0.001 |
| | | % | 18,8 | 81,2 | 100 | |
| | 2. grup (3+3A+3V) | n | 0 | 14 | 14 | <0.001 |
| | | % | 0 | 100 | 100 | |
| | 3. grup (4+4A) | n | 0 | 15 | 15 | <0.001 |
| | | % | 0 | 100 | 100 | |
| | 4. grup (5+5A+5V) | n | 0 | 18 | 18 | <0.001 |
| | | % | 0 | 100 | 100 | |
| | 5. grup (6) | n | 0 | 14 | 14 | <0.001 |
| | | % | 0 | 100 | 100 | |
| | 6. grup (7) | n | 0 | 14 | 14 | <0.001 |
| | | % | 0 | 100 | 100 | |
| Toplam | | 3 | 88 | 91 | <0.001 | |
| | | 3,3 | 96,7 | 100 | | |



Şekil 3.8. Alopesi gruplarının genotip frekanslarının dağılımı.

3.2.3. AR *StuI* Restriksiyon Bölgesi Gen Polimorfizmi-Saç Dökülme Yaşı İlişkisi

Çalışma grubumuzda yer alan bireylerde “G” alelinin görülme sıklığı arttıkça saç dökülme başlangıç yaşı düşmektedir. Homozigot tipik GG genotipine sahip

bireylerde saç dökülme başlangıç yaş ortalaması $25,9\pm 5,7$; homozigot atipik AA genotipine sahip bireylerde saç dökülme başlangıç yaş ortalaması $35,3\pm 0,5$; toplamda saç dökülme başlangıç yaşı ortalaması $26,2\pm 5,9$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.8.).

Çizelge 3.8. AR *StuI* restriksiyon bölgesi gen polimorfizmi-dökülme yaşı ilişkisi.

| AR <i>StuI</i> Genotip | n | Dökülme Yaşı | | |
|------------------------|----|--------------|----------|---------------|
| | | Minimum | Maksimum | Ortalama |
| AA | 3 | 35 | 36 | $35,3\pm 0,6$ |
| GG | 88 | 17 | 43 | $25,9\pm 5,7$ |
| Toplam | 91 | 17 | 43 | $26,2\pm 5,9$ |

Tüm populasyondaki genotip ve fenotip ilişkisi değerlendirildiğinde, bireylerin genotipik özellikleri ve bu özelliğin fenotip üzerine etkisi arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0,001$).

3.2.4.Çalıştığımız Populasyonun Hardy-Weinberg Dengesinin Tespiti

Çalışmamızda yapılan istatistiksel analizlere göre, Ar *StuI* restriksiyon bölgesi gen polimorfizmindeki, genotip ve alel frekans dağılımının hem kontrol hem de alopesi gruplarında Hardy-Weinberg dengesi ile uyumlu olmadığı tespit edilmiştir (Kontrol grubu: $\chi^2 = 70,365$; $p<0,05$; Alopesi grubu için: $\chi^2 = 26,373$; $p<0,05$) (Çizelge 3.9.a-b).

Çizelge 3.9. a- Kontrol grubunun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığının tespiti.

| | AA (Homozigot tipik) (n) | AG (Heterozigot) (n) | GG (Homozigot atipik) (n) |
|--------------------|--------------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| Gözlenen | 23 | 5 | 63 |
| Beklenen | 47,15 | 36,71 | 7,15 |
| $\chi^2 = 70.365;$ | | $p<0.05$ | |

Çizelge 3.9. b- Alopesi grubumuzun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığının tespiti.

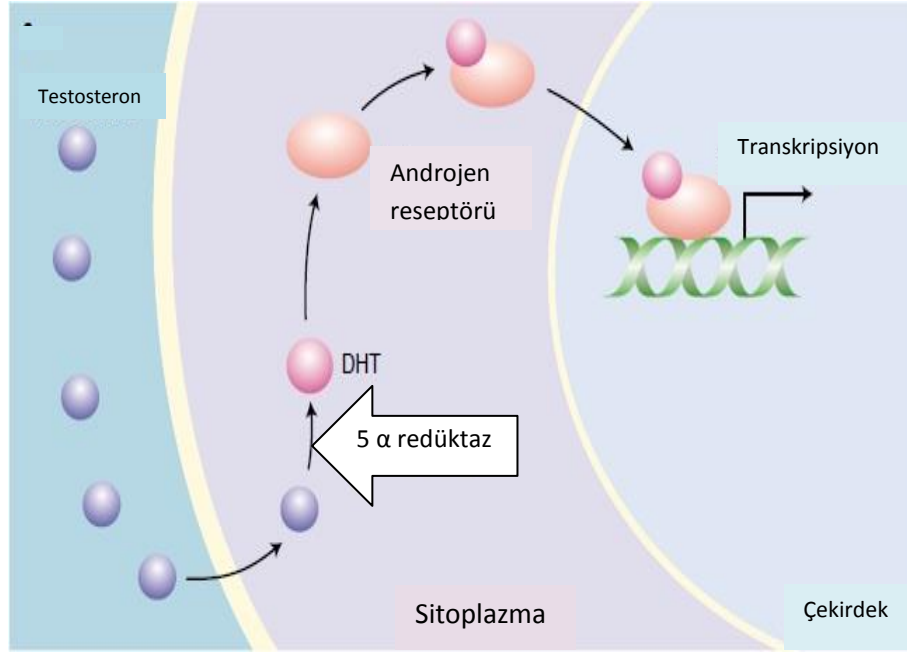
| | AA (Homozigot tipik) (n) | AG (Heterozigot) (n) | GG (Homozigot atipik) (n) |
|--------------------|---|---|--|
| Gözlenen | 3 | 0 | 88 |
| Beklenen | 0,10 | 5,80 | 85,10 |
| $\chi^2 = 26,373;$ | | $p < 0.05$ | |

4.TARTIŞMA

Günümüzde göz, saç ve deri rengi gibi dış görünüşle ilgili karakterlerin DNA analizleri ile tespit edilmesi ve bireylerin saç yoğunluğunun belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmalar adli bilimlerin ilgi odağı haline gelmiştir. Çünkü bu çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin kimliklendirmede ya da eleme kriteri olarak kullanımında çok fayda sağlayacağı düşünülmektedir. Fenotipik özellikleri etkileyen gen polimorfizm çalışmalarından birisi de saç yoğunlu ile ilgili olanlarıdır.

Saç dökülmeleri alopesi olarak tanımlanmakta ve birçok alt gruba ayrılmaktadır. Androjenetik alopesi bu saç dökülmesi tiplerinin yaklaşık %95 'ini oluşturmaktadır (Kumbasar, 2005). Saç dökülmesi ile ilgili yapılan araştırmalarda, saç dökülmesini etkileyen birçok etkenin olduğu gösterilmiştir (Yip ve ark., 2011). Androjenetik alopesinin nedenleri ise androjenler, büyüme faktörleri, yaş ve genetikdir. Bu nedenler dışında birçok çalışmada yer alan cinsiyet ve ırk da AGA nedenleri arasında sayılabilir.

AGA oluşumunda en majör olarak bilinen neden androjenlerdir. Androjenik etki mekanizması testosteron hormonunun kendisinden daha etkili bir molekül olan DHT'ye (dihidrotestosteron) dönüştürülmesi ile başlar. Bu dönüşüm hücre içerisinde üretilen 5 alfa redüktaz enziminin işlevi ile sitoplazma da gerçekleşir. Bu aşamadan sonra DHT androjen reseptörü (AR) ile tepkimeye girerek hücre çekirdeğindeki transkripsiyon ile saç döngüsündeki anajen evrenin ksalmasına ve telojen evrenin uzamasına neden olur. Sonuçta saç derisinde bulunan kıllar terminal kıllardan vellüs kıllara dönüşür bazı durumlarda ise tamamen dökülür. Androjenik etki mekanizması aynı zamanda genetik kontrol altında bulunduğundan AGA oluşumu için multifaktöryel etki söz konusudur (Şekil.4.1.)



