

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERİ ve ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ALOPEŞİ AREATA HASTALARINDA MERKEL HÜCRE
SAYISI İLE DERİDEKİ DAĞILIMININ VE CD200
EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr.HAMİDULLAH KHURAMİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

ANKARA

2018

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DERİ ve ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ALOPEŞİ AREATA HASTALARINDA MERKEL HÜCRE
SAYISI İLE DERİDEKİ DAĞILIMININ VE CD200
EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr.HAMİDULLAH KHURAMİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Tez Danışmanı: Prof.Dr. SİBEL ERSOY EVANS

ANKARA
2018

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Uzmanlık tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

o Tezinin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)

o Tezinin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)

o Tezinin/Raporumun.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.

...../...../.....

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, tez danışmanının Prof.Dr.Sibel ERSOY EVANS danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Dr. Hamidullah KHURAMI

(İmza)

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde ve tez çalışmam boyunca her konuda desteğini esirgemeyen, fikirlerinden ve bilgilerinden her zaman yararlandığım çok değerli tez danışmanım, hocam Prof. Dr. Sibel ERSOY EVANS'a;

4 yıllık uzmanlık eğitimimde çok anlayışlı, akademik olarak doyurucu, öğretici ve verimli bir ekip halinde çalışarak, benim de bu ortamda eğitim almamı sağlayan ve her zaman desteklerini hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Z. Nilgün ATAKAN, Prof.Dr.Ayşen KARADUMAN, Prof. Dr. Gonca ELÇİN ve Yard. Doç. Dr. Sibel DOĞAN GÜNAYDIN'a;

Tezimin teknik aşamasını destekleyen, histomorfolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeyi birlikte yaptığımız kıymetli hocam Yard.Doç Dr. Özay GÖKÖZ'e; Uzmanlık eğitimim süresince uyumlu bir ekip olarak çalıştığımız sevgili asistan arkadaşlarıma ve bölüm çalışanlarımıza;

Bana her zaman, her konuda destek olan değerli anne, babam ve eşim Dr. Fatma AKSOY KHURAMİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Hamidullah KHURAMİ

Mart 2018

ÖZET

Khurami H. Alopesi Areata Hastalarında Merkel Hücre Sayısı İle Derideki Dağılımının Ve CD200 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi. Ankara, 2018.

Alopesi areata anagen kıl folliküllerini hedef alan, skar bırakmadan alopesiye neden olan, kronik ve immün aracılı bir hastalıktır. Alopesi areata patogenezinde T hücre aracılı peribulbar inflamasyon sonucunda kıl siklusunun bozulması suçlanmaktadır. Merkel hücreleri epidermisin bazal tabakasına horizontal olarak yerleşen, CK20 ile boyanan hücrelerdir. Merkel hücreleri ve “*touch dome*”daki keratinositler transmembran bir protein olan CD200 eksprese etmektedir. CD200, CD200 R (reseptörü) üzerinden inflamatuvar reaksiyonu azaltır ve immün toleransı destekler. Bu çalışmada derinin otoimmün aracılı hastalıklarında Merkel hücrelerinin merkezi bir rol oynadığı düşüncesinden yola çıkılarak alopesi areata olgularında Merkel hücre sayısı ve CD200 molekülünün ekspresyonuna bakıldı. Çalışmaya 20 alopesi areata ve 19 androgenetik alopesi (kontrol grubu olarak) tanısı almış toplamda 28 kadın, 11 erkek vaka dahil edildi. Alopesi areata grubunda yaş ortalaması 29,2 (aralığı: 10-67) yıl ve androgenetik alopesi grubunda yaş ortalaması 32,2 (aralığı: 11-53) yıldır. Alopesi areata vakalarında ortalama Merkel hücre sayısı 0,8 (aralığı: 0-4), androgenetik alopesi vakalarında ortalama Merkel hücre sayısı 4,15 (aralık: 0-16) olarak saptandı ($p=0,092$). Alopesi areata olgularının hiçbirinde CD200 ekspresyonu izlenmezken, androgenetik alopesi vakalarının 4 tanesinde kıl follikülünün dış kök kılıfında CD200 ekspresyonu izlendi ($p=0,113$). Sonuç olarak her ne kadar alopesi areata ile androgenetik alopesi arasında Merkel hücre sayısı ve CD200 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış olsa da daha geniş vaka sayısı ile bu hipotezin alopesi areatanın patogenezinin aydınlatılmasına ışık tutabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Alopesi areata, Merkel hücresi, CK20, CD200

Destekleyen kuruluş: Hacettepe Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi Fonu, Proje ID: 15714

ABSTRACT

Khurami H. Evaluation of Merkel cell count and distribution in the skin with CD200 expression in alopecia areata patients. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Dermatology and Venereology. Ankara, 2018. Alopecia areata is a chronic, immune mediated disease targeting anagen hair follicles and characterized by non-cicatricial alopecia. In the etiopathogenesis of alopecia areata hair cycle disruption which is thought to be the result of T cell mediated peribulbar inflammation is held responsible. Merkel cells are horizontally located in the basal layer of the epidermis, and stained with CK20 in the skin. CD200 is a transmembrane glycoprotein expressed on the surface of Merkel cells and keratinocytes located in the touch dome. CD200 attenuates inflammatory reaction and maintains immune tolerance through binding to its receptor CD200R. This study was founded on the hypothesis that Merkel cells play the central role in autoimmune diseases of the skin, hence Merkel cell count and CD200 expression were evaluated in alopecia areata. 20 alopecia areata and 19 androgenetic alopecia as a control group cases were enrolled in this study. 28 cases were female and 11 cases were male. Mean age in alopecia areata was 29.2 (range: 10-67) and 32.2 (range: 11-53) years in androgenetic alopecia patients. Mean Merkel cell count was 0.8 cells (range: 0-4) in alopecia areata and 4.15 cells (range: 0-16) in androgenetic alopecia cases ($p=0.092$). CD200 expression was not detected in any of the alopecia areata cases while CD200 expression was present in the outer root sheath of hair follicles in 4 androgenetic alopecia cases ($p=0.113$).

In conclusion, although Merkel cell count and CD200 expression results were not statistically significantly different between alopecia areata and androgenetic alopecia cases, we believe that our hypothesis can be proved with large-scale studies with larger number of patients.

Key words: Alopecia areata, Merkel cell, CK20, CD200 This study was supported by Scientific Research Projects Coordination Unit, Hacettepe University, Project ID: 15714

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLOLAR DİZİNİ	xiii
RESİMLER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kıl Gelişimi, Histolojisi, Fizyolojisi	2
2.1.1. Kıl Embriyolojisi	2
2.1.2. Kıl Anatomisi	5
2.1.3. Kıl Histolojisi	6
2.1.4. Kıl Keratinizasyonu	10
2.1.5. Kılın İnnervasyonu ve Kanlanması	10
2.1.6. Folliküler Ünite	10
2.1.7. Kıl Tipleri	12
2.1.8. Kıl Döngüsü (Siklusu)	13
2.1.9. Kıl Follikülünün İmmünolojisi	15
2.2. Alopesi Areata	16
2.2.1. Giriş ve Tanım	16
2.2.2. Epidemiyoloji	16
2.2.3. Kıl Döngüsü ve Alopesi Areata İlişkisi	17
2.2.4. Etyopatogenez	17
2.2.4.1. Genetik yatkınlık	18
2.2.4.2. Otoimmünite	19
2.2.4.3. Oksidatif Stres	23
2.2.4.4. Damarlanma ve Lenfatik Sistem	23
2.2.4.5. Mikrobiyota	24

2.2.4.6. Çevresel Faktörler	24
2.2.5. Klinik Bulgular	25
2.2.6. İlişkili Hastalıklar	30
2.2.7. Tanı	31
2.2.8. Ayırıcı Tanılar	34
2.2.9. Tedavi	36
2.2.9.1. Topikal tedaviler	37
2.2.9.2. Sistemik tedaviler	40
2.2.10. Prognoz	45
2.3. Merkel Hücresi	45
2.3.1. Morfoloji ve Yapısal Özellikler	45
2.3.2. Yerleşim Yerleri	47
2.3.3. İmmünohistokimyasal Belirteçler	47
2.3.4. Merkel Hücresinin Kökeni	48
2.3.5. Merkel Hücresinin Fonksiyonları	52
2.3.6. Merkel Hücreleri ve Deri Hastalıkları	57
2.4. CD200 Molekülü	58
2.4.1. CD200 ve CD200 Reseptör Etkileşimi	59
2.4.2. CD200'ün İmmünregülatuar Etkisi	59
2.4.3. Deride CD200-CD200R Ekspresyonu	60
2.4.4. CD200'ün Kıl Follikülleri için Güven Sinyali Oluşumu ve Otoimmün Alopesi Süpresyonundaki Rolü	60
2.4.5. CD200 ve Deri Hastalıkları	62
3. GEREÇ ve YÖNTEM	65
3.1. Vaka Grubunun Tanımlanması	65
3.2. Vakalarda İncelenen Parametreler	65

3.3. Histomorfolojik ve İmmunohistokimyasal Değerlendirme	65
3.3.1. Merkel Hücre Sayısı/Dağılımının CK20 ile Değerlendirilmesi	66
3.3.2. CD200 Molekülünün Ekspresyonu	66
3.4. Vakaların Fotoğraflanması	66
3.5. İstatiksel Yöntem	66
3.6. Etik Kurul Onayı	67
4. BULGULAR	68
4.1. Hastaların Tanı Kategorileri ve Demografik Özellikleri	68
4.2. Biyopsi Materyalinde Oryantasyon Yönü ve Büyük Büyütme Alanı Sayısı	69
4.3. Biyopsi Materyalinde Kıl Follikülü ve Kök Varlığı	69
4.4. Merkel Hücre Sayısı ve Dağılımı	70
4.5. Biyopsi Materyalindeki Kıl Follikülünün Dış Kök Kılıfında CD200 Ekspresyonu	72
5. TARTIŞMA	75
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	79
7. KAYNAKLAR	81
EKLER	100
EK 1. CK20 Antikoru Ait Özellikler	100
EK 2. CD200 Antikoru Ait Özellikler	102
EK 3. Etik Kurul Onay	105
EK 4. ÖZGEÇMİŞ	108

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri
AGA: Androjenetik alopesi
Anti BP180: Büllöz pemfigoidde izlenen BP180 spesifik otoantikor
APC: Antijen sunan hücre (Antigen presenting cell)
APUD: Amin prekürsörü alımı ve dekarboksilasyonu
Atoh1: Protein atonal homolog 1
 α -MSH: α -melanosit-uyarıcı hormon
CD3: Cluster of differentiation 3
CD4: Cluster of differentiation 4
CD8: Cluster of differentiation 8
CD34: Cluster of differentiation 34
CD200: Cluster of differentiation 200
CD200R: Cluster of differentiation 200 reseptörü
CGRP: Kalsitonin gen ilişkili peptid
CKO: Knockout
CK8: Sitokeratin 8
CK14: Sitokeratin 14
CK20: Sitokeratin 20
CTLA 4 : Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4
DKK: Dış kök kılıfı
DLE: Diskoid lupus eritematozus
DNCB: Dinitroklorobenzen
DP: Dermal papilla
DPCP: Difenilsiklopropenon
ELİSA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EPS: Erektör pili kası
FRS: Friction ridge (sırt) skin
FÜ: Folliküler ünite
GPX1: Glutasyon peroksidaz
GTPaz: Guanozin trifosfataz

GVHD: Graft versus host hastalığı

HLA: İnsan lökosit antijeni (Human leukocyte antigen)

HPA: Hipotalamik-pituiter-adrenal aks

HSP 70: Isı şok proteini 70

H&E: Hematoksilen eosin boyama

IDO: İndolamin-2-3-dioksijenaz

IGF-1: İnsulin benzeri büyüme faktörü (Insulin like growth factor)

IGF-1R: İnsulin benzeri büyüme faktörü reseptörü (Insulin like growth factor receptor)

IFN γ : Interferon gamma

IL 1: İnterlökin 1

IL 2: İnterlökin 2

IL 6: İnterlökin 6

IL10: İnterlökin 10

IL 13: İnterlökin 13

IL 15: İnterlökin 15

IL 21: İnterlökin 21

ISL1: Insulin gene enhancer protein 1

İKK: İç kök kılıfı

İLKS: İntralezyoner kortikosteroid

İV: İntravenöz

JAK: Janus kinaz

KF: Kıl follikülü

KŞ: Kıl shaftı

Lhx3: LIM homeobox protein 3

Math-1: Mouse athonal homolog 1

MH: Merkel hücresi

MHC I: Major histocompatibility complex I

MHC II: Major histocompatibility complex II

NF- κ B: Nükleer faktör kappa-B

NK: Doğal öldürücü (Natural killer)

NT3: Nörotrofin 3

PAS: Periyodik asit schiff
PAŞİ: Psoriasis alan ve şiddet indeksi
PHAİ: Pemfigus hastalığı alan indeksi
PKD1: Polikistin 1, geçici reseptör potansiyel kanalı
PKD2: Polikistin 2, geçici reseptör potansiyel kanalı
PKP1: Plakofilin 1
PKP2: Plakofilin 2
PKP3: Plakofilin 3
PRP: Plateletten zengin plazma
PUVA: Psöralen + ultraviyole A
RA: Hızlı adapte olan (Rapidly adapting)
SADBE: Skuarik asit dibütilester
SLE: Sistemik lupus eritematozus
SOD: Superoksit dismutaz
SOX2: Sex determining region Y- box 2
TDPC: Touch dome progenitör hücre
TEN: Toksik epidermal nekrolizis
TGF- β 1: Transforming growth factor beta 1
Th: Yardımcı T hücre
TNF α : Tumor necrosing factor α
TNF β : Tumor necrosing factor β
Treg: Regülatuar T hücre
TRP: Transient receptor potential
TRPC1: Transient receptor potential cation channel subfamily C
ULBP: UL16 binding protein
UVB: Ultraviyole B
VIP: Vazoaktif intestinal peptid
5-HT: Serotonin
25(OH)D: 25 hidroksikolekalsiferol, D vitamini

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil.2.1. Kıl gelişimi, pregerm evresi.....	2
Şekil.2.2. Kıl gelişimi, germ evresi.....	3
Şekil.2.3. Kıl gelişimi, hair-peg evresi.....	3
Şekil.2.4. Kıl gelişimi, bülböz-peg evresi	4
Şekil.2.5. Kıl gelişimi, ilk primordiyal kıl	4
Şekil.2.6: Kıl follikülünün anatomisi.....	5
Şekil.2.7. Kıl follikülünün histolojik transvers görünümü.....	8
Şekil.2.8. Kıl follikülünün histolojik longitudinal görüntüsü	9
Şekil.2.9. Folliküler üniteler (a. tek follikül, b. folliküler ünite).....	12
Şekil.2.10. Folliküler üniteler	11
Şekil.2.11. Kıl follikülü döngüsü	15
Şekil.2.12. İmmun ayrıcalık sistemin bozulması	21
Şekil.2.13. MH'nin ultrastrüktürel yapısı	47
Şekil.2.14. Merkel hücresi, terminal sinir aksonu ve Langerhans hücrelerinin yakın anatomik ilişkisi	53
Şekil.2.15. FRS oluşum basamakları	56
Şekil.4.1. Olguların yaş dağılımı.....	68
Şekil.4.2. Vaka gruplarına göre cinsiyet dağılımı.....	69

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Antikor dilüsyon oranları ve genel özellikleri	66
---	----



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1a ve 1b. Alopesi areata	27
Resim 2. Alopesi totalis	28
Resim 3. Ophiasis paterni	28
Resim 4a ve 4b. Sisaipho paterni	29
Resim 5. Ünlem kıllar ve sarı noktalar.....	32
Resim 6. Domuz kuyruğu kıl	32
Resim 7. Siyah noktalar	32
Resim 8. Peribulbar bölgede klasik arı kovanı görüntüsünü oluşturan inflamasyon. 33	
Resim 9. Cilt biyopsisinde epidermiste yerleşmiş CK20 (+) hücre	71
Resim 10. Kıl follikül epitelinde CK20 (+) hücre	71
Resim 11. Kıl follikülünün kök kısmında çok sayıda Merkel hücresi,.....	72
Resim 12. Kıl follikülünün enine kesitinde dış kök kılıfında CD200 ile immün reaksiyon ve çevre ter bezlerinde de artefaksiyel boyanma.....	73
Resim 13. Kıl follikülü periferinde ince bir tabaka şeklinde CD200 ile pozitif boyanma	73
Resim 14. Kıl follikülünün boyuna kesitinde, follikül periferinde belirgin hal alan immünohistokimyasal boyanma ve kıl follikülünün diğer kısımları ile zemindeki adipositlerde artefaksiyel boyanma.....	74

1. GİRİŞ

Deride mekanosensitif-mekanotransdüser gibi görevlere sahip olan Merkel hücrelerinin (MH) Langerhans hücreleri, sinir lifleri ve keratinositlerle yakın komşulukta bulunması, bu hücrelerin immün sistem, deri ve beyin arasındaki iletişimde önemli rolü olduğunu düşündürmektedir. MH çevreden alınan mekanik uyarıları transdüksiyon yoluyla ve sinaps yaptığı aksonlar aracılığıyla merkezi sinir sistemine ileterek beynin çevreden haberdar olmasını sağlar. Kıl follikülünde “*bulge*” bölgesi adı verilen kısımda keratinosit kök hücreler bulunur. Bu kök hücrelerin korunması amacıyla, otoimmün aktiviteyi engelleyen immün ayrıcalık “*immune privilege*” adı verilen bir sistem mevcuttur. Bu sistem sayesinde “*bulge*” bölgesi immün sistem tarafından tanınamaz hale gelir ve böylelikle kök hücreler korunur. Transmembran bir glikoprotein olan, mast hücreleri, makrofajlar, dendritik hücreler ve T hücreleri üzerinde bulunan CD200 molekülü, reseptörü CD200R’üne bağlanınca immünregülatuar sinyal göndererek inflamasyonun başlamasını inhibe eder, başlamış olan inflamasyonu baskılayarak otoimmüniteyi engeller. Yani deride kıl folikülündeki kök hücrelerin korunmasında rol alır. Daha önce yapılan bir hayvan çalışmasında MH üzerinde CD200 molekülünün eksprese edildiği, bu molekülün eksikliğinde ise kıl follikülünde şiddetli inflamasyonun ortaya çıktığı gösterilmiştir. Ancak insanlarda buna dair bir çalışma bildiğimiz kadarıyla bulunmamaktadır.

Alopesi areata çok sık görülen otoimmün bir hastalık olmasına rağmen folliküllere karşı oluşan otoimmün inflamasyonu neyin başlattığı ve nasıl devam ettiği halen tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmanın hipotezi alopesi areatanın stresle ilişkili bir hastalık olması, MH’nin deri ve beyin arasındaki iletişimde rol oynaması, aynı zamanda nöroendokrin bir hücre olması gibi nedenlerden dolayı alopesi areatada MH’sinin orkestra şefi gibi merkezi bir rolü olduğunu kanıtlamaktır. Ayrıca CD200 molekülünün otoimmün deri hastalıklarında temel yapı taşı olarak görev yaptığını düşünerek alopesi areatada CD200 ekspresyonunun azalıp azalmadığına bakılması planlanmıştır.

Çalışmamız sonucunda elde edilecek veriler alopesi areatanın patogenezi aydınlatmaya katkı sağlamasını, kronik seyri nedeniyle hastalarda ciddi psikososyal strese neden olan bu hastalığın tedavisi için bir yol gösterici olmasını umuyoruz

2. GENEL BİLGİLER

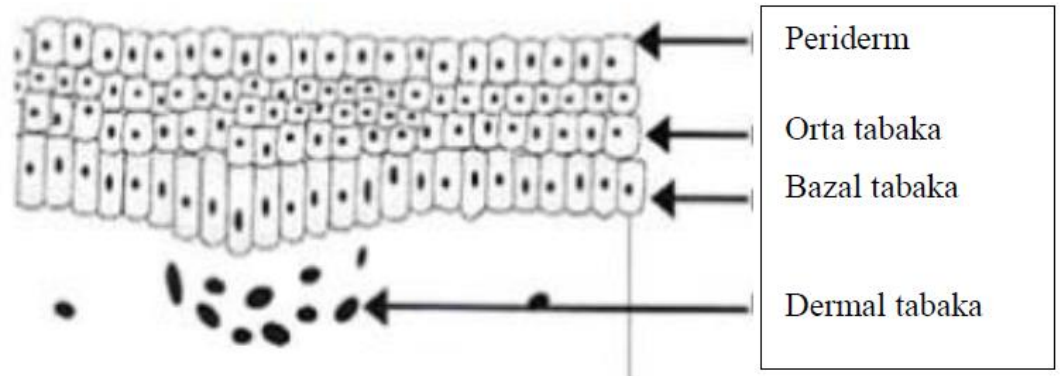
2.1. Kıl Gelişimi, Histolojisi, Fizyolojisi

2.1.1. Kıl Embriyolojisi

Kıl gelişimi gebeliğin 9. haftasında kaş, üst dudak ve çenede başlar, kıl shaftı (KŞ) 16. haftada şekillenir, yaklaşık 22. haftada skalp dahil folliküllerin tüm öncül popülasyonu tamamlanmış durumdadır. Doğumda insan vücudunda yaklaşık 5 milyon kıl follikülü mevcutken, skalpte 100.000 kıl follikülü bulunmaktadır. Doğumdan sonra yeni kıl follikülü gelişmemektedir (1,2).

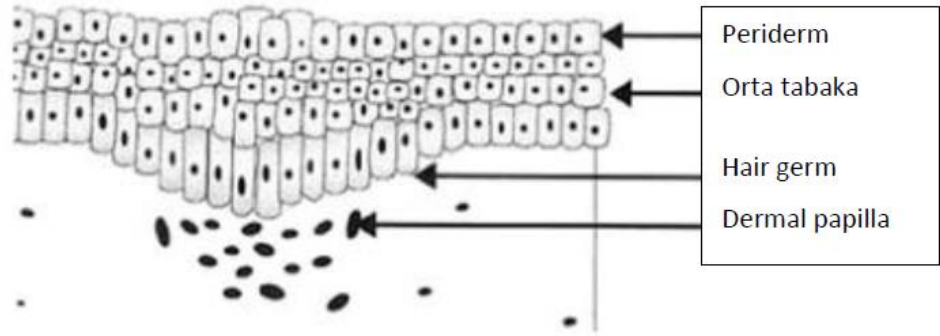
Gebeliğin 2. ayında embriyolojik ektoderm ve mezoderm arasındaki etkileşim sonucunda kıl follikülü ortaya çıkar (2). Alttaki mezenkimin moleküler sinyalleşmesi sonucunda, öncelikle plakod adı verilen, düzenli aralıklı epidermal kalınlaşmalar oluşur. Buna karşılık mezenkim kalınlaşmasını indüklemek için üstte kalan epidermis tarafından da moleküler sinyaller gönderilmektedir. Folliküler morfogenez boyunca epitelyel-mezenkimal kompleks etkileşimi meydana gelmektedir (1). Kıl morfogenezinin major evreleri aşağıda belirtilmiştir:

Pre-germ evresi: Kıl follikülünün ilk belirtisi, dermisin üst kısmında mezenkimal hücrelerin toplanması ve eş zamanlı olarak hemen üzerindeki bazal epidermal hücrelerin kalınlaşmasıdır (**Şekil.2.1**) (1,3,4).



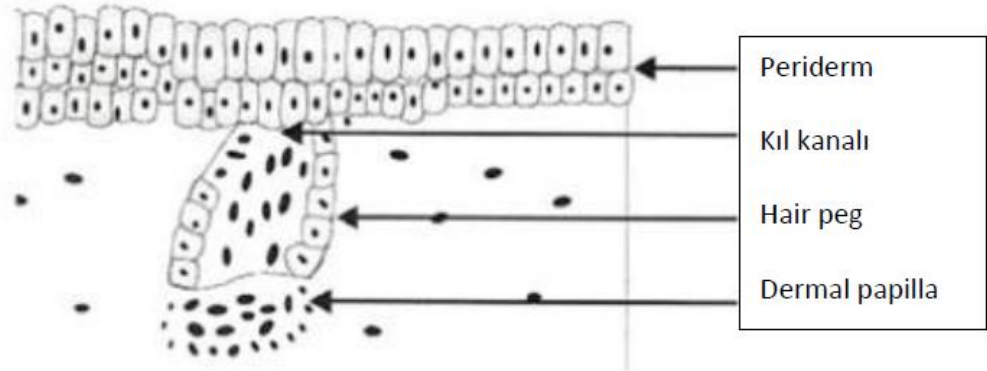
Şekil.2.1: Kıl gelişimi, pregerm evresi (1).

Germ evresi: Bu evrede bazal epidermal hücreler uzayıp, “*hair-germ*” adı verilen ve aşağıya doğru uzanan bir çıkıntı yapar. Eş zamanlı olarak alt kısımdaki mezenkimal hücreler çoğalıp dermal papillayı (DP) oluşturacak olan yapıyı oluşturur (Şekil.2.2) (1,3,4).



Şekil.2.2: Kıl gelişimi, germ evresi (1).

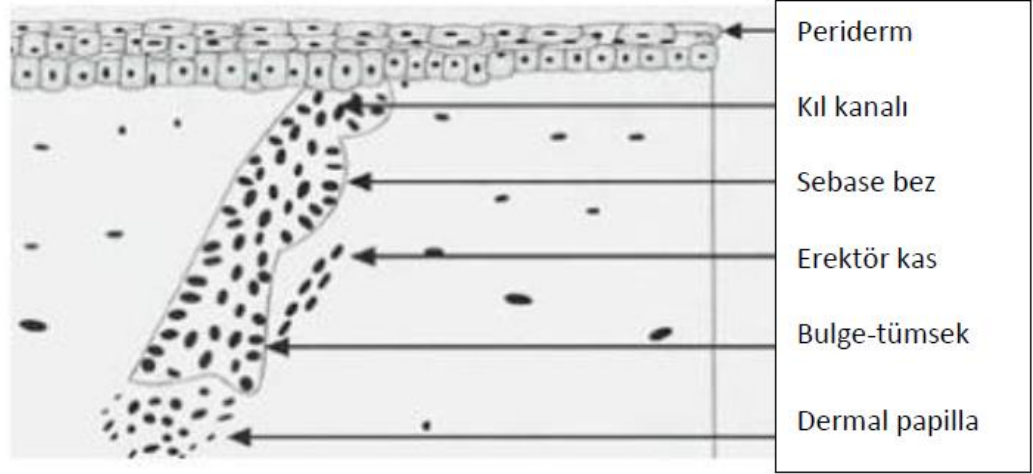
“*Hair-peg*” evresi: “*Hair-germ*”in hücreleri aşağıya doğru daha da büyüyüp “*hair-peg*” adı verilen bir sütun oluşturur. “*Hair-peg*” DP’yi oluşturacak olan mezenkimal hücre kümesini aşağıya doğru iter (Şekil.2.3) (1,3,4).



Şekil.2.3: Kıl gelişimi, hair-peg evresi (1).

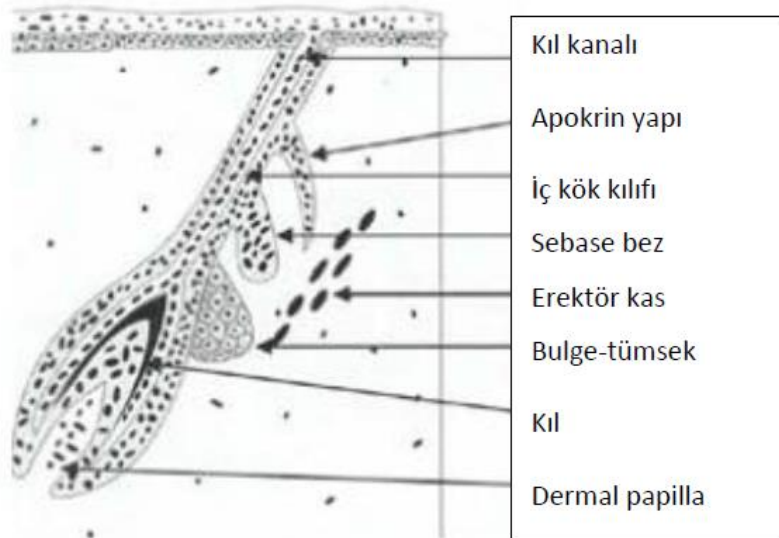
“*Bulböz-peg*” evresi: “*Hair-peg*” sütunu aşağıya doğru uzarken üzerinde 3 adet kabartı meydana gelir. En üstteki kabartıdan apokrin bez, ortadaki kabartıdan sebace bez ve alttaki kabartıdan erektör pili kasının yapıldığı “*bulge*”-tümsek bölgesi oluşur. Gelişen sebace bezin yakınında, kıl follikülünden bağımsız olarak

erektör pili kası ortaya çıkar. Bu evrede sütunun tabanında gelişen epitel hücreleri, mezodermal hücrelerin bir kısmını çevreleyerek DP'yı oluşturur (Şekil.2.4) (1,4).



Şekil.2.4: Kıl gelişimi, bülböz-peg evresi (1).

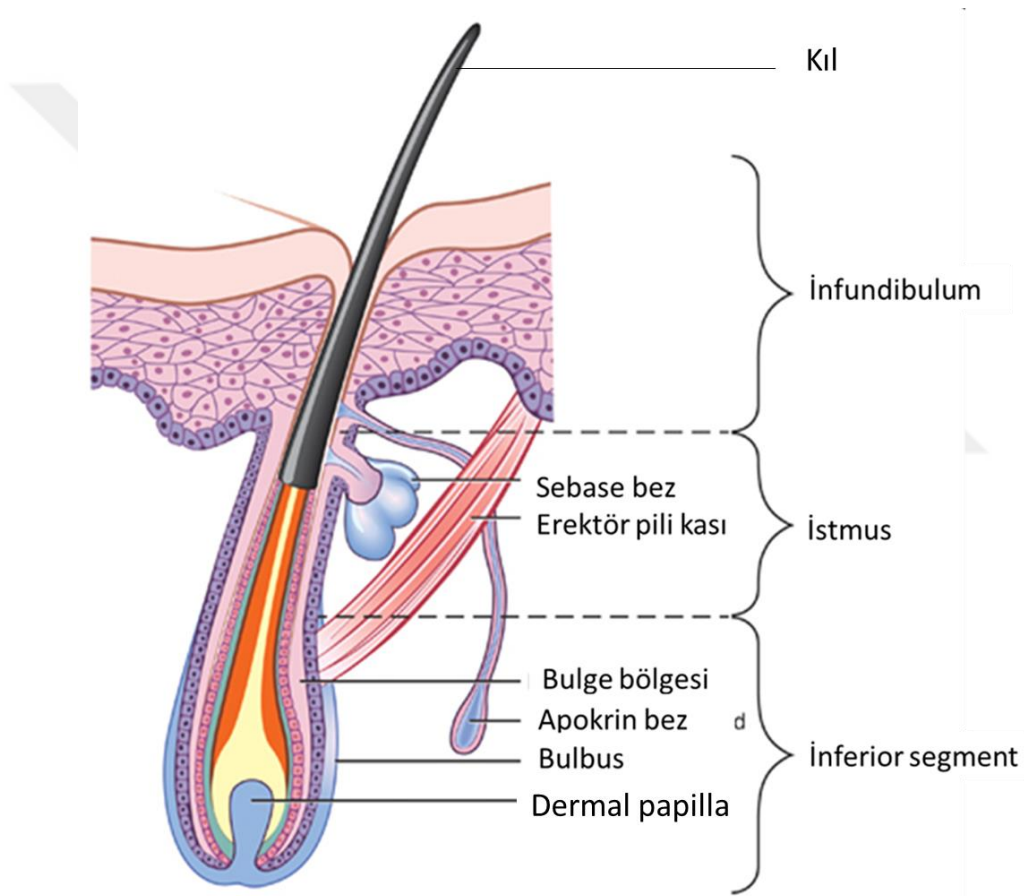
İlk primordiyal kıl evresi: Bu aşamada DP'yı çevreleyen, sütunun tabanındaki hücreler aktif bir şekilde proliferasyona başlar, erken matriks oluşur, oluşan ilkel KŞ yukarıya doğru ilerler. Folliküler peg'in ortasındaki hücreler dejenere olmaya başlar. Yeni gelişen kıl, tıkaçı dışarı doğru iterek kıl kanalını oluşturur (Şekil.2.5) (1,4).



Şekil.2.5: Kıl gelişimi, ilk primordiyal kıl (1).

2.1.2. Kıl Anatomisi

Terminal kıl follikülü infundibulum, istmus ve inferior segment olarak 3 bölgeye ayrılır (Şekil.2.6). Bazı yazarlar inferior segmenti kıl bulbusu ve suprabulbar zon olarak 2'ye ayırmaktadır (5). İnfundibulum ve istmus kalıcı kısımları oluştururken, inferior segment geçicidir ve siklik rejenerasyona uğrar (1).



Şekil.2.6: Kıl follikülünün anatomisi (6)

İnfundibulum: Kıl follikülünün üst kısmı veya infundibulum, sebase kanalın açıldığı yerden follikülün deri yüzeyinde açıldığı yere kadar olan kısımdır. Tam oluşmuş kıl şaftını içermektedir. Epiderminin epiteli infundibulumun duvarıyla bitişiktir (1).

İstmus: Kıl follikülünün orta kısmı veya istmus, sebace kanalın folliküle açıldığı yerden erektör pili kasının giriş noktasına kadar olan kısımdır. Erektör pili kasının giriş noktasında tümsek veya “*bulge*” bölgesi bulunmaktadır. “*Bulge*” bölgesi embriyonik follikülde çok belirginken, erişkin follikülde aralıklı olarak görülmektedir. “*Bulge*” bölgesi, dış kök kılıfın (DKK) bir parçası olup, follikül ünitesinin rejenerasyonu için çok önemli olan folliküler kök hücrelerini barındırmaktadır (7). Son zamanlarda kök hücre belirteçleriyle yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda, folliküler kök hücrelerin yaygın olarak DKK’ında bulunduğu gösterilmiştir (8). “*Bulge*” bölgesindeki kök hücreler epidermal ve sebace bez hücrelerinin rejenerasyonunda da önemli rol oynamaktadır (7). İlginç olarak “*bulge*” bölgesinde çok fazla miktarda sinir ucu ve MH’si bulunmaktadır. Böyle bir ağın, kıl büyümesi ve siklusu için sinyal sağladığı düşünülmektedir (9).