Şekil 4.1. Androjenik etki mekanizması 2

AGA ile ilgili olduğu düşünülen genler kromozom 20p11 lokusu, androjen reseptör geni, kromozom 3q26 lokusu, ektodisplasin A2 reseptör geni (EDA2R) (Prodi ve ark., 2008), 5α-redüktaz tip I ve tipII (SRD5A1 ve SRD5A2), aromataz (CYP19A1), östrojen reseptörü α (ESR1), insülin-benzeri gelişme faktörü-2 (IGF-2) ve insülin genleridir (Ellis ve Harrap, 2001; Sinclair ve Dawber, 2001). Bu genlerin birbiriyle olan ilişkisinin saç siklusunu etkilediği düşünülse de majör olarak etki ettiği belirlenen genler androjen reseptör (AR) geni ve SRD5A2 genidir.

AR geni X kromozomunun 11-12 lokusları arasındadır. AR genindeki mutasyonların içerisinde AGA'nın da bulunduğu androjen hassasiyeti, omurilik ve kas erimesi ve prostat kanseri gibi birçok rahatsızlığa neden olduğu bilinmektedir (Zhuo, 2011). En çok görülen ve çalışılan polimorfizmler ekzon 1 bölgesindeki *StuI* restriksiyon bölgesi polimorfizmi (rs6152- G>A) ve iki ayrı üçlü nükleotit (CAG-GGC) tekrarlarıdır. *StuI* restriksiyon bölgesi AR geni ekzon 1 de yer alır ve nükleotiddeki üçüncü bazın adeninden (A) guanine (G) dönüşmesine sebep olur.

Ellis ve arkadaşlarının 2007’de yaptığı bir çalışmada AR *StuI* restriksiyon bölgesi polimorfizminin genç ve yaşlı kel erkeklerde yaklaşık %95, kel olmayan erkeklerde ise yaklaşık %76,6 oranında bulunması *StuI* polimorfizmi ile AGA arasında güçlü bir ilişki olduğunu düşündürmektedir (Ellis ve ark., 2007). Bu çalışmadan başka yapılan birçok çalışma da AR genindeki polimorfizmler ve AGA arasında güçlü bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Ancak yapılan çalışmaların çoğunda yaş, cinsiyet ve ırk göz ardı edilmiştir.

AGA ile AR geni arasındaki ilişkiyi tanımlayan çalışmalar şimdiye kadar sekiz adettir. Bu çalışmalardan ikisi Çince altısı İngilizcedir. Bu çalışmalarda kontrol ve deney gruplarının seçildiği ülkeler ise Avustralya, İsrail, İtalya, Çin, Almanya ve Mısırdır. Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen sonuçlar beyaz ırkların diğer ırklara göre daha fazla risk taşıdığını göstermektedir (Zhuo, 2011; Xu ve ark., 2009; Levy-Nissenbaum ve ark., 2005; Ellis ve ark., 2007; Hayes ve ark., 2005; Hilmer ve ark., 2005; Prodi ve ark., 2008; El-Samahy ve ark., 2009) (Çizelge.4.1; Çizelge.4.2.)

Çizelge 4.1. Çalışmaların genel bilgileri (Zhuo, 2011).

| İlk yazar | Yıl | Ülke | Çalışma dili | İrk | Deney | Kontrol | Polimorfizm |
|------------------------|------|------------|--------------|-----------------|-------|---------|----------------------------|
| Ellis | 2007 | Avustralya | İngilizce | Avustralyalılar | 446 | 107 | <i>StuI</i> RFLP, CAG, GGC |
| Hayes | 2005 | Avustralya | İngilizce | Avustralyalılar | 575 | 136 | <i>StuI</i> RFLP |
| Levy-Nissenbaum | 2005 | İsrail | İngilizce | İsrail | 41 | 39 | <i>StuI</i> RFLP |
| Hilmer | 2005 | Almanya | İngilizce | Alman | 355 | 188 | <i>StuI</i> RFLP, CAG, GGC |
| Xu | 2006 | Çin | Çince | Çin | 101 | 104 | <i>StuI</i> RFLP, CAG, GGC |
| Zhao | 2007 | Çin | Çince | Çin | 34 | 38 | CAG |
| Prodi | 2008 | İtalya | İngilizce | İtalyan | 492 | 492 | <i>StuI</i> RFLP, CAG, GGC |
| El-Samahy | 2009 | Mısır | İngilizce | Mısır | 30 | 11 | <i>StuI</i> RFLP |

Çizelge.4.2. Yapılan çalışmalardaki genotip dağılımı ve frekansları.

| İlk yazar | Deney Grubu | | | | | |
|-------------------------|-------------|----------------|------------|----------|-------------|-------------|
| | n | Toplam Frekans | Alel | | Frekans | |
| | | | G | A | G | A |
| Ellis ve ark. | 446 | 892 | 830 | 62 | 0,93 | 0,07 |
| Hayes ve ark. | 575 | 1150 | 999 | 151 | 0,87 | 0,131 |
| Levy-Nissenbaum ve ark. | 41 | 82 | 78 | 4 | 0,951 | 0,05 |
| Hilmer ve ark. | 355 | 710 | 606 | 104 | 0,85 | 0,15 |
| Xu ve ark. | 101 | 202 | 198 | 4 | 0,98 | 0,02 |
| Prodi ve ark. | 492 | 984 | 905 | 79 | 0,92 | 0,08 |
| El-Samahy ve ark. | 30 | 60 | 44 | 16 | 0,733 | 0,267 |
| Bu çalışma | 91 | 182 | 176 | 6 | 0,97 | 0,33 |

| İlk yazar | Kontrol Grubu | | | | | |
|-------------------------|---------------|----------------|------------|-----------|-------------|-------------|
| | n | Toplam Frekans | Alel | | Frekans | |
| | | | G | A | G | A |
| Ellis ve ark. | 107 | 214 | 164 | 50 | 0,77 | 0,23 |
| Hayes ve ark. | 136 | 272 | 220 | 52 | 0,81 | 0,19 |
| Levy-Nissenbaum ve ark. | 39 | 78 | 52 | 26 | 0,67 | 0,33 |
| Hilmer ve ark. | 188 | 376 | 300 | 76 | 0,80 | 0,20 |
| Xu ve ark. | 104 | 208 | 200 | 8 | 0,96 | 0,04 |
| Prodi ve ark. | 492 | 984 | 748 | 236 | 0,76 | 0,24 |
| El-Samahy ve ark. | 11 | 22 | 12 | 10 | 0,55 | 0,45 |
| Bu çalışma | 91 | 182 | 131 | 51 | 0,72 | 0,28 |

Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2. de sonuçları yer alan tüm çalışmalar sonucunda deney grubunda yer alan bireylerin G frekanslarının kontrol grubundaki G frekanslarından yüksek olduğu görülmektedir. Biz de bu çalışmalar ile uyumlu olarak yaptığımız çalışmada GG genotipine sahip bireylerin fenotipinde değişik oranlarda saç kaybı olduğunu ve AG genotipine sahip bireylerin fenotipinde saç yoğunluğunda belirgin bir farklılık olmadığını belirledik. Ayrıca AA genotipine sahip bireylerin saç yoğunluklarının diğer bireylere oranla daha fazla olduğu sonucuna vardık.

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda çalıştığımız populasyonun tümü genotip ve fenotip ilişkisi açısından değerlendirildiğinde, bireylerin genotipik özellikleri ve bu özelliğin fenotip üzerine etkisi arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Çalışma grubumuzdaki bireylerde AR *StuI* restriksiyon bölgesi polimorfizminin genotip ve alel frekans dağılımı Hardy-Weinberg dengesi ile uyumlu olmamıştır. Hardy-Weinberg dengesi, belirli sabit şartlar altında her iki alelin frekansının ve genotipik oranının sabit kalması ve popülasyondaki bireylerin rastgele seçilme durumunda geçerlidir. Bizim çalışmamızda ise, toplumumuzdaki farklı saç yoğunluğuna sahip bireyler çalışma grubumuzu oluşturmuştur. Dolayısı ile 1'den 7'ye kadar derecelendirilen saç yoğunluğuna sahip bireyler ile saç yoğunluğunda azalma olmayan bireyler çalışmaya dâhil edilerek rastgele seçim yapılmadığından, AR *StuI* restriksiyon bölgesi X kromozomunun 11-12 lokusları arasında yer aldığından ve bu çalışmada sadece erkek bireylere yer verildiğinden genotip ve alel frekanslarımız Hardy-Weinberg dengesi ile uyumlu çıkmadığı düşünülmektedir ($p < 0.05$).

Literatür taramamız sonucunda, toplumumuzda saç yoğunluğunu etkileyen gen polimorfizmleriyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Avustralya, Çin, İtalya, Mısır, Almanya gibi diğer ülkelerde AR *StuI* restriksiyon bölgesi polimorfizmi çalışılmış (Zhuo, 2011; Xu ve ark., 2009; Levy-Nissenbaum ve ark., 2005; Ellis ve ark., 2007; Hayes ve ark., 2005; Hilmer ve ark., 2005; Prodi ve ark., 2008; El-Samahy ve ark., 2009) ve bizim çalışmamızla uyumlu sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Dolayısıyla bu çalışmanın, toplumumuzda saç yoğunluğunu etkileyen gen polimorfizmlerinin frekanslarının belirlenmesinin adli olayların

aydınlatılmasına yardımcı olması yönünden önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemiz bireylerinde saç yoğunluğu ile ilişkili genetik polimorfizm çalışması yapılmamıştır. Diğer ülkelerde farklı genleri kapsayan çalışmalar olmakla birlikte birçok genetik polimorfizm çalışması bulunmaktadır. Bu nedenle yapmış olduğumuz çalışmanın ülkemiz bazında bu ilişkiyi inceleyen ilk bilimsel çalışma olmasından dolayı önemli olabileceği düşünülmektedir.

Saç yoğunluğunu etkileyen birçok farklı gen bulunmaktadır ancak "Androjen reseptör (AR)" geni androjenetik alopesi (AGA) oluşumundan sorumlu en önemli genidir. Yapmış olduğumuz analizlerin (PCR-RFLP) değerlendirilmesi sonucunda bu genin; homozigot tipik (GG), homozigot atipik (AA), heterozigot (AG) olmak üzere üç farklı varyasyonu belirlenmiştir.

ARStu1 geninde yer alan G→A tek nükleotid polimorfizmi ile;

* "GG" genotipine sahip bireylerin AGA olma olasılığının diğer bireylere göre daha yüksek olduğu,

* "AG" genotipine sahip bireylerin daha az sıklıkta AGA olabilecekleri,

* "AA" genotipine sahip bireylerin ise yüksek saç yoğunluğuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla, olay yerinden alınan biyolojik materyalde yapılan analizler sonucunda, şüpheli şahıs "AA" genotipine sahip ise saç yoğunluğunun az olamayacağı, eğer kişi "GG" genotipine sahip ise saç yoğunluğunun az olacağı sonucuna varılmıştır. Sonuçlara göre birey "AA" veya "AG" genotipine sahip ise fenotipinde belirgin bir saçsızlık olmayacağı, ancak "GG" genotipine sahip ise fenotipinde saçsızlık olabileceği söylenebilmektedir.

Farklı saç yoğunluğuna sahip bireylerden oluşan çalışma grubumuzda yapılan analizler sonucunda populasyonun tümü genotip ve fenotip ilişkisi açısından değerlendirildiğinde, bireylerin genotipik özellikleri ve bu özelliğin fenotip üzerine etkisi arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p < 0.001$).

Genetik çalışmalar maliyeti fazla olan analizlerdir. Dolayısıyla adli vakalarda kimlik tespiti sırasında genotipik özelliklerin belirlenmesi fenotipik özellikler hakkında çıkarımda bulunmamızı sağlayacaktır. Bu durum da adli biyolojide zaman, maliyet ve iş gücü açısından avantaj sağlayacaktır.

Fenotipi belirleyen genlerdeki polimorfizmlerle ilgili veri tabanı oluşturulduğu takdirde, şüpheli sayısının çok fazla olduğu durumlarda, AR *StuI* restriksiyon bölgesi polimorfizmi çalışılarak şüphelinin saç yoğunluğu tahmin edilebilir ve kimliklendirmede fiziksel bir eleme kriteri olarak kullanılabilir ya da toplu ölümlerin olduğu kazalarda kimlik bilgilerine ulaşmak açısından fayda sağlayabilir. Ancak bu analizler yapılırken saç yoğunluğunu etkileyen yaş, büyüme faktörleri, diğer hastalıklar gibi birçok etmen bulunduğu da göz ardı edilmemelidir.

Androgenetik alopesi oluşumunun poligenik kalıtımla gerçekleştiği kabul edildiğinden diğer genlerle ilgili polimorfizm çalışmalarının da yapılması sonuçların kesinleştirilmesinde faydalı olacaktır.

ÖZET

AR *StuI* Gen Polimorfizminin Androjenetik Alopesi Üzerine Etkisi

Olay yerinde bulunan numunenin kaynağının fiziksel özelliklerinin belirlenmesi delil niteliğinde bilgi sağlamaktadır. Bireylerin görünüşlerinin en bariz tanımlayıcıları yüz özellikleri, boyu, ten rengidir. Ayrıca göz, saç ya da deri rengi ve saç yoğunluğu gibi fiziksel karakterlerle ilişkili SNP genotiplemesinin adli bilimler alanında yakın gelecekte kişisel kimliklendirme için yararlı bir araç olması beklenmektedir. Fiziksel bir özellik olan saç yoğunluğu ve bu konu hakkında yapılan çalışmaların temelinde androjenler yer almaktadır. Çünkü androjenik etki mekanizmasına bağlı olarak saçlı deride bulunan kılların terminal veya vellüs tipte olması belirlenebilmektedir.

Androjenik etkinin ve androjenetik alopesinin oluşmasından birçok farklı gen sorumlu olmasına rağmen X kromozomunun 12.lokusundaki androjen reseptör(AR) geni saçlılık veya saçsızlığa daha çok etki etmektedir. Ayrıca, son birkaç yıl içinde AR'nin saç yoğunluğu ile daha güçlü bir bağlantısının olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, toplumumuzdaki farklı saç yoğunluğuna sahip bireylerin AR *StuI* restriksiyon bölgesi genotiplerinin araştırılmasıdır. Bu amaçla, 182 bireyde AR *StuI* restriksiyon bölgesindeki G→A tek nükleotid polimorfizmi araştırıldı. AR *StuI* genindeki G→A tek nükleotid polimorfizminin (rs6152) genotip frekansları; alopesi grubunda %96,7 homozigot tipik GG, ve %3,3 homozigot atipik AA, kontrol grubunda ise %69,2 homozigot tipik GG, %5,5 heterozigot AG ve %25,3 homozigot atipik AA genotip olarak belirlendi. Alel frekansı; alopesi grubunda G aleline sahip bireyler %96,7, kontrol grubunda G aleline sahip bireyler ise %69,2 olarak tespit edildi.