İnferior segment: Kıl follikülünün inferior segmenti follikül tabanından erektör pili kasının giriş noktasına kadar olan kısımdır. Bu bölge geçicidir, kontrollü bir şekilde sıklık olarak kendini rejenere eder. Inferior segmentin en aşağısında kıl bulbusu bulunur. Bu bölgede epitelyel orijinli hızlı çoğalan farklılaşmamış matriks hücreleri ve melanositler yer alır. Kıl bulbusu DP’yi çevreler ve DP, ilişkili damarlar ve sinirler ile birlikte kıl kökünü oluşturur (1).

2.1.3. Kıl Histolojisi

Terminal kıl follikülünde, DP ve çevresindeki kıl matriksi kıl follikülünün alt kısmında bulunur. Kıl follikülü içten dışa doğru konsantrik olarak KŞ, iç kök kılıfı (İKK), DKK ve perifolliküler dermal kılıf tabakalarından meydana gelir (Şekil.2.7 ve Şekil.2.8).

Dermal papilla: Adından da anlaşıldığı gibi DP mezenkimal kaynaklıdır. Kıl bulbusundaki matriks hücreleri tarafından çevrenir ve kıl follikülünü saran fibröz dermal kılıfa bağlanır. DP’da, güçlü kıl follikülü indüksiyonu özelliğine sahip özelleşmiş fibroblastlar bulunmaktadır. DP, yeni kıl döngüsü başlaması ve kıl büyümesi için gereklidir. Ayrıca matriks hücre bölünmesini ve oluşan kılın çapını regüle ettiği düşünülmektedir. Androjen reseptörlerinin DP üzerinde bulunduğu

gösterilmiştir. Kıl büyümesi ile ilişkili olabilecek birçok büyüme faktörü ve büyüme faktörü reseptörlerinin oluşumunda DP'nin rolü olduğu düşünülmektedir (1).

Matriks hücreleri: Farklılaşmamış, aktif bölünen ve immün ayrıcalıklı hücreler olan matriks hücreleri DP'nin üzerinde bulunur. Matriksin bazal hücreleri arasında melanositler bulunmaktadır. Melanositler melanin üretilir, yeni oluşan kıllara fagositoz aracılığıyla pigmenti iletir. Matriks hücreleri; KŞ, İKK ve DKK gibi kıl follikülünün multiple komponentlerine farklılaşır (1).

Kıl shaftı: KŞ kıl follikülünün epidermisi geçen tek parçasıdır. Medulla, korteks ve KŞ kütikülası olmak üzere üç tabakadan oluşur.

- **Kıl shaftı medullası:** KŞ'nin en merkezi tabakasıdır, papillanın üzerindeki matriks hücrelerinden oluştuğu düşünülmektedir. Terminal kıllar tam veya parsiyel medulla içerirken, vellüs ve ince kıllar medulla içermez. Suprabulbar bölgede medulla hücrelerinin sitoplazmasında veziküller görülürken, epidermis seviyesinde bunlar kaybolur.
- **Kıl shaftı korteksi:** Medullanın lateralinde, füziform şekilli ve uzun eksende kıl shaftına paralel seyreden kortikal hücreler bulunur. Yukarıya gittikçe bu hücreler sıkılaşır ve keratinize olmaya başlar. Korteks hücreleri kıla mekanik özelliklerini verir. Kortikal hücrelerde yer yer pigment bulunur. Bu hücreler pigmenti, matrikste melanozomların fagositozu aracılığıyla elde eder.
- **Kıl shaftı kütikülası:** Kütikula kıl shaftının en dış tabakası olup, üst üste binmiş 6-10 kat hücreden oluşur. Keratinize olduktan sonra yukarıya doğru sivrilir, KŞ kütikülasını çevreleyen İKK kütikula hücreleriyle kenetlenir (1).

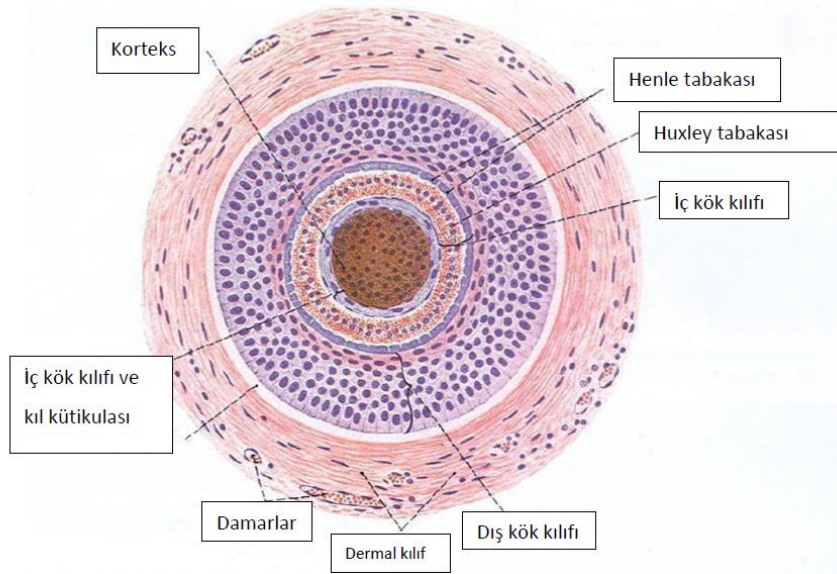
İç kök kılıfı (İKK): İç kök kılıfı, kıl shaftının etrafını sarar. Kıl follikülünün inferior segmentinde bulunur, bulbustan istmus başlangıcına kadar uzanır. Erektör pili kasın üzerinde, keratinize olmuş İKK bozulup yerine DKK'nın keratini geçmektedir. İKK üç tabakadan oluşmaktadır:

- İKK kütikulası: bir kat hücre kalınlığındadır.
- Huxley tabakası: üç-dört kat hücre kalınlığındadır.
- Henley tabakası: bir kat hücre kalınlığındadır.

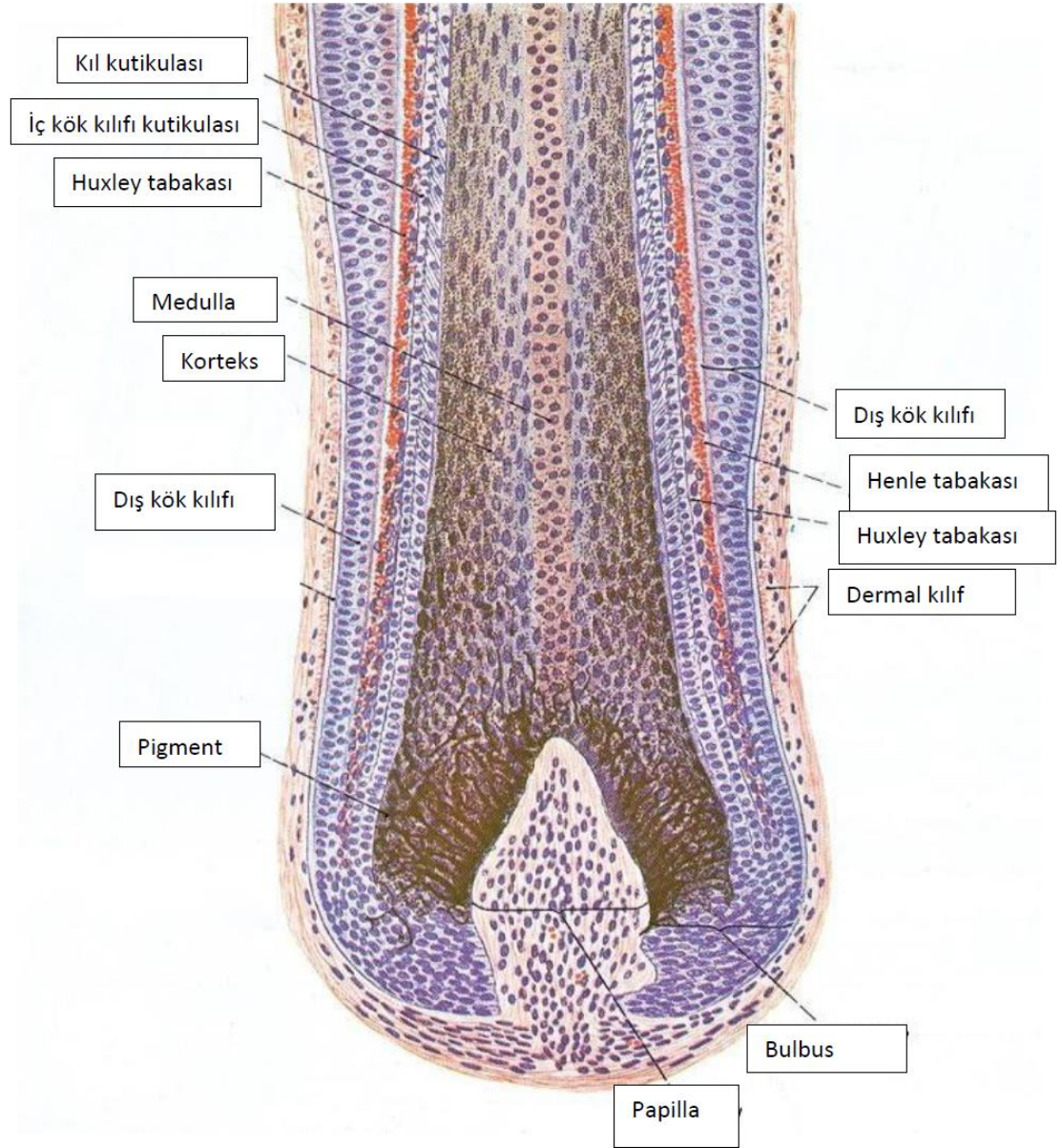
İKK hücreleri keratinize oldukça, kılıfa rijidite sağlayarak büyüyen kıl follikülü için sağlam ve güçlü bir kalıp görevi görür. İKK, komşu kütikula tabakasındaki hücreler aracılığıyla kıl shaftına sıkıca bağlanır. KŞ ve İKK birbirine sıkıca kenetlendiği için yukarıya doğru birlikte kayarak hareket eder. Irklar arasındaki shaft çapı ve shaft şeklinin farklılığından İKK sorumludur (1).

Dış kök kılıfı (DKK): DKK, iç kök kılıfını sarar. Yüksek miktarda glikojen içeren, multiple epitelyel küboidal hücrelerden oluşur. Kıl bulbusunun altından sebace duktusun açıldığı yere kadar uzanır. Kıl bulbusu seviyesinde en ince, istmus düzeyinde en kalın çaptadır. DKK’ında melanositler, MH ve Langerhans hücreleri bulunur. DKK, folliküler kök hücrelerinin rezervuarı olarak görev görür (1).

Dermal kılıf: DKK’nın dışında vitroz ve PAS pozitif hiyalin bir membran bulunur. Dermisteki kollajen demetler, elastik lifler ve fibroblastlar bu tabakayı çevreleyerek perifolliküler dermal kılıfı meydana getirir (1,10).



Şekil.2.7: Kıl follikülünün histolojik transvers görünümü (11).



Şekil.2.8: Kıl follikülünün histolojik longitudinal görüntüsü (6).

2.1.4. Kıl Keratinizasyonu

Kıl follikülünün keratinizasyonu kılın şekil ve kalıbını kazanmasına yardımcı olan organize bir süreçtir. Öncelikle İKK trikohiyalin granüller ile keratinize olur. İKK keratinizasyonu Henle tabakasından başlar. Kütikula ve Huxley tabakaları da sırasıyla keratinize olur. Bu işlemden sonra korteks ve medullayı saran sıkı bir kalıp ortaya çıkar. Daha sonra korteks hücreleri dejenere olup içleri keratin fibriller ile dolar, medulla ise en son keratinize olan yapıdır.

2.1.5. Kılın İnnervasyonu ve Kanlanması

Hordinsky ve Ericson, DP içindeki ve etrafındaki hücrelerin pan-nöronal antikor ile pozitif boyandığını, “*bulge*” bölgesinde, perifolliküler sinir ve damarlarda Substance P’nin saptandığını göstermişlerdir (12). Bu nedenle kıl fizyolojisi ve gelişiminde nöronal sinyallerin görevli olduğu düşünülmektedir. Kıl follikülleri, bulbustan epidermise kadar uzanan sinirler aracılığıyla innerve olur. Bazı kıl follikülleri ise kıl-son-organ (“*hair-end organ*”) özelliğine sahiptir. Çünkü sebase bez hizasında sinirler yaka şeklinde kıl follikülünü çevrelemektedir.

Kıl follikülleri bolca kanlanan yapılardır. Follikülün üst ve alt kısımlarında vaskülarizasyon daha belirgin olup; damarlar, perifolliküler DP’yi penetre etmektedir (1,12).

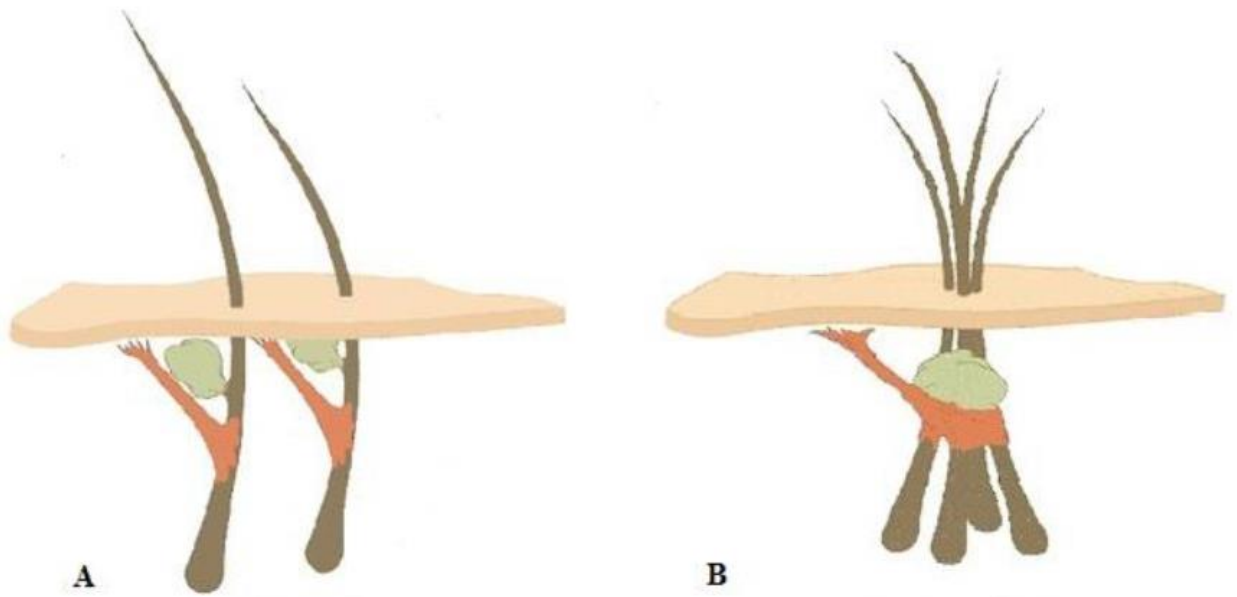
2.1.6. Folliküler Ünite

Headington 1984 yılında, kıl follikülünün transvers anatomisini anlatan bir makale yayınlamıştır. Sebase bezlerin seviyesinde kılların grup halinde bulunduğunu göstermiş ve buna follikül ünitesi (FÜ) adını vermiştir. 2-4 terminal kıl, 1-2 vellüs kılı, ilişkili sebase bezler, erektör pili kası ve çevreleyen perifolliküler dermal kılıfın hepsini FÜ olarak tanımlamıştır. Bu gruplaşma deri yüzeyinden erektör pili kasın tutunma noktasına kadar daha belirgindir. Daha aşağıda ise bireysel folliküller birbirinden ayrıldığı için gruplaşma pek gözükmez (13).

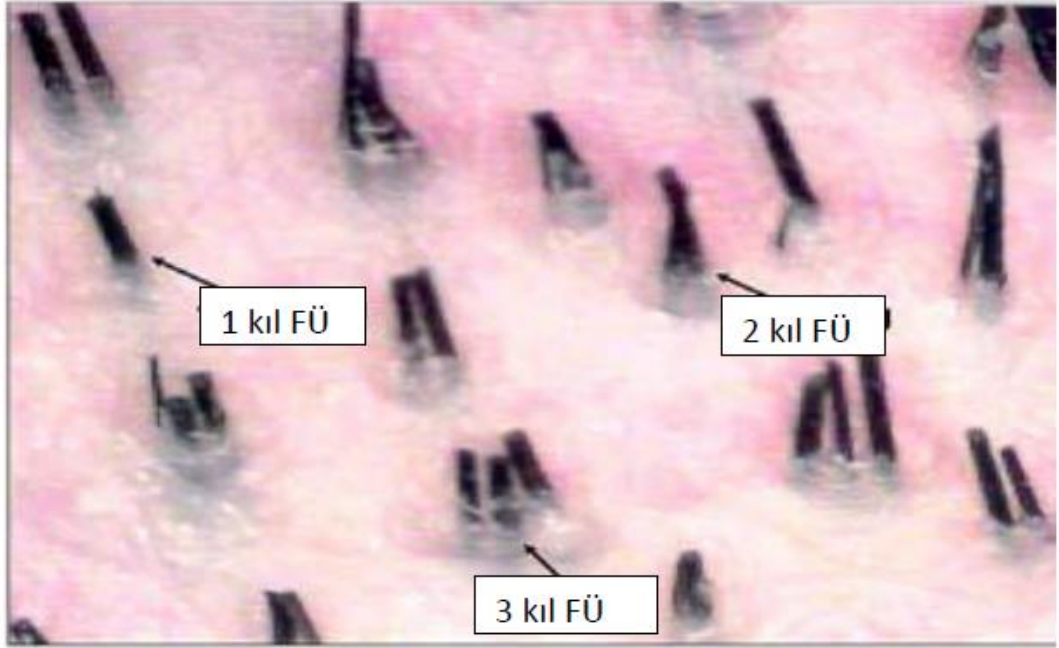
2002 yılında Poblet, Ortega ve Jimenez tarafından yapılan çalışmada FÜ’deki her bir folliküle erektör pili kasının girdiği gösterilmiştir. Erektör pili kası

folliküle giriş noktasında, konkav bir şekilde durmaktadır. Bu konkavitenin kıl follikülü ve erektör pili kası arasındaki boşluğu dolduran sebace lobüllere yapısal destek sağladığı gösterilmiştir. Erektör pili kasının istmus seviyesinde, bir FÜ içindeki tüm follikülleri birbirine bağladığı ve böylece FÜ'nin bütünlüğünden sorumlu olduğu tespit edilmiştir (**Şekil.2.9**) (14).

Skalpte ortalama 75-100 FÜ/cm² bulunur. Bir follikül ünitesi 1-5 terminal kıl içerebilir, ama çoğunlukla 1-3 terminal kıl bulundurur (**Şekil.2.10**). Skalpin farklı bölgelerinde ve farklı ırklarda FÜ dansitesi değişiklik göstermektedir.



Şekil.2.9: Kılın folliküler yapısı (a. tek follikül, b. folliküler ünite) (1).



Şekil.2.10: Folliküler üniteler (1).

2.1.7. Kıl Tipleri

Kıllar uzunluk, çap, pigmentasyon ve kıl kökünün lokalizasyonuna göre gruplara ayrılmaktadır.

1-) Lanugo kıllar: Lanugo kıllar ince, yumuşak, pigmentsiz kıllardır. Gebeliğin 12. haftasının sonunda ortaya çıkar ve 17-20. haftalar arasında sayıları artar. Verniks kazeozanın deriye tutunmasını sağlar. Medulla içermez. Perinatal dönemde lanugo kıllarının yerine daha kalın vellüs kıllar ortaya çıkar (15).

2-) Vellüs kıllar: Vellüs kıllar küçük, yumuşak, çapı < 0.03 mm ve uzunluğu < 1 cm olan kıllardır. Pigment ve medulla içermez, kökleri genellikle süperfisyonel olarak üst dermiste bulunur. Androjenetik alopesi veya başka bir nedenden dolayı minyatürize olmuş (depigmente ve < 0.03 mm) kıllar, vellüs-benzeri kıllar olarak tanımlanır. Vellüs kıllar terimi genellikle hem gerçek vellüs kılları hem de vellüs benzeri kılları kapsamaktadır. Puberte döneminde yüz, aksilla ve pubis gibi vücudun belli bölgelerindeki vellüs kıllar yerini terminal kıllara bırakır. Bu dönüşüm androjenik hormonlar sayesinde gerçekleşir.

3-) İntermediyer kıllar: İntermediyer kıllar, çapı 0.03-0.06 mm arasında olan ve medullasız kıllardır. Androgenetik alopeside olduğu gibi terminal kılların erken minyatürizasyonunu yansıtabilmektedir.

4-) Terminal kıllar: Terminal kıllar, çapı > 0.06 mm ve uzunluğu > 1 cm olan kıllardır. Genellikle pigment ve medulla içerirler. Kıl kökleri subkütan dokuda veya derin dermiste yerleşir. Skalpte normal terminal/vellüs kıl oranı: 7:1'dir (1).

2.1.8. Kıl Döngüsü (Siklusu)

Kıl gelişimi, asenkronize siklik bir süreçtir (**şekil.2.11**). Her kıl hayatı boyunca 10-20 kez kıl döngüsünden geçer. Kıl döngüsünün 4 fazı vardır:

- Anagen (büyüme)
- Katagen (regresyon)
- Telogen (istirahat)
- Ekzojen (dökülme)

Anagen faz: Skalp kıllarının yaklaşık %85-90'ı anagen fazdadır. Anagen faz, kılın aktif büyüme fazı olup 6 evreye (I-VI) ayrılır ve 3 yıl devam eder. Bu fazın I-V evresine proanagen evre denir; bu evrede kıl progenitor hücreleri çoğalır, büyüyen DP'yi sarar. Daha sonra derinin içinde aşağıya doğru büyüyerek KŞ ile İKK'na farklılaşmaya, kıl matriksinde bulunan melanositler de pigment üretimine başlar. Anagenin VI. evresine metanagen evre denir. Bu evre, DP'yı saran bulbusun oluşumu ve deri yüzeyinde yeni KŞ'nın görünmesi ile karakterizedir (16).

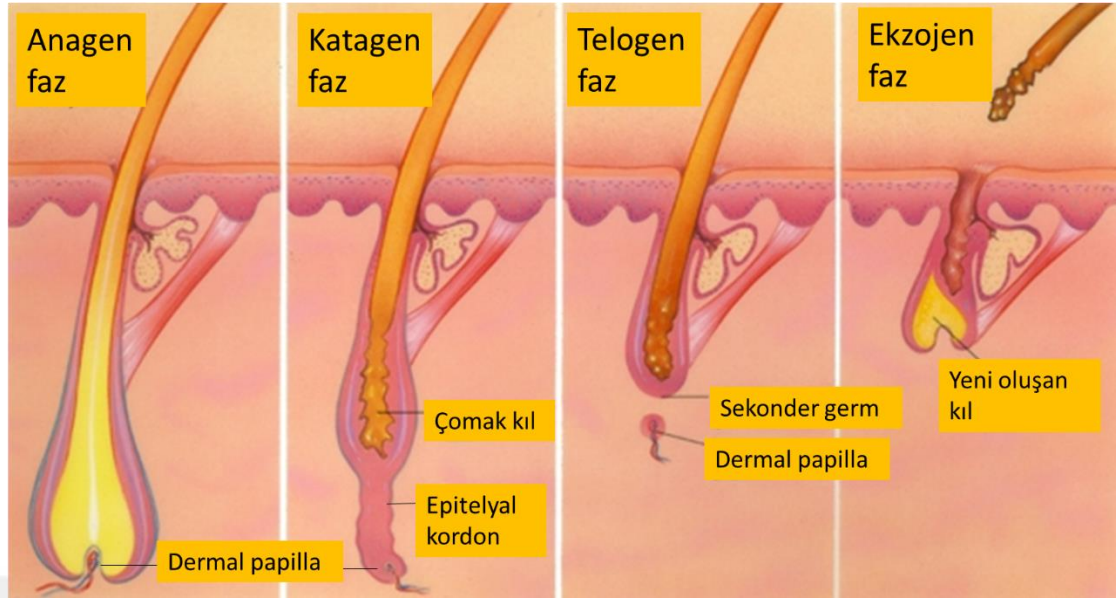
Katagen faz: Katagen faz, bilinmeyen bazı sinyaller tarafından anagen faz sona erince başlatılır (1). Kılların %1'i bu evrede olup, 2 hafta kadar sürer (16). Katagen faz, bulbar involüsyon süreci olup, 3 evreye ayrılır. Erken katagen evrede; kıl matriks keratinositlerinin farklılaşması ve proliferasyonu ciddi olarak azalır, melanositlerin pigment üretme aktivitesi durur, İKK kaybolur, KŞ üretimi tamamlanır. DP sıkışarak badem şeklini alır ve çevresinde melanin inkontinansı izlenir. Kıl follikülünün uzunluğu sabit kalır (17). Orta katagen evrede; kıl follikülünde apoptoz-ilişkili regresyon meydana gelir, buna bağlı kıl follikülü normal çapının 1/6'sını kaybeder ve uzunluğu %70'e kadar kısalır. Perifolliküler

kılıf incelirken vitröz membran kalınlaşır. Kıl matriksi ve DKK regresyona uğrayarak kordon şeklinde epitelyal bir kalıntıya dönüşür. KŞ'nın proksimali keratinize olup özelleşmiş bir yapı olan çomak kılı (*club hair*) oluştururken, distal kısmı apoptoza bağlı involüsyona uğrar (3,17). Geç katagen evrede; DP'deki hücreler stabil hale gelerek, regrese olan kıl follikül epitelinin yakın komşuluğunda lokalize olur. DP iyice sıkışarak top şeklini alır, çomak kıl belirgin hale gelir, epitelyal kordon yapısı kısalır. Sebase bezler büzüşür (17).

Telogen faz: katagen fazdan sonra başlayan telogen faz genellikle 2-3 ay sürer. Tüm kılların %10-15'i istirahat safhası olan telogen fazdadır. Telogen kıl follikülü melanosit ve İKK içermez. Bu fazda DP ve çomak kıl ("*club hair*") arasında bulunan epitelyal kordon belirgin olarak kısalıp pigmentini kaybeder ve DP ve çomak kılı birbirinden ayıran sekonder epitelyal germ tabakası oluşur. Bu evrenin sonunda kıllar ekzojen faza girer (16).

Ekzojen faz: Ekzojen faz çomak kılın (*club hair*) tamamlanmasıyla başlar ve dökülmesiyle sona erer. Teloptosis ve kenojen terimleri son zamanlarda ortaya çıkan, bu evreyle ilişkili terimlerdir. Teloptosis çomak kılın atılımını tanımlarken, kenojen boş anlamına gelip telogen follikülünün çomak kıl içermediği dönemi tanımlar (18,19).

Ekzojen fazın gerçek moleküler mekanizması bilinmese de sıkı regüle edilen ve bağımsız bir faz olarak kabul edilmektedir (1). Ekzojen fazda, bilinmeyen bir sinyal tarafından proteolitik enzimler follikülün tabanında sıkıca tutunmuş şaftı incelterek mızrak şekilli "*ekzojen bulbus*"a dönüştürür ve dökülmesine yardımcı olur. Bu evrede, sekonder epitelyal germde başlayan mitotik aktivite ile anagen faz başlar (2,3).



Şekil.2.11: Kıl follikülü döngüsü (11).

2.1.9. Kıl Follikülünün İmmünolojisi

Kıl immünolojisi çok komplike ve ilginçtir. Kıl follikülü immün ayrıcalıklı bir bölgeyi yansıtmaktadır. İmmün ayrıcalıklı sistem, vücudun bir bölgesinde yabancı bir doku greftinin immün sistem tarafından reddedilmeden uzun süre yaşaması anlamına gelmektedir. İmmün ayrıcalıklı sistemin özelleşmiş immün çevresi, kritik bölgelerin korunması ve immünolojik reaksiyonlar tarafından tahrip edilmemesi için gereklidir. İnsan vücudunda immün ayrıcalıklı sisteme sahip olan diğer bölgeler: gözün ön kamerası, testis, beyin ve plasentadır (3).

Eskiden kıl follikülü immün ayrıcalıklı sisteminin anagen fazdaki matriks bölgesine sınırlı olduğu düşünülürken, son zamanlarda yapılan çalışmalar immün ayrıcalıklı sistemin “*bulge*” bölgesine kadar uzandığını ve kıl döngüsü boyunca mevcut olduğunu göstermektedir. “*Bulge*” bölgesi kıl follikülünün kök hücre nişi olduğundan, kıl follikülünün yaşaması için bu bölgede sürekli bir immün ayrıcalıklı sisteme ihtiyaç vardır (3).

Kıl follikülü immün ayrıcalıklı sisteminin devamlılığını sağlayan faktörler şu şekilde sıralanabilir (20):

- Proksimal DKK'ında ve matriks hücrelerinde MHC I ekspresyonunun azalması
- TGF- β 1, IL-10 ve α -MSH gibi lokal güçlü immünosüpresanların üretimi
- Antijen sunan hücrelerin fonksiyonel bozulması
- Lenfatiklerin yokluğu
- İmmün hücre trafiğini engellemek için ekstrasellüler matrikste bariyerlerin kurulması
- Klasik olmayan MHC II ekspresyonu
- Fas ligand ekspresyonu

2.2. Alopesi Areata

2.2.1. Giriş ve Tanım

Alopesi areata anagen kıl folliküllerini hedef alan, skarsız alopesiye neden olan, kronik ve immün aracılı bir hastalıktır. ABD'de prevalansı %0.1-0.2 civarındadır (21). Kadın ve erkek tipi saç dökülmesinden sonra en sık 2. skarsız alopesi türüdür (22). Relaps ve remisyonlarla seyreden geniş bir klinik spektruma sahip olan alopesi areata, en sık skalpte lokalize yamalar ile prezente olurken, skalpteki tüm saçların kaybına (alopesi totalis) ve hatta vücuttaki tüm kılların dökülmesine (alopesi universalis) neden olabilir (22). Alopesi areata diğer otoimmün ve psikiyatrik hastalıklarla birlikte görülebilir. Bazı bulgular kötü prognostik faktör olarak bilinmesine rağmen hastalık seyri öngörülemez ve tedavi yanıtı çok değişkendir (21).

2.2.2. Epidemiyoloji

Alopesi areata inflamasyona bağlı saç dökülmesinin en sık nedenidir (23). Alopesi areata prevalansı %0.1-0.2 olup, hayat boyunca hastalığa yakalanma riski %2'dir (24). Hastaların %66'sı 30 yaşın altındayken, %20'si 40 yaşın üzerindedir. Üç yaş altındaki çocuklarda pek sık rastlanmaz. Kadın ve erkek eşit etkilenir. Alopesi areata ile saç rengi arasında bir ilişki yoktur (25). Çin'de yapılan bir çalışmada, 226 hastada erkek:kadın oranı 1,4:1 olarak saptanmıştır (26). Alopesi

areatalı hastalarda diğer otoimmün hastalıkların riskinin belirgin olarak artmış olduğu gösterilmiştir (26,27).

2.2.3. Kıl Döngüsü ve Alopesi Areata İlişkisi

Alopesi areatada kıl follikülündeki değişikliği daha iyi anlayabilmek için öncelikle kıl follikülünün normal döngü, büyüme ve immünobiyolojisini bilmek gerekir. İnsan vücudunda hayat boyunca siklik transformasyon gösteren tek organ kıl follikülleridir (28). Follikül “*bulge*” bölgesinde bol miktarda bulunan melanosit ve keratinositler bu rejeneratif siklik dönüşümü olanaklı hale getirmektedir (29).

Alopesi areatadaki inflamatuvar atağın ana hedefi, anagen fazdaki kıl matriksinin hızlı proliferasyon yapan keratinositleri ve pigment üreten melanositleridir (26,27,29). Bu hastalıkta anagen fazda duraksamaya bağlı kıl follikülü kısa sürede katagen faza geçer. Kıl shaftında meydana gelen zayıflığa bağlı olarak kıl, deri yüzeyinde kırılır. Follikül telogen faza girerken, kılın kalın ve kırılmış ucu daha da ileriye itilip tipik ünlem işareti saçı oluşturur (31). Subakut evrede katagen ve telogen kıllar izlenir, bu dönemde katagen/telogen oranı total folliküllerin >%50’sini oluşturmaktadır. Kronik evrede belirgin folliküler minyatürizasyon mevcut olup terminal/vellüs kıl follikül oranı 1:1’e dek düşer (31).

2.2.4. Etyopatogenez

Alopesi areata patogenezinde T hücre aracılı peribulbar inflamasyon sonucunda kıl siklusunun bozulması suçlanmaktadır (32). Diskoid lupus eritematozus, liken planopilaris gibi skatrisyel alopesilerin tersine, alopesi areatada inflamatuvar süreç kıl folliküllünde skarlaşma ve follikülün destrüksiyonuna neden olmaz.

Normal deride kıl follikülü anagen (aktif büyüme evresi), katagen (folliküler involüsyon evresi) ve telogen (folliküler istirahat evresi) evreleri arasında periyodik olarak dönüşüm gösterir. Alopesi areatada peribulbar inflamasyon ile beraber anagen follikülde distrofik değişiklikler ortaya çıkar ve anagen fazdaki follikülün prematür olarak proliferatif olmayan telogen ve katagen fazlarına geçişi tetiklenir

(31,33). Dejeneratif değişikliklere bağlı kıl şaftında lokalize bir güçsüzlük meydana gelir, bu zayıf bölge deri yüzeyine ulaşınca ostiumdan çıkarken kırılır. Etkilenen ve kırılan kıl follikülü kortikal differansiyasyonun olmadığı telogen faza döner. Folliküller normal bir şekilde tekrar anagen fazına girip anagenin III/IV fazına kadar ilerleyebiliyorken, bu aşamadan sonra kortikal farklılaşma başladığı için ilerlemesi durur. Son olarak inflamatuvar hücre infiltratlarının bulunduğu pre-kortikal bölgede aberran MHC I ve MHC II ekspresyonu gerçekleşir (34).

2.2.4.1. Genetik yatkınlık

Genetik yatkınlık alopesi gelişme riskini arttırmaktadır. İki yüz altı hasta ile yapılan bir çalışmada hastaların %20'sinin birinci derece akrabalarında alopesi areata öyküsü olduğu raporlanmıştır (35). Tek yumurta ikizlerinde alopesi areata konkordans oranının yüksek olması genetik yatkınlığın önemli role sahip olduğunu desteklemektedir (36,37). On dokuz çift monozigotik ikizle yapılan bir çalışmada diğer ikizde %42 oranında hastalık saptanmışken (36), otuz bir çift dizigotik ikizle yapılan çalışmada ise diğer ikizde sadece %10 oranında hastalık gözlenmiştir. Bu çalışmalardan yola çıkılarak alopesi areatanın genetik predispozisyonunun poligenik şekilde olduğu düşünülmektedir (38–41).

Gen ilişkili çalışmalarda, insan lökosit antijen (HLA) genlerinin alopesi areata gelişmesinde rol oynadığı gösterilmiştir. HLA tip I molekülleri tüm çekirdekli hücreler üzerinde mevcuttur ve CD8(+) T hücelere antijen sunma görevine sahiptirler. Alopesi areatalı hastaların kıl folliküllerinde HLA tip I antijenlerinin (diğer adıyla MHC-I) uygunsuz ve fazla miktarda ekspresyonu mevcuttur (42). Farklı kohort çalışmaları sonucunda alopesi areatalı hastalarda, multiple MHC-I (A, B ve C) allellerinin genetik yatkınlıkta rol oynadığı saptanmıştır (21). HLA tip I ile alopesi areata arasındaki ilişkinin araştırıldığı farklı çalışmalarda, farklı sonuçlar elde edilmiş, hatta bazı çalışmalarda HLA tip I ile alopesi areata arasında önemli ilişki saptanmamıştır (43).

Alopesi areata gelişmesinde önemli rol oynayan HLA tip II molekülleri antijenik peptidleri CD4+ hücelere sunmakla görevlidirler. HLA tip II molekülleri esas olarak spesifik immün hücreler üzerinde eksprese edilirken, herhangi bir hasar, uyarı vb durumunda normal hücrelerde de eksprese edilebilir. Alopesi areatada kıl

follikülleri üzerinde uygunsuz ve fazla miktarda HLA-II antijeni eksprese edildiği, DQB1*03 ve DRB1*1104 gibi spesifik allellerin alopesi areata için yatkınlık oluşturduğu gösterilmiştir (44).

2.2.4.2. Otoimmünite

Alopesi areatanın, vitiligo ve tiroidit gibi otoimmün hastalıklarla birlikte görülmesi altta yatan olası otoimmüniteyi akla getirmektedir. Kıl folliküllerinde immün ayrıcalıklı sisteminin ortadan kalkması, folliküler antijenleri hedef alan T hücre aracılı otoimmün yanıtın başlamasına neden olmaktadır. Kıl follikülünün regresyonu için immün ayrıcalıklı sistemin katagen fazında ortadan kalkması gerekir. Eğer bu olmazsa folliküler antijenlere karşı uygunsuz immün yanıt oluşur (21,32). Alopesi areatada otoimmüniteyi açıklamak için öne sürülen teoriler immün yanıtı regüle eden genler, otoantijen epitop, immün ayrıcalık sistemin bozulması, sitotoksik $CD8^+ NKG2D^+$ T lenfositler ve ısı şok proteini 70 ile ilişkilidir.

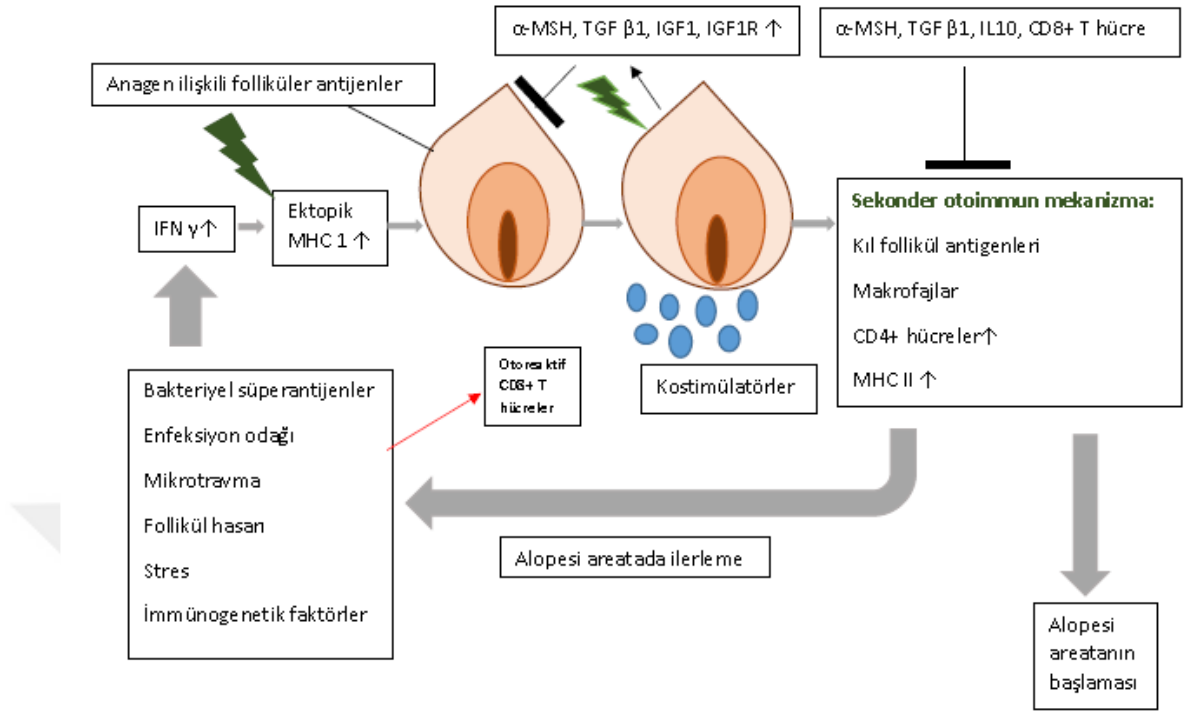
A-) İmmün yanıtı regüle eden genler: Bir genom boyu ilişkilendirme çalışmasının sonucunda doğal ve adaptif immün yanıtı regüle eden genlerin hastalık patogeneğinde görev aldığı saptanmıştır. CTLA4, IL-2/IL-21, IL-2RA ve Eos genlerinin Treg hücre aktivasyonunun ve proliferasyonunun regülasyonunda görevli genler olduğu saptanmış ve bu genlerin alopesi areata için şüpheli lokuslar olabileceği öne sürülmüştür. UL16 bağlayıcı proteinleri (ULBP) kodlayan genlerin bölgesi de alopesi areata ile ilişkili bulunmuş olup ULBP'lerin doğal öldürücü (NK), doğal öldürücü T, gama-delta T ve CD8(+) lenfositlerin stimülasyonunda görevli moleküller olduğu raporlanmıştır (45).

B-) Otoantijen epitop: Alopesi areatanın başlamasında otoantijen epitopların rol oynadığı düşünülmektedir. Alopesi areatada yeni çıkan saçların beyaz olması ve relapslarda beyaz saçların dökülmemesi, melanin, melanin ilişkili protein ve keratinosit kökenli antijenlerin otoantijen epitop olarak görevli olduğunu düşündürmektedir (34,46). Bir çalışmada trikohiyalin (yapısal bir protein) ve tirozinaz ilişkili protein 2'den (yeni ismi dopokrom tautomeraz olan pigmentasyonda görevli bir protein) elde edilen sentetik epitoplar sağlıklı ve alopesi areatalı hastalara verilerek periferik kanda mononükleer hücreler

değerlendirilmiştir. Alopesi areatalı hastaların periferik kanında sağlıklı kişilere göre, sitotoksik T lenfositler anlamlı miktarda yüksek saptanmıştır (47).

C-) İmmün ayrıcalık sisteminin bozulması: Alopesi gelişmesi için anagen kıl follikülündeki antijenlerin (melanosit antijenleri vb) T hücreleri tarafından tanınması gerekmektedir (48). Gilhar ve ark. tarafından MHC-I CD8+ T hücrelerinin farelere transferiyle alopesi areata lezyonlarının ortaya çıktığı gösterilmiştir (48).

TGF- β 1, α -MSH, IL-10 ve IGF-1 gibi lokal immünoşüpresan moleküller immün ayrıcalığın korunmasında önemli görev üstlenirler (49). İnfeksiyöz odaklar, bakteriyel süperantijenler, psikoemosyonel stresörler, deri mikrotravması, kıl follikülünün hasarı ve ek olarak yatkınlığa neden olan immünogenetik faktörler perifolliküler ve/veya intrafolliküler alanda CD4+ Th1 tarafından IFN- γ sekresyonunu stimüle eder. IFN- γ , TNF- α ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinler aberran şekilde eksprese olmaya başlar (49). IFN- γ yüksekliği proksimal kıl follikülü epitelinde ektopik MHC-Ia ekspresyonunu artırır. Bu olaylar normalde MHC-I negatif olan, anagen kıl follikülünün bulbusunda meydana gelir ve bulbustaki immün ayrıcalığı ciddi olarak tehdit eder. Sonuçta kıl bulbusundaki epitelyel hücrelere ait otoantijenler ektopik olarak açığa çıkar. Bu hastalarda daha önceden varolan otoreaktif CD8+ T hücreler, CD4+ T hücrelerden uygun kostimülatuar sinyal ve yardım alırlarsa kıl matriksine karşı sitotoksik atığa geçerler. Bu atak, follikülü tahrip eden, otoimmün, sekonder bir kısır döngüyü aktive eder. Bu kısır döngünün şiddeti kıl follikülünün hasar derecesini, alopesi areatanın klinik bulgularını, progresyonunu ve seyrini belirler (**Şekil.2.12**) (20).



Şekil.2.12: İmmün ayrıcalık sistemin bozulması (20).

D-) Sitotoksik $CD8^+ NKG2D^+$ T lenfositler: Bir çalışmada alopesi areatalı bir fareden alınan $CD8^+ NKG2D^+$ T hücreler sağlıklı bir fareye transfer edilince alopesi areata geliştiği gözlenmiştir. Alopesi areatalı bir farenin lenf nodu hücre popülasyonundan $NKG2D^+$ hücreleri sağlıklı bir fareye transfer edilince ise alopesi areata gelişmediği görülmüştür. Bu nedenle $CD8^+ NKG2D^+$ T hücreleri tarafından salınan interferonların kıl follikülündeki immün ayrıcalığı bozup alopesi areataya neden olduğu öne sürülmüştür. Janus kinaz (JAK) sinyalleşme yolağının da $CD8^+ NKG2D^+$ T hücrelerden interferon salınımını ve follikül epitel hücrelerinden IL-15 salınımını sağlayarak alopesi areata gelişme sürecini idame ettirdiği gösterilmiştir (50). JAK inhibitörleri ile alopesi areatada iyileşme görülmesi de bu teoriyi desteklemektedir (50–52).

E-) Isı şok proteini 70 (HSP70): HSP70, protein şaperonlama ve immünmodülasyon olmak üzere 2 ayrı domaine sahip intrasellüler bir moleküldür. Hücreler arasında sinyalleşme molekülü olarak görev alıp inflamatuvar cevabı artırırken, hücre içinde anti-inflamatuvar ve sitoprotektif role sahip olduğu öne sürülmektedir (53). Ayrıca hücre içindeki HSP70 şaperon molekülü olarak, anti-apoptotik süreçte rol alır, NF-kB transkripsiyonunu inhibe ederek anti-inflamatuvar ve sitoprotektif etki gösterir ve hücrel stres durumlarında hücre içinde proteozom ilişkili protein parçalanmasına yardımcı olur. Fiziksel travma, stres gibi durumlarda aktif olarak veya nekroz durumunda pasif olarak HSP70'lerin ekstrasellüler sıvıya salınımı mümkündür (53). HSP'ler hücrelerarası sıvıya salınınca yakındaki hücrelerin yüzeyine bağlanıp sinyal iletimi veya antijenik peptidlerin taşınmasını başlatabilir (53).

HSP70 ekstrasellüler alanda bulunduğu zaman TNF- α ve IL-1 gibi inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu artırır, antijen sunucu hücrelere (APC) peptid sunar, makrofaj, NK hücreler ve dendritik hücreleri aktive eder (53). Ekstrasellüler alandaki HSP70, NF-kB'yi aktive ederek proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu artırır. Ekstrasellüler alandaki yüksek miktarda HSP70'in kıl follikülünde immün ayrıcalığın sağlanması ve sürdürülmesinde olumsuz etkisi olduğu düşünülmektedir. Bu etkiyi antijen sunumunu, immün ayrıcalığın bozulmasını ve T hücre infiltrasyonunu artırarak yaptığı tahmin edilmektedir.

İntrasellüler ve ekstrasellüler alan dışında HSP70'ler bu iki alanı ayıran hücre membranında da bulunabilir (54), kan dolaşımına girip uzak bölgelerde de etki gösterebilirler.

Bakteriyel patojenlere maruz kalındığında immün yanıtı tetikleyen dominant antijen, prokaryotik HSP'leridir. Bakteriyel HSP'lere yanıt olarak oluşan immün reaksiyonun, aynı zamanda memeli HSP'lerine karşı otoimmün yanıtı da tetiklediği düşünülmektedir. Gebelik sırasında HSP70 plazma seviyesinin düşük olmasının, annenin fetusa karşı immünolojik toleransını arttırdığını düşündürmektedir (55). Bir çalışmada HSP70 inhibitörü olan Quercetin'in, C3H/HeJ fare modellerinde alopesi areata tedavisinde ve alopesi areata gelişiminin

önlenmesinde çok etkili olduğunun gösterilmesi, ileri sürülen hipotezi destekleyici olmuştur (49).

2.2.4.3. Oksidatif Stres

Alopesi areata ve diğer deri hastalıklarında oksidatif stresin rolü bilinmektedir (56,57). Malonaldehit (lipid peroksidasyonun indikatörü) ve süperoksit dismutaz (SOD)'ın kandaki antioksidan aktivitesi, alopesi areata hastalarında sağlıklı kontrollere göre daha yüksek saptanmıştır. Başka bir çalışmada alopesi areata hastalarının %32'sinde reaktif oksijen türlerine bağlı hasarlanmış SOD'a karşı otoantikor saptanmışken, sağlıklı bireylerde bu antikor saptanmamıştır (57). Bunlar oksidatif stres ve SOD hasarının alopesi areata indüksiyonunda önemli rol oynadığını göstermektedir. Ancak bu sonucun aksine, başka bir genetik çalışmada alopesi areata hastalarında SOD2 ve GPX1 (glutasyon peroksidazı kodlar) polimorfizmi saptanmamıştır (56).

2.2.4.4. Damarlanma ve Lenfatik Sistem

Genel kural olarak inflamasyon sırasında etkilenen bölgeye fazla miktarda kan akımı sağlanır. Kan akışı fazla olduğu zaman yeni kan ve lenf damarlarının oluşumu tetiklenebilir. Klinik gözlemlerde alopesi areata lezyonlarında ısının arttığı farkedilmiştir, bu da vaskülarizasyonun arttığı anlamına gelmektedir (58). Bir çalışmada uzun süreli alopesi totalis/üniversalis lezyonlarından izole edilen monositlerin defektif olduğu bulunmuş olup, bu defektif hücrelerin anjiyojenik aktiviteyi azalttığı gösterilmiştir (59). Alopesi areata tedavisinde yaygın olarak kullanılan intralezyonel steroid uygulamasına bağlı perivasküler inflamatuvar süreç gerilediği için hastalık iyileşmektedir (60).

Fareler yaşlandıkça kütanöz lenfatik yoğunluk azalırken, alopesi areatalı farelerde lenfatik damarlar dilate ve yoğun bulunmuştur. Alopesi areatalı farenin deri transkriptomu incelendiği zaman, lenfatik sistem üzerinde direk veya indirek etkisi olan anormal miktarda gen transkriptine rastlanmıştır. Lenfatik sistemdeki değişiklikler alopesi areata patogenezinde minor rol oynamasına rağmen tüm bu değişiklikler bir araya gelince hastalık gelişmesi için çok önemli risk oluşturmaktadır (61).

Tüm bu gözlemler alopesi areata patogenezinde vasküler değişikliklerin önemli rol oynadığını göstermektedir. Ancak farklı çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar elde edildiğinden, vaskülarizasyon ve perivasküler değişikliklerin, alopesi areata patogenezinde tam olarak nasıl etki gösterdiği hala netlik kazanmamıştır.

2.2.4.5. Mikrobiyota

Otoimmün hastalıkların patogenezinde mikrobiyotanın rolü yeni araştırma konularından biridir. Romatoid artrit, multiple skleroz, tip 1 diyabetin patogenezinde barsak mikrobiyotasının içeriğinin rol oynadığı gösterilmiştir (62). C3H/HeJ fare modeli spontan olarak alopesi areata geliştiren ve alopesi areata patolojisi ile ilgili çalışmalarda kullanılan bir modeldir. Bir çalışmada, C3H/HeJ farelerine oral antibiyotik karışımı verildiğinde alopesi areata gelişmediği ve deriyi infiltre eden aktif T lenfosit sayısının azaldığı gösterilmiştir. Ancak bu bulguların barsak mı yoksa deri mikrobiyotasındaki değişiklikler nedeniyle mi olduğunu anlayabilmek için tedaviden 20 hafta sonra aynı farelerin deri örnekleri alınmış ve derinin mikrobiyotasında değişiklik olmadığı tespit edilmiştir (62). Buradan yola çıkarak alopesi gelişimine oral antibiyotiğe bağlı olarak oluşan barsak mikrobiyotasındaki değişimin yol açtığı düşünülmüştür (62).

Başka bir çalışmada alopesi universalis tanısı olan iki hastaya *C.difficile* enfeksiyonu için fekal mikrobiyota transplantasyonu yapılmış, tedavi sonrasında hastalarda alopesik alanlarda saçların çıktığı görülmüş, bunun barsak mikrobiyotasının otoimmün hastalıklardaki immünmodülatör etkisine bağlı olduğu düşünülmüştür (63).

2.2.4.6. Çevresel Faktörler

Spesifik gen allelleri alopesi areataya yatkınlık oluşturabilir, yalnız hastalığın ortaya çıkma zamanını, saç kaybı paternini, hastalığın şiddetini, çevresel faktörler kümülatif olarak belirlemektedir (43). Hastalığı tetikleyen çevresel faktörler tam olarak bilinmemekle beraber hormonal dalgalanmalar (43), infeksiyöz ajanlar (64), ilaçlar, travma ve aşılar (65) muhtemel tetikleyici faktörler arasında sayılmaktadır. Fare modelinde besinsel soya yağının, alopesi areata gelişmesine

direnci arttırdığı gösterilmiştir, bu da diyetin alopesi areata yatkınlığında rol oynayabileceğini göstermektedir (66).

Stresin genellikle alopesi areatanın başlaması için tetikleyici role sahip olduğu kabul edilse de yapılan kontrollü çalışmalar bunu desteklememektedir. Bazı araştırmalarda stresli hayat olayları ile saç kaybı arasında ilişki bulunmazken (67), bazılarında alopesi areata öncesinde stresli olayların yaşandığı gösterilmiştir (68). Bir çalışmada alopesi areatalı hastalarda anksiyete, depresyon ve agresyonun artmış olduğu tespit edilmiştir (69). Bir fare modeli çalışmasında, alopesi areata gelişmesi ile santral ve periferik hipotalamik-pitüiter-adrenal (HPA) tonusun yüksekliği arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır (70). Alopesi areatalı farelerin akut fizyolojik streslere karşı normal sistemik HPA yanıtı verdiği, ancak sürekli tekrarlayan streslere karşı normal fareler alışma davranışı gösterip kortizol seviyesini sabit tutarken, alopesi areatalı farelerin azalmış habituasyon cevabı vererek kortizol salınımını arttırdığı gözlenmiştir (70). Sonuç olarak alopesi areata strese verilen cevabı etkileyebilir ve HPA aktivitesi alopesi areatanın şiddet ve seyrinin modülasyonunda önemli görev almaktadır (21).

Çevresel faktörler ve alopesi areata ilişkisine yönelik hipotezlerden bir diğeri ise D vitamininin hastalık patogeneğinde rolü olabileceğidir. Bir çalışmada serum 25-OH vitamin D düzeylerinin alopesi areata hastalarında kontrol grubuna göre düşük olduğu ve hastalık şiddeti ile vitamin D düzeyinin ters orantılı olduğu bildirilmiştir (71).

2.2.5. Klinik Bulgular

Alopesi areata klasik olarak birkaç hafta içinde ortaya çıkan asemptomatik, keskin sınırlı, yuvarlak-oval, düz yüzeyle, birbirinden ayrık, skarsız alopesik yamalar ile karakterizedir. Lezyonlu alanda deri normal görünümündedir nadiren hafif kızarıklık ve şeftali rengi benzeri değişiklikler görülebilmektedir (72). Vücudun tüm kıllı alanlarını tutabilmesine rağmen en sık skalpte görülmektedir (73). Büyüyen lezyonların periferinde derinin birkaç mm distalinde karakteristik bir bulgu olan proksimali ince, distali kalın, kısa kırılmış saçlar (ünlem işareti saçlar) görülebilmektedir (73). Aktif ve büyüyen lezyonların periferinde hafif çekme testi pozitifdir (72). Hastalığın başlangıç safhasında ilginç olarak beyaz-gri renkli kıllar

tutulmazken, hastalığın kronikleşmesi ile birlikte beyaz-gri renkli kıllar da dökülmektedir. Hastalık genellikle asemptomatik olup birkaç vakada saç kaybından önce kaşıntı, yanma hissi ve ağrı raporlanmıştır (72). Hastalık sınıflandırılması saç dökülmesinin paternine veya yaygınlığına göre yapılmaktadır (72,74). Alopesi areatada skalpte parsiyel saç dökülmesi mevcuttur (**Resim 1a ve 1b**), alopesi totaliste ise skalpteki saçların tamamı dökülmüştür (**Resim 2**), alopesi universaliste skalp ve vücuttaki tüm kılların dökülmesi söz konusudur. Bazı hastalarda oksipital bölgede bant şeklinde saç dökülmesi izlenebilir, buna “*ophiasis*” adı verilmektedir (**Resim 3**) (75). Nadiren de “*sisaiapho*” (*ophiasis inversus*) tip alopesi görülebilir, bu durumda frontal, temporal ve parietal bölgede saç dökülmesi mevcut olup skalp periferinde (*ophiasis* bölgesinde) saç dökülmesi izlenmemektedir (**Resim 4a ve 4b**). “*Sisaipho*” tipi saç dökülmesi erkeklerdeki androgenetik alopesiye benzemektedir (76). Sato-Kawamura ve ark. ile Lew ve ark. tarafından bildirilen yeni bir alopesi varyantı ise akut diffüz ve total alopesidir. Bu antite hızlı progresyon ve yaygın tutulum ile karakterizedir. Bu varyantın prognozu çok iyidir (77,78).



Resim 1a ve 1b: Alopesi areata (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı Fotoğraf Arşivi).



Resim 2: Alopesi totalis (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı Fotoğraf Arşivi).



Resim 3: Ophiasis paterni (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı Fotoğraf Arşivi).



Resim 4a ve 4b: Sisaipho paterni (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı Fotoğraf Arşivi).

Erkeklerde sakal tutulumu ilk ve tek bulgu olabilir. Yapılan retrospektif bir çalışmada sakal bölgesinde yeni başlayan alopesi ile başvuran 55 erkek hasta ortalama olarak 29 ay takip edilmiş, % 46 hastada bir yıl içinde skalpte de alopesi geliştiği izlenmiştir (79).

Hastalarda %7-66 arasında tırnak tutulumu mevcuttur (21). Ersoy Evans ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 89 alopesi areatalı çocuk hasta değerlendirilmiş, hastaların %9’unda lökonişi, longitudinal çizgilenme, trakionişi ve onikoşizis gibi tırnak bulguları izlenmiştir (80). Tırnak tutulumu saç dökülmesinden önce, birlikte veya sonrasında ortaya çıkabilmektedir. En sık görülen tırnak değişikliği yüksük tırnaktır. Bununla birlikte trakionişi, onikoreksis, lunulada kırmızı noktalanma, onikolizis, ve onikomadezis alopesi areata ile birlikte görülebilmektedir (81).

2.2.6. İlişkili Hastalıklar

Alopesi areata, otoimmün hastalıklar ve çeşitli diğer hastalıklar ile ilişkili bulunmuştur. Alopesi areata ile en sık ilişkili hastalık otoimmün tiroid hastalığıdır. İnsidansı %8-%28 olarak raporlanmıştır (82). Ancak tiroid otoantikorları ve alopesi areata şiddeti arasında klinik korelasyon saptanmamıştır (83). Ersoy-Evans ve ark. tarafından yapılan çalışmada 89 alopesi areatalı çocuk hastanın %9’unda anti tiroid peroksidaz (anti-TPO) pozitifken, %3,3 hastada ise anti tiroglobulin (anti-TG) antikoru pozitif saptanmıştır. Bu çalışmada alopesi areata hastalarında herhangi bir klinik bulguya rastlanmaksızın tiroid fonksiyon testi bozukluğu olabileceği belirtilmiş olup, hastalarda belirli aralıklarla tiroid fonksiyon testi ve tiroid otoantikorlarının bakılması önerilmiştir (80). Alopesi areata hastalarında atopi sıklığı normal popülasyondan 2 kat daha yüksektir, vitiligo sıklığı %3-8 iken, alopesi areatası olmayan Amerikan popülasyonunda vitiligo prevalansı %1 olarak raporlanmıştır (21). Yine alopesi areata hastalarının yakın akrabalarında tip 1 diyabet riski artmışken, hastaların kendilerinde bu riskte artış gözlenmemiştir (84). Addison hastalığı, pernisiyöz anemi, çölyak hastalığı, ülseratif kolit ve multiple skleroz gibi otoimmün hastalıkların alopesi areata ile ilişkili olduğu, daha az

görülen otoimmün hastalıkların da daha çok alopesi totalis/üniversalis ile ilişkili halde olduğu öne sürülmüştür (85).

Down sendromu, poliglandular otoimmün sendrom tip 1 gibi genetik hastalıklar ve alopesi areata arasındaki ilişki bilinmektedir. Bin Down sendromlu hastada alopesi areata prevalansı %6 olarak raporlanmıştır (86). On dokuz poliglandular otoimmün sendrom tip 1 tanılı hastanın %33'ünde alopesi areata saptanmıştır (87).

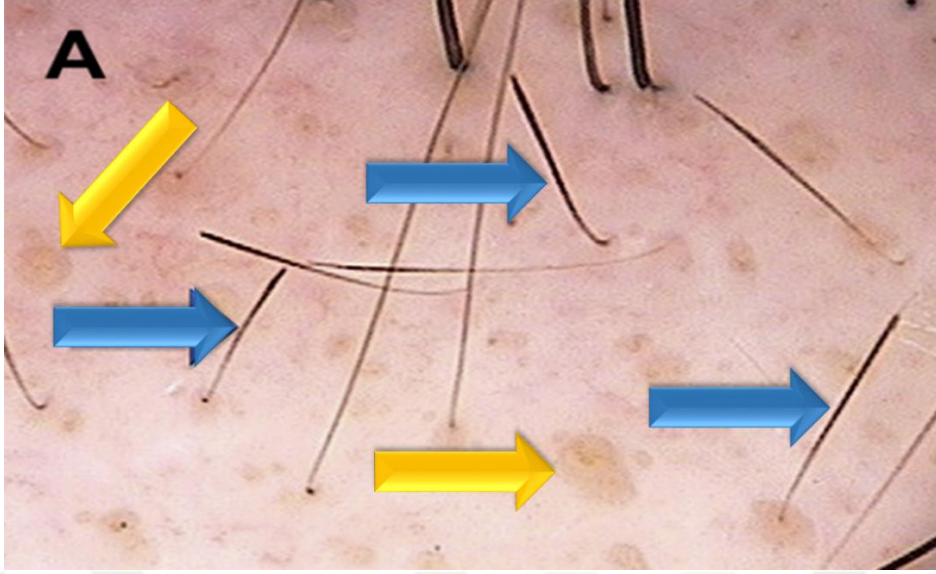
Tayvan'da yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada 4334 alopesi areata hastası araştırılmış olup bu hastalarda kontrol grubuna göre vitiligo, lupus eritematozus, psoriasis, atopik dermatit, tiroid hastalığı ve allerjik rinit daha fazla saptanmıştır (27). Bir vaka kontrol çalışmasında, 2055 alopesi areata hastası ve 588 kontrol grubu çalışmaya dahil edilmiş olup, alopesi areatalı hastaların %31'inde atopi öyküsü mevcutken, kontrol grubunda atopi öyküsü %21 olarak bildirilmiştir (88).

Saç dökülmesi üzücü bir durum olduğundan, alopesi areata hastalarında anksiyete ve duygudurum bozukluğu gibi psikiyatrik morbiditelere de sık rastlanmaktadır (89).

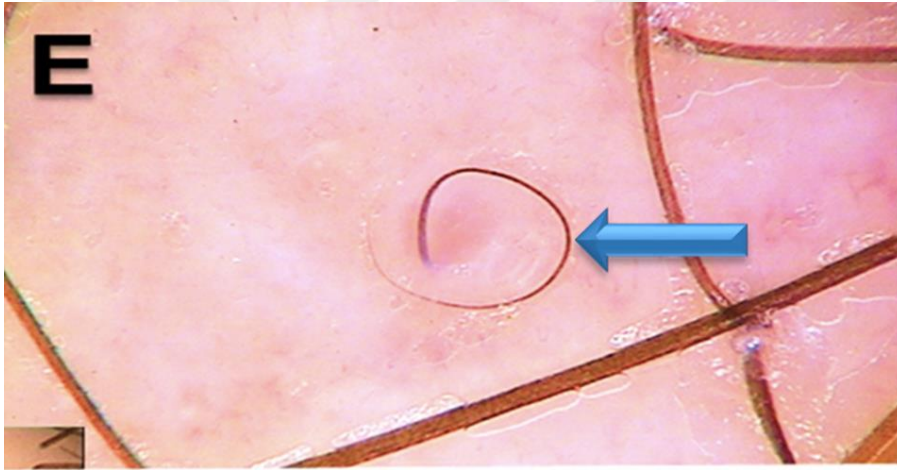
2.2.7. Tanı

Alopesi areata tanısı çoğu zaman klinik muayene ile konur. Dermatoskopik muayenede ünlem işareti kıllar izlenir. Bu kıllar proksimali distalinden daha ince, kısa kırık kıllardır ve minimal traksiyon ile çekilebilirler. Ünlem işareti kılların görülmesi zor olabilir, yokluğu da alopesi areatayı ekarte ettirmez. Aktif saç dökülmesi olan hastalarda lezyonun kenarındaki saçlar hafif çekme testi ile rahatlıkla ele gelir.

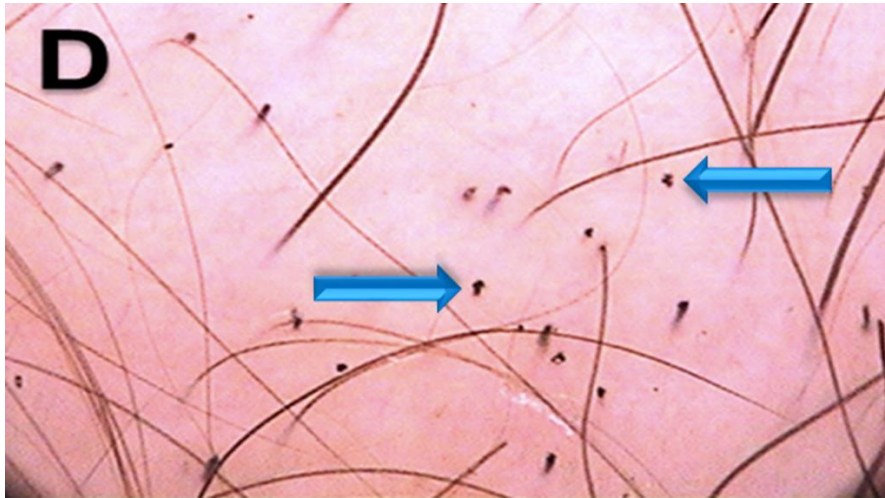
Dermatoskopi: Son zamanlarda alopesi areata tanısı için dermatoskopi yöntemi sık kullanılmaktadır. Dermatoskopik olarak alopesi areata lezyonlarında sarı noktalar, siyah noktalar, ünlem işareti saçlar, kısa vellüs saçlar, domuz kuyruğu saçlar, incelen saçlar, kırık saçlar ve moniletriiks benzeri saçlar gibi bulgular izlenmektedir (**Resim 5, 6 ve 7**) (90). Ancak hiçbir dermatoskopik bulgu diagnostik değer taşımamaktadır.



Resim 5: Ünlem kıllar (mavi oklar) ve sarı noktalar (sarı oklar) (91).