Çalışmamızda AR*StuI* geninde yer alan rs6152 adlı tek nükleotid polimorfizmi ile "GG" genotipli bireylerin düşük saç yoğunluğuna sahip olabileceği (1'den 6'ya kadar herhangi bir değer olabilir) ve "AG" ile "AA" genotiplerine sahip bireylerin ise yüksek saç yoğunluğuna sahip olabileceği sonucuna varılmıştır. İlerideki çalışmalarda, AGA için sebep olabilecek diğer gen polimorfizmlerinin de çalışılması önerilmektedir.

Anahtar kelimeler: AR*StuI*, alopesi, androjen, genotip, fenotip

SUMMARY

Effect of AR *StuI* Gene Polymorphism on Androgenetic Alopecia

Determining the physical characteristics of the source of a crime scene sample provides important probative information. Facial features, height and skin colour are the major physical descriptors of a person. In addition, in the field of forensic science, genotyping of SNPs associated with physical traits such as eye, hair or skin colors and hair density are expected to be a useful tool for personal identification in the future. Hair density as a physical trait and studies on this topic are based on androgens. Depending on the androgenic mechanism, terminal or vellus type of the scalp can be determined.

Although there are many different genes responsible for androgenic effect and androgenetic alopecia, it is mostly attributed to androgen receptor gene on chromosome Xq12. In addition, within the last couple of years, AR has been linked more strongly to hair density.

The aim of this study is to determine AR *StuI* restriction fragment genotypes of individuals with different hair density. For this purpose, G→A single nucleotide polymorphism (SNP) (rs6152) of AR *StuI* restriction fragment was analyzed in 182 individuals. The genotype frequencies of the SNP in the AR *StuI* restriction fragment were determined as follows; alopecia 96,7% homozygote typical (GG) and 3,3% homozygote atypical (AA) genotype; controls 69,2% homozygote typical (GG), 5,5% heterozygote (AG) and 25,3% homozygote atypical (AA) genotype. The frequency of G allele in patient was found as 96,7% and in controls 69,2%.

In this study, it is suggested that the prediction relies mainly on rs6152 in AR gene, in an exclusive approach: G/G-homozygotes are deduced to have low hair density (1 through 6 can be any value.). A/G-heterozygotes and A/A-homozygotes are deduced to have high hair density. In future studies, studied of other gene polymorphisms which may lead to AGA is recommended.

Key words: AR *StuI*, Alopecia, Androgen, Genotype, Phenotype.

KAYNAKLAR

- BARANSÜ, O. (1994). Saç hastalıkları. In: *Dermatoloji*, Ed: Tüzün Y, Kotoğyan A, Aydemir EH, Baransü O. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, syf. : 519-527.
- BIRCH, M.P., LALLA, S.C., MESSENGER, A.G. (2002). Female pattern hair loss. *Clinical and Dermatology*. **27**: 383-388.
- BORLU, M., UKŞAL, Ü., UTAŞ, S., BAYRAM, F., MÜDERRİS, İ. (2004). Androjenetik Alopesili 59 Kadın Hastada Hiperandrojenizm ve Polikistik Over Sendromu. *Türkderm*. **38**: 106-110.
- BOUHANNA, P. (2000). Multifactorial Classification of Male and Female Androgenetic Alopecia. *Dermatol Surg*. **26**: 555-561.
- BOTCHKAREV, V.A., PAUS, R. (2003). Molecular Biology of Hair Morphogenesis: Development and Cycling. *Journal Of Experimental Zoology (Mol Dev Evol)* **298B**: 164-180.
- BOTSTEIN, D., WHITE, R.L., SKOLNICK, M., DAVIS, R.W. (1980). Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *Am J Hum Genet*. **32**: 314-331.
- CEREN, E., EKMEKÇİ, T.R., KÖŞLÜ, A. (2008). Androjenetik alopesili kadınlarda hairdeks ile yaşam kalitesinin değerlendirilmesi. *Şeh Tıp Bülteni*. **42**: 22-26.
- CHAMBERLAIN, A.J., DAWBER, R.P. (2003). Methods of evaluating hair growth. *Australas J Dermatol*. **44**: 10-8.
- CHARTIER, M.B., HOSS, D.M., KELS, J.M.G. (2002). Approach to the adult female patient with diffuse nonscarring alopecia. *J Am Acad Dermatol*. **47**: 809-818.
- CHOI, M.H., YOO, Y.S., CHUNG, B.C. (2001). Biochemical Roles of Testosterone and Epitestosterone to 5 α -Reductase as Indicators of Male-Pattern Baldness. *J Invest Dermatol*. **116**: 57-61.
- COBB, J.E., ZALOUMİS, S.G., SCURRAH, K.J., HARRAP, S. B., ELLIS, J. A. (2010). Evidence for two independent functional variants for androgenetic alopecia around the androgen receptor gene. *Experimental Dermatology*. **19**: 1026-1028.
- COŞKUN, B.K., ÇİCEK D. (2006). Kıl folikülünün biyolojisi. *Turkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences*. **2**: 5-12.
- DALLOB, A.L., SADICK, N.S., UNGER, W., LİPERT, S., GEİSSLER, L.A., GREGOIRE, S.L., NGUYEN, H.H., MOORE, E.C., TANAKA, W.K. (1994). The effect of

finasteride, a 5 alpha-reductase inhibitor, on scalp skin testosterone and dihydrotestosterone concentrations in patients with male pattern baldness. *J Clin Endocrinol Metab.* **79**: 703-706.

DE VILLEZ, R.L., DUNN, J. (1986). Female Androgenic Alopecia. *Arch Dermatol.* **122**: 1011-1015.

DİCLE, Ö. (2010). Kadınlarda Saç Dökülmeleri ve Demir Eksikliği. *Türkderm.* **44**: 3-7.

EBLING, F.J. (1976). Hair. *The Journal of Investigate Dermatology.* **67**: 98-105.

EBLING, F.J. (1987). The biology of hair. *Dermatol Clin.* **5**: 467-481.

ELLIS, J.A., STEBBING, M., HARRAP, S.B. (1998). Genetic Analysis of Male Pattern Baldness and the 5 α -Reductase Genes. *J Invest Dermatol.* **110**: 849-853.

ELLIS, J.A., HARRAP, S.B. (2001). The genetics of androgenetic alopecia. *Clin Dermatol.* **19**: 149-154.

ELLIS, J.A., SINCLAIR, R., HARRAP, S.B. (2002). Androgenetic alopecia: pathogenesis and potential for therapy. *Cambridge University Press.*

ELLIS, J.A., SCURRAH, K.J., COBB, J.E., ZALOUMIS, S.G., DUNCAN, A.E., HARRAP, S.B. (2007). Baldness and the androgen receptor: the AR polyglycine repeat polymorphism does not confer susceptibility to androgenetic alopecia. *Hum Genet.* **121**: 451-457.

ELLIS, J.A., STEBBING, M., HARRAP, S.B. (2001). Polymorphism of the androgen receptor gene is associated with male pattern baldness. *J Invest Dermatol.* **116**: 452-455.

EL-SAMAHY, M.H., SHAHEEN, M.A., SADDIK, D.E., ABDEL FATTAH, N.S.A., EL-SAWI, M.A., MAHRAN, M.Z., SHEHAB, A.A.A. (2009). Evaluation of androgen receptor gene as a candidate gene in female androgenetic alopecia. *Int J Dermatol.* **48**: 584-587.

ERBOZ, S., ERTAM, İ. (2002). Saç büyüme regülasyonu. *T Klin J Med Sci.* **3**: 59-62.

EMİR, F., ÖZDEN, A. (2006). Genetik Polimorfizm ve Polimorfizm Çalışmaları. *Güncel Gastroenteroloji.* 24-28.

FALCO, O.B., PLEWİG, G., WOLFF, H.H., BURGDORF, W.H.C. (2000). Dermatology: Diseases of hair. *2nd ed. Berlin, Springer-Verlag.* :1099-1140.

FEIT, L.J. (1969). Pathogenetic classification of male pattern baldness. *Int Surg.* **51**: 58-67.

- FORSLIND, B. (2000). Structure and function of the hair follicle. In: Camacho FM, Randall VA, Price VH, editors. Hair and its disorders. Biology, pathology and management. 1st ed. London, Martin Dunitz Ltd. p3-15.
- FUTTERWEIT, W., DUNAIF, A., YEH, H.C., KINGSLEY, P. (1988). The prevalence of hyperandrogenism in 109 consecutive female patients with diffuse alopecia. *J Am Acad Dermatol.* **19**: 831-836.
- GÖKSÜGÜR, N., KILIÇ, B. (2006). Anajen saç dökülmeleri. *T Klin J Med Sci.* **2**: 1-5.
- GUARRERA, M., CIPRIANI, C., REBORA, A. (1998). Delayed telogen replacement in a boy's scalp. *Dermatology.* **197**: 335-337.
- GUARRERA, M., REBORA, A. (1996). Anagen hairs may fail to replace telogen hairs in early androgenic female alopecia. *Dermatology.* **192**: 28-31.
- HA, S.J., KIM, S.J., MYUNG, J.W., LEE, H.J., KIM, J.W. (2003). Analysis of genetic polymorphisms of steroid 5 α -reductase type 1 and 2 genes in Korean men with androgenetic alopecia. *Journal of Dermatological Science.* **31**: 135-141.
- HAMILTON, J.B. (1951). Patterned loss of hair in man: types and incidence. *Ann N Y Acad Sci.* **53**: 708-728.
- HANNEKEN, S., RITZMAN, S., NÖTHEN, M.M., KRUSE, R. (2003). Androgenetische Alopezie. Aktuelle Aspekte eines vertrauten Phänotyps. *Hautarzt.* **54**: 703-712.
- HASSANI, M., GOROUHI, F., BABAKOOHI, S., MOGHADAM-KIA, S. (2012). Treatment of Female Pattern Hair Loss. *SKINmed.* **10**: 218-227.
- HAYES, V.M., SEVERI, G., EGGLETON, S.A., PADILLA, E.J.D., SOUTHEY, M.C., SUTHERLAND, R.L., HOPPER, J.L., GILES, G.G. (2005). The E211 G>A androgen receptor polymorphism is associated with a decreased risk of metastatic prostate cancer and androgenetic alopecia. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev.* **14**: 993-996.
- HIBINO, T., NISHIYAMA, T. (2004). Role of TGF- β 2 in the human hair cycle. *Journal of Dermatological Science.* **35**: 9-18.
- HILLMER AM., HANNEKEN S., RITZMANN S. BECKER, T., FREUDENBERG, J., BROCKSCHMIDT, F.F., FLAQUER, A., FREUDENBERG-HUA, Y., JAMRA, R.A., METZEN, C., HEYN, U., SVHWEIGER, N., BETZ, R.C., BLAUMEISER, B., HAMPE, J., SCHREIBER, S., SCHULZE, T.G., HENNIES, H.C., SCHUMACHER, J., PROPPING, P., RUZICKA, T., CICHON, S., WIENKER, F., KRUSE, R., NOTHEN, M.M. (2005). Genetic variation in the human androgen receptor gene is the major determinant of common early-onset androgenetic alopecia. *Am J Hum Genet.* **77**: 140-148.

- HILMER, AM., BROCKSCHMİDT, F.F., HANNEKEN, S., EIGELSHOVEN, S., STEFFENS, M., FLAQUER, A., HERMS, S., BECKER, T., KORTUM, A.K., NYHOLT, D.R., ZHAO, Z.Z., MONTGOMERY, G.W., MARTIN, N.G., MUHLEISEN, T.W., ALBLAS, M.A., MOEBUS, S., JOCKEL, K.H., PREUSS, M.B., ERBEL, R., REINARTZ, R., BETZ, R.C., CICHON, S., PROPPING, P., BAUR, M.P., WIENKER, T.F., KRUSE, R., NOTHEN, M.M. (2008). Susceptibility variants for male-pattern baldness on chromosome 20p11. *Nature Genetics*. **40(11)**: 1279-1281.
- HİLLMER, A.M., FLAQUER, A., HANNEKEN, S., EIGELSHOVEN, S., KORTUM, A.K., BROCKSCHMİDT, F.F., GOLLA, A., METZEN, C., THIELE, H., KOLBERG, S., REINARTZ, R., BETZ, R.C., RUZICKA, T., HENNIES, H.C., KRUSE, R., NOTHEN, M.M. (2008) Genome-wide scan and fine-mapping linkage study of androgenetic alopecia reveals a locus on chromosome 3q26. *Am. J. Hum. Genet.* **82**: 737-743.
- HOFFMANN, R., HAPPLE, R. (1999). Die pathogenetische Bedeutung der 5 α -Reduktase-Isoenzyme für die androgenetische Alopezie. *Hautarzt*. **50**: 165-173.
- HOFFMANN, R. (2002). Male androgenetic alopecia. *Clinical and Experimental Dermatology*. **27**: 373-382.
- HOFFMANN, R. (2003). Steroidogenic Isoenzymes in Human Hair and Their Potential Role in Androgenetic Alopecia. *Dermatology*. **206**: 85-95.
- HOFFMANN, R. (2004). Androgenetische Alopezie. *Hautarzt*. **55**: 89-111.
- İZMİRLİ, M. (2010). Prostat Kanserinin Elac2 Ve Srd5a2 Genlerindeki Polimorfizmler İle İlişkinin Araştırılması. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Adana.
- KARINCAOĞLU, Y. (2006). Kıl folikülünün anatomisi. *Turkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences*. **2**: 1-4.
- KAUFMAN, K.D. (1996). Androgen metabolism as it affects hair growth in androgenetic alopecia. *Dermatol Clin*. **14**: 687-711.
- KAUFMAN, K.D., OLSEN, E.A., WHITING, D., SAVIN, R., DEVILLEZ, R., BERGFELD, W., PRICE, V.H., VAN NESTE, D., ROBERTS, J.L., HORDİNSKY, M., SHAPIRO, J., BINKOWITZ, B., GORMLEY, G.J. (1998). Finasteride in the treatment of men with androgenetic alopecia. *J Am Acad Dermatol*. **39**: 578-589.
- KAUFMAN, K.D. (2002). Androgens and alopecia. *Molecular and Cellular Endocrinology*. **198**: 89-95
- KLIGMAN, A.M. (1959). The human hair cycle. *J Invest Dermatol*. **83**: 307-316.
- KOCATÜRK, U. (1981) Açıklamalı Tıp Terimleri Sözlüğü. Erzurum.