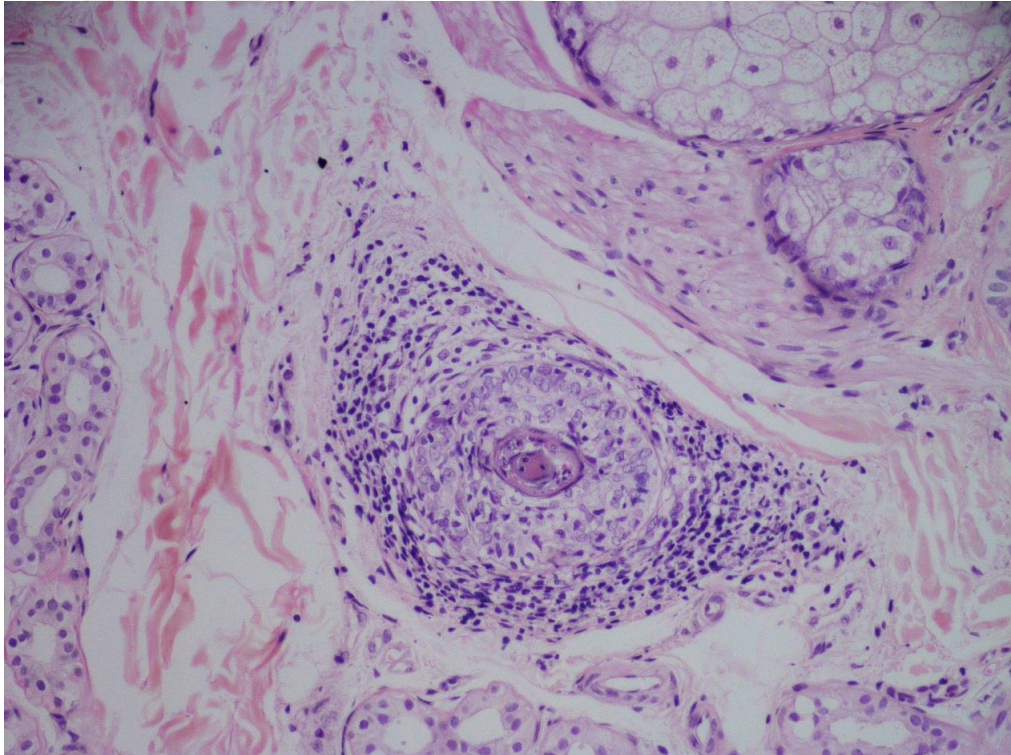


Resim 6: Domuz kuyruğu kıl (mavi ok) (92).



Resim 7: Siyah noktalar (mavi oklar) (92).

Patoloji: Hastalık süresine bağlı olarak alopesi areatada histopatolojik görünüm değişmektedir (93). Alopesi areatada anormal bir kıl siklusu mevcuttur. Anagen folliküller prematür olarak telogen faza girerken, bazıları da distrofik anagen evresinde kalırlar (33). Akut vakalarda, anagen kıl follikülünü hedefleyen arı kovanı görüntüsüne benzeyen peribulbar lenfositik inflamatuvar infiltrat karakteristiktir (**Resim 8**) (93). Kıl follikülünde erken kortikal differansiyasyona giden matriks hücrelerinin immün saldırı için primer hedef olduğu kanıtlanmıştır (94,95). Perifolliküler infiltratı oluşturan hücreler CD4(+) ve CD8(+) T hücreler olup, klinik olarak aktif lezyonlarda CD4/CD8 oranı yüksektir (96). Lezyonlu deride alopesi areatanın her aşamasında artmış miktarda eozinofillerin bulunması yardımcı bir tanısal özelliktir (97). Etkilenen kıl follikülün içinde ve çevresinde ödem, mikrovezikülasyon, apoptoz, nekroz, vakuoler dejenerasyon ve pigment inkontinansı izlenebilir (31). Alopesi areatada histopatolojik inceleme için hem horizontal hem vertikal punch biyopsi almak en doğru yaklaşımdır. Tek bir biyopsi alınacaksa horizontal kesitler histopatolojiyi daha iyi göstermektedir.



Resim 8: Peribulbar bölgede klasik arı kovanı görüntüsünü oluşturan inflamasyon (H&E x200) (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Arşivinden)

Laboratuvar tetkikleri: Otoimmün hastalıklar (özellikle tiroid hastalıkları) için rutin tarama önerilmemektedir (98). Çünkü bu hastalıkların eş zamanlı bulunduğu dair klinik kanıtlar yetersizdir. Ancak yaşlı hastalarda, uzun süreli hastalık varlığında, kadınlarda, dirençli alopesi areatada, alopesi totalis/alopeci universalis hastalarında tiroid anomalileri sık bulunmaktadır, bu nedenle basit tarama testleri yapılabilir (21,85).

2.2.8. Ayırıcı Tanılar

Tinea kapitis: Preadölesan çocuklarda daha sık görülen saçlı derideki kıl shaftlarını tutan dermatofitik enfeksiyondur. Etken patojen, coğrafik bölgeye göre değişiklik gösterir. Avrupa ve Kuzey Amerika’da *Trichophyton tonsurans* ve *Microsporum canis* en sık etkenidir (99). Klinik prezentasyon değişken olabilir. Skalpte skuamli alopesik yamalar, püstüllü kurutlu lezyonlar, alopesik alanlarda küçük siyah noktalar, skuamli annuler yamalar şeklinde izlenebilir. İnflamasyon ve servikal lenfadenopati eşlik edebilmektedir. Tanı klinik bulgular, direk mikroskopik bakı ve kültür ile konur. Alopesi areatada tinea kapitisten farklı olarak skuam bulunmaz, lezyon yüzeyi pürüzsüzdür (21). Ayrıca tinea kapitis dermatoskopisinde virgül kıllar, tırbüşon kıllar, mors alfabeti benzeri kıllar ve zigzag kıllar izlenir (91).

Trikotillomani: Kronik olarak saç (bazen kaş, kirpik ve diğer yerlerdeki kıllar) yolma sonucunda ortaya çıkan dürtüsel bir hastalıktır (99). İrregüler ve tuhaf şekilli lezyonlarla prezente olur. Farklı boylardaki kırık saçlar, lezyona tel fırça benzeri kaba-pürüzlü bir görünüm verir. Lezyon kenarından alınan trikogramda telogen kıllarda kayıp ve %100’e yakın anagen kıl varlığı izlenir (99). Dikkatli muayenede saçlı deride follikül infundibulumuna yakın peteşiler görülebilir (99). Bu antite saç kaybı ile giden alopesi areata, androgenetik alopesi, tinea kapitis gibi pek çok hastalığı taklit edebilir. Trikotillomaninin diğer alopesik hastalıklardan ayırımı oldukça önemlidir, çünkü tedavisi oldukça farklıdır (99). Alopesi areatada lezyonlar düz ve pürüzsüzdür. Ancak trikotillomani ve alopesi areata birlikte de görülebilir (21). Bu nedenle tanısında dermatoskopik inceleme çok değerlidir. Trikotillomanide lale kıllar, alev kıllar, kanca kıllar, v bulgusu, sarmal kıllar ve trikopitilozis gibi bulgular izlenirken alopesi areatada bunlar izlenmez (100).

Telogen effluvium: Diffüz saç kaybının en sık nedenlerindendir. Kadınlarda, öyküde telogen effluviumu düşündürecek majör stres, doğum, ateşli hastalık, ameliyat, hastaneye yatış, sıkı diyet, sistemik hastalıklar ve ilaçlar gibi tetikleyici faktörler varlığında akla gelmelidir. Tetikleyici olaydan 3-4 ay sonra telogen kılarda yaygın dökülme meydana gelir. Ayırıcı tanının yapılabilmesi için tüm endokrin, nütrisyonel ve otoimmün hastalıkların dışlanması gerekir (101). Genellikle kendini sınırlayan ve 6 ay içerisinde toparlayan bir tablo izlenir. Alopesi areatanın yaygın olmayan, diffüz formunda saçlarda yaygın bir incelmeye olduğundan telogen effluviumdan ayırt etmek zor olabilir (21). Kıl çekme testi güçlü pozitiftir. Trikogramda > %25 telogen fazda kıl görülür (101). Dermatoskopisinde boş folliküller, büyüyen kıllar ve tek kıl içeren FÜ izlenir (91).

Androgenetik alopesi: Erkeklerde progresif saç kaybının en yaygın nedenidir. Saç dökülmesi tedrici olup tipik bir dağılım paternine sahiptir (102). Genetik yatkınlığı olanlarda ortaya çıkar. Pigmente kalın kılların (terminal kılların), ince pigmentsiz vellüs benzeri kıl follikülüne transformasyonu sonucu ortaya çıkar. Tekrarlayan her kıl döngüsünde anagen fazın süresi kısalır ve telogen fazdaki kılların oranı artar. Kıl çekme testi genellikle negatiftir, ancak etkilenen bölgelerin aktif fazında çekme testi pozitif olabilir (103). Diffüz saç dökülmesi pek beklenen bir bulgu değildir. Alopesi areata nadiren hızla ortaya çıkıp, diffüz saç dökülmesine neden olabilir. Androgenetik alopesinin dermatoskopik değerlendirmesinde anizotrikozis, peripilar bulgu (perifolliküler pigmentasyon), vellüs kıl oranının > %20 olması, sarı noktalar ve tek kıl içeren FÜ izlenir (104).

Skatrisyel alopesi: Liken planopilaris (LPP), diskoid lupus eritematozus (DLE), frontal fibrozan alopesi, santral skatrisyel sentrifugal alopesi ve follikülitis dekalvans gibi klinik tablolar folliküllere kalıcı hasar vererek geri dönüşümsüz yama şeklinde saç dökülmesine neden olabilir. Follikül açıklıkları kaybolur. Primer patolojiye bağlı eritem, skuam, folliküler tıkaçlar ve püstülasyon gibi ek klinik bulgular saptanabilir. Özellikle DLE erken lezyonları alopesi areataya benzemektedir. Trikoskopik değerlendirmede skatrisyel alopesiye neden olan hastalığa bağlı olarak farklı bulgular izlenebilir. Örneğin DLE’de dallanan kalın damarlar ve büyük sarı noktalar izlenirken LPP’de perifolliküler tübüler skuam, beyaz noktalar ve beyaz alanlar izlenir (91).

Sekonder sifiliz: Sekonder sifilizde farklı şekillerde saç dökülmesi izlenebilir. En karakteristik formu güve yeniği görünümde yamalardır. Güve yeniği yamalar görüldüğünde sekonder sifilizin diğer mukoza ve deri lezyonları açısından hasta ayrıntılı bir şekilde muayene edilmelidir. Sekonder sifilizin alopesi areata ile ayırımında serolojik testler gereklidir (21).

Sistemik lupus eritematozus (SLE): SLE ilişkili skarsız alopesi ile alopesi areatanın ayırımı zor olabilir. Olguların klinik, dermatoskopik ve histopatolojik olarak birbirinden ayrılmaya çalışıldığı bir çalışmada SLE olgularında dermatoskopik muayenede kıl shaftında incelme ve hipopigmentasyon, telenjektazi, peripilar bulgu, perifoliküler kırmızı noktalar, beyaz noktalar, balpeteği pigment paterni izlenmiştir (105). Saç kaybının olmadığı alanlarda ise interfolliküler dallanan damar yapılarının alopesi areata vakalarına kıyasla çok daha yaygın olduğu dikkati çekmiştir. Ayırıcı tanı için lezyondan biyopsi almak gerekebilir (21). Tedavi sonrası SLE hastalarında alopesik lezyonlarda nüks izlenmezken alopesi areatada %50'ye yakın nüks gözlenebilmektedir (105).

Triangular alopesi: İnfantlarda veya çocuklarda ortaya çıkar. Gelişimsel kıl follikül anomalisine bağlı, frontotemporal saç çizgisine yakın yuvarlak veya üçgen şekilli alopesik yamalar izlenir. Tek veya çift taraflı olabilir, hayat boyunca devam eder. İçinde vellüs kıllar bulunur (99). Yapılan çok merkezli bir çalışmada triangular alopesi olgularında dermatoskopide beyaz kıllar, kıl çaplarında değişkenlik, vellüs kıllar ve boş folliküller izlenmiştir (106).

2.2.9. Tedavi

Alopesi areata hastalarının %50 kadarı bir yıl içinde spontan olarak remisyona girerken, çoğu hastada relaps ihtimali yüksektir (107). Saç dökülmesi psikolojik stres oluşturduğu için hastaları tedavi almaya zorlar. Alopesi areata tedavisi için çeşitli terapötik ajanlar tanımlanmıştır, fakat hiçbirisi küratif veya preventif değildir. Tedavinin amacı hastalık aktivitesini baskılamaktır (108). Alopesi areata tedavi kapsamında hastanın psikolojik ihtiyaçlarının karşılanması da hedef alınmalıdır. Alopesi areata tedavisinde çeşitli topikal, intralezyonel ve

sistemik tedaviler denenmiş, farklı sonuçlar elde edilmiştir. Çift kör, randomize ve plasebo kontrollü çalışma sayısı çok azdır (109).

2.2.9.1. Topikal tedaviler

1-) İntralezyonel kortikosteroid (İLKS): Alopesi areata olgularında İLKS kullanımı yaklaşık 50 yıldır bir tedavi seçeneği olarak bilinmesine rağmen bu konuda yayınlanmış bir randomize kontrollü çalışma mevcut değildir. İntralezyonel kortikosteroid enjeksiyonu, alopesi areata skalpın %50'sinden azını etkilemiş, erişkin hastalarda ilk basamak tedavi yöntemidir. Skalpte 5 mg/ml ile yüzde ve kaşa 2,5 mg/ml dozunda, 30 gauge'lik enjektörle her 1 cm mesafeye 0,1 ml olacak şekilde 4-6 haftada bir uygulanır. Ancak bir seansta skalpte toplam 3-4 ml ve her kaş için toplamda 0,5 ml'yi aşmamaya dikkat edilmelidir. Altı ay sonunda tedaviden fayda yoksa tedavi sonlandırılır (108). Yüz yirmi alopesi areata hastasına İLKS uygulanarak tedavi yanıtının araştırıldığı bir çalışmada 12 hafta sonrasında hastaların %83,3'ünde yanıt elde edilmiş olup, %26,7 hastada orta yanıt ve %56,6 hastada tam yanıt izlenmiştir (110). Geçici atrofi, telenjiektazi gibi yan etkiler görülebilir. Bunları önlemenin yolu enjeksiyonun hacmini azaltmak ve enjeksiyonu çok yüzeysel (intraepidermal) yapmaktan kaçınmaktır (108).

2-) Topikal kortikosteroidler: Potent ve orta potent topikal kortikosteroidler çocuklarda ilk tedavi seçeneğidir. Özellikle saç kaybının hafif ve orta olduğu vakalarda topikal kortikosteroid kullanımından daha fazla yarar elde edilmektedir (111). Randomize çift kör plasebo kontrollü bir çalışmada %0,25'lik desoksümetazon krem uygulanması plasebo grubuna göre daha etkili bulunmuştur (111). Yapılan başka bir çalışmada skalpın yarısına haftada 6 gün olacak şekilde 6 ay süre ile oklüzyon altında %0,05'lik klobetazol propiyonat merhem (her uygulamada 2.5 gr merhem) uygulanan hastaların %28,5'inde tama yakın iyileşme izlenirken, %17,8'inde tedavi edilen bölgede uzun süreli fayda sağlandığı gösterilmiştir, 3 hastada relaps izlenmiştir (112). Randomize, plasebo kontrollü çift kör başka bir çalışmada ise 34 hastaya 24 hafta süre ile topikal %0,05'lik klobetazol propionat köpük formu uygulaması sonrası hastaların %47'sinde %50-75 alanda, hastaların %25'inde %75-100 alanda yeniden saç çıktığı gözlenmiştir (113).

Topikal kortikosteroidler minoksidil %5 ile kombine edilerek de kullanılabilir (108).

3-) Minoksidil: Antihipertansif bir ajan olan minoksidil saç dökülmesi tedavisinde 20 yıldan uzun süredir kullanılmaktadır. Alopeside vazodilatasyon, anjiyojenez, hücre proliferasyonunun desteklenmesi ve potasyum kanallarının açılması gibi mekanizmalar üzerinden etki ettiği düşünülmektedir. Minoksidil genellikle konvansiyonel tedavilere adjuvan olarak kullanılır (108). Şiddetli alopesi areatalı (>%50) 30 hastada yapılan çift kör plasebo kontrollü bir çalışmada skalpın yarısına günde 2 kez (geceleri vazelin ile oklüzyon) %3'lük topikal minoksidil ve plasebo bir yıl süre ile uygulanmış minoksidil kullanan hastalarda %63,6, plasebo grubunda ise %35,7 yanıt elde edilmiştir (114). Alopesi totalis ve universalis olgularında topikal minoksidil kullanımının etkisi belirgin olarak azdır. %5 minoksidil genellikle konvansiyonel tedavilere adjuvan olarak kullanılır (108). Küçük bir hasta grubunda kontakt dermatit, kaşıntı ve hipertrikoz gibi yan etkiler bildirilmiştir (108).

4-) Antralin: Literatürde birbiriyle çelişkili sonuçlar bulunmasına rağmen %0,5 veya %1'lik antralin ile kısa süreli kontakt terapi, alopesi areata olgularında alternatif bir tedavi olarak kullanılabilir. Antralinin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte tedavi bölgesinde TNF- α ve TNF- β ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (115). Tedaviden fayda görmek için irritasyon gelişmesi gerekmektedir. Bu amaçla %0,5 dozdan günde 10 dakika bekletme süresi ile başlanır. Bekletme süresi her gün 10 dakika arttırılarak 60 dakikaya kadar ulaşılır. İrritasyon gelişmezse %1'lik doza geçilir. 3 ayda tedaviden fayda görülmezse tedavi kesilebilir. Antralin topikal kortikosteroidlerle kombine edilmemelidir (108). Durdu ve ark. antralin ve difenilsiklopropenon (DPCP) kombinasyonunu kullanarak yaygın alopesi areata hastalarında yüz güldürücü sonuçlar elde etmişlerdir (116). Bu çalışmada kombine tedaviye 30 haftadan uzun süre devam eden 27 hastanın %66,6'sında tam yanıt ve %14,8'inde kısmi yanıt izlenmiş, tam yanıt veren hastaların kaş, kirpik ve sakal bölgesinde de kıl çıkışı gözlenmiştir (116). Antralinin ciddi irritasyon, follikülit, bölgesel lenfadenopati, deri ve giysilerin boyanması gibi yan etkileri vardır (108).

5-) Topikal immünoterapi: DPCP, dinitroklorobenzen (DNCE) ve skuarik asit dibütilester (SADBE) alopesi areata tedavisinde kullanılabilen kontakt duyarlandırııcı tedavilerdir. Bu ajanların etki mekanizmasını açıklamaya yönelik pek çok hipotez mevcuttur. Başlıcaları; antijenik yarışma (117), perifoliküler lenfosit apoptozu, peribulbar CD4/CD8 lenfosit oranının değışmesi ve bazal keratinositlerde IL-10 salınımı olarak bilinmektedir (118). Erişkinlerde ve çocuklarda skalpte >%50 saç dökülmesi mevcutsa DPCP ilk tedavi seçeneğidir. %2'lik DPCP ile duyarlanma oluşturdıktan sonra irritasyon yapacak en düşük dozla haftalık tedavi uygulanır. Uygulama sonrası hastanın 48 saat boyunca saçını yıkamaması ve güneşten koruyacak şapka benzeri aksesuarlar kullanması önerilmektedir. Tedavi başarısı %50-60 civarındadır. Tedavi bırakıldıktan sonraki 2,5 yıl içinde relaps oranı %62 olarak raporlanmıştır. Altı ayda fayda yoksa tedavi kesilebilir. DPCP'ye karşı allerjik reaksiyon oluşturmıyan hastalar için SADBE bir tedavi seçeneğı olabilir (108). DPCP'nin bilinen başlıca yan etkileri hipo-hiperpigmentasyon, irritasyon, kontakt dermatit, ürtiker ve skalpte boyanmadır.

6-) Prostaglandin analogları: Latanoprost (prostaglandin F₂ α analogu) ve bimatoprost (sentetik prostamid F₂ α) açık açılı glokomda kullanılan ajanlardır. Yan etki olarak kirpikleri uzattığı görölmesi üzerine yapılan çalışmalarda alopesi areatada belirgin etkinliğı saptanmamıştır (119). Sklerada ve göz kapağında pigmentasyon gibi bilinen yan etkileri mevcuttur (108).

7-) Topikal kalsinörin inhibitörleri: %0.1 takrolimus merhemini günde iki kez uygulandığı 6 ay boyunca sürdürölen bir çalışmada, topikal kalsinörin inhibitörlerinin alopesi areatada kullanımı başarısız olarak raporlanmıştır (120).

8-) Beksaroten: Bir çalışmada 42 hastada skalpın yarısına beksaroten %1'lik jel günde iki kez 24 hafta boyunca kullanılmıştır. Çalışmanın sonunda %7,1 hastada tam yanıt, %12 hastada tedavi edilen bölgenin > %50 kısmında saç çıkışı, %14 hastada ise skalpın her iki tarafında saç çıkışı izlenmiştir (121). Beksarotenin sık gözlenen yan etkisi dermal irritasyondur (108).

9-) Kapsaisin: Alopesi areatada 3 haftalık %0.075'lik kapsaisin krem tedavisi sonrasında vellüs kılların ortaya çıkışının indüklendiğı gösterilmiştir (122).

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada 6 hafta süre ile %0,075'lik kapsaisin krem (ilk iki hafta günde bir kez, sonra 4 hafta günde iki kez) ve günde bir kez klobetazol propiyonat %0.05 merhem uygulamasının benzer etkiye sahip olduğu raporlanmıştır (123).

2.2.9.2. Sistemik tedaviler

1-) Sistemik kortikosteroidler: Sistemik kortikosteroidler, anti-inflamatuar etkileri nedeniyle alopesi areata tedavisinde kullanılan ajanlardır. Literatürde, alopesi areata tedavisinde ayda bir kez 300 mg oral prednizolon, günlük 40 mg oral prednizon kullanımı, tek doz 2 gr/gün intravenöz (İV) prednizolon, ayda bir kez 3 gün süre ile 500 mg/gün İV metilprednizolon kullanımı gibi pek çok alternatif yönetime rastlamak mümkündür. Pulse steroid tedavisinin günlük oral tedavi protokollerine göre daha az yan etkiye neden olduğu gösterilmiştir (124). On ophiasis, 9 alopesi universalis, 6 alopesi totalis hastasının dahil edildiği bir çalışmada, tek seferlik 2x250 mg/gün İV metilprednizolon tedavisi 3 gün süre ile verilmiş, hastalar 1,3,6. ve 12. aylarda değerlendirilmiştir. On ophiasis vakasının %60'ında ve 15 alopesi totalis/üniversalis vakasının %53,3'ünde hiç yanıt alınamamıştır (125). Kırk üç hastanın rastgele 2 gruba ayrıldığı bir çalışmada ise 23 hastaya haftada bir gün 200 mg/gün oral prednizolon verilirken 20 hastaya plasebo verilmiştir. Üç aylık aktif tedavi sürecinden sonra hastalar 3 ay süre ile izlenmiştir. Prednizolon ile tedavi edilen grupta 8 hastada (%34,7) belirgin saç çıkışı izlenirken, plasebo grubundaki hastaların hiçbirinde saç çıkışı izlenmemiştir (126). Başka bir çalışmada her ay ard arda 3 gün süre ile 500 mg/gün İV metilprednizolon verilen 15 hastada, 3 aylık süre sonunda 3 hastada (%20) belirgin saç çıkışı (>%50), 2 hastada (%13,3) minimal saç çıkışı (<%50) izlenirken, 10 hastada (%66,7) yanıt alınamamıştır (127). Sistemik kortikosteroidlerin hiperglisemi, osteoporoz, katarakt, immünsüpresyon, obezite, dismenore, akne, Cushing sendromu gibi yan etkileri bilinmektedir (108). Yan etki profili ve yüksek relaps oranı nedeniyle sistemik kortikosteroidlerin alopesi areatada kullanımı kısıtlıdır.

2-) Fototerapi:

PUVA: Alopesi areatada UVA+sistemik/topikal psoralen (PUVA) fototerapisinin etkinliği sınırlıdır. Literatürdeki çalışmalarda etkinin %15-70'e varan oranlarda değişkenlik gösterdiği bildirilmektedir (128). Şahin ve ark. yaptığı çalışmada 24 şiddetli alopesi areata vakasına tüm vücuda haftada 3 kez PUVA uygulanmıştır. Vakaların %37,5'inde %75-100 arası yanıt elde edilmiş olup terapötik cevabın yaş, cinsiyet ya da hastalık süresiyle ilişkisi saptanmamıştır (129). Uzun süreli güvenlik endişesi (deri kanseri riski vb), yan etki ve yüksek relaps nedeniyle alopesi areatada PUVA tedavisinin kullanımı kısıtlıdır (108).

Excimer lazer: Sınırlı alopesi areatada yardımcı olabileceğini gösteren birkaç yayın mevcuttur (130). Ancak alopesi üniversalis ve totaliste sonuçlar kötüdür (108). On sekiz hastaya ait toplamda 42 inatçı alopesik yamaya 308 nm excimer lazer haftada 2 kez olacak şekilde 12 haftalık bir süre boyunca uygulandığında toplamda 17 yamada (%41,5) saç çıkışı izlenmiştir. Skalp yerleşimli yamalarda total yanıtı varan yüz güldürücü sonuçlar elde edilmiş olmasına rağmen ekstremitelerinde iyi sonuç alınamamıştır (131). Benzer şekilde haftada 2-3 kez excimer lazer ile tedavi edilen 17 hastanın dahil edildiği bir çalışmada, ortalama 37 seans sonrasında %41,2 hastada tam yanıt, %29,4 hastada tatmin edici yanıt (>%50 alanda saç çıkışı) saptandığı bildirilmiştir (132).

Atımlı (pulsed) kızılötesi diod lazer: Monoterapi ya da konvansiyonel tedavilerle birlikte kullanıldığında etkinliği kısıtlı bir yöntemdir. Farklı tedavi rejimlerine dirençli 16 hastaya ait 34 alopesik yamaya haftada bir kez saniyede 40 atım olacak şekilde 904 nm dalgaboyunda lazer tedavisi uygulanan bir çalışmada yamaların %94'ünde saç çıkışı izlendiği, yamaların %90,6'sında orijinal saç renginde terminal kıllar, %9,4'ünde pigmentsiz vellüs kılların görüldüğü bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre atımlı (pulsed) kızılötesi diod lazerin dirençli alopesik yamalarda iyi bir tedavi seçeneği olduğu öne sürülmüştür (133).

Fotodinamik tedavi: Fotoduyarlandırıcı ajanlar, ışık ve oksijenin etkileşimi ile malign veya benign deri hastalıklarının tedavisinde kullanılan ve sitotoksik etkiye sahip bir yöntemdir. Literatürde farklı tedavi rejimlerine yanıt

vermeyen 6 alopesi areata hastasının dahil edildiği pilot bir çalışma mevcuttur. Hastalara ayda bir seans, tek bir alopesik yamaya 630 nm kırmızı ışık (37 J/cm^2 , 7,5 dk) ile irradyasyondan 3 saat sonra metilaminolevolinik asit oklüzyon altında uygulanmıştır, hastaların hiçbirinde saç çıkışı izlenmemiştir. İki hastada tedavi sahasında 10 adetten az olacak şekilde zayıf kıllar görülmüştür (134). Tüm bu nedenlerle alopesi areata tedavisinde etkisiz olduğu düşünülmektedir (135).

3-) Siklosporin: T helper hücrelerin aktivasyonunu inhibe eden ve IFN- γ üretimini baskılayan immünsüpresan bir ajandır. Tek başına veya kortikosteroidlerle birlikte kullanılabilir. Başarı oranı farklı çalışmalarda %25-76,6 olarak bildirilmiştir (136). Ancak siklosporin kullanan organ transplant hastalarında alopesi areata geliştiği de bilinmektedir (137). Hastaların 2,5-6 mg/kg/gün dozunda oral siklosporin ile 2-12 ay arasında tedavi edildiği bir çalışmada toplamda 25 hastanın 3'ü yan etkiler (KCFT bozukluğu ve akut böbrek yetmezliği) sebebiyle tedaviyi tolere edememiştir. Kalan 22 hastanın %45,4'ünde belirgin saç çıkışı izlenmiş olup geri kalan hastalarda yanıt elde edilememiştir. Saç çıkışı izlenen hastaların 5 tanesi alopesi areata, 2 tanesi alopesi totalis ve 3 tanesi alopesi universalis olan bu çalışmada, hastalık süresi uzadıkça (özellikle >4 yıl süren olgularda) yanıtın daha kötü olduğu gözlenmiştir (138). Siklosporinin nefrotoksisite, hipertansiyon ve immünsupresyon gibi yan etkileri, yüksek relaps oranları ve uzun süreli tedavi gerektirmesi nedeniyle alopesi areatada kullanımı kısıtlıdır (108).

4-) Metotreksat: Dihidrofolat redüktaza bağlanarak timidilat, purin sentezi ve hücre proliferasyonunu azaltır, aynı zamanda anti-inflamatuar etkisi olan bir folat analogudur. Alopesi areata tedavisinde oral metotreksat 15-25 mg/hafta dozunda kullanılır (139). Otuz bir hastaya 10-25 mg/hafta oral metotreksat verilen bir çalışmada hastaların %67,7'sinde >%50 saç çıkışı izlenmiş olup, hastalığı 5 yıldan kısa süren, 40 yaşından küçük erkek hastalarda kümülatif doz 1000-1500 mg'a ulaştığında daha iyi yanıt alındığı gözlenmiştir. Hiçbir hastada ciddi yan etki izlenmemiştir (140). Başka bir çalışmada 22 alopesi totalis/alopesi universalis hastasında düşük doz oral prednizon (20 mg/gün) ile oral metotreksat (20-25 mg/hafta) kombinasyonu kullanılmış ve %64 olguda tam yanıt görüldüğü bildirilmiştir. Tam yanıt alınan hastaların %42,8'i metotreksat kullanımını bırakmış,

bu hastaların yarısında relaps izlenmiştir. Ancak yeniden metotreksat kullanımıyla tama yakın yanıt elde edildiği, ciddi yan etki gözlenmediği bildirilmiştir (141).

5-) Biyolojik ajanlar: Alopesi areata T hücre aracılı bir otoimmün hastalık olduğundan tedavisinde pek çok biyolojik ajan denenmiştir. Birkaç çalışmada adalimumab, infliksimab, etanersept ve efalizumabın etkisiz olduğu gösterilmiştir (142,143). TNF- α inhibitörü olan adalimumabın şiddetli alopesi areatası olan 3 hastada indüksiyon dozu olan 80 mg ve sonrası haftalık 40 mg subkütan enjeksiyon şeklinde 6 ay süre ile verildiği bir çalışmada belirgin bir fayda izlenmemiştir (144). Orta-şiddetli alopesi areata ve alopesi totalis/üniversalis olgularının dahil edildiği pilot bir çalışmada 17 hastaya 8-24 hafta arasında 2x50 mg/hafta subkütan etanercept verilmiş ancak hiçbir hastada belirgin saç çıkışı izlenmemiştir (145). Ayrıca 62 hastanın dahil edildiği faz 2 plasebo kontrollü bir çalışmada 12 hafta süre ile 1 mg/kg/hafta subkütan efalizumab enjeksiyonunu takiben alopesi şiddeti değerlendirilmiş, efalizumab verilen grupta plasebo grubuna göre yanıt açısından anlamlı farklılık bulunamamıştır (146).

6-) Sulfasalazin: T hücre proliferasyonunu, NK hücre aktivitesini ve antikor üretimini inhibe eden immünmodulator ve immünsüpresif bir ajandır. Literatürde alopesi areata olgularında günde 2 kez 500-1500 mg sulfasalazin kullanımı tedavi seçeneklerinden biri olarak bildirilmektedir (139). Öncesinde sistemik ya da topikal bir tedavi almayan 26 hastanın dahil edildiği bir çalışmada sırasıyla günde 2x500 mg bir ay, 2x1000 mg bir ay ve 2x1500 mg en az 3 ay (bazı hastalarda 24 aya kadar uzayan) sulfasalazin verilmiştir. Hastaların %27,3'ünde tam yanıt (>%90-100), %40,9'unda kısmi yanıt (%10-90) izlenirken, %31,8'inde saç çıkışı izlenmemiştir. Relaps oranı %45,5 olarak bildirilmiştir. 1/3 hastada gastrointestinal distres, döküntü, baş ağrısı ve laboratuvar anomalileri gibi yan etkiler gözlenmiştir (147).

7-) Statinler: Statinler kolesterol düşürücü etkileri yanı sıra güçlü lenfosit modulator etkileri olan ajanlardır. Simvastatinin lökosit ve endotel hücrelerinin yüzeyindeki adhezyon moleküllerinde “downregülasyona” yol açarak kıl follikülünde immün ayrıcalığın kaybolmasını önlediği düşünülmektedir (148). Ezitimibin ise simvastatinin immünmodulator ve antiinflamatuvar etkisini arttırdığı

düşünülmektedir (149). Simvastatin/ezetimib kombinasyonunun oral 40/10 mg/gün şeklinde kullanıldığı çalışmalarda %20-70 kadar başarılı sonuçlar elde edilmiştir (150–152). Yan etki bildirilmemiş, tedavi sonlandığında hastaların çoğunda relaps gözlenmiştir (150).

8-) Janus kinaz (JAK) inhibitörleri: T hücrelerinin aktif olarak kullandığı JAK 1/3 ve JAK 1/2 yolaklarını inhibe eden ajanlardır. Özellikle JAK 1/2 yolağı IFN- γ ilişkilidir. IFN- γ 'nın immün ayrıcalık sistemini bozarak skarsız saç kaybına yol açtığı düşünülmektedir (50). JAK inhibitörlerinin (tofasitinib ve ruxsolutinib) IFN- γ aracılı bu döngüyü kırarak immün ayrıcalığı yeniden sağladığı tahmin edilmektedir (139). Fare deneylerinde ve birkaç katılımcı ile gerçekleşen insan çalışmalarında alopesi areata, alopesi totalis ve alopesi üniversalis olgularında tofasitinib (JAK 1/3 inhibitörü) kullanımı ile yüz güldürücü sonuç elde edilmiştir (50). Çalışmaya katılan bireylerde herhangi bir yan etki bildirilmemesine rağmen JAK inhibitörlerinin enfeksiyon, anemi, nötropeni, baş ağrısı, bulantı ve trombositopeni gibi yan etkileri vardır (153).