- KRAUSE, K., FOITZIK, K. (2006). Biology of the hair follicle: the basics. *Semin Cutan Med Surg.* **25**: 2-10.
- KUBISTA, M., ANDRADE, J.M., BENGTSSON, M., FOROOTAN, A., JONÁK, J., LIND, K., SINDELKA, R., SJOBACK, R., SJOGREEN, B., STROMBOM, L., STAHLBERG, A., ZORIC, N. (2006). The real-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects of Medicine.* **27**: 95–125.
- KUMBASAR, E. (2005). Kadınlarda Görülen Androjenetik Alopeside Ludwig Sınıflaması Ve Saçın Saç Dansite Sınıflamasının Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji Kliniği, İstanbul.
- KUSTER, W., HAPPLE, R. (1984). The inheritance of baldness: Two B or not two B? *J Am Acad Dermatol.* **11**: 921– 926.
- LAVKER, R.M., MILLER, S., WILSON, C., COTSARELIS, G., WEI, Z.G., YANG, J.S., SUN, T.T. (1993). Hair Follicle Stem Cells: Their Location, Role in Hair Cycle, and Involment in Skin Tumor Formation. *The Journal of Investigative Dermatology.* **101**: 16-26.
- LAVKER, R.M., BERTOLINO, A.P., SUN, T.T. (2003). Biology of hair follicles. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI editors: *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine.* 6th ed. New York, The McGraw-Hill Companies. 148-159.
- LEGRO, S.L., CARMINA, E., STANCZYK, F.Z., GENTZSCHEIN, E., LOBO, R.A. (1994). Alterations in androgen conjugate levels in women and men with alopecia. *Fertil Steril.* **62**: 744-750.
- LEVY-NISSENBAUM, E., BAR-NATAN, M., FRYDMAN, M., PRAS, E. (2005). Confirmation of the association between male pattern baldness and the androgen receptor gene. *Eur J Dermatol.* **15(5)**: 339–40.
- LI, J., COATES, R.J., GWINN, M., KHOURY, M.J. (2010). Steroid 5- α -Reductase Type 2 (SRD5a2) Gene Polymorphisms and Risk of Prostate Cancer: A HuGE Review. *Am J Epidemiol.* **171**: 1-13.
- LIM, J.H., KIM, S.Y., LEE, S.W., PARK, S.Y., HAN, J.Y., CHUNG, J.H., KIM, M.Y., YANG, J.H., RYU, H.M. (2011). Association between genetic polymorphisms in androgen receptor gene and the risk of preeclampsia in Korean women. *J Assist Reprod Genet.* **28**: 85-90.
- LUDWIG, E. (1977). Classification of the types of androgenetic alopecia (common baldness) arising in female sex. *Br J Dermatol.* **97**: 247-254.

- MESINKOVSKA, N.A., BERGFELD, W.F. (2013). Hair: What is New in Diagnosis and Management? Female Pattern Hair Loss Update: Diagnosis and Treatment. *Dermatol Clin.* **31**: 119–127.
- MUT, K. (2008). Saça Uygulanan Kozmetik Ürünlerde Sıvı Kristal Kullanarak Etkinliğin Artırılmasına Yönelik Çalışma. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Mersin.
- NORWOOD, O.T. (1975). Male pattern baldness: classification and incidence. *South Med J.* **68**: 1359-1365.
- NORWOOD, O.T., LEHR, B. (2000). Female Androgenetic Alopecia: A Separate Entity. *Dermatol Surg.* **26**: 679-682.
- OGATA, T. (1953). Development of patterned alopecia. *Sogo Rinsho.* **2**: 101-106.
- OLSEN, E.A. (2001). Female pattern hair loss. *J Am Acad Dermatol.* **45**: 70-80.
- OLSEN, E.A., MESSENGER, A.G., SHAPIRO, J., BERGFELD, W.F., HORDINSKY, M.K., ROBERTS, J.L., STOUGH, D., WASHENIK, K., WHITING, D.A. (2005). Kadın ve erkek tipi saç kaybının değerlendirilmesi ve tedavisi. *J Am Acad Dermatol.* **52**: 301-311.
- OLSEN, E.A., WHITING, D., BERGFELD, W., MILLER, J., HORDINSKY, M., WANSER, R., ZHANG, P., DURHAM, K.B. (2008). Erkeklerde androgenetik alopesi tedavisinde topikal %5 minoksidil köpük ile plasebonun karşılaştırıldığı çok merkezli, randomize, plasebo kontrollü, çift kör bir klinik çalışma. *J Am Acad Dermatol.* **57**: 767-774.
- OLIVEIRA, I.O., LHULLIER, C., BRUM, I.S., SPRITZER, P.M. (2003). The 5alpha-reductase type 1, but not type 2, gene is expressed in anagen hairs plucked from the vertex area of the scalp of hirsute women and normal individuals. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* **36**: 1447-1454.
- ORME, S., CULLEN, D.R., MESSENGER, A.G. (1999). Diffuse female hair loss: are androgens necessary? *British Journal of Dermatology.* **141**: 521-523.
- ORENTREICH, N.(1960). Pathogenesis of alopecia. *J Soc Cosmet Chemists.* **11**: 479-499.
- OSBORN, D. (1916) Inheritance of baldness. *J Hered.* **7**: 347–355.
- ÖKTEM, S., ÖZHAN, M.H., ÖZOL, D. (2001). Apoptozisin Önemi. *Toraks Dergisi.* **2(1)**: 91-95.
- ÖZDOĞAN, S., ERDAL, M., OKTAR, F.D., TAN, S. (2011). Saç Mezoterapisinin Alopesi Tedavisindeki Yeri. *J Clin Anal Med.* **2(1)**: 5-8.

- PAIK, J.H., YOON, J.B., SIM, W.Y., KIM, B.S., KIM, N.I. (2001). The prevalence and types of androgenetic alopecia in Korean men and women. *Br J Dermatol.* **145**: 95-99.
- PAUS, R., COTSARELIS, G. (1999). The Biology Of Hair Follicles. *The New England Journal of Medicine.* **341**: 491-497.
- PINGOUD, A., FUXREITER, M., PINGOUD, V., WENDE, W. (2005). Type II restriction endonucleases: structure and mechanism. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* **62**: 685–707.
- PLATZ, E.A., POLLAK, M.N., WILLET, W.C., GIOVANNUCCI, E. (2000). Vertex balding, plasma insulin-like growth factor 1, and insulin-like growth factor binding protein 3. *J Am Acad Dermatol.* **42**: 1003-1007.
- PREEDY, V.R. (2012). Handbook of hair in health and disease.
- PRICE, V.H., ROBERTS, J.I., HORDINSKY, M., OLSEN, E.A., SAVIN, R., BERGFELD, W., FIEDLER, V., LUCKY, A., WHITING, D.A., PAPPAS, F., CULBERTSON, J., KOTEY, P., MEEHAN, A., WALDSTREICHER, J. (2000). Lack of efficacy of finasteride in postmenopausal women with androgenetic alopecia. *J Am Acad Dermatol.* **43**: 768-776.
- PRICE, V.H. (2003). Androgenetic Alopecia in Women. *JID Symposium Proceedings.* **8**: 24-27.
- PRODI, D.A., PIRASTU, N., MANINCHEDDA, G., SASSU, A., PICCIAU, A., PALMAS, M.A., MOSSA, A., PERSICO, I., ADAMO, M., ANGIUS, A., PIRASTU, M. (2008). EDA2R is associated with androgenetic alopecia. *J. Invest. Dermatol.* **128**: 2268–2270.
- PUSTERLA, N., MADIGAN, J.E., LEUTENEGGER, C.M. (2006). Real-Time Polymerase Chain Reaction: A Novel Molecular Diagnostic Tool for Equine Infectious Diseases. *J Vet Intern Med.* **20**: 3–12.
- REBORA, A., GUARRERA, M. (2002). Kenogen. *Dermatology* **205**: 108-110.
- REBORA, A. (2004). Pathogenesis of androgenetic alopecia. *J Am Acad Dermatol.* **50**: 777-779.
- REBORA, A., GUARRERA, M. (2002). Kenogen a new phase of the hair cycle? *Dermatology.* **205**: 108-110.
- REBORA, A., GUARRERA, M. (2004). Telopsis and kenogen: two new concepts in human trichology. *Arch Dermatol.* **140**: 619-620.
- REDLER, S., BROCKSCHMIDT, F.F., TAZI-AHNINI, R., DRICHEL, D., BIRCH, M.P., DOBSON, K., GIEHL, K.A., HERMS, S., REFKE, M., KLUCK, N., KRUSE, R., LUTZ, G., WOLF, H., BOHM, M., BECKER, T., NOTHEN, M.M., MESSENGER,