9-) Quercetin: Alopesi areata patogenezi bölümünde bahsi geçen HSP70 molekülünün inhibitörüdür. Antiinflamatuvar özelliğe sahip olan doğal bir bioflavonoiddir. Quercetin, TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin yapımını tetikleyen bir transkripsiyon faktörü olan NF-kB'nin aktivasyonunu inhibe ederek etki gösterir. Meyveler ve sebzeler (özellikle soğan ve kapari) quercetinden çok zengindir. Quercetin spontan alopesi areata modeli olan C3H/HeJ farelerde, subkutanöz enjeksiyon sonrası alopesik bölgede saç çıkışını indüklediği gösterilmiştir (49). Ayrıca sistemik olarak quercetin alan farelerde de alopesik alanlarda anlamlı küçülme olduğu dikkati çekmiştir. Bu nedenle quercetin hem sistemik hem de topikal formlarının alopesi areata tedavisinde etkili ve potansiyel bir ajan olduğu düşünülmektedir (49).

Alopesi areatada yukarıda adı geçen tedavilere ek olarak azatiyopurin, plazmadan zengin platelet uygulaması (PRP), düşük doz rekombinant IL-2, hidroksiklorokin, fraksiyonel fototermolizis ve botulinum toksini gibi tedaviler de farklı sonuçlarla kullanılmıştır (107,108,154).

2.2.10. Prognoz

Alopesi areatada çoğu hastada spontan iyileşme gözlenmektedir. Sınırlı sayıda alopesik lezyonu olan hastaların %50'si bir yıl içinde iyileşmektedir (74). Saç dökülmesinin geri dönüşümlü olması, skatrisyel alopesiden ayrımında major farkı oluşturmaktadır. Hastalık seyri öngörülemez. Neredeyse tüm hastalar birden fazla saç dökülmesi epizodu geçirmektedir. Bazı hastalarda alopesi areata yıllarca devam edebilir. %10 hastada alopesi totalis ve alopesi universalis gelişebilir (155). Kötü prognostik faktörler ve relaps riskini arttıran nedenler; hastalığın çocukluk çağında başlaması, alopesi totalis/universalis gibi şiddetli hastalık, hastalığın bir yıldan uzun sürmesi, “*ophiasis*” tip alopesi, tırnak tutulumu, başka otoimmün hastalıkların varlığı, atopi varlığı ve ailede alopesi areata öyküsü olarak sayılabilir (21). Çocuklarda hastalık başlangıçta hafif olsa da zaman içinde kötüleşmeye eğilim olabilmektedir (156). Çin’de yapılan bir çalışmada erkeklerde ve erken başlangıçlı hastalıkta, seyrin daha şiddetli olduğu gözlenmiştir (26). Alopesi totalis ve alopesi universaliste tam iyileşme şansı %10 kadar düşüktür (157) .

Alopesi areatanın uzun vadeli sonuçlarının incelenmesi için 2005 yılında İtalya’da yapılan bir çalışmada 1983-1990 yılları arasında, alopesi areata tanılı, dermatoloji bölümüne başvurmuş olan 191 hastayla telefon görüşmesi yapılmış ve o anki klinik durumu ile ilgili bilgi elde edilmiştir. Başlangıçta %68 hastada < % 25 kıl kaybı, %38 hastada %25-50 kıl kaybı, %8 hastada >%50 kıl kaybı olduğu, düşük şiddetli alopesik lezyonlarla prezente olan hastaların çoğunun, hastalıktan kurtulduğu, başlangıçta şiddetli alopesi ile prezente olanların çoğunun alopesi totalis ve alopesi universalis gibi daha şiddetli formlara dönüştüğü öğrenilmiştir (156).

2.3. Merkel Hücresi

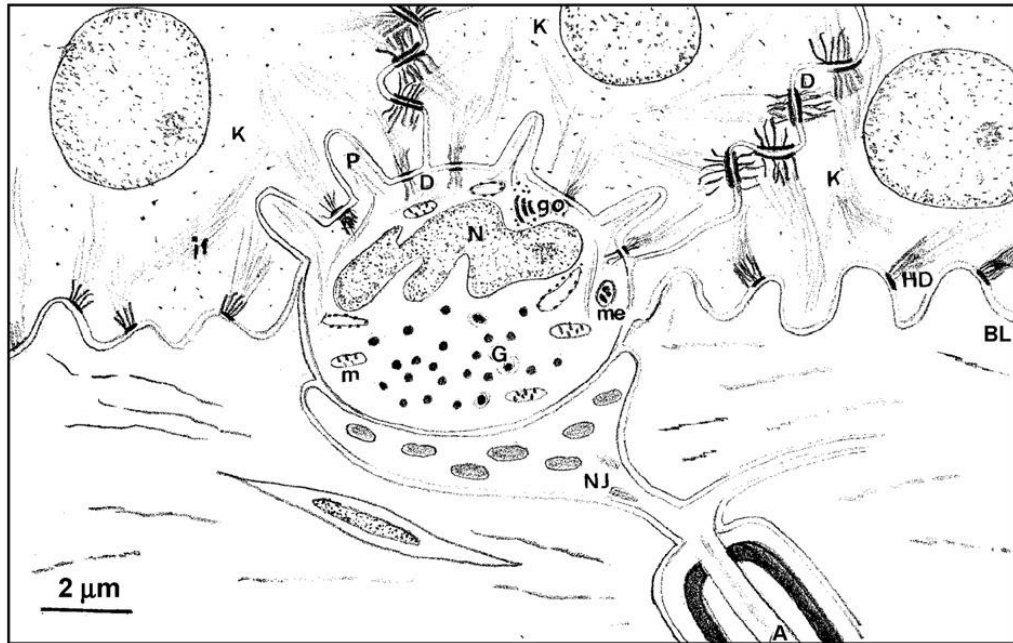
2.3.1. Morfoloji ve Yapısal Özellikler

MH’si 1875 yılında Friedrich Sigmund Merkel tarafından keşfedilmiş ve dokunma hücresi anlamına gelen “*Tastzellen*” şeklinde isimlendirilmiştir (158).

Keşfinden 100 yıl sonra elektron mikroskop yardımıyla 1970 yılında, Smith tarafından MH yapısı anlaşılmıştır (159). MH epidermis bazal tabakasına horizontal olarak yerleşen oval ve şeffaf görünüme sahip, uzun çapı 10-15µm uzunluğunda hücrelerdir (160). Keratinositlere benzer şekilde melanozom içeren (161) MH'sinin sitoplazmasında çeşitli nöropeptidler içeren “dense-core” granüller de bulunur. “Dense-core” granüller sinir lifleri ile sinaps yerine yakın yerleşim gösterir (Şekil.2.13). Bu granüllerinde türe spesifik, kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) (162), vazoaaktif intestinal peptid (VIP) (163), met-enkefalin (164), serotonin (5-HT) (165), kromogranin A (166), substance P (158), glutamik asit (158), sinaptofizin (167), somatostatin (168) gibi çeşitli nöropeptitler içerirler.

MH'nin plazma membranında mikrovilli adı verilen diken benzeri çıkıntılar bulunur. Her bir MH'nde yaklaşık olarak 50 adet mikrovilli bulunmaktadır (158).

MH'leri terminal sinirlerle yakın temas halinde bulunur ve aksonlar aracılığıyla sinir lifleriyle sinaps yapar (169). Bazal membrana hemizdesmozomlar aracılığıyla bağlanırken, keratinositlere desmozomlar aracılığıyla bağlanmaktadır. Normalde hücre-hücre bağlantıları homotipik bağlantı şeklinde olur, yani her iki hücrede de simetrik ve benzer bağlantı glikoproteinleri bulunur. Ancak MH-keratinositlere heterotipik bağlantı ile bağlanmıştır. MH'ndeki plakofilin 2 (PKP2), keratinositteki plakofilin 1 ve 3 (PKP 1, 3) ile bağlıdır (170). Matür MH turnoveri yaklaşık 2 ay sürer.



Şekil.2.13: MH'nin ultrastrüktürel yapısı. K: keratinosit, BL: bazal lamina, D: desmozom, HD: hemidesmozom, if: intermediyer filaman, G: “dense core” granüller, go: golgi apparatusu, me: melanozom, m: mitokondri, N: nukleus, NJ: sinir lifi bağlantısı, P: protrüzyon, A: akson (159).

2.3.2. Yerleşim Yerleri

MH'leri kılsız derinin bazal tabakasında, rete uçlarında (ortalama 4-40 adet MH), sinir sonlanmalarının yakın komşuluğunda, kıl follikülünün DKK ve kök hücre rezervuarı olan “*bulge bölgesinde*”, interfolliküler alanda “*touch dome*” veya “*Haarscheiben*” adı verilen bölgede yer alırlar.

“*Touch dome*” bölgesi interfolliküler alanda özelleşmiş ve kalınlaşmış bir epidermis bölgesidir. Her “*Touch dome*”da 30-70 adet MH'si bulunur ve buradaki MH'leri aksonlarla sinaptik bağlantı halindedirler. Kıl follikülünün DKK ve “*bulge*” bölgesinde yerleşen MH'leri ise terminal sinirlerle pek ilişkili değildir. Mukozalarda da MH'leri bulunabilir, ancak buradaki MH'leri sinir lifleri ile sinaps yapmazlar (159,171). Kılı ve kılsız deriden epitel hücreleri ayrıştırılarak flow sitometri ile CK20 pozitif hücrelere bakılan bir çalışmada, epidermisin sadece %3,6-5,7'sinde MH'si izlenmiştir (172).

2.3.3. İmmünohistokimyasal Belirteçler

MH'lerini immünohistokimyasal olarak göstermek için hem sitokeratinler hem de nöroendokrin belirteçler kullanılmıştır. MH sitoplazmasında intermediyer filaman olan sitokeratinlerden oluşan bir hücre iskeleti bulunur. Bu hücre iskeleti keratinositlere göre daha gevşek olup, membrandaki mikrovillüsler doğru uzanır. (172–175).

MH'leri sitokeratin belirteçleri olan CK7, CK8, CK19, CK20 ile pozitif boyanır. Ancak, CK20 dışındaki belirteçler deride MH dışında minör tükrük bezleri dahil glandüler epiteli de boyarlar (176). CK20 düşük molekül ağırlıklı, tip 1 asidik bir intermediyer filamandır. Deride sadece MH'lerinde bulunurken, deri dışında tad tomurcuğundaki skuamöz epitel, gastrointestinal hücreler ve ürotelyel şemsiye

hücrelerinde de bulunur (176,177). Bu nedenle deride CK20, MH için en sensitif ve en spesifik belirteçtir (158,159).

MH ve “*touch dome*”daki keratinositler transmembran bir protein olan CD200 eksprese ederler. CD200, CD200 R (reseptörü) üzerinden inflamatuvar reaksiyonu azaltır ve immün toleransı destekler. Fare kıl follikülü DKK’ında CD200 ekspresyonu izlendiği bildirilmiştir (178).

2.3.4. Merkel Hücresinin Kökeni

MH’leri hem epidermal hem nöroendokrin hücrelerin özelliklerine sahip olduğu için nöral krest ve epidermal kökenli olabilecekleri konusunda farklı hipotezler öne sürülmüştür.

Nöral krest kökenli olduğunu destekleyen kanıtlar:

MH’lerinin nöral krest kökenli olduğunu düşündüren nedenler; nöropeptit ve nöronal proteinlerin sentezlenmesi, duyuşal sinir sonlanmalarıyla yakın temasta bulunup sinaps oluşturmaları, nöronlar gibi uyarılabilir olması, merkezi sinir sistemine iletilen aksiyon potansiyeli oluşturmaları, yaşaması için terminal sinirlerin gerekliliği ve yakınlığına ihtiyaç duyulması, transkripsiyon faktörü Math-1 (mouse athonal homolog 1) ve Lhx3 (LIM homeobox protein 3) gibi nöronal köken belirteçlerinin ekspresyonu şeklinde sayılabilir (179).

Winkelman tarafından 1977 yılında öne sürülen ve ilk kabul edilen hipotez MH’lerinin, melanoblastlar ve Schwann hücreleri gibi nöral krest kökenli olduğudur (180). Nöral krest hipotezini araştırmak ve kuşlarda MH’lerinin nöral krest kökenli olduğunu kanıtlamak için Grim ve Halata, 2000 yılında kuşlar üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Bir tavuk türü olan “*Gallus gallus*” ile Japon bıldırcını olan “*Coturnix coturnix*” embriyolarına ait yumurtalar 38°C ve %70 nem oranında inkübe edilmiştir. Embriyolar 3 günlük olduğunda bıldırcın embriyosunun sağ bacağına ait primordiyumu çıkarılarak tavuk embriyosunun sağ bacak primordiyumuna greftlenmiştir. Aynı şekilde tavuk embriyosundan bıldırcın embriyosuna greftleme yapılmıştır. Graft alıcısı olan bıldırcınlarda 14 gün, tavuklarda 18 gün sonra dekapitasyon yapılarak, greftlenmiş bacakların

tarsometatarsal ve parmaklara ait deri parçaları çıkarılıp MH incelenmiştir. Bildircinlara greftlenen tavuk embriyolarına ait sağ bacak deri örneklerinde MH'lerinin bildircin kökenli olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç, greftlenen deri örneğinde alıcı kökenli MH varlığına işaret ettiğinden MH'lerinin nöral krest kökenli olduğu hipotezini desteklemiştir (181).

Bir transkripsiyon faktörü olan Wnt1 omurgalı embriyolarda sadece premigratuar ve migratuar nöral krest hücrelerinde eksprese olur (182). Farelerde Wnt1 gen promoterinin aktivasyonu β -galaktozidazı indüklemektedir. β -galaktozidaz aktivitesini belirlemek için yapılan X-gal analizinde postnatal MH'lerinin boyandığı gösterilmiştir. MH'lerinin pozitif boyanması, bu hücrelerde aktif olarak Wnt1 gen promoterinin var olduğunu ve hücre kökeninin nöral krest hücreleri olduğunu göstermektedir.

Nörotrofin-3 (NT3) duysal innervasyonun gelişmesi için önemli bir büyüme faktörüdür (183). NT3 postnatal dönemde MH'lerin innervasyonundan sorumludur (184,185). Halata ve ark. tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada NT3 negatif yenidoğan farelerde, bıyık yerleşimli folliküllerde apoptoz belirteci olan kaspaz 3 aktivitesinin belirgin arttığı ve kromatin kümeleşmesi ile apoptozun başladığı görülmüştür. Apoptoza giden MH'lerinin sinir lifleriyle bağlantısını kaybettiği ve hayatta kalan MH sayısının belirgin olarak azaldığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçtan yola çıkarak NT3 negatif farelerde sinir innervasyonunun kaybına bağlı olarak MH'lerinin perinatal apoptoz ile ortadan kaldırıldığını düşünmüşlerdir (183).

Epidermal kökenli olduğunu destekleyen kanıtlar:

Wnt1-Cre transjenik fareler nöral krest gelişimi ile ilgili çalışmalarda yaygın olarak kullanılan farelerdir. Wnt1, orta ve arka beynin gelişiminde ve birbiriyle bağlantısında önemli rolü olan, transkripsiyon faktörü üreten bir genidir. K14-Cre fareler keratin 14 (K14) ekspresyonu için gen promoteri içeren transjenik farelerdir. K14 epidermis ile diğer çok katlı yassı epiteli ayırmayı sağlayan bir intermediyer filamenttir. MH'lerinde köken takibi için Wnt1-Cre (nöral krest kökenli hücreleri gösterir) ve K14-Cre (epidermal kökenli hücreleri gösterir) transjenik fare modelleri kullanılmıştır. Atoh-1 (atonal helix loop helix) atonal gen tarafından

eksprese edilen bir transkripsiyon faktörüdür, MH'leri tarafından eksprese edilir ve MH üretimi için gereklidir. Wnt1-Cre ve K14-Cre transjenik farelerde Atoh-1 delesyonunun etkisine bakılan bir çalışmada Wnt1-Cre transjenik farelerde MH'lerinin etkilenmediği, K14-Cre farelerde ise MH'lerin deriden kaybolduğu gösterilmiştir. Bu sonuç, MH'lerin epidermal kökenli olduğunu düşündürmektedir (186).

Başka çalışmalarda da fetal dönemde MH'lerinin innerve olmadan önce (nöral krest kökenli hücreler ile sinaps oluşturmadan önce) epidermiste ortaya çıktığı ve epidermal yerleşimli MH'lerinin dermise göç ettiği gösterilmiş, bunun da MH'nın nöral krest kökenli olduğu hipotezini desteklemediği düşünülmüştür (187,188). Yapılan bir çalışmada fetal (8-11 haftalık) insan epidermisi çıplak fareye greftlenmiş, 4-8 hafta sonra fareden alınan deri parçalarında epidermal farklılaşma gösteren (sitokeratin ve desmozomun bulunması) insan kökenli MH'leri saptanmıştır (189). Bu durum MH'lerinin keratinositlerden farklılaştığına işaret etmektedir (189).

Merkel hücrelerin embriyonik gelişimi:

Atoh1 memelilerde bulunan temel bir transkripsiyon faktörüdür. Arka beyin, spinal kord, iç kulağın mekanosensör tüylü hücreleri ve barsağın sekretuar hücrelerinin gelişiminin Atoh1 ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. MH'lerinin üretimi ve hayatta kalmaları için de Atoh1 olmazsa olmaz bir transkripsiyon faktörüdür (186).

Yapılan bir çalışmada Atoh1 gen delesyonu olan farelerin canlı olarak dünyaya geldiği, epidermis ve kıl follikülü oluşumu ile ilgili bir anomali bulundurmadıkları gösterilmiştir. Ancak bu farelerde normal farelere kıyasla CK8 ve CK20 eksprese eden hücrelerin belirgin azaldığı, hatta bulunmadığı tespit edilmiştir. CK8 ve CK20 MH farklılaşmasının geç dönemlerinde önemli olduğundan Atoh1'in embriyolojik dönemde MH farklılaşması için vazgeçilmez olduğu ortaya çıkmıştır (190).

SOX2 ve ISL1 gibi transkripsiyon faktörleri, Atoh-1 ekspresyonunu devam ettirerek MH'nin matürasyonunun koregülasyonunda rol oynamaktadır. Atoh1'in hangi transkripsiyon yolağı üzerinden MH farklılaşmasını düzenlediğini anlamak

için farelerde SOX2 gen delesyonu yapılan bir çalışmada tüm vücuttaki epitel hücrelerinde CK8 ve CK20 ekspresyonunun yok olduğu ve yenidoğan derisinde hiç matür MH bulunmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmadan yola çıkılarak sadece Atoh1 geninin varlığının MH'lerinin olağan embriyolojik gelişimini tamamlaması için yeterli olmadığı, Atoh1 geni ile birlikte SOX2 varlığının da gerekli olduğu düşünülmektedir (190).

ISL1 ise embriyolojik hayatta pek çok kök hücrenin uygun şekilde farklılaşması ve proliferasyonu için çok önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Epidermiste ISL1 ekspresyonu MH'lerine sınırlı olup, epidermin bazal veya suprabazal tabakalarındaki keratinositlerde eksprese edilmemektedir. Epidermiste MH farklılaşmasının erken safhalarında ISL1 ekspresyonu, Atoh1+ olan MH öncülü hücrelerin sadece bir kısmında izlenirken, farklılaşmanın orta safhalarında Atoh1+ hücrelerin hemen hepsinde ISL1 ekspresyonu izlenmektedir. Hatta postnatal dönemde MH'lerinin Atoh1+, CK20+ ve ISL1+ olduğu gösterilmiştir (190). Atoh1 gen delesyonu olan farelerde özellikle bıyık bölgesindeki kıl folliküllerinde ISL1 gen ekspresyonu devam etmektedir. Çünkü ISL1 geni direk olarak SOX2 ve Atoh1 genlerinin kontrolü altında değildir. Dolayısıyla SOX2 geni silinmiş farelerde ISL1 ekspresyonu azalmakla birlikte devam etmektedir, ayrıca normal farelere kıyasla CK8+ hücre sayısının azaldığı gösterilmiştir.

Tüm bu sonuçlar MH embriyogenezinde Atoh1, SOX2 ve ISL1 genlerinin çok önemli rol oynadığını göstermektedir. Ancak MH gelişiminde ISL1 transkripsiyon faktörü SOX2 ve Atoh1 gibi mutlaka bulunması gereken bir gen ürünü değildir (190).

PAX 6 nükleo-sitoplazmik ağ için aktif bir protein ve transkripsiyon faktörüdür. PAX 6 prenatal dönemde sitoplazmada bulunurken postnatal dönemde hem sitoplazmada hem nükleusta bulunur, hücre kültüründe ise sadece nükleusta yer alır. Prenatal dönemde erken bir MH belirteci olan CK8'in ekspresyonunun idamesinde, aynı zamanda MH'lerinin gelişmesi ve farklılaşmasında önemlidir. PAX 6 silinmiş farelerde MH farklılaşması görülmemiş, matür CK20+ MH gelişmemiştir. İmmatür CK8+ MH gelişimi başlamış ama devam etmemiştir. Sonuç olarak CK8 ekspresyonunun idamesi ve matür CK20 MH gelişmesi için gerekli bir diğer molekülün PAX 6 olduğu tespit edilmiştir (191).

MH gelişiminde transkripsiyon faktörleri yanısıra nörotrofik sinyaller de çok önemli rol oynar. TrkA/NGF (tropomyosin reseptör kinaz A/ sinir büyüme faktörü) mutasyonunda kıl follikülü çevresinde MH sayısı ile innerve eden aksonlar azalmaktadır. TrkC/NT3 (tropomyosin reseptör kinaz C/ nörotrofik tirozin kinaz reseptör tip 3) hem MH'inde hem de MH'lerini innerve eden somatosensör hücrelerde eksprese olmaktadır. TrkC'nin kinaz domaini eksik olan farelerde MH sayısının azaldığı gösterilmiştir. Postnatal 2. haftanın sonunda ise var olan MH'leri de korunamaz hale gelmiştir. Çünkü postnatal dönemde MH'leri yaşamak için TrkC'ye bağımlı hale gelmektedir. TrkB (tropomyosin reseptör kinaz B) mutant farelerde kılsız deride ve kıl follikülü çevresindeki MH sayısının azaldığı görülmüştür (192).

2.3.5. Merkel Hücresinin Fonksiyonları

MH'lerinin birçok yerde görevli olduğu bilinmekte ve düşünülmektedir. MH'lerinin bilinen başlıca görevleri; otokrin, parakrin ve endokrin (özellikle aksonlarla teması olmayan MH'leri) sekresyon, mekanosensitif, kemosenitif, transdüksiyon, keratinosit proliferasyonu, saç büyümesi, nöroimmünokütanöz kompleks oluşumu, kıl follikülü ve ter bezlerinin embriyolojik oluşumu ve proliferasyonu, dermatoglik oluşumu, saç şeklinin belirlenmesi, deri renginin belirlenmesi, kraniyofasiyel morfolojinin oluşumu, epigenetik kalıtım, elektromanyetik alanın algılanmasıdır.

Endokrin ve parakrin etki:

Amin prekürsörü alımı ve dekarboksilasyonu (APUD) sistemindeki hücre serilerinin küçük aminler ve polipeptidler salgılaması nedeniyle endokrin fonksiyona sahip olduğu bilinmektedir. MH'lerinin de APUD sisteminin bir parçası olduğu düşünülmektedir. MH'leri hormonlarını, sitoplazmada bulunan, endokrin hücrelerin sekretuar granüllerine benzetilen küçük “*dens core*” granüllerinde saklamaktadır (193).

Kıl follikülü “*bulge*” bölgesinde kıl büyümesi ve rejenerasyonu için kök hücreleri barındırmaktadır. “*Bulge*” bölgesindeki kök hücreler sinirlerle sinaps yapmaz, bu nedenle kılın büyümesi ve kök hücrelerin uyarılmasında bu bölgede

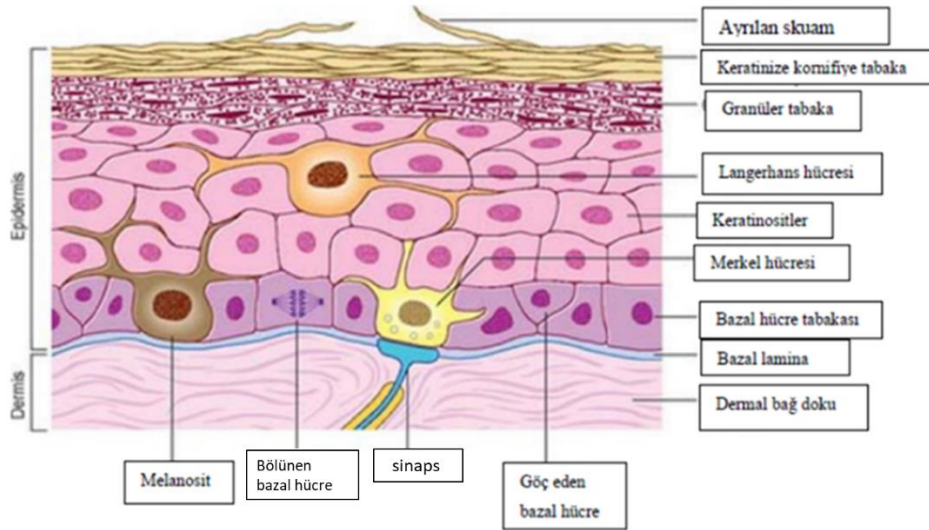
bulunan parakrin ve düzenleyici etkileriyle MH'lerinin rol oynadığı düşünülmektedir (159).

Kıl follikülü ve ter bezi gelişimi:

Embriyolojik hayatta gelişimi süren deride MH'lerinin ekrin ter bezi ve kıl follikülünün oluşması ve proliferasyonunda da etkili olabileceği düşünülmektedir (173).

Nöroimmünokütanöz sistem:

İnsan kıl follikülünün “*bulge*” bölgesinde MH'leri ve Langerhans hücreleri yakın anatomik ilişki içinde bulunmaktadır (194). Bu anatomik yakınlığa bağlı sinir sistemi, immün sistem ve derinin birbiriyle etkileşimi sonucunda “*nöroimmünokütanöz sistem*” kavramı ortaya çıkmıştır (195) (**Şekil.2.14**) MH'lerinin nöroendokrin özellik kazanmasını sağlayan nörepeptidler “*nöroimmünokütanöz sistem*”in parçası olmasını sağlar.



Şekil.2.14: Merkel hücresi, terminal sinir aksonu ve Langerhans hücrelerinin yakın anatomik ilişkisi (196).

Sinir lifleri, keratinositler ve immün hücreler arasındaki sayısız temas sonucu, hücreler arası bölge moleküler değiş tokuşa elverişli hale gelmektedir. Tüm bu etkileşimlerin sonucunda epidermal ve dermal hücrelerin fonksiyonlarının

düzenlenmesi kolaylaşmaktadır. MH'leri de bu komplike sistemde oldukça önemli rol oynar (159).

Mekanoreseptif mekanotransdüksiyonun oluşumu ve biyofiziksel özellikler:

Deride mekanoreseptörler iki gruba ayrılırlar. Tip 1 reseptörler (MH, Meisner); küçük ve belirgin reseptif alanı algılarken, Tip 2 reseptörler (Pacini, Ruffini); büyük ve diffüz reseptif alanı algılamaktadır. MH'leri de bir çeşit mekanoreseptör olarak kabul edilmektedirler. Doku deformasyonunu mikrovilli aracılığıyla algılayıp, sinir sonlanmalarına nörotransmitter salgırlar (197,198).

MH-akson kompleksi yavaş adapte olan, dinamik ve statik güç uygulamasına yanıt veren, iki nokta ayırımında, şekil, eğrilik ve yapıların detayını anlamada kullanılan tip 1 mekanoreseptördür (199,200). MH-akson kompleksi fiziksel uyarıyı aksiyon potansiyeline dönüştürerek transdüksiyona neden olduğu, böylece mekanoelektrik transdüser olarak da görev yaptığı düşünülmektedir. Ancak MH-akson kompleksinin mekano-elektrik görevi ile ilgili *invivo* ve *invitro* çalışmalardan elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Çünkü MH tek hücre olarak dokudan çıkarıldığında mikrovilluslarını kaybeder, "*dens core*" granülleri intakt olmasına rağmen mekanik stimulusu tanıyamaz hale gelir (201).

MH'leri üzerinde voltaj bağımlı kalsiyum kanalları, kimyasal ligand bağımlı kanallar ve gerilmeye bağımlı aktive olan iyon kanallarının bulunduğuna ilişkin hipotezler mevcuttur. MH'lerinin ayrıştırıldığı bir çalışmada, hipotonik sıvı içinde MH'lerinin şiştiği, şişme sonucunda meydana gelen gerilmeye bağımlı kalsiyum geçirgen iyon kanallarının açılarak, hücre içinde kalsiyum artışına (çalışmada MH içindeki kalsiyum, Fura-2 ile görüntülenmiştir) neden olduğu gözlenmiştir. Kalsiyum artışı sonucu hücrede meydana gelen depolarizasyon, voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının açılmasına ve hücre içine daha çok kalsiyum girişine yol açmıştır. Artan sitoplazmik kalsiyuma bağımlı olarak hücre içindeki organellerden de kalsiyum salınımı meydana gelmiş ve sonuçta sinaptik sinyal oluşmuştur (202). Çalışmanın bir diğer kısmında, Ruthenium kırmızısı ile ekstrasellüler kalsiyumun şelasyonu ve voltaja bağımlı kalsiyum kanal antagonistleri kullanımı sonrasında, hücre içine kalsiyum girişinin azaldığı gözlemlenmiştir (202) Tetrodotoxin gibi sodyum kanal blokörleri kullanıldığında, aksiyon potansiyeli oluşumu devam

etmiştir. Bu sonuç, MH'lerinde aksiyon potansiyeli oluşumunda sodyumun etkili olmadığını, aksiyon potansiyeli için kalsiyumun önemli olduğunu göstermektedir (202). Neticede sinaptik sinyal oluşumunda:

- Mekanik uyarı (şişme veya gerilme) ile aktiveleşen Ca geçirgen iyon kanallarının rolü
- Ekstrasellüler Ca'un rolü
- Plazma membrandaki mikrovillusların rolü
- Voltaja bağlı aktive olan Ca kanallarının rolü vurgulanmaktadır.

MH'lerinin üzerinde TRP, TRPC1, PKD1, PKD2 gibi katyon (kalsiyum) bağımlı geçici reseptör potansiyeli (TRP: transient receptor potential) kanallarının bulunduğu ve bu kanalların transdüksiyonda görev aldığı tahmin edilmektedir (202). Deneysel ortamda yukarda bahsedilen çalışmada hipotonik sıvı ile elde edilen intrasellüler kalsiyum artışı; kayma-kesme kuvveti (shear stress), elektrod ile negatif basınç uygulama ve ince cam çubuk uygulaması ile de elde edilebilmiştir (203).

MH-akson kompleksi uyarılara bifazik cevap verir. Stimülasyonun dinamik fazında yüksek frekanslı aksiyon potansiyeli şeklinde, statik fazında ise sürekli ve irregüler deşarj şeklinde yanıt verir. MH-akson kompleksinin transdüksiyonu nasıl gerçekleştirdiği konusunda, iki reseptör bölgesi (two receptor site) modeli hipotezi mevcut olup, bu modelde MH ve duyuşal aferent sinirlerin sinerjistik olarak transdüksiyonda rol aldığı tahmin edilmektedir. Afferent sinirler stimulusun dinamik fazının transdüksiyonu için hızlı adapte olan (rapidly adapting, RA) fiberler olarak görev alırken, MH'leri statik fazdaki yanıtın transdüksiyonunda görev alırlar. MH'leri olmadan da transdüksiyon meydana gelir. Ancak ateşleme özellikleri değişiklik (altered firing properties) gösterir. MH'lerinin yokluğunda transdüksiyon sırasında dinamik cevap gözlenirken, statik fazdaki sürekli ve irregüler deşarj izlenmemektedir (204).

Peizo 2 kanalları mekanik olarak aktive olan iyon kanallarıdır. Peizo 2 negatif farelerde transdüksiyonun hem dinamik hem statik fazı baskılanmıştır. Bu netice, Peizo 2 kanallarının hem dinamik faz hem de statik fazda önemli olduğunu göstermektedir. Atoh-1 (MH üretimi için gerekli bir transkripsiyon faktörü) negatif farelerde ise transdüksiyonun dinamik fazındaki ateşleme azalmış ve uzamış

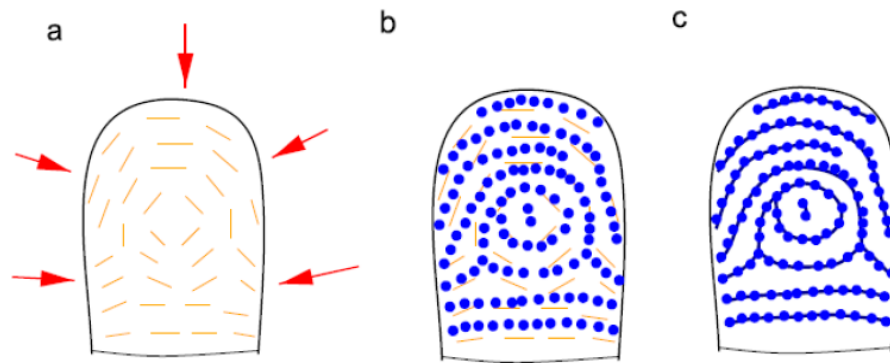
stimulus sırasında normalde izlenen yavaş adapte olan sürekli-irregüler ateşleme paterni yerine intermediate tip adaptasyon izlenmiştir. Sonuç olarak statik fazda, uzamış ve devamlı yanıt için MH'nin gerekli olduğu ortaya çıkmıştır (204).

MH ve parmak izi oluşması:

Parmak, avuç içi ve ayak tabanında epidermal sırt (ridge) paterni ve parmak izi mevcuttur. İntrauterin dönemde MH'leri arasındaki etkileşim, hücrelerin birbiri üzerine oluşturduğu mekanik stres ve sinirlerden gelen büyüme faktörleri, friksiyon sırt derisini (FRS- "*friction ridge skin*") bu da parmak izini oluşturur.

Volar ped, parmak ucunda ve palmar bölgenin distalindeki fetal derinin çıkıntılarıdır. İntrauterin 7. haftada belirgin hale gelip 10. haftada FRS paternin olduğu dönemde kaybolur. Patern tipi ve sırtların yönü volar pedlerin geometrisi ile ilişkilidir. Parmak ucundaki büyük pedler halkaları (whorls), orta boylu pedler ilmekleri (loop), küçük boylu pedler ise yayları (arches) meydana getirir (205). FRS oluşmasında 3 basamak mevcuttur;

- Bazal tabakanın genişlemesi ve volar pedlerin büzüşmesine bağlı bazal tabakada mekanik sıkıştırıcı bir stres ortaya çıkar (**Şekil.2.15a**).
- Başlangıçta dağınık konfigürasyonda bulunan MH'leri en küçük sıkıştırıcı stres çizgileri üzerinde yeniden düzenlenir ve kaba paralel sırtlar oluşur (**Şekil.2.15b**).
- Primer sırtlar MH'leri tarafından indüklenir. MH'leri kaba paralel sırtlar üzerinde düzenlenince olgun sırt paterni oluşur (**Şekil.2.15c**).



Şekil.2.15: FRS oluşum basamakları: a- mekanik sıkıştırıcı stres, b- stres çizgileri üzerinde yeniden düzenlenme, c- olgun sırt paterni oluşumu (205).

MH'nin diğer fonksiyonları:

Manyetoreseptör rolü; MH içindeki melanin pigmentinin, manyetik ve manyetoreseptör görevi gördüğü bilinmektedir (206). Pigment içeren melanozomlar negatif elektrik yüklü paramanyetik merkezlerdir. Elektromanyetik alanın değişmesiyle melanozomlar hareket eder, hareket sonucu iyon kanalları açılır ve aksiyon potansiyeli meydana gelir ve beyine sinyal iletilir. MH ve beyin arasında çift yönlü bir iletişim vardır (206).

Kıl siklusundaki rolü; MH'lerin sayısı ve morfolojisinin kıl siklusuna göre değişmesi, parakrin olarak kıl büyümesinde ve regülasyonunda görevli olduğunu göstermektedir. Oval şekilli MH'leri sinirlerle ilişki halinde bulunur ve kıl döngüsü içinde sayıları sabit kalır. Dendritik şekilli MH'leri ise sinirlerle çok bağlantılı değildir ve kıl döngüsü içinde sayıları değişir. Anagen fazda MH sayısı fazla, katagen ve telogen fazda MH sayısı azdır (178).

Saç şekli, deri rengi, kraniyofasiyel morfoloji, epigenetik kalıtım, Reiki, telekinezis gibi olaylarda da MH'lerin rolü olduğu tahmin edilmektedir (206).

2.3.6. Merkel Hücreleri ve Deri Hastalıkları

MH ile ilişkisi olduğu düşünülen başlıca deri hastalıkları; psoriasis (178), pemfigus vulgaris (207), aktinik keratoz (208), nörodermatit (209), fibröz papül (174), graft versus host hastalığı (GVHD) (207), prurigo nodularis (210), kronik UV maruziyeti (211), nevus sebaceous (212), trikoblastoma (213), Merkel hücreli karsinom (214), desmoplastik trikoepitelyoma ve nodüler hidradenomadır (215).

Psoriasisli hastalara ait deri biyopsileri ile normal kişilere ait deri biyopsilerindeki MH sayısının karşılaştırıldığı bir çalışmada psoriasisli olgularda MH sayısının daha fazla olduğu ve nöropeptid ekspresyonunun daha belirgin olduğu gösterilmiştir (168). Psoriasis hastalarında lezyonlu deride MH sayısındaki artış/hiperplazi, bu hücrelerin patolojik deri inflamasyonuna cevap verdiğini veya regüle ettiğini düşündürmektedir (178).

Hematolojik ve dermatolojik hastalıklarda anti-MH antikorunun rolü olup olmadığını araştıran bir çalışmada, 2300 hastanın sadece 3 tanesinde MH'lerine karşı otoantikor varlığı tespit edilmiş. Bu hastalardan biri pemfigus vulgaris, biri de GVHD hastasıymış (216).

Aktinik keratoz ve normal deri biyopsilerinde MH sayısının kıyaslandığı bir çalışmada özellikle hipertrofik aktinik keratozda MH sayısının belirgin arttığı (14/mm) ve kümelenmeler oluşturduğu gösterilmiştir (208).

Başka bir çalışmada 165 adet inflamatuvar, hiperplastik ve tümöral deri lezyonuna ait biyopsi materyalinde CK20 antikoru kullanılarak MH sayısı değerlendirilmiş, aktinik keratoz, burnun fibröz papülü olgularında MH sayısının arttığı gösterilmiştir (217).

Nörodermatit tanısı almış 6 olguya ait deri biyopsilerinde normal deri biyopsilerine kıyasla MH sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır (209).

Prurigo nodularis hastalarında dermal sinir lif yoğunluğunun arttığı gösterilmiştir. Buradan yola çıkarak 20 prurigo nodularisli hastaya ait deri biyopsisinde MH sayısının arttığı gösterilmiştir (210).

Hamartomatöz bir lezyon olan nevus sebaceus'a ait 19 biyopsi materyalinde MH sayısının araştırıldığı bir çalışmada 9 olguda MH sayısında belirgin artış izlenmiştir. Benzer şekilde trikoblastom olgularında da MH sayısında artış tespit edilmiş ve bu bulgunun MH sayısı azaldığı bilinen bazal hücreli karsinom ile trikoblastom ayırımında kullanılabileceği düşünülmüştür (212,213).

Desmoplastik trikoepitelyoma ve morfeiform bazal hücreli karsinom olgularına ait toplam 45 biyopsi örneğinde MH sayısının değerlendirildiği bir çalışmada, desmoplastik trikoepitelyoma olgularında morfeiform bazal hücreli karsinom olgularına kıyasla tümörün “*bulge*” bölgesi orijinli olduğunu destekler şekilde MH sayısının yüksek olduğu saptanmıştır (215).

2.4. CD200 Molekülü

Eskiden OX-2 olarak bilinen CD200 molekülü, hücre yüzeyinde bulunan tip 1 transmembran bir glikoproteindir. Timus, sinir sistemi, vasküler endotel, trofoblast, over, retina, glomerül ve immün sistemin çeşitli hücreleri üzerinde eksprese olmaktadır (218–221).

2.4.1. CD200 ve CD200R Reseptör Etkileşimi

CD200, hücre yüzeyinde bulunan ve yapısal benzerlik gösteren CD200 reseptörlerine (CD200R) bağlanan bir ligand olarak davranır. CD200R'ü mast hücreleri, makrofajlar, dendritik hücreler ve CD4⁺ $\gamma\delta$ T hücreleri üzerinde bulunur.

CD200-CD200R etkileşimi sonucu ortaya çıkan fonksiyonel aktivitenin moleküler mekanizması fare mast hücresinde gösterilmiştir. Mast hücreleri yüzeyinde, CD200-CD200R'üne bağlanınca, CD200R'ün hücre içindeki kısmı fosforillenerek, intermediyer adaptör proteinler sayesinde fosfataz bir enzim olan SHIP'a bağlanır. Bağlanma sonrasında, GTPaz aktivatörü RasGAP düzeyi artarken RAS/MAPK yolağı inhibe olur, sonuç olarak mast hücre degranülasyonu ve sitokin üretimi engellenir (221,222). CD200R'ünün fosforilasyonu ERK, JNK, P38 MAPK yollarının da aktivasyonunu inhibe eder. Sonuç olarak CD200-CD200R etkileşimi genel bir inhibitör yanıtı neden olur.

2.4.2. CD200'ün İmmünregülatuar Etkisi

CD200, CD200R'üne bağlanınca immünoregülatuar sinyal oluşur (223). Bu etkileşim sonucunda inflammatuar reaksiyon baskılanır ve immün tolerans artar. CD200+ hücreler, CD200R+ makrofaj ve granülositlere bağlanıp bazal seviyedeki aktivasyonlarını downregüle ederek, doku spesifik otoimmünitenin tetiklenmesini engeller (219). CD200- farelerde yapılan bir çalışmada, aktive CD200R+ makrofaj sayısında artış ve travmaya karşı abartılı inflammatuar yanıt gözlenmiştir (224). Bu farelerde ayrıca kronik santral sinir sistemi inflamasyonu, otoimmün uveoretinit, allerjik ensefalomyelit ve artrit yatkınlığının arttığı gösterilmiştir. Benzer etkiler CD200'ün viral homologu için de gösterilmiştir. Viral CD200 molekülü, makrofaj ve dendritik hücrelere inhibitör sinyal göndererek, T hücrelerinde uyarılmayı azaltır (225). Daha önce yapılan çalışmalarda CD200-CD200R etkileşiminin (221); mast hücrelerinin degranülasyonunu inhibe ettiği (222), mast hücrelerinden TNF- α ve IL-13 sekresyonunu baskıladığı (222), saflaştırılmış splenik makrofajlardan IL-6 artışına neden olduğu (226), fare dendritik hücrelerinde indolamin-2,3-dioksijenaz (IDO) ekspresyonunu arttırdığı, IDO triptofan katabolizması aracılığıyla T

hücrelerinin immünoşüpresyonuna neden olduğu (227), çeşitli dokularda lökositlerin aktivasyonunu azalttığı (224) gösterilmiştir.

2.4.3. Deride CD200-CD200R Ekspresyonu

UVB'nin deride haptene karşı oluşan kontakt hipersensitiviteyi süprese ettiği iyi bilinmektedir. UVB'nin bu süpresyonu, Langerhans hücrelerinin apoptozu aracılığıyla yaptığı düşünülmektedir (228). Apoptoza uğrayan fare dendritik hücreleri üzerinde CD200 ekspresyonun arttığı gösterilmiştir (229). Buradan yola çıkarak, derinin UV aracılı immün süpresyonunda CD200 molekülünün rol oynayabileceği düşünülmüştür.

Bir çalışmada UVB'ye maruz kalan doğal tip (wild type) farelerde kontakt hipersensitivitenin güçlü bir şekilde inhibe olduğu, CD200- farelerde ise UVB'nin kontakt hipersensitiviteyi süprese etmediği saptanmıştır (230). Ortaya çıkan sonuç, CD200 molekülünün kütanöz immün yanıtta önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.

Deride bazı Langerhans hücreleri, keratinositler ve CD3⁺/MHC-II⁺ epidermal hücreler CD200 eksprese eder (230).

2.4.4. CD200'ün Kıl Follikülleri için Güven Sinyali Oluşumu ve Otoimmün Alopesi Süpresyonundaki Rolü

Memeli kıl follikülleri evrimsel olarak korunmuş yapılardır. Kıl folliküllerinin en önemli görevlerinden biri, epidermal kök hücreler için ev sahipliği yapmasıdır. Buradaki kök hücreler hem kıl follikülü hem de epidermisi yenileme kapasitesine sahiptir (231). İmmün sistem, iç ve dış tehditlere (infeksiyöz ajanlar, sellüler nekroz, kanser, otoreaktivite vb.) karşı koruma sağlayarak doku bütünlüğünü sürdürür. Kıl follikülleri hayati öneme sahip bölgeler olduğundan, immün sistem tarafından tanınmamak için ve olası otoimmün yanıtı önlemek için bazı mekanizmalar geliştirilmiştir. Bu mekanizmaya immün ayrıcalık sistemi “*immune privilege system*” adı verilmektedir (232).

Alopesi areata ve inflamatuvar alopesilerde olduğu gibi, immün ayrıcalık sisteminin bozulması, immün aracılı kıl kaybına neden olur (221). Bu durum,

immün tanınma için tehlike modeli (“*danger model*”) konseptinin ortaya çıkmasına neden olmuştur (233). Tehlike modeline göre, immün sistem, antijenin öz (“*self*”) veya öz olmayan (“*non-self*”) ayırımını yapmaksızın, tehlikeli veya güvenli olmasını baz alarak bir yanıtın başlamasına karar vermektedir. Bu modele göre inflamasyonu başlatma kabiliyetine sahip herşey tehlike sinyali olarak kabul edilir. Öz antijenler tehlike etkeni olarak sunulursa, immün sistem bunlara da yanıt verir, bu nedenle otoimmünite gelişmesinin engellenmesi için inflamatuvar yanıt regüle edilmelidir (221).

Normal CD200+ ve CD200- erkek farelerin kuyruk derisinin, normal CD200+ dişi farenin yan bölgelerine greftlendiği bir çalışmada, greft çapı günlük olarak ölçülmüştür. Normal CD200+ erkek farelerden yapılan greft, 59. günde; CD200- erkek farelerden yapılan greft ise 25. günde tamamen reddedilmiştir. Çalışmanın sonucu, dişi erkek arasındaki MHC uyumsuzluğuna bağlı olarak normal CD200+ erkek farelerin greftlerinin de reddedildiğini, ancak CD200 molekülünün varlığının greft reddini geciktirdiğini açıkça göstermektedir (221).

Başka bir çalışmada ise cinsiyet uyumsuzluğunu ortadan kaldırmak için normal CD200+ ve CD200- dişi farelerin kuyruk derisi, normal CD200+ dişi farelere greftlenmiştir. Klinik değerlendirme yanısıra post-greft 10., 40. ve 80. günlerde greftten punch biyopsi alınıp histopatolojik değerlendirme yapılmıştır. Post-greft 10. günde CD200- greftten alınan biyopside perifoliküler ve interfolliküler alanda aşırı inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve CD4/CD8 oranının yüksek olduğu saptanmıştır. Bu infiltrat uzun süre (> 40 gün) devam etmiş, sonunda greftteki tüm kıl follikülleri yok olmuş ve alopesi gelişmiş ancak, greft reddine neden olmamıştır. Greft alanı dışında ise alopesi gelişmediği dikkati çekmiştir. Greftteki alopesik alanların ise farelerin hayatı boyunca sebat ettiği görülmüştür. Normal CD200+ greftlerin histopatolojik incelemesinde ise ilk başta minimal inflamasyon görülmüş ama greft sonrası 2. haftada inflamasyon tamamen kaybolmuş ve normal CD200+ greftlerde alopesi gelişmemiştir (230). Çalışmanın 2. aşamasında CD200- greftle karşılaşan ve sensitize olan normal CD200+ farenin dalağından ve kemik iliğinden hücre süspansiyonu hazırlanıp karıştırılarak kimerik hücreler elde edilmiş, bu kimerik hücreler naif CD200- farelere infüzyon şeklinde verilmiş ve 2 hafta sonra yaygın alopesi geliştiği izlenmiştir. CD200+ greftle

karşılaşan ve sensitize olmayan normal CD200+ farenin dalağında ve kemik iliğinden hücre süspansiyonu hazırlanıp kimerik hücreler elde edilerek, naif CD200- farelere infüzyon şeklinde verildiğinde ise alopesi gelişmediği izlenmiştir (230).

CD200- deri greftleme deneyi ve CD200-CD200R etkileşimi sonucunda oluşan immünsupresyon kanıtları göz önünde bulundurularak, kıl follikülünde CD200 ekspresyonunun immün sistem için “güvenli” sinyali verdiği düşünülmektedir. CD200 sinyalleşmesi kıl follikülünde inflamasyonun başlamasını inhibe eder, başlamış olan inflamasyonun yayılmasını baskılar ve böylece kıl follikülüne karşı otoimmünitenin baskılanmasında önemli görev alır. DKK’ında bulunan keratinositler, CD200 eksprese ederek epidermiste bulunan CD200R+ lökositlere sürekli bir immünoregulator sinyal gönderir, bu sinyal sayesinde CD200R+ hücreler immün aktivasyonun bazal seviyesinde tutulur ve inflamatuvar yanıt başlama eşiği yükselir (221).

2.4.5. CD200 ve Deri Hastalıkları

CD200 molekülü ile ilişkili olduğu düşünülen pek çok dermatolojik hastalık mevcuttur. En sık deri kanseri olan bazal hücreli karsinomda bazı hücrelerin (yaklaşık %1,6 kadar hücre) CD200 eksprese ettiği gösterilmiştir. Bu hücre grubu flow sitometri ile diğer neoplastik hücrelerden ayrıştırılarak incelendiğinde CD200+ hücrelerin koloni oluşturuıcı etkisinin artmış olduğu gösterilmiş, bu nedenle tümör büyümesini başlattığı düşünülmüştür (234).

Skuamöz hücreli karsinomda mikroçevre özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada skuamöz hücreli karsinomun tümör stromasında normal dermise kıyasla CD200+ hücrelerin sayıca artmış olduğu (180 hücre/mm² vs 24 hücre/mm²) gösterilmiştir. CD200 ekspresyonunun özellikle kan damarı endotelinde olduğu, perivasküler makrofaj ve T hücrelerinde ise CD200R ekspresyonunun arttığı saptanmıştır (235).

Büllöz pemfigoid tanısı alan 5 hasta ile 15 sağlıklı kontrol vakasında ELİSA kitleri kullanılarak serumda anti-BP180 ve çözünebilir CD200 düzeylerine bakıldığı bir çalışmada, büllöz pemfigoid hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek çözünebilir serum CD200 düzeyi (77,6 pg/ml vs

26,1 pg/ml) tespit edilmiştir. Benzer şekilde büllöz pemfigoidli bir hastanın serum ve bül sıvısında CD200 düzeyi yüksek tespit edilmiş ve omalizumab tedavisi sonrasında CD200 düzeyi anlamlı derecede azalmıştır (236,237).

Otuz psoriazis, 15 pemfigus vulgaris ve 15 sağlıklı kontrol vakasının dahil edildiği bir çalışmada ELİSA yöntemiyle çözünebilir serum CD200 düzeylerine bakılmış, ayrıca psoriazis hastalarında psoriazis alan ve şiddet indeksi (PAŞİ) ile pemfigus hastalarında pemfigus hastalığı alan indeksi (PHAİ) değerlendirilmiştir. Psoriazisli olgularda çözünebilir serum CD200 düzeyi (96,7 pg/ml), pemfigus vulgaris hastaları (76,2 pg/ml) ve sağlıklı kontrol grubundan (26,8 pg/ml) belirgin olarak yüksek saptanmıştır. Ancak PAŞİ ile çözünebilir serum CD200 düzeyleri arasında anlamlı ilişki tespit edilmemiştir. PHAİ ile çözünebilir serum CD200 düzeyi arasında ise istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmiştir (238). Buradan yola çıkarak CD200-CD200R düzenlenmesinin allerjik ve inflamatuvar hastalıklarda potansiyel kullanımı olabileceği fikri ortaya atılmış, mevcut çalışma ile pemfigus, psoriazis ve büllöz pemfigoidde CD200 molekülünü hedef alan tedavilere yönelmek gerektiğini düşündürdüğü belirtilmiştir (239).

Liken planopilarisli hastaların lezyonlu ve lezyonsuz skalp derisinden alınmış biyopsi materyallerinin incelendiği bir çalışmada, hastalığın kıl follikül epitelinde CD200 ilişkili immün ayrıcalık sistemin çökmesine bağlı olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir (240). Liken planopilarisli hastaların lezyonlu ve lezyonsuz derilerinden alınan biyopsi örneklerinde kantitatif immünohistomorfometri, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), lazer mikrodiseksiyon ve mikroarray yapılmıştır. Protein ve transkripsiyonel düzeyde lezyonlu biyopsilerdeki kıl folliküllerinde “*bulge*” bölgesinde; MHC I ve II ekspresyonunda artış, $\beta 2$ mikroglobulin ekspresyonunda artış, TGF $\beta 2$ ve CD200 ekspresyonunda azalma olması immün ayrıcalığın çökmesinin işaretleri olarak kabul edilmiştir (240).

Deri eki tümörlerinde CD200 ekspresyonunun araştırıldığı bir çalışmada 27 spiradenoma, 30 silindroma, 16 hidradenoma, 19 poroma, 4 dermal duktus tümörü ve 1 hidroakantoma simpleks vakası içeren bir çalışmada; tüm spiradenoma ve silindroma vakaları CD200+, diğer deri eki tümörleri CD200- bulunmuştur. Buradan yola çıkarak kıl follikülünün “*bulge*” bölgesinden köken alan deri eki

tümörlerinin folliküler farklılaşmasının daha az olduğu ve bu sebeple CD200 molekülünü eksprese etmediği düşünülmüştür (241).

Literatürde melanom hücrelerinde de CD200 ekspresyonu gösterilmiştir (234). Hatta CD200+ B16 melanom hücrelerinin farelere subkütanöz olarak enjekte edildiği bir çalışmada, CD200 ekspresyonunun tümör gelişimini inhibe ettiği ve miyeloid hücrelerin fonksiyonlarını baskılayarak akciğer metastaz gelişimini engellediği tespit edilmiştir (242).

Akman Karakaş ve ark. raporladığı bir olgu sunumunda büllöz pemfigoidli bir hasta ile toksik epidermal nekrolizisli (TEN) bir hastanın serumunda CD200 düzeyinin azaldığı, bül sıvısında CD200 düzeyinin arttığı tespit edilmiştir. Tedavi sonrasında (pulse steroid, IVIG, replasman tedavileri vb) ise serum CD200 düzeyi 6 kat artmıştır (243). Bu iki olgunun TEN ve büllöz pemfigoid patogenezi anlamada, tedavinin yeterliliğini ve yararını izlemede çözünebilir serum CD200 düzeyinin kullanılabileceğini gösterdiği düşünülmüştür (243).

Erkek tipi androjenetik alopeside flow sitometri ile yapılan bir çalışmada kıl follikülünde CD200, integrin $\alpha 6$ ve CD34 pozitif progenitör fenotipteki hücrelerin sayısında azalma olduğu rapor edilmiştir (244).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Vaka Grubunun Tanımlanması

Çalışmamıza 2007-2017 yılları arasında, Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı'nda değerlendirilip biyopsi alınan ve histopatolojik olarak tanı alan 20 alopesi areata ve kontrol grubu olarak 19 androgenetik alopesi vakası dahil edildi.

3.2. Vakalarda İncelenen Parametreler

Olguların yaşı, cinsiyeti, tanısı not edildi. Histopatolojik olarak sitokeratin 20 (CK20) ve CD200 molekülünün ekspresyon durumu, kıl follikülü ve kök varlığı değerlendirildi.

3.3. Histomorfolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Yüzde 10'luk tamponlu formalin solüsyonu ile fiksasyon sonrası, rutin takip protokolleri ile hazırlanmış hematoksilin-eozin boyalı arşiv preparatlarında olguların histomorfolojik bulguları ve tanı uyumları incelendi.

Parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler polyisinli lamlara alındı. CK20 için pozitif kontrol olarak kolon adenokarsinomu ve Merkel hücreli karsinom dokuları, CD200 için ise akciğer ve kolon adenokarsinomu dokuları kullanıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirmede, CK20 için perinükleer noktasal boyanma, CD200 için membranöz boyanma pozitif kabul edildi.

İmmünohistokimyasal boyamalar CK20 Liquid Mouse Monoclonal Antibody (NCL-L-CK20-561, Novocastra) ve CD200 Rabbit Polyclonal Antibody (Anti-CD200/OX2 antibody ab203887) antikorları ile Leica Bond Max Automated IHC/ISC Stainer marka cihazda otomatize olarak yapıldı. CK20 1/100 ve CD200 1/200 dilüsyonda kullanıldı. (Data sheetler Ek1 ve Ek2'de verilmiştir.)

Çalışmamızda kullanılan antikorların dilüsyon oranları ve üretici firmaları aşağıda özetlenmiştir (**Tablo 1**).

Tablo 1: Antikor dilüsyon oranları ve genel özellikleri

	Dilüsyon Oranı	Pozitif Kontrol	Üretici Firma	Antikor Türü
CK 20	1/100	Merkel hücreli karsinom ve kolon adenokarsinomu	Leica	Fare monoklonal
CD 200	1/200	Akciğer ve kolon adenokarsinomu	Abcam	Tavşan poliklonal

3.3.1. Merkel Hücre Sayısı/Dağılımının CK20 ile Değerlendirilmesi

CK 20 ile pozitif immünreaksiyon veren (perinükleer noktasal boyanma) MH'leri sayıldı. Hücrelerin yerleşim yerine göre olgular follikül, epidermis, follikül ve epidermis olarak 3 gruba ayrıldı.

3.3.2. CD200 Molekülünün Ekspresyonu

Kıl follikülü dış kök hücrelerinde membranöz boyanma pozitif kabul edildi. Değerlendirme yapılırken zeminde mevcut diffüz boyanma artefaktı göz ardı edildi. Kesitin kıl follikülünü içeren kısmında katlanma artefaktı mevcut ise o follikül değerlendirme dışı bırakıldı.

3.4. Vakaların Fotoğraflanması

Vakalar Dr. Özay Gököz ve Dr. Hamidullah Khurami tarafından ışık mikroskobunda değerlendirildikten sonra, Nikon ECLYPSE Ni-U mikroskopta, aynı firmaya ait NIS Elements programı ile x10'luk ve x20'lik objektiflerde otomatik alan aydınlatması ve otomatik ışık maruziyeti süresi ile fotoğraflandı.

3.5. İstatiksel Yöntem

Çalışmanın primer parametresi olan MH sıklığındaki (immünohistokimyasal değerlendirmede en az 1+ hücre olması) fark bakımından hasta grubuyla kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı biçimde fark gösterilebilmesi için hastalık grubunda MH sıklığı sifıra çok yaklaşacağı ve kontrol grubunda bu sıklığın

yarı yarıya ya da daha sık olacağı > %50 varsayımıyla %80 güç, % 5 tip 1 hatayla çalışma gruplarına minimum 18 hasta alınmasına karar verildi.

İstatistiksel analizler "SPSS for Windows Version 23.0" paket programında yapıldı. Sayısal değişkenler ortalama±standart sapma ve median [Min – Maks] değerler ile kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile özetlenmiş olup, iki grup arasında sayısal değişkenler bakımından farklılık olup olmadığı yaş, mikroskopik büyütme alanı sayısı, CK20 (+) hücre sayısı için Mann Whitney U testi ile araştırıldı. Gruplar arasında kategorik değişkenler bakımından farklılık olup olmadığı ise kök varlığı, follikül varlığı için Ki Kare testi ile değerlendirildi. CD200 molekülünün ekspresyonu için ise Fisher testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak alındı.

3.6.Etik Kurul Onayı

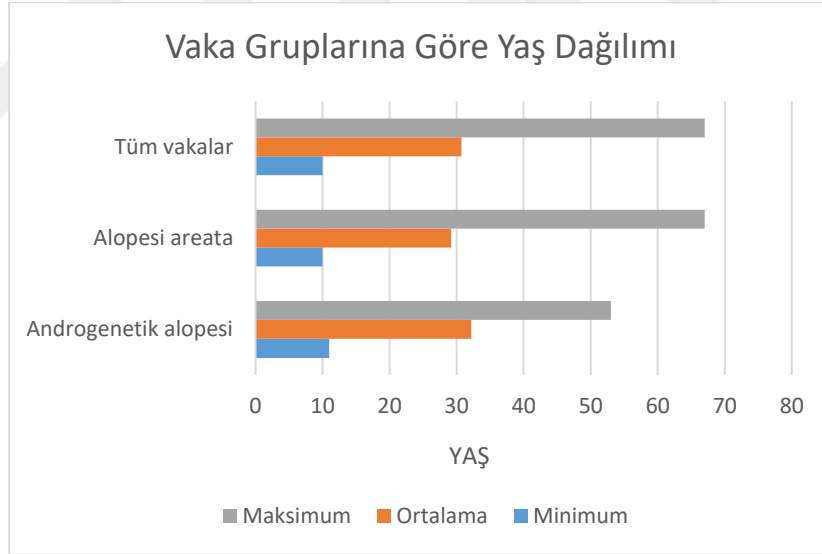
Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 20 Aralık 2016 tarihinde GO 16/813-25 karar numarası ile etik kurul onayı alındı. (Ek3'te verilmiştir.)

4. BULGULAR

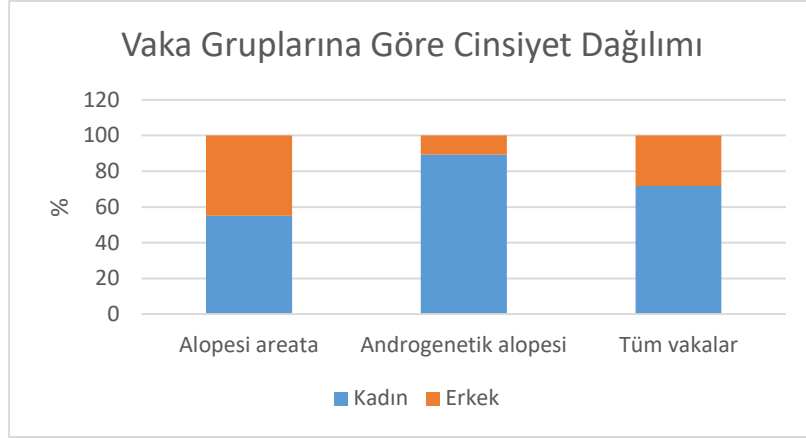
4.1. Hastaların Tanı Kategorileri ve Demografik Özellikleri

Seçilen 39 adet vakanın 20'si alopesi areata, 19'u androgenetik alopesi tanısı almıştı.

Çalışmaya dahil edilen toplamda 39 olgunun yaş ortalaması $30,7 \pm 13,2$ yıl (Aralık: 10- 67) olup, alopesi areata grubunda yaş ortalaması 29,2 yıl (Aralık: 10- 67) ve kontrol grubunda yaş ortalaması 32,2 (Aralık: 11-53) yıldır (**Şekil.4.1**). Alopesi areata ve kontrol grubu hastaları arasında yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,346$). Alopesi areata vakalarının 11'i (%55) kadın, 9'u (%45) erkek, kontrol grubu vakalarının 17'si (%89,4) kadın, 2'si (%10,6) erkekti. Toplamda 28 vaka (%71,8) kadın, 11 vaka (%28,2) erkekti (**Şekil.4.2**).



Şekil 4.1: Olguların yaş dağılımı



Şekil 4.2: Vaka gruplarına göre cinsiyet dağılımı

4.2. Biyopsi Materyalinde Oryantasyon Yönü ve Büyük Büyütme Alanı

Sayısı

39 biyopsi materyalinin 33 tanesi epidermis yönüne göre vertikal, 3 tanesi horizontal ve 3 tanesi hem vertikal hem de horizontal oryanteydi.

Alopesi areata vakalarının biyopsi materyallerinde ortalama 9 (Aralık: 4-19) büyük büyütme alanı mevcuttu. Androgenetik alopesi vakalarının biyopsi materyallerinde ortalama 10,5 (Aralık: 5-20) büyük büyütme alanı mevcuttu. Her iki grupta toplamda ortalama 9,7 (Aralık: 4-20) büyük büyütme alanı gözlemlendi. Alopesi areata vakalarının 13 tanesi (%65) < 10 büyük büyütme alanı ve 7 tanesi (%35) $\geq$ 10 büyük büyütme alanı içermektedir. Androgenetik alopesi vakalarının 11 tanesi (%57,9) < 10 büyük büyütme alanı ve 8 tanesi (%42,1) $\geq$ 10 büyük büyütme alanı içermektedir. Her iki grup arasında büyük büyütme alanları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p=0,471$).

4.3. Biyopsi Materyalinde Kıl Follikülü ve Kök Varlığı

Çalışmaya dahil edilen tüm vakalarda kıl follikülü mevcuttu, 20 alopesi areata vakasının 6 tanesinde (%30) kıl kökü izlenmiş iken 14 tanesinde (%70) kıl kökü izlenmedi. Ondokuz androgenetik alopesi vakasının 10 tanesinde (%52,6) kıl kökü izlenmiş iken 9 tanesinde (%47,4) kıl kökü izlenmedi. Her iki grup arasında

kıl kökü varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,151$).

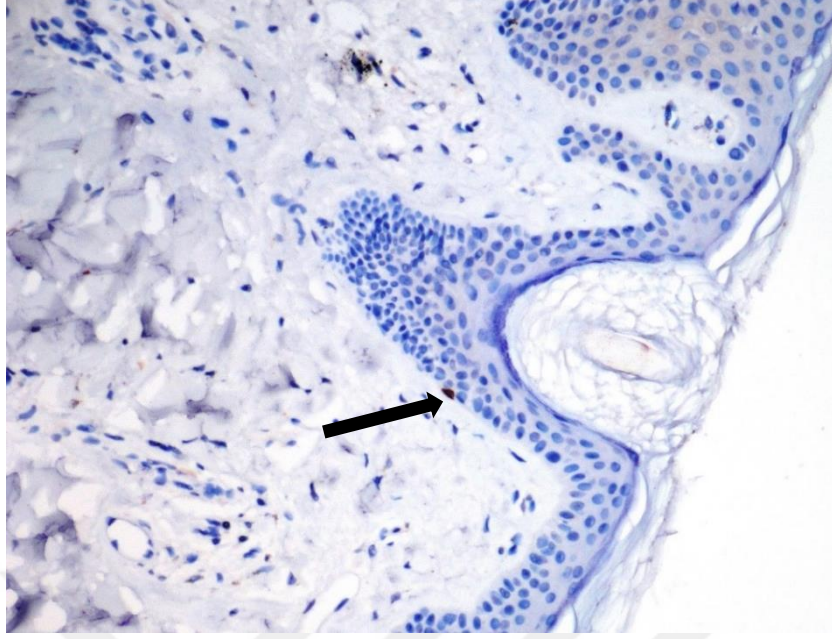
4.4. Merkel Hücre Sayısı ve Dağılımı

Alopesi areata vakalarında ortalama MH sayısı 0,8 (Aralık: 0-4) olarak hesaplandı. Androjenetik alopesi vakalarında ortalama MH sayısı 4,15 (Aralık: 0-16) idi. Her iki grup arasında MH sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,092$).