- A.G., BETZ, R.C. (2012). Investigation of the male pattern baldness major genetic susceptibility loci AR/EDA2R and 20p11 in female pattern hair loss. *British Journal of Dermatology*. **166**: 1314-1318.
- RICHARDS, J.B., YUAN, X., GELLER, F., WATERWORTH, D., BATAILLE, V., GLASS, D., SONG, K., WAEBER, G., VOLLENWEIDER, P., ABEN, K.K.H., KIEMENEY, L.A., WALTERS, B., SORANZO, N., THORSTEINSDOTTIR, U., KONG, A., RAFNAR, T., DELOUKAS, P., SULEM, P., STEFANSSON, H., STEFANSSON, K., SPECTOR, T.D., MOOSER, V. (2008). Male-pattern baldness susceptibility locus at 20p11. *Nat. Genet.* **40**: 1282–1284.
- SAITOH, M., UZUKA, M., SAKAMOTO, M. (1970). Human Hair Cycle. *The Journal of Investigative Dermatology*. **54**: 65-81.
- SAWAYA, M.E, PRICE, V.H. (1997). Different levels of 5 α -reductase type I and II, aromatase, and androgen receptor in hair follicles of women and men with androgenetic alopecia. *J Invest Dermatol.* **109**: 296-300.
- SETTY, L.R. (1970). Hair Patterns of the Scalp of White and Negro Males. *Am. J. Phys. Anthropol.* **33**: 49-56.
- SEZGİN, S.A. (1998). Androjenetik alopeside kan lipid profili ve diğer koroner arter hastalığı ve risk faktörleri. İstanbul.
- SHUM, K.W., CULLEN, D.R., MESSENGER, A.G. (2002). Hair loss in women with hyperandrogenism: Four cases responding to finasteride. *J Am Acad Dermatol.* **47**: 733-739.
- SIGNORELLOA, L.B., WUUB, J., HSIEHB, C.C., TZONOUC, A., TRICHOPOULOSA, D., MANTZOROSD, C.S. (1999). Hormones and hair patterning in men: a role for insulin-like growth factor 1. *J Am Acad Dermatol.* **40**: 200-203.
- SINCLAIR, R. (1999). Diffuse hair loss. *Int J Dermatol.* **38**: 8-18
- SINCLAIR, R., DAWBER, R.P.R. (2001). Androgenetic alopecia in men and women. *Clin Dermatol.* **19**: 167-178.
- SINCLAIR, R., PATEL, M., DAWSON, T.L., YAZDABADI, A., YIP, L., PEREZ, A., RUFAUT, N.W. (2011). Hair loss in women: medical and cosmetic approaches to increase scalp hair fullness. *British Association Dermatologists.* **165(Suppl. 3)**: 12-18.
- SKALNAYA, M.G., TKACHEV, V.P. (2010). Trace elements content and hormonal profiles in women with androgenetic alopecia. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* **25**: 50-53.
- SONI, V.K. (2009). Androgenic alopecia: A counterproductive outcome of the anabolic effect of androgens. *Medical Hypotheses.* **73**: 420-426.

- STENN, K.S., PAUS, R. (2001). Controls of Hair Follicle Cycling. *The American Physiological Society*. **81**: 450-481.
- THIEDKE, C.C. (2003). Alopecia in Women. *Am Fam Physician*. **67(5)**: 1007-1014.
- TOPAL, İ.O. (2008). Pemfigus Ve Büllöz Pemfigoid Hastalarında Trikoqram Bulguları. Uzmanlık Tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji Kliniği, İstanbul.
- TOSTI, A., CAMACHO-MARTINEZ, F., DAWBER, R. (1999). Management of androgenetic alopecia. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. **12**: 205-214.
- TRUEB, R.M. (2002). Molecular mechanism of androgenetic alopecia. *Experimental Gerontology*. **37**: 981-990.
- TULLY, A.S., SCHWARTZENBERGER, J., STUDDIFORD, J. (2010). Androgenic Alopecia. *JMH*. **7(3)**: 270-277.
- UKŞAL, Ü. (2002). Saçta Yaşlanma ile Meydana Gelen Değişiklikler. *T Klin Kozmetoloji*. **3**: 63-65.
- VENNING, V.A., DAWBER, R.P.R. (1988). Patterned androgenic alopecia in women. *J Am Acad Dermatol*. **18**: 1073-1077.
- VEXIAU, P., CHASPOUX, C., BOUDOU, P., FIET, J., ABRAMOVICI, Y., RUEDA, M.J., HARDY, N., REYGAGNE, P. (2000). Role of androgens in female-pattern androgenetic alopecia, either alone or associated with other symptoms of hyperandrogenism. *Arch Dermatol Res*. **292**: 598-604.
- VIERHAPPER, H., MAIER, H., NOWONTY, P., WALDHAEUSL, W. (2003). Production Rates of Testosterone and of Dihydrotestosterone in Female Pattern Hair Loss. *Metabolism*. **52**: 927-929.
- WILSON, I.G. (1997). Inhibition and Facilitation of Nucleic Acid Amplification. *Applied And Environmental Microbiology*. **63(10)**: 3741-3751.
- WINIARSKA, A., MANDT, N., KAMP, H., HOSSINI, A., SELTMANN, H., ZOUBOULIS, C.C., BLUME-PEYTAVI, U. (2006). Effect of 5 α -Dihydrotestosterone and Testosterone on Apoptosis in Human Dermal Papilla Cells. *Skin Pharmacol Physiol*. **19**: 311-321.
- WHITING, D.A. (1996). Chronic telogen effluvium: Increased scalp hair shedding in middle-aged women. *J Am Acad Dermatol*. **35**: 899-906.