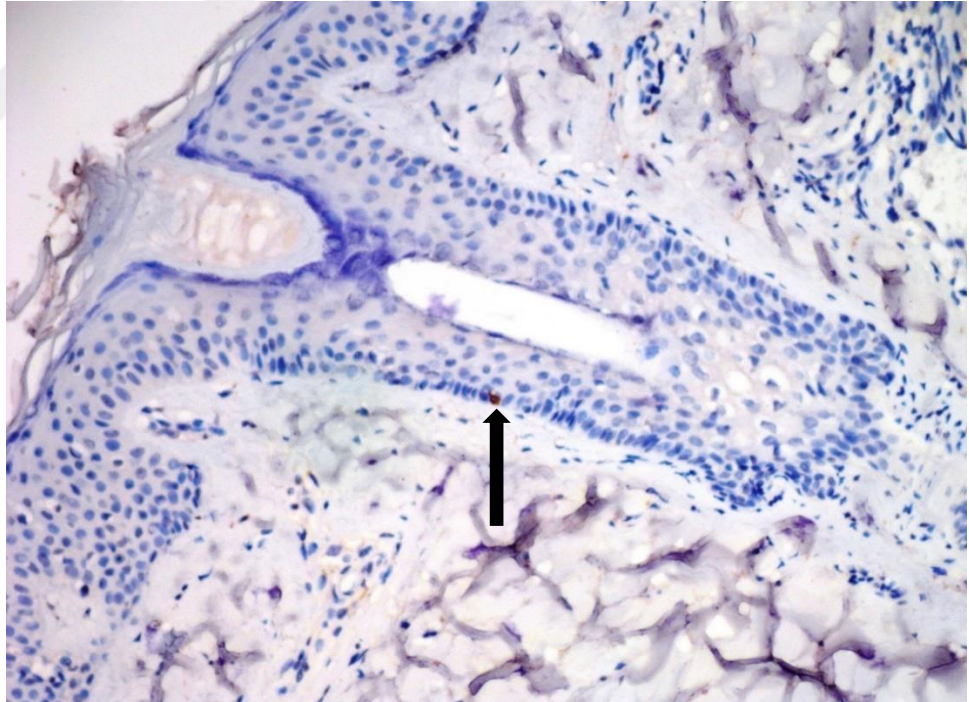
Alopesi areata vakalarında, 4 vakada kıl follikülünün epitelinde, 2 vakada epidermiste, 2 vakada ise hem kıl follikül epiteli hem epidermiste MH izlendi. Vakaların 12 tanesinde ise hiç MH saptanmadı. Androjenetik alopesi vakalarının 8 tanesinde kıl follikülünün epitelinde, 1 tanesinde epidermiste, 3 tanesinde ise hem kıl follikül epiteli hem epidermiste MH izlenirken, 7 vakada MH saptanmadı (**Resim 9, 10 ve 11**). Alopesi areata ve androjenetik alopesi vakalarında kıl follikülü epitelinde MH varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,079$).

Toplamda 12 vakada kıl follikülünün epitelinde, 3 vakada epidermiste, 5 vakada ise hem kıl follikül epiteli hem epidermiste MH izlendi. Vakaların 19 tanesinde MH saptanmadı.

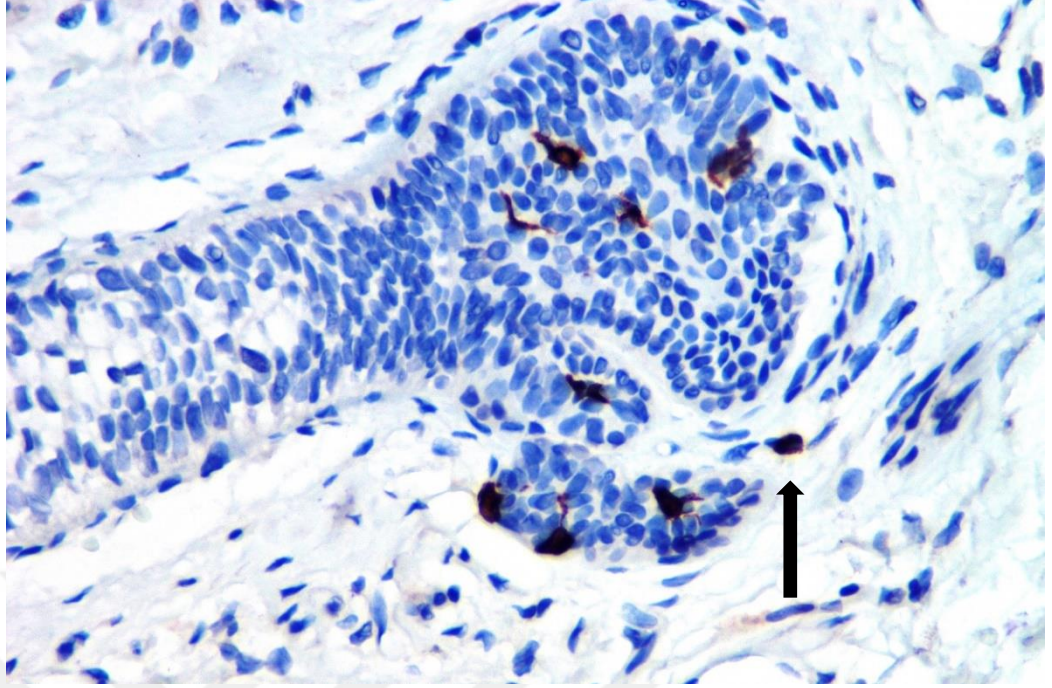
Androjenetik alopesi ve alopesi areata olgularında epitele yerleşmiş MH varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,083$).



Resim 9: Androgenetik alopesi vakasında, saçlı deri biyopsisinin epidermisinde yerleşmiş CK20 (+) hücre (siyah ok), (immünperoksidaz x100)



Resim 10: Alopesi areata vakasında, kıl follikül epitelinde CK20 (+) hücre (siyah ok), (immünperoksidaz x100)

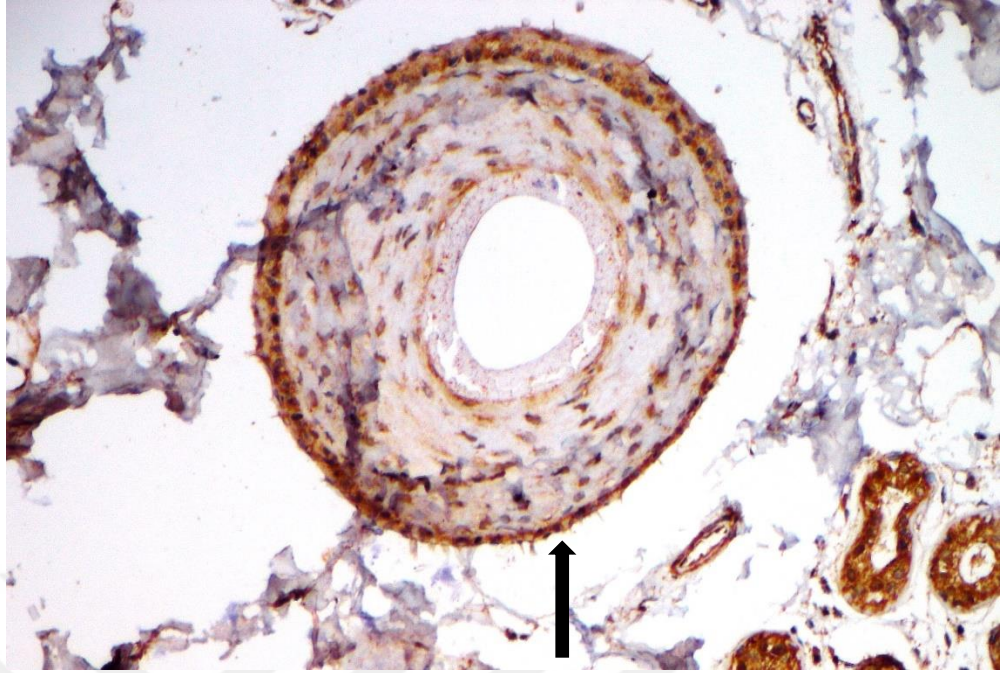


Resim 11: Androgenetik alopesi vakasında, kıl follikülünün kök kısmında çok sayıda MH (siyah ok), (immünperoksidaz x400)

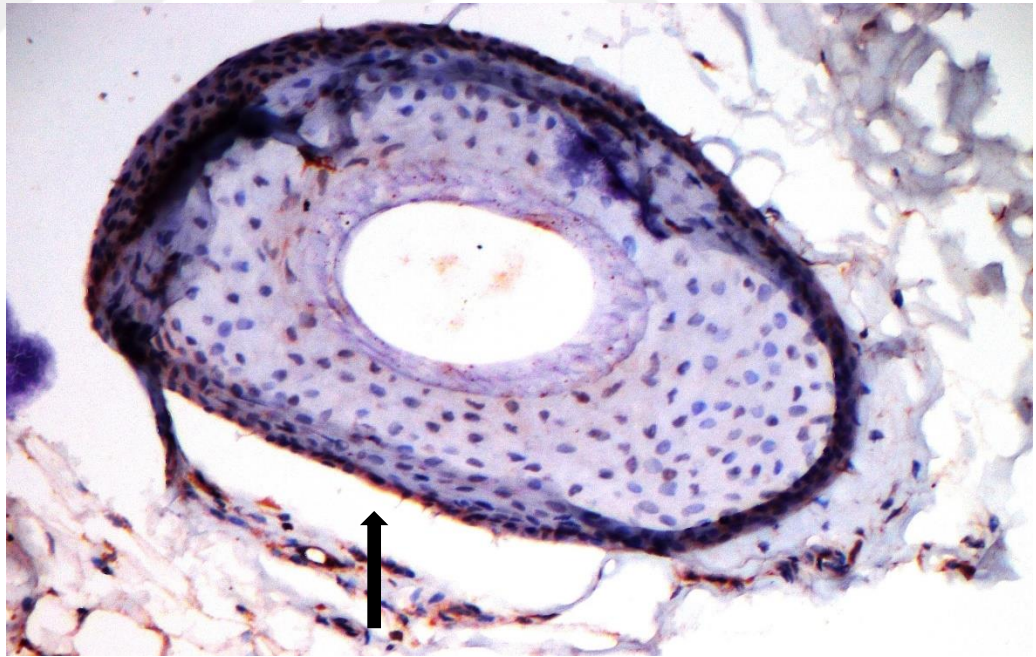
4.5. Biyopsi Materyalindeki Kıl Follikülünün Dış Kök Kılıfında CD200 Ekspresyonu

Alopesi areata vakalarının 14 tanesinde (%70) kıl follikülünün DKK'ında CD200 ekspresyonu izlenmemiş olup 6 vaka zeminde yoğun boyanma artefaktı nedeniyle değerlendirmeye alınamadı. Sonuçta alopesi areata vakalarının hiçbirinde CD200 ekspresyonu izlenmedi. Androgenetik alopesi vakalarının ise 4 tanesinde (%21,1) kıl follikülünün DKK'ında CD200 ekspresyonu mevcut iken 14 tanesinde (%73,7) kıl follikülünün DKK'ında CD200 ekspresyonu izlenmedi. Bir adet vaka işlem sırasında dokunun dökülmesi nedeniyle değerlendirmeye alınamadı (**Resim 12, 13 ve 14**).

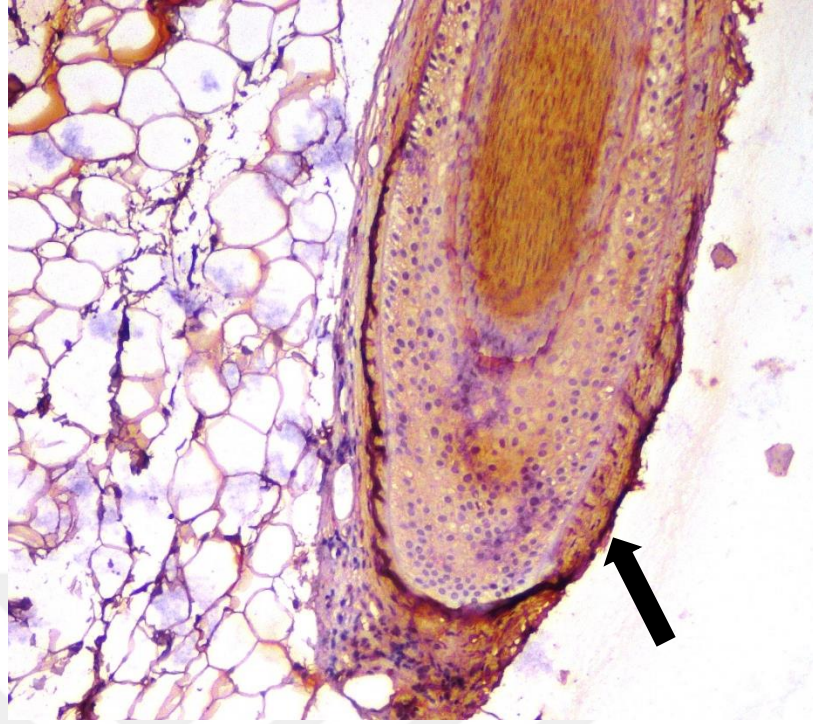
CD200 ekspresyonu açısından değerlendirilemeyen vakalar analize dahil edilmemiş olup her iki grup arasında kıl follikülü DKK'ında CD200 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,113$). Ancak CD200 ekspresyonu izlenen olguların tamamı androgenetik alopesi vakalarıydı ve ekspresyon DKK'ında gözlemlendi.



Resim 12: Androgenetik alopesi vakasında, kıl follikülünün enine kesitinde dış kök kılıfında CD200 ile immün reaksiyon (siyah ok) ve çevre ter bezlerinde de artefaksiyel boyanma (immünperoksidaz x200)



Resim 13: Androgenetik alopesi vakasında, kıl follikülü periferinde ince bir tabaka şeklinde CD200 ile pozitif boyanma (siyah ok), (immünperoksidaz x200)



Resim 14: Androgenetik alopesi vakasında, kıl follikülünün boyuna kesitinde, follikül periferinde belirgin hal alan immünohistokimyasal boyanma (siyah ok) ve kıl follikülünün diğer kısımları ile zemindeki adipositlerde artefaksiyel boyanma, (immünperoksidaz x100)

5. TARTIŞMA

Alopesi areata anagen kıl folliküllerini hedef alan skarsız, kronik ve immün aracılı bir hastalıktır. Relaps ve remisyonlarla seyreden bu hastalık lokalize alopesik yamalardan alopesi totalis ve alopesi üniversalise kadar geniş bir klinik spektruma sahiptir (22). Prevalansı %0.1-0.2 olarak bildirilmiştir (21). Literatürde bildirilen çalışmalarda alopesi areatalı hastaların %66'sı 30 yaş altındayken, %20'si 40 yaş üzerindedir. Üç yaş altındaki çocuklarda pek sık rastlanmamaktadır (25). Alopesi areatada erkek ve kadın baskınlığı olmamakla birlikte Çin'de 226 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada E:K oranı 1,4:1 olarak bildirilmiştir (26). Çalışmamızdaki alopesi areatalı hastaların yaş ortalaması 29,2 yıl, K:E oranı 1,2 olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızın K:E oranının yüksek olması ve literatürle uyumlu olmamasının, polikliniğe saç dökülmesi şikayetiyle başvurup ayırıcı tanıda alopesi areata düşünülerek biyopsi alınan olguların çoğunun kadın olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Merkel hücreleri, bazal tabakada horizontal olarak yerleşen, melanozom ve sitoplazmasındaki granüller içinde çeşitli nöropeptitler ve nöroendokrin maddeler içeren ve sinir lifleri ile sinaps yapan kompleks hücrelerdir. Daha önceki çalışmalarda deri homeostazında, çeşitli inflamatuvar deri hastalıkları, benign ve malign neoplazilerde MH'nin rol oynadığı gösterilmiştir (158,159,179). MH'leri üzerinde eksprese olan CD200 molekülü CD200R'ne bağlandığı zaman inflamatuvar reaksiyonu azaltıp immün toleransı desteklemektedir (178).

Merkel hücresinin, kıl follikülünün kök hücre rezervuarı olan kritik bir yerde Langerhans hücreleri ile ilişki halinde olması, sinir sistemi ve immün sistem ile bu kadar yakın anatomik ilişkide bulunması, sitoplazmalarında otokrin, parakrin ve endokrin yollarla derinin ve kıl follikülünün homeostazını sağlayan nöropeptid ve nöroendokrin maddelerin bulunması, CD200 eksprese etmesi ve bu sayede inflamasyonun baskılanıp immün toleransın gelişmesi nedeniyle kıl folliküllerini ilgilendiren ve otoimmün bir hastalık olan alopesi areatada bu hücrelerin sayısının azalmasının rol oynayabileceği hipotezini ortaya çıkarmamıza sebep olmuştur. Enfeksiyon, travma, oksidatif stres gibi istenmeyen durumlar nedeniyle MH'lerinin parçalanması sonucu MH'si üzerinde bulunan CD200 molekülüne karşı antikör gelişmiş ve/veya CD200 ekspresyonu azalmış olabilir.

CD200 azalmasına bağlı olarak immün ayrıcalık sistemi bozulmuş, bulge bölgesindeki kök hücreler açığa çıkmış, Langerhans hücreleri tarafından kök hücrelerin immün sisteme tanıtılması mümkün olmuş ve bu da alopesi areatada görülen otoimmün yanıtı başlatmış olabilir. MH'lerin kaybına bağlı hücreler arasındaki homeostaz bozulup, hücrelerin bir arada ortak amaçla çalışması ortadan kalkmış, böylelikle derinin inflamatuvar, otoimmün ve neoplastik süreçleri ortaya çıkmış olabilir.

Literatürde bir çalışmada MH sayısına bakmak için dişli ve dişsiz jinjiva biyopsi materyalleri elde edildikten sonra her örnekten 3'er seri kesit alınıp 20 ardışık büyük büyütme alanında (x40'luk objektif) değerlendirilmiştir (176). Bizim çalışmamızda ise her olgudan 3mm ve 4mm gibi farklı boyuttaki punch biyopsi aletiyle alınmış dokularda CK20 ve CD200 immünohistokimyasal boyamaları yapılmıştır. Parafin bloklar zaten öncesinde olgulara tanı verilirken kesit işlemi gördükleri için, doku kaybına sebep olmamak adına bizim vakalarımızda yalnızca birer adet kesit alınmıştır. Bu nedenle alopesi areata vakalarının biyopsi materyallerinde ortalama 9 (Aralık: 4-19) büyük büyütme alanı mevcuttu. Androgenetik alopesi vakalarının biyopsi materyallerinde ortalama 10,5 (Aralık: 5-20) büyük büyütme alanı mevcuttu. Her iki grupta toplamda ortalama 9,7 (Aralık: 4-20) büyük büyütme alanı gözlemlendi ($p=0,471$). Büyük büyütme alanı sayısının artırılmamış olması çalışmamızın zayıf yönlerinden biriydi.

Bizim çalışmamızda CK20 monoklonal antikoru ile alopesi areata vakalarında MH sayısı 0-4 arasında değişmekte olup ortalama MH sayısı 0,8 olarak hesaplandı. Dört (%20) vakada kıl follikülünün epitelinde, 2 (%10) vakada epidermiste, 2 (%10) vakada ise hem kıl follikül epitelinde hem epidermiste MH'si izlendi. Kontrol grubunda ise MH sayısı 0-16 arasında değişmekte olup ortalama MH sayısı 4,15 olarak hesaplandı. Sekiz (%42,1) vakada kıl follikülü epitelinde, 1 (%5) vakada epidermiste, 3 (%15,7) vakada ise hem kıl follikül epiteli hem epidermiste CK20 ile pozitif boyanan MH'si izlendi. Her iki grup arasında MH sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmasa da ($p=0,092$) ortalama MH sayısına baktığımız zaman alopesi areata vakalarında androgenetik alopesi vakalarına göre MH sayısı daha az sayıda izlendi. Epidermis ve follikül içindeki MH'lerin dağılımına bakıldığında androgenetik alopesi vakalarının

12'sinde (% 63.1) MH'si saptanırken alopesi areata vakaların 8'inde (%40) MH'si saptandı. Her iki grup arasında MH'sinin folliküldeki dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmasa da ($p=0,079$) follikül içindeki MH'si dağılımına baktığımızda androgenetik alopesi vakalarının 11'inde (%57,8) alopesi areata vakalarının 6'sında (%30) MH'si mevcuttu. Androgenetik alopesi vakalarının hepsinde MH'sinin görülememesinin nedeninin, bu hücrelerin normal deride de çok az bulunması ve bu nedenle her deri biyopsisinde görülememesi olduğu düşünüldü. Daha önce yapılmış bir çalışmada kıllı ve kılsız deriden epitel hücreleri ayrıştırılarak flow sitometri ile CK20 pozitif hücrelere bakılmış, epidermisin sadece %3,6-5,7'sinde MH'si izlenmiştir (245), bu da bizim androgenetik alopesi vakalarının bazılarında neden MH'si izleyemediğimizi açıklamaktadır. Bildiğimiz kadarıyla literatürde androgenetik alopeside MH sayısı ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

Kıl folliküllerinin en önemli görevlerinden biri epidermal kök hücreleri için ev sahipliği yapmasıdır. Bu kök hücreler hem follikül hem de epidermisi yenileme kapasitesine sahiptir. Kıl follikülleri çok önemli bölgeler olduğundan immün sistem tarafından tanınmamak için ve olası otoimmün yanıtı önlemek için bazı mekanizmalar geliştirmiştir. Bu mekanizmalara immün ayrıcalık sistemi adı verilmektedir. İmmün ayrıcalık sisteminin bozulması sonucunda immün aracılı kıl kaybı ve alopesi areata ortaya çıkmaktadır (221,231,232).

CD200 hücre yüzeyinde bulunan transmembran bir glikoproteindir ve CD200R'ne bağlanarak etki göstermektedir. CD200-CD200R etkileşimi sonucunda inflamatuvar reaksiyonlar baskılanırken immün tolerans artmaktadır (221). Rosenblum ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada kıl follikülü epitelinde CD200 ekspresyonunun inflamatuvar reaksiyonları baskıladığı ve kıl folliküllerinin otoantijenlerine karşı immün toleransı sürdürdüğü gösterilmiştir (230).

Bizim çalışmamızda 19 adet androgenetik alopesinin 14 tanesinde (%73,7) CD200 ekspresyonu izlenmemiş olup, 4 tanesinde (%21,1) gözlemlendi. Alopesi areata vakalarının ise 6'sı (%30) teknik nedenlerden dolayı değerlendirmeye alınamadı. Geri kalan 14 alopesi areata vakasının hiçbirinde (%100) DKK'nda CD200 ekspresyonu izlenmedi. DKK'nda CD200 ekspresyonu açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,113$). Gruplar

arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmamasına rağmen CD200 ekspresyonu sadece androgenetik alopesi vakalarında izlendi. Daha önce androgenetik alopesi vakalarında flow sitometri ile yapılan bir çalışmada kıl follikülünde CD200, integrin $\alpha 6$ ve CD34 pozitif progenitör fenotipteki hücrelerin sayısında azalma olduğu rapor edilmiştir (244). Bu çalışmanın sonucu da bizim çalışmamızdaki androgenetik alopesi vakalarında CD200 ekspresyonun azalmasını desteklemektedir.

Çalışmamızın retrospektif olması, vaka sayısının az olması, CK20 ve CD200 antikorları dışında flow sitometri ve/veya ileri moleküler tekniklerin kullanılamaması, bu çalışmaya yönelik uygun geniş insizyonel biyopsilerin alınmaması, histoloji bölümü tarafından özel tekniklerle sadece kıl follikülü bulge bölgesinden kesit alınamaması bu çalışmanın kısıtlılıkları olarak düşünüldü. Sonuç olarak, her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da alopesi areata vakalarında hipotezimizle uyumlu olarak MH sayısında azalma mevcuttur. Hiçbir alopesi areata vakasında CD200 ekspresyonu görülmemiştir. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyine yaklaşmasına rağmen sonuçlarımızın anlamlı çıkmamasının en büyük nedeni vaka sayısının az olmasına bağlanmıştır. MH'leri Langerhans hücreler, sinir lifleri ve keratinositler gibi hücrelerle yakın ilişkide bulunması nedeniyle derideki birçok hastalığın etyopatogenezinde rol oynayabilir. Alopesi areata patogenezinde rolünü kanıtlayabilmek için daha çok vaka içeren, daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

- Bildiğimiz kadarıyla daha önce alopesi areatada insana ait doku örneklerinde MH sayısı ve CD200 molekülünün ekspresyonunun birlikte değerlendirildiği bir çalışmanın mevcut olmaması nedeniyle bizim çalışmamız bu konudaki ilk çalışmadır.
- Alopesi areata vakalarının 11'i kadın 9'u erkek, androgenetik alopesi vakalarının 17'si kadın 2'si erkektir.
- Alopesi areata ve androgenetik alopesi hastaları arasında yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,346$).
- Alopesi areata ve androgenetik alopesi hastaları arasında büyük büyütme alanları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir ($p=0,471$).
- Her iki grupta da tüm vakalarda kıl follikülü mevcut olup, kıl kökü varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,151$).
- Alopesi areata vakalarının 12 tanesinde ve androgenetik alopesi vakalarının 7 tanesinde MH'si saptanmamıştır.
- Alopesi areata ve androgenetik alopesi hastaları arasında MH sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p=0,092$).
- Androgenetik alopesi ve alopesi areata olgularında kıl follikül epitelinde yerleşmiş MH varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,083$).
- Alopesi areata olgularının hiçbirinde CD200 ekspresyonu izlenmemiştir.
- Kıl follikülü DKK'ında CD200 ekspresyonu açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,113$).
- Çalışmaya dahil edilen vaka sayısının artırılması, sonuçların hipotezimizi destekler nitelikte çıkmasını sağlayabilir.
- Prospektif olarak uygun hastaların seçilip, klinik olarak alopesi areata, alopesi totalis ve alopesi universalis olarak gruplandırma sağlanabilir. Birkaç mm'lik punch biyopsiler yerine insizyonel biyopsilerin yapılması daha çok alanda immünohistokimyasal incelemeye olanak sağlayabilir.
- Her biyopsi materyalinden seri kesitler alınıp incelenmesi, epidermis ve kıl follikülündeki MH'lerinin ardışık olarak değerlendirilmesine olanak vererek, daha doğru sonuçlara ulaşmayı sağlayabilir.

- Çalışmamızda sadece CK20 ve CD200 immünohistokimyasal boyamaları ile parafin bloklardan değerlendirme yapılmıştır. Farklı antikorlar kullanılarak (MH için nöropeptidler, ISL1 gibi transkripsiyon faktörleri vb) işaretlenebilen hücre sayısı artırılabilir.
- İmmünohistokimyasal değerlendirmeye ek olarak MH sayısı ve fonksiyonlarını incelemek için akım sitometri, polimeraz zincir reaksiyonu, lazer mikrodiseksiyon, immün elektron mikroskop vb. yöntemlerle protein ekspresyonu dışında transkripsiyonel düzeyde de incelemeler yapılabilir.
- Alınan biyopsi materyalleri MH sayı ve fonksiyonu açısından değerlendirilmeden önce, histolojik olarak bulge bölgesini içeren kesitler anagen, telogen ve katagen fazlarından seçilerek değerlendirmeye katkı sağlanabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Shapiro R, Rose P, Morgan M. Hair Anatomy and Histology. In: Hair Transplantation 4th Edition, Revised and Expanded, Unger & Shapiro. 2004. s. 25–33.
2. Paus R, Cotsarelis G. The Biology of Hair Follicles. *N Engl J Med*. 1999;341(7):491–7.
3. Erdoğan B. Anatomy and Physiology of Hair. *Hair and Scalp Disorders*. 2017. s. 13-27.
4. Pinkus H. Embryology of Hair. *The Biology of Hair Growth*. 1958. s. 4–11.
5. Sperling LC, Cowper SE, Knopp EA. Normal Hair Anatomy and Architecture. *An Atlas of Hair Pathology with Clinical Correlations*. 2003. s. 1–31.
6. <http://www.lisalink.com/illustration.html>.
7. Lavker RM, Sun TT, Oshima H, Barrandon Y, Akiyama M, Ferraris C, et al. Hair Follicle Stem Cells. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 2003;8(1):28–38.
8. Poblet E, Jiménez F, Godínez JM, Pascual MA, Izeta A. The Immunohistochemical Expression of CD34 In Human Hair Follicles: A Comparative Study With The Bulge Marker CK15. *Clin Exp Dermatol*. 2006;31(6):807–12.
9. Halata Z, Grim M, Baumann KI. Current Understanding of Merkel Cells, Touch Reception And The Skin. *Expert Rev Dermatol*. 2010;5(1):109–16.
10. Hanneken S, Ritzmann S, Nöthen MM, Kruse R. Androgenetic Alopecia. *Current Aspects Of A Common Phenotype*. *Hautarzt*. 2003;54(8):703–12.
11. Kırmızı S. AR StüI Gen Polimorfizminin Androgenetik Alopesi Üzerine Etkisi. Ankara Üniversitesi; 2014.
12. Hordinsky M, Ericson M. Hair Follicle Vascularization And Innervation. *Hair Growth And Disorders*. Springer, Berlin, Heidelberg; 2008. s. 75–83.
13. Headington JT. Transverse Microscopic Anatomy Of The Human Scalp. A Basis For A Morphometric Approach To Disorders Of The Hair Follicle. *Arch Dermatol*. 1984;120(4):449–56.
14. Poblet E, Ortega F, Jiménez F. The Arrector Pili Muscle And The Follicular Unit Of The Scalp: A Microscopic Anatomy Study. *Dermatol Surg*. 2002;28(9):800–3.
15. Moore KL, Persaud TV. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi 6. İngilizce Baskıdan Türkçeye Çeviri. 2002.s 516-518.
16. Buffoli B, Rinaldi F, Labanca M, Sorbellini E, Trink A, Guanziroli E, et al. The Human Hair: From Anatomy To Physiology. *Int J Dermatol*. 2014;53(3):331–41.

17. Oh JW, Kloepper J, Langan EA, Kim Y, Yeo J, Kim MJ, et al. A Guide To Studying Human Hair Follicle Cycling In Vivo. *J Invest Dermatol*. 2016;136(1):34–44.
18. Rebora A, Guarrera M. Teloptosis And Kenogen: Two New Concepts In Human Trichology. *Arch Dermatol*. 2004;140(5):619–20.
19. Rebora A, Guarrera M. Kenogen. A New Phase Of The Hair Cycle? *Dermatology*. 2002;205(2):108–10.
20. Paus R, Ito N, Takigawa M, Ito T. The Hair Follicle And Immune Privilege. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2003;8(2):188–94.
21. Alkhalifah A, Alsantali A, Wang E, McElwee KJ, Shapiro J. Alopecia Areata Update. Part I. Clinical picture, Histopathology, And Pathogenesis. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62(2):177–88.
22. Pratt CH, King LE, Messenger AG, Christiano AM, Sundberg JP. Alopecia Areata. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;16(3):17011.
23. McMichael AJ, Pearce DJ, Wasserman D, Camacho FT, Fleischer AB, Feldman SR, et al. Alopecia In The United States: Outpatient Utilization And Common Prescribing Patterns. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57(2):49–51.
24. Safavi K. Prevalence Of Alopecia Areata In The First National Health And Nutrition Examination Survey. *Arch Dermatol*. 1992;128(5):702.
25. Alonso Pacheco ML, Rodrigo Sanchez MC, Zambrano Centeno LB. Alopecia Areata. *Semergen*. 2002;28(4):212–5.
26. Xiao F, Yang S, Liu J, He P, Yang J. The Epidemiology Of Childhood Alopecia Areata In China: A Study Of 226 Patients. *Pediatr Dermatol*. 2006;23(1):13–8.
27. Chu S, Chen Y, Tseng W, Lin M, Chen T. Comorbidity Profiles Among Patients With Alopecia Areata: The Importance Of Onset Age, A Nationwide Population-based Study. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(5):949–56.
28. Schneider M, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The Hair Follicle As A Dynamic Miniorgan. *Curr Biol*. 2009;19(3):R132–42.
29. Cotsarelis G. Epithelial Stem Cells: A Folliculocentric View. *J Invest Dermatol*. 2006;126(7):1459–68.
30. Paus R, Cotsarelis G. The Biology Of Hair Follicles. *N Engl J Med*. 2015;341(7):491–7.
31. Whiting D. Histopathologic Features Of Alopecia Areata: A New Look. *Arch Dermatol*. 2003;139(12):1555–9.

32. Gilhar A, Paus R, Kalish R. Lymphocytes, Neuropeptides, And Genes Involved In Alopecia Areata. *J Clin Invest.* 2007;117(8):2019–27.
33. Messenger A, Slater D. Alopecia Areata: Alterations In The Hair Growth Cycle And Correlation With The Follicular Pathology. *Br J Dermatol.* 1986;114(3):337–47.
34. Paus R, Slominski A, Czarnetzki B. Is Alopecia Areata An Autoimmune-response Against Melanogenesis-related Proteins, Exposed By Abnormal MHC Class I Expression In The Anagen Hair Bulb? *Yale J Biol Med.* 1993;66(6):541–54.
35. Blaumeiser B, Van Der Goot I, Fimmers R, Hanneken S, Ritzmann S, Seymons K, et al. Familial Aggregation Of Alopecia Areata. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54(4):627–32.
36. Rodriguez TA, Fernandes KE, Dresser KL, Duvic M. Concordance Rate Of Alopecia Areata In Identical Twins Supports Both Genetic And Environmental Factors. *J Am Acad Dermatol.* 2010;62(3):525–7.
37. Jackow C, Puffer N, Hordinsky M, Nelson J, Tarrand J, Duvic M. Alopecia Areata And Cytomegalovirus Infection In Twins: Genes Versus Environment? *J Am Acad Dermatol.* 1998;38(3):418–25.
38. McDonagh AJ, Tazi-Ahnini R. Epidemiology And Genetics Of Alopecia Areata. *Clin Exp Dermatol.* 2002;27(5):405–9.
39. Duvic M, Nelson A, Marisa de A. The Genetics Of Alopecia Areata. *Clin Dermatol.* 2001;19(2):135–9.
40. Sundberg JP, Silva KA, Li R, Cox GA, King LE. Adult-onset Alopecia Areata Is A Complex Polygenic Trait In The C3H/HeJ Mouse Model. *J Invest Dermatol.* 2004;123(2):294–7.
41. Martinez-Mir A, Zlotogorski A, Gordon D. Genomewide Scan For Linkage Reveals Evidence Of Several Susceptibility Loci For Alopecia Areata. *Am J Hum Genet.* 2007;80(2):316–28.
42. McElwee KJ, Tobin DJ, Bystryn JC, King LE, Sundberg JP. Alopecia Areata: An Autoimmune Disease? *Exp Dermatol.* 1999;8(5):371–9.
43. McElwee K, Freyschmidt-Paul P, Ziegler A, Happle R, Hoffmann R. Genetic Susceptibility And Severity Of Alopecia Areata In Human And Animal Models. *Eur J Dermatol.* 2001;11(1):11–6.
44. Jr LK, McElwee K, Sundberg J. Alopecia Areata. *Curr Dir Autoimmun.* 2008;10:280-312
45. Petukhova L, Duvic M, Hordinsky M, Norris D, Price V, Shimomura Y, et al. Genome-wide Association Study In Alopecia Areata Implicates Both Innate And Adaptive Immunity.