- XU, F., SHENG, Y.Y., MU, Z.L., LOU, W., ZHOU, J., REN, Y.T., QI, S.S., WANG, X.S., FU, Z.W., YANG, Q. P. et al. (2009). Prevalence and types of androgenetic alopecia in Shanghai, China: a communitybased study. *Br J Dermatol.* **160**: 629–632.
- YAZDAN, P. (2012). Update on the Genetics of Androgenetic Alopecia, Female Pattern Hair Loss, and Alopecia Areata: Implications for Molecular Diagnostic Testing. *Semin Cutan Med Surg.* **31**: 258-266.
- YIP, L., ZALOUMIS, S., IRWIN, D., SEVERI, G., HOPPER, J., GILES, G., HARRAP, S., SINCLAIR, R., ELLIS, J. (2009). Gene-wide association study between the aromatase gene (CYP19A1) and female pattern hair loss. *British Journal of Dermatology.* **161**: 289–294.
- YIP, L., RUFAUT, N., SINCLAIR, R. (2011). Role of genetics and sex steroid hormones in male androgenetic alopecia and female pattern hair loss: An update of what we now know. *Australasian Journal of Dermatology.* **52**: 81–88.
- YOO, H.G., KIM, J.S., LEE, S.R., PYO, H.K., MOON, H.I., LEE, J.H., KWON, O.S., CHUNG, J.H., KIM, K.H., EUN, H.C., CHO, K. H. (2006). Perifollicular Fibrosis: Pathogenetic Role in Androgenetic Alopecia. *Biol. Pharm. Bull.* **29(6)**: 1246-1250.
- YÜRÜKER, Ö. (2005). Uzun Süreli Saç Dökülmesi Şikayeti Olan Kadın Hastalarda Fototrikogramın Yeri. *Uzmanlık Tezi.* T.C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji Kliniği, İstanbul.
- ZHUO, F.L., XU, W., WANG, L., WU, Y., XU, Z.L., ZHAO, J.Y. (2011). Androgen receptor gene polymorphisms and risk for androgenetic alopecia: a meta-analysis. *Clinical and Experimental Dermatology.* **37**: 104–111.

| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER | Belge Adı | Tarihi | Versiyon Numarası | Dili |
|--|--|---|-------------------|--|
| | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ | | | |
| BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU | 02.03.2012 | 02 | | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| OLGU RAPOR FORMU | | | | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ | | | | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER | Belge Adı | Açıklama | | |
| | TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ | <input type="checkbox"/> | | |
| | SIGORTA | <input type="checkbox"/> | | |
| | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ | <input type="checkbox"/> | | |
| | BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU | <input type="checkbox"/> | | |
| | HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ | <input type="checkbox"/> | | |
| | İLAN | <input type="checkbox"/> | | |
| | YILLIK BİLDİRİM | <input type="checkbox"/> | | |
| | SONUÇ RAPORU | <input type="checkbox"/> | | |
| | GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ | <input type="checkbox"/> | | |
| DİĞER: | <input type="checkbox"/> | | | |
| KARAR BİLGİLERİ | Karar No:07-196-12 | Tarih: 09 Nisan 2012 | | |
| | Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri ile bilgilendirilmiş gönüllü olur formu incelenmiş, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. | | | |
| ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU | | | | |
| CALIŞMA ESASI | | Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu | | |
| BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI: | | Prof.Dr.Mehmet MELLİ | | |

| Unvanı/Adı/Soyadı | Uzmanlık Alanı | Kurumu | Cinsiyet | | Araştırma ile ilişki | | Katılım * | | İmza |
|--------------------------|-------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------|
| | | | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Prof.Dr.Mehmet MELLİ | Farmakoloji | A.Ü.Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>M. Mellî</i> |
| Prof.Dr.Cihan YURDAYDIN | Gastroenteroloji | A.Ü. Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>C. Yurdaydin</i> |
| Prof.Dr.Ahmet DEMİRKAZIK | Tıbbi Onkoloji | A.Ü. Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>A. Demirkazık</i> |
| Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY | Farmakoloji | A.Ü.Eczacılık Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>T. Özçelikay</i> |
| Prof.Dr.Nuhan PURALI | Biyofizik | H.Ü. Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>N. Puralı</i> |
| Prof.Dr.Cem ATBAŞOĞLU | Ruh Sağlığı ve Hastalıkları | A.Ü. Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | Derste |
| Prof.Dr.Hakan UNCU | Genel Cerrahi | A.Ü. Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>H. Uncu</i> |
| Prof.Dr.Serdar ÖZTÜRK | Biyokimya | A.Ü. Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>S. Öztürk</i> |
| Prof.Dr.Serap SİVRİ | Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları | H.Ü. Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>S. Sivri</i> |
| Prof.Dr.Muharem ÖZEN | Hukuk | A.Ü.Hukuk Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>M. Özen</i> |
| Prof.Dr.Banu ÇAKIR | Halk Sağlığı | H.Ü. Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>B. Çakır</i> |
| Yrd.Doç.Dr.Nüket KUTLAY | Tıbbi Genetik | A.Ü. Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>N. Kutlay</i> |
| Yrd.Doç.Dr.Derya ÖZTUNA | Biyostatistik | A.Ü. Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>D. Öztuna</i> |
| Öğr.Gör.Dr.Volkan KAVAS | Tıp Tarihi ve Etik | A.Ü. Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>V. Kavas</i> |
| Gülsüm ASLAN | Arkeoloji | - | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | <i>G. Aslan</i> |

* :Toplantıda Bulunma

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

| | | | | | |
|-------------------------------|---|---|---|--|--|
| BAŞVURU BİLGİLERİ | ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI | Toplumumuzda alopesiyi belirleyen genlerdeki polimorfizmler ve alopesili bireylerde bu polimorfizmlerin araştırılarak adli yönden değerlendirilmesi | | | |
| | ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU | | | | |
| | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI | Prof.Dr.Tülin Söylemezoğlu | | | |
| | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI | Toksikoloji | | | |
| | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ | Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü | | | |
| | DESTEKLEYİCİ | | | | |
| | DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ | | | | |
| | ARAŞTIRMANIN FAZİ | FAZ 1 | <input type="checkbox"/> | | |
| | | FAZ 2 | <input type="checkbox"/> | | |
| | | FAZ 3 | <input type="checkbox"/> | | |
| FAZ 4 | | <input type="checkbox"/> | | | |
| ARAŞTIRMANIN TÜRÜ | Yeni Bir Endikasyon | <input type="checkbox"/> | | | |
| | Yüksek Doz Araştırması | <input type="checkbox"/> | | | |
| | Diğer ise belirtiniz: Prospektif Çalışma | | | | |
| ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER | TEK MERKEZ <input type="checkbox"/> | ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/> | ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/> | ULUSLARARASI <input type="checkbox"/> | |




ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : Serpil
 Soyadı : KIRMIZI
 Doğum yeri ve tarihi : ANKARA – 14.04.1984
 Uyuşu : Türkiye Cumhuriyeti
 Medeni durumu : Bekar
 İletişim adresi ve telefonu : Simon Bolivar Caddesi Yıldızevler Mahallesi Duyu Sokak No:9/9 Çankaya/ ANKARA +90 (312) 440 49 47/ +90 (506) 369 97 69

II- Eğitimi

2001 – 2007 Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi, Biyoloji Eğitimi Ana Bilimdali
 1998 - 2001 Lise: Çankaya Lisesi – ANKARA

Yabancı dili: Almanca, 2007 ÜDS puanı: 88,75

III- Mesleki Deneyimi

Mezuniyetten itibaren çalışma yerleri ve görevler (en yakın tarihten geriye doğru)

| TARİHLER | ÇALIŞILAN KURUM | GÖREV ÜNVANLARI |
|---------------------------|--|--|
| 18.11.2008- 10.06.2010 | Boğazkale Lisesi | Biyoloji Öğretmeni, Müdür Yardımcısı, Müdür |
| 11.06.2010- 27.01.2011 | Bolu İzzet Baysal Anadolu Teknik ve Endüstri Meslek Lisesi | Biyoloji Öğretmeni |
| 28.01.2011- | Niğbolu Anadolu Lisesi | Biyoloji Öğretmeni, Bilgi ve İletişim Teknolojileri Rehber Öğretmeni |