Nature. 2010;466(7302):113–7.

46. Gilhar A, Assy B, Shalaginov R, Serafimovich S. Melanocyte-associated T Cell Epitopes Can Function As Autoantigens For Transfer Of Alopecia Areata To Human Scalp Explants On Prkdc (scid) Mice. *J Invest Dermatol*. 2001;117(6):1357–62.
47. Wang EH, Yu M, Breitkopf T, Akhoundsadegh N, Wang X, Shi FT, Leung G, Dutz JP, Shapiro J MK. Identification Of Autoantigen Epitopes In Alopecia Areata. *J Invest Dermatol*. 2016;136(8):1617–26.
48. Gilhar A, Ullmann Y, Berkutski T, Assy B, Kalish RS. Autoimmune Hair Loss (Alopecia Areata) Transferred By T Lymphocytes To Human Scalp Explants On SCID Mice. *J Clin Invest*. 1998;101(1):62–7.
49. Wikramanayake TC, Villasante AC, Mauro LM, Perez CI, Schachner LA. Prevention And Treatment Of Alopecia Areata With Quercetin In The C3H / HeJ Mouse Model. *Cell Stress Chaperones*. 2012;17(2):267–74.
50. Xing L, Dai Z, Jabbari A, Cerise JE, Higgins CA, Gong W, et al. Alopecia Areata Is Driven By Cytotoxic T Lymphocytes And Is Reversed By JAK Inhibition. *Nat Med*. 2014;20(9):1043–9.
51. Liu LY, Craiglow BG, Dai F, King BA. Tofacitinib For The Treatment Of Severe Alopecia Areata And Variants: A Study Of 90 Patients. *J Am Acad Dermatol*. 2016;76(1):22–8.
52. Craiglow BG, King BA. Killing Two Birds With One Stone: Oral Tofacitinib Reverses Alopecia Universalis In A Patient With Plaque Psoriasis. *J Invest Dermatol*. 2014;134(12):2988–90.
53. De Jong PR, Schadenberg AWL, Jansen NJG, Prakken BJ. Hsp70 And Cardiac Surgery: Molecular Chaperone And Inflammatory Regulator With Compartmentalized Effects. *Cell Stress Chaperones*. 2009;14(2):117–31.
54. De Maio A. Extracellular Heat Shock Proteins, Cellular Export Vesicles, And The Stress Observation System: A Form Of Communication During Injury, Infection, And Cell Damage. *Cell Stress Chaperones*. 2011;16(3):235–49.
55. Molvarec A, Tamási L, Losonczy G, Madách K, Prohászka Z, Rigó J. Circulating Heat Shock Protein 70 (HSPA1A) In Normal And Pathological Pregnancies. *Cell Stress Chaperones*. 2010;15(3):237–47.
56. Kalkan G, Seçkin H, Benli İ, Akbaş A. Relationship Between Manganese Superoxide Dismutase (MnSOD Ala-9Val) And Glutathione Peroxidase (GPx1 Pro 197 Leu) Gene Polymorphisms And. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(11):21533–40.

57. Alzolibani A. Preferential Recognition Of Hydroxyl Radical-modified Superoxide Dismutase By Circulating Autoantibodies In Patients With Alopecia Areata. *Ann Dermatol.* 2014;26(5):576–83.
58. Mijailović B, Mladenović T, Hrnjak M, Karadaglić D, Nikolić B. Contact Thermometry Of Lesions In Alopecia Areata. *Vojnosanit Pregl.* 1997;54(1):31–3.
59. Leibovich AS, Freinkel RK, Kaufman DS, Leibovich SJ. Angiogenic Activity Is Defective In Monocytes From Patients With Alopecia Universalis. *J Invest Dermatol.* 1990;95(2):139–43.
60. Popchristov P, Konstantinov A. The Blood Vessels Of The Scalp In Patients With Alopecia Areata Before And After Corticosteroid Therapy. *Br J Dermatol.* 1968;80(11):753–7.
61. Sundberg JP, Pratt CH, Silva KA, Kennedy VE, Stearns TM, Sundberg BA, et al. Dermal Lymphatic Dilation In A Mouse Model Of Alopecia Areata. *Exp Mol Pathol.* 2016;100(2):332–6.
62. Chen JC, Dai Z, Abdelaziz A, Ivanov I, Christiano AM. 470 The Gut Microbiome Is Required For The Development Of Alopecia Areata. *J Invest Dermatol.* 2016;136(5):S83.
63. Rebello D, Wang E, Yen E, Lio PA, Kelly CR. Hair Growth In Two Alopecia Patients After Fecal Microbiota Transplant. *ACG Case Reps J.* 2017;4:e107.
64. Rodriguez TA, Duvic M. Onset Of Alopecia Areata After Epstein-Barr Virus Infectious Mononucleosis. *J Am Acad Dermatol.* 2008;59(1):137–9.
65. Ikeda T. Produced Alopecia Areata Based On The Focal Infection Theory And Mental Motive Theory. *Dermatologica.* 1967;134(1):1–11.
66. McElwee K, Niiyama S. Dietary Soy Oil Content And Soy-Derived Phytoestrogen Genistein Increase Resistance To Alopecia Areata Onset In C3H/HeJ Mice. *Exp Dermatol.* 2003;12(1):30–6.
67. Perini GI, F Omasa CV, Cipriani R, Bettin A, Zecchino F, Peserico A. Life Events And Alopecia Areata. *Psychother Psychosom.* 1984;41(1):48–52.
68. Kakourou T, Karachristou K, Chrousos G. A Case Series Of Alopecia Areata In Children: Impact Of Personal And Family History Of Stress And Autoimmunity. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2007;21(3):356–9.
69. Picardi A, Pasquini P, Cattaruzza MS, Gaetano P, Baliva G, Melchi CF, et al. Psychosomatic Factors In First-Onset Alopecia Areata. *Psychosomatics.* 2003;44(5):374–81.
70. Zhang X, Yu M, Yu W, Weinberg J, Shapiro J, McElwee KJ. Development Of Alopecia Areata Is Associated With Higher Central And Peripheral Hypothalamic-Pituitary-Adrenal

- Tone In The Skin Graft Induced C3H/HeJ Mouse Model. *J Invest Dermatol*. 2009;129(6):1527–38.
71. Aksu CA, Sarikaya SS, Kivanc AI. Vitamin D Deficiency In Alopecia Areata. *Br J Dermatol*. 2014;170(6):1299–304.
 72. Madani S. Alopecia areata update. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42(4):549–66.
 73. Wasserman D, Guzman-Sanchez D, Scott K, Mcmichael A. Alopecia Areata. *Int J Dermatol*. 2007;46(2):121–31.
 74. Shapiro J, Madani S. Alopecia Areata: Diagnosis And Management. *Int J Dermatol*. 1999;38(1):19–24.
 75. Gilhar A, Etzioni A, Paus R. Alopecia Areata. *N Engl J Med*. 2012;366(16):1515–25.
 76. Muñoz MA. Sisaipho: A New Form Of Presentation Of Alopecia Areata. *Arch Dermatol*. 1996;132(10):1255–6.
 77. Lew BL, Shin MK, Sim WY. Acute Diffuse And Total Alopecia: A New Subtype Of Alopecia Areata With A Favorable Prognosis. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60(1):85–93.
 78. Sato-Kawamura M, Aiba S, Tagami H. Acute Diffuse And Total Alopecia Of The Female Scalp. A New Subtype Of Diffuse Alopecia Areata That Has A Favorable Prognosis. *Dermatology*. 2002;205(4):367–73.
 79. Saceda-Corralo D, Grimalt R, Fernández-Crehuet P, Clemente A, Bernárdez C, García-Hernandez MJ, et al. Beard Alopecia Areata: A Multicentre Review Of 55 Patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;31(1):187–92.
 80. Doğan S, Ersoy-evans S, Gönç N, Şahin S. Childhood Alopecia Areata: A Study of 89 Aatients. *TURKDERM*. 2014;48(3):135–9.
 81. Kasumagic-Halilovic E, Prohic A. Nail Changes In Alopecia Areata: Frequency And Clinical Presentation. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009;23(2):240–1.
 82. Seyrafi H, Akhiani M, Abbasi H, Mirpour S. Evaluation Of The Profile Of Alopecia Areata And The Prevalence Of Thyroid Function Test Abnormalities And Serum Autoantibodies In Iranian Patients. *BMC Dermatol*. 2005;5:11.
 83. Kasumagić-Halilović E. Thyroid Autoimmunity In Patients With Alopecia Areata. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2008;16(3):123–5.
 84. Wang S, Shohat T, Vadheim C. Increased Risk For Type I (Insulin-Dependent) Diabetes In Relatives Of Patients With Alopecia Areata (AA). *Am J Med Genet*. 1994;51(3):234–9.
 85. Goh C, Finkel M, Christos P. Profile Of 513 Patients With Alopecia Areata: Associations Of

- Disease Subtypes With Atopy, Autoimmune Disease And Positive Family History. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2006;20(9):1055–60.
86. Du Vivier A, Munro D. Alopecia Areata, Autoimmunity, And Down's Syndrome. *Br Med J*. 1975;1(5951):191–2.
 87. Collins S, Dominguez M, Ilmarinen T. Dermatological Manifestations Of Autoimmune Polyendocrinopathy–Candidiasis–Ectodermal Dystrophy Syndrome. *Br J Dermatol*. 2006;154(6):1088–93.
 88. Barahmani N, Schabath M, Duvic M. History Of Atopy Or Autoimmunity Increases Risk Of Alopecia Areata. *J Am Acad Dermatol*. 2009;61(4):581–91.
 89. Ruiz-Doblado S, Carrizosa A. Alopecia Areata: Psychiatric Comorbidity And Adjustment To Illness. *Int J Dermatol*. 2003;42(6):434–7.
 90. Abraham LS, Torres FN, Azulay-Abulafia L. Dermoscopic Clues To Distinguish Trichotillomania From Patchy Alopecia Areata. *An Bras Dermatol*. 2010;85(5):723–6.
 91. Rudnicka L, Rakowska A, Kerzeja M, Olszewska M. Hair Shafts In Trichoscopy: Clues For Diagnosis Of Hair And Scalp Diseases. *Dermatol Clin*. 2013;31(4):695–708.
 92. Rudnicka L, Olszewska M, Rakowska A, Slowinska M. Trichoscopy Update. *J Dermatol Case Rep*. 2011;5(4):82–8.
 93. Weedon D. Diseases Of Cutaneous Appendages. *Weedon's Skin Pathology*. 2010. s. 397–440.e34.
 94. Messenger A, Bleehen S. Alopecia Areata: Light And Electron Microscopic Pathology Of The Regrowing White Hair. *Br J Dermatol*. 1984;110(2):155–62.
 95. Thies W. Comparative Histologic Studies In Alopecia Areata And Scar-Atrophy Alopecia. *Arch Klin Exp Dermatol*. 1966;227(1):541–9.
 96. Todes-Taylor N, Turner R, Wood G, Stratte P. T Cell Subpopulations In Alopecia Areata. *J Am Acad Dermatol*. 1984;11(2 Pt 1):216–23.
 97. Elston D, McCollough M, Bergfeld W. Eosinophils In Fibrous Tracts And Near Hair Bulbs: A Helpful Diagnostic Feature Of Alopecia Areata. *J Am Acad Dermatol*. 1997;37(1):101–6.
 98. MacDonald Hull SP, Wood ML, Hutchinson PE, Sladden M, Messenger AG. Guidelines for the management of alopecia areata. *Br J Dermatol*. 2003;149(4):692–9.
 99. Mandt N, Vogt A, Blume-Peytavi U. Differential Diagnosis Of Hair Loss In Children. *J Ger Soc Dermatol*. 2004;2(6):399–411.
 100. Rakowska A, Slowinska M, Olszewska M, Rudnicka L. New Trichoscopy Findings In

- Trichotillomania: Flame Hairs, V-Sign, Hook Hairs, Hair Powder, Tulip Hairs. *Acta Dermatol Venereol*. 2014;94(3):303–6.
101. Malkud S. Telogen Effluvium: A Review. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(9):WE01-3.
 102. Simpson NB. Hair Patterns: Hirsuties And Androgenetic Alopecia: The Diseases Of The Hair And Scalp. Oxford Blackwell Sci. 1997;95–101.
 103. Kaliyadan F, Nambiar A, Vijayaraghavan S. Androgenetic Alopecia: An Update. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2013;79(5):613.
 104. Inui S. Trichoscopy For Common Hair Loss Diseases: Algorithmic Method For Diagnosis. *J Dermatol*. 2011;38(1):71–5.
 105. Ye Y, Zhao Y, Gong Y, Zhang X, Caulloo S, Zhang B, et al. Non-Scarring Patchy Alopecia In Patients With Systemic Lupus Erythematosus Differs From That Of Alopecia Areata. *Lupus*. 2013;22(14):1439–45.
 106. Fernández-Crehuet P, Vaño-Galván S, Martorell-Calatayud A, Arias-Santiago S, Grimalt R, Camacho-Martínez FM. Clinical And Trichoscopic Characteristics Of Temporal Triangular Alopecia: A Multicenter Study. *J Am Acad Dermatol*. 2016;75(3):634–7.
 107. Messenger A, McKillop J, Farrant P. Guidelines For The Management Of Alopecia Areata. *Br J Dermatol*. 2012;166(5):916–26.
 108. Alkhalifah A, Alsantali A, Wang E, McElwee KJ, Shapiro J. Alopecia Areata Update. Part II. Treatment. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62(2):191–202.
 109. Delamere FM, Sladden MM, Dobbins HM, Leonardo BJ. Interventions For Alopecia Areata. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;16(2):CD004413.
 110. Amirnia M, Mahmoudi SS, Karkon-Shayan F, Alikhah H, Piri R, Naghavi-Behzad M, et al. Comparative Study Of Intralesional Steroid Injection And Cryotherapy In Alopecia Areata. *Niger Med J*. 2015;56(4):249.
 111. Charuwichitratana S, Wattanakrai P, Tanrattanakorn S. Randomized double-blind placebo-controlled trial in the treatment of alopecia areata with 0.25% desoximetasone cream. *Arch Dermatol*. 2000;136(10):1276–7.
 112. Tosti A, Piraccini BM, Pazzaglia M, Vincenzi C. Clobetasol Propionate 0.05% Under Occlusion In The Treatment Of Alopecia Totalis/Universalis. *J Am Acad Dermatol*. 2003;49(1):96–8.
 113. Tosti A, Iorizzo M, Botta GL, Milani M. Efficacy And Safety Of A New Clobetasol Propionate 0.05% Foam In Alopecia Areata: A Randomized, Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2006;20(10):1243–7.

114. Price VH. Double-Blind, Placebo-Controlled Evaluation Of Topical Minoxidil In Extensive Alopecia Areata. *J Am Acad Dermatol*. 1987;16(3 Pt 2):730–6.
115. Tang L, Cao L, Sundberg JP, Lui H, Shapiro J. Restoration Of Hair Growth In Mice With An Alopecia Areata-Like Disease Using Topical Anthralin. *Exp Dermatol*. 2004;13(1):5–10.
116. Durdu M, Özcan D, Baba M, Seçkin D. Efficacy And Safety Of Diphenylcyclopropenone Alone Or In Combination With Anthralin In The Treatment Of Chronic Extensive Alopecia Areata: A Retrospective Case Series. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72(4):640–50.
117. Happle R. Antigenic Competition As A Therapeutic Concept For Alopecia Areata. *Arch Dermatol Res*. 1980;267(1):109–14.
118. Hoffmann R, Wenzel E, Huth A, Van der Steen P, Schäufele M, Henninger HP, et al. Cytokine mRNA Levels In Alopecia Areata Before And After Treatment With The Contact Allergen Diphenylcyclopropenone. *J Invest Dermatol*. 1994;103(4):530–3.
119. Ross EK, Bolduc C, Lui H, Shapiro J. Lack Of Efficacy Of Topical Latanoprost In The Treatment Of Eyebrow Alopecia Areata. *J Am Acad Dermatol*. 2005;53(6):1095–6.
120. Price VH, Willey A, Chen BK. Topical Tacrolimus In Alopecia Areata. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52(1):138–9.
121. Talpur R, Vu J, Bassett R, Stevens V, Duvic M. Phase I/II Randomized Bilateral Half-Head Comparison Of Topical Bexarotene 1% Gel For Alopecia Areata. *J Am Acad Dermatol*. 2009;61(4):592.e1-9.
122. Hordinsky M, Ericson M. Autoimmunity: Alopecia Areata. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2004;9(1):73–8.
123. Ehsani A, Toosi S, Seirafi H, Akhyani M. Capsaicin vs. Clobetasol For The Treatment Of Localized Alopecia Areata. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009;23(12):1451–3.
124. Kurosawa M, Nakagawa S, Mizuashi M, Sasaki Y, Kawamura M, Saito M, et al. A Comparison Of The Efficacy, Relapse Rate And Side Effects Among Three Modalities Of Systemic Corticosteroid Therapy For Alopecia Areata. *Dermatology*. 2006;212(4):361–5.
125. Friedli A, Labarthe MP, Engelhardt E, Feldmann R, Salomon D, Saurat JH. Pulse Methylprednisolone Therapy For Severe Alopecia Areata: An Open Prospective Study Of 45 Patients. *J Am Acad Dermatol*. 1998;39(4 Pt 1):597–602.
126. Kar BR, Handa S, Dogra S, Kumar B. Placebo-Controlled Oral Pulse Prednisolone Therapy In Alopecia Areata. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52(2):287–90.
127. Açıkgöz G, Özmen İ, Çayırılı M, Yeniay Y, Köse O. Pulse Methylprednisolone Therapy For The Treatment Of Extensive Alopecia Areata. *J Dermatolog Treat*. 2014;25(2):164–6.

128. Taylor CR, Hawk JL. PUVA Treatment Of Alopecia Areata Partialis, Totalis And Universalis: Audit Of 10 Years' Experience At St John's Institute Of Dermatology. *Br J Dermatol.* 1995;133(6):914–8.
129. Sahin S, Yalçın B, Karaduman A. PUVA Treatment For Alopecia Areata. Experience In A Turkish Population. *Dermatology.* 1998;197(3):245–7.
130. Al-Mutairi N. 308-nm Excimer Laser For The Treatment Of Alopecia Areata In Children. *Pediatr Dermatol.* 2009;26(5):547–50.
131. Al-Mutairi N. 308-nm Excimer Laser For The Treatment Of Alopecia Areata. *Dermatol Surg.* 2007;33(12):1483–7.
132. Hsu TC, Lin TK, Hsu CK, Jou HJ, Yang CC. Excimer Lamp As An Effective Alternative Treatment For Severe Alopecia Areata. *Dermatologica Sin.* 2015;33(3):151–3.
133. Waiz M, Saleh AZ, Hayani R, Jubory SO. Use Of The Pulsed Infrared Diode Laser (904 nm) In The Treatment Of Alopecia Areata. *J Cosmet Laser Ther.* 2006;8(1):27–30.
134. Fernández-Guarino M, Harto A, García-Morales I, Pérez-García B, Arrazola JM, Jaén P. Failure To Treat Alopecia Areata With Photodynamic Therapy. *Clin Exp Dermatol.* 2008;33(5):585–7.
135. Bissonnette R, Shapiro J, Zeng H, Mclean DI, Lui H. Topical Photodynamic Therapy With 5-Aminolaevulinic Acid Does Not Induce Hair Regrowth In Patients With Extensive Alopecia Areata. *Br J Dermatol.* 2000;143(5):1032–5.
136. Kim BJ, Uk MS, Park KY, Choi JW, Park SW, Youn SW, et al. Combination Therapy Of Cyclosporine And Methylprednisolone On Severe Alopecia Areata. *J Dermatolog Treat.* 2008;19(4):216–20.
137. Davies MG, Bowers PW. Alopecia Areata Arising In Patients Receiving Cyclosporin Immunosuppression. *Br J Dermatol.* 2006;132(5):835–6.
138. Açıkgöz G, Çalışkan E, Tunca M, Yeniay Y, Akar A. The Effect Of Oral Cyclosporine In The Treatment Of Severe Alopecia Areata. *Cutan Ocul Toxicol.* 2014;33(3):247–52.
139. Gupta AK, Carviel J, Abramovits W. Treating Alopecia Areata: Current Practices Versus New Directions. *Am J Clin Dermatol.* 2016;18(1):67–75.
140. Hammerschmidt M, Brenner FM. Efficacy And Safety Of Methotrexate In Alopecia Areata . *An Bras Dermatol.* 2014;89(5):729–34.
141. Joly P. The Use Of Methotrexate Alone Or In Combination With Low Doses Of Oral Corticosteroids In The Treatment Of Alopecia Totalis Or Universalis. *J Am Acad Dermatol.* 2006;55(4):632–6

142. Fabre C, Dereure O. Worsening Alopecia Areata And De Novo Occurrence Of Multiple Halo Nevi In A Patient Receiving Infliximab. *Dermatology*. 2008;216(2):185–6.
143. Posten W, Swan J. Recurrence Of Alopecia Areata In A Patient Receiving Etanercept Injections. *Arch Dermatol*. 2005;141(6):759–60.
144. Bolduc C, Bissonnette R. Safety And Efficacy Of Adalimumab For The Treatment Of Severe Alopecia Areata: Case Series Of Three Patients. *J Cutan Med Surg*. 2012;16(4):257–60.
145. Strober BE, Siu K, Alexis AF, Kim G, Washenik K, Sinha A, et al. Etanercept Does Not Effectively Treat Moderate To Severe Alopecia Areata: An Open-Label Study. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52(6):1082–4.
146. Price VH, Hordinsky MK, Olsen EA, Roberts JL, Siegfried EC, Rafal ES, et al. Subcutaneous Efalizumab Is Not Effective In The Treatment Of Alopecia Areata. *J Am Acad Dermatol*. 2008;58(3):395–402.
147. Aghaei S. An uncontrolled, open label study of sulfasalazine in severe alopecia areata. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2008;74(6):611-3
148. Namazi MR. Statins: Novel Additions To The Dermatologic Arsenal? *Exp Dermatol*. 2004;13(6):337–9.
149. Krysiak R, Zmuda W, Okopien B. The Effect Of Ezetimibe, Administered Alone Or In Combination With Simvastatin, On Lymphocyte Cytokine Release In Patients With Elevated Cholesterol Levels. *J Intern Med*. 2012;271(1):32–42.
150. Lattouf C, Jimenez J, Tosti A, Miteva M. Treatment Of Alopecia Areata With Simvastatin/Ezetimibe. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72(2):359–61.
151. Robins DN. Alopecia Universalis: Hair Growth Following Initiation Of Simvastatin And Ezetimibe Therapy. *J Drugs Dermatol*. 2007;6(9):946–7.
152. Ali A, Martin JM. Hair Growth In Patients Alopecia Areata Totalis After Treatment With Simvastatin And Ezetimibe. *J Drugs Dermatol*. 2010;9(1):62–4.
153. Ortiz-Ibáñez K, Alsina MM, Muñoz-Santos C. Tofacitinib And Other Kinase Inhibitors In The Treatment Of Psoriasis. *Actas Dermo-Sifiliográficas* 2013;104(4):304–10.
154. Hordinsky MK. Current Treatments For Alopecia Areata. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2015;17(2):44–6.
155. Mirzoyev S, Davis M, Torgerson R. Incidence Of Alopecia Areata In Olmsted County, Minnesota 1990-2009. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(4 SUPPL. 1):AB106.

156. Tosti A, Bellavista S, Iorizzo M. Alopecia Areata: A Long Term Follow-Up Study Of 191 Patients. *J Am Acad Dermatol*. 2006;55(3):438–41.
157. Walker SA, Rothman S. Alopecia Areata: A Statistical Study And Consideration Of Endocrine Influences. *J Invest Dermatol*. 1950;14(6):403–13.
158. Moll I, Roessler M, Brandner JM, Eispert AC, Houdek P, Moll R. Human Merkel cells - Aspects Of Cell Biology, Distribution And Functions. *Eur J Cell Biol*. 2005;84(2–3):259–71.
159. Lucarz A, Brand G. Current Considerations About Merkel Cells. *Eur J Cell Biol*. 2007;86(5):243–51.
160. Halata Z, Grim M, Bauman KI. Fridriech Sigmund Merkel And His "Merkel Cell", Morphology, Development, And Physiology: Review And New Results. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2003;271(1):225–39.
161. Toyoshima K, Seta Y, Nakashima T, Shimamura A. Occurrence Of Melanosome-Containing Merkel Cells In Mammalian Oral Mucosa. *Acta Anat (Basel)*. 1993;147(3):145–8.
162. García-Caballero T, Gallego R, Rosón E, Fraga M, Beiras A. Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Immunoreactivity In The Neuroendocrine Merkel Cells And Nerve Fibres Of Pig And Human Skin. *Histochemistry*. 1989;92(2):127–32.
163. Alvarez FJ, Cervantes C, Villalba R, Blasco I, Martínez-Murillo R, Polak JM, et al. Immunocytochemical Analysis Of Calcitonin Gene-Related Peptide And Vasoactive Intestinal Polypeptide In Merkel Cells And Cutaneous Free Nerve Endings Of Cats. *Cell Tissue Res*. 1988;254(2):429–37.
164. Chew SB, Leung PY. Immunocytochemical Evidence Of A Met-Enkephalin-Like Substance In The Dense-Core Granules Of Mouse Merkel Cells. *Cell Tissue Res*. 1991;265(3):611–4.
165. Tachibana T, Endoh M, Fujiwara N, Nawa T. Receptors And Transporter For Serotonin In Merkel Cell-Nerve Endings In The Rat Sinus Hair Follicle. An Immunohistochemical Study. *Arch Histol Cytol*. 2005;68(1):19–28.
166. Hartschuh W, Weihe E, Yanaihara N. Immunohistochemical Analysis Of Chromogranin A And Multiple Peptides In The Mammalian Merkel Cell: Further Evidence For Its Paraneuronal Function? *Arch Histol Cytol*. 1989;52 Suppl:423–31.
167. Fantini F, Johansson O. Neurochemical Markers In Human Cutaneous Merkel Cells. An Immunohistochemical Investigation. *Exp Dermatol*. 1995;4(6):365–71.
168. Wollina U, Mahrle G. Epidermal Merkel Cells In Psoriatic Lesions: Immunohistochemical

- Investigations On Neuroendocrine Antigen Expression. *J Dermatol Sci.* 1992;3(3):145–50.
169. Hartschuh W, Weihe E. Fine Structural Analysis Of The Synaptic Junction Of Merkel Cell-Axon-Complexes. *J Invest Dermatol.* 1980;75(2):159–65.
 170. Rickelt S, Moll I, Franke WW. Intercellular Adhering Junctions With An Asymmetric Molecular Composition: Desmosomes Connecting Merkel Cells And Keratinocytes. *Cell Tissue Res.* 2011;346(1):65–77.
 171. Tachibana T, Kamegai T, Takahashi N, Nawa T. Evidence For Polymorphism Of Merkel Cells In The Adult Human Oral Mucosa. *Arch Histol Cytol.* 1998;61(2):115–24.
 172. Fradette J, Larouche D, Fugère C, Guignard R, Beauparlant A, Couture V, et al. Normal Human Merkel Cells Are Present In Epidermal Cell Populations Isolated And Cultured From Glabrous And Hairy Skin Sites. *J Invest Dermatol.* 2003;120(2):313–7.
 173. Kim DK, Holbrook KA. The Appearance, Density, And Distribution Of Merkel Cells In Human Embryonic And Fetal Skin: Their Relation To Sweat Gland And Hair Follicle Development. *J Invest Dermatol.* 1995;104(3):411–6.
 174. Kanitakis J, Bouchany D, Faure M, Claudy A. Merkel Cells In Hyperplastic And Neoplastic Lesions Of The Skin. An Immunohistochemical Study Using An Antibody To Keratin 20. *Dermatology.* 1998;196(2):208–12.
 175. Moll I, Kuhn C, Moll R. Cytokeratin 20 Is A General Marker Of Cutaneous Merkel Cells While Certain Neuronal Proteins Are Absent. *J Invest Dermatol.* 1995;104(6):910–5.
 176. Kingsmill VJ, Berkovitz BK, Barrett AW. An Immunohistochemical Analysis Of Human Merkel Cell Density In Gingival Epithelium From Dentate And Edentulous Subjects. *Arch Oral Biol.* 2005;50(10):883–7.
 177. Moll R, Löwe A, Laufer J, Franke WW. Cytokeratin 20 In Human Carcinomas. A New Histodiagnostic Marker Detected By Monoclonal Antibodies. *Am J Pathol.* 1992;140(2):427–47.
 178. Xiao Y, Williams JS, Brownell I. Merkel Cells And Touch Domes: More Than Mechanosensory Functions? *Exp Dermatol.* 2014;23(10):692–5.
 179. Boulais N, Misery L. Merkel Cells. *J Am Acad Dermatol.* 2007;57(1):147–65.
 180. Winkelmann RK. The Merkel Cell System And A Comparison Between It And The Neurosecretory Or APUD Cell System. *J Invest Dermatol.* 1977;69(1):41–6.
 181. Grim M, Halata Z. Developmental Origin Of Avian Merkel Cells. *Anat Embryol.* 2000;202(5):401–10.

182. Szeder V, Grim M, Halata Z, Sieber-Blum M. Neural Crest Origin Of Mammalian Merkel Cells. *Dev Biol.* 2003;253(2):258–63.
183. Halata Z, Kucera J, Kucera T, Grim M. Apoptosis Of Merkel Cells In Neurotrophin-3 Null Mice. *Anat Embryol.* 2005;209(4):335–40.
184. Szeder V, Grim M, Kucera J, Sieber-Blum M. Neurotrophin-3 Signaling In Mammalian Merkel Cell Development. *Dev Dyn.* 2003;228(4):623–9.
185. Sieber-Blum M, Szeder V, Grim M. The Role Of NT-3 Signaling In Merkel Cell Development. *Progress In Brain Research.* 2004. s. 63–72.
186. Morrison KM, Miesegaes GR, Lumpkin EA, Maricich SM. Mammalian Merkel Cells Are Descended From The Epidermal Lineage. *Dev Biol.* 2009;336(1):76–83.
187. Moll I, Moll R, Franke WW. Formation Of Epidermal And Dermal Merkel Cells During Human Fetal Skin Development. *J Invest Dermatol.* 1986;87(6):779–87.
188. Narisawa Y, Hashimoto K, Nihei Y, Pietruk T. Biological Significance Of Dermal Merkel Cells In Development Of Cutaneous Nerves In Human Fetal Skin. *J Histochem Cytochem.* 1992;40(1):65–71.
189. Moll I, Lane AT, Franke WW, Moll R. Intraepidermal Formation Of Merkel Cells In Xenografts Of Human Fetal Skin. *J Invest Dermatol.* 1990;94(3):359–64.
190. Perdigoto CN, Bardot ES, Valdes VJ, Santoriello FJ, Ezhkova E. Embryonic Maturation Of Epidermal Merkel Cells Is Controlled By A Redundant Transcription Factor Network. *Development.* 2014;141(24):4690–6.
191. Parisi I, Martin CJ. Regulation Of Merkel Cell Development By Pax6. *Int J Dev Biol.* 2012;56(5):341–50.
192. Fleming MS, Luo W. The Anatomy, Function, And Development Of Mammalian A β Low-Threshold Mechanoreceptors. *Front Biol.* 2013;8(4):408–20.
193. Hartschuh W, Grube D. The Merkel Cell-A Member Of The APUD Cell System. Fluorescence And Electron Microscopic Contribution To The Neurotransmitter Function Of The Merkel Cell Granules. *Arch Dermatol Res.* 1979;265(2):115–22.
194. Taira K, Narisawa Y, Nakafusa J, Misago N, Tanaka T. Spatial Relationship Between Merkel Cells And Langerhans Cells In Human Hair Follicles. *J Dermatol Sci.* 2002;30(3):195–204.
195. Misery L, Gaudillère A. Merkel Cell And Neuro-Cutaneous System. *Pathol Biol (Paris).* 1996;44(10):849–55.

196. <https://clinicalgate.com/skin-and-its-appendages/>.
197. Haeberle H, Fujiwara M, Chuang J, Medina MM, Panditrao MV, Bechstedt S, et al. Molecular Profiling Reveals Synaptic Release Machinery In Merkel Cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101(40):14503–8.
198. Takahashi-Iwanaga H, Abe K. Scanning Electron Microscopic Observation Of Merkel Cells In The Lamprey Epidermis. *Kaibogaku Zasshi*. 2001;76(4):375–80.
199. Baumann KI, Chan E, Halata Z, Senok SS, Yung WH. An Isolated Rat Vibrissal Preparation With Stable Responses Of Slowly Adapting Mechanoreceptors. *Neurosci Lett*. 1996;213(1):1–4.
200. Maricich SM, Morrison KM, Mathes EL, Brewer BM. Rodents Rely On Merkel Cells For Texture Discrimination Tasks. *J Neurosci*. 2012;32(10):3296–300.
201. Tazaki Y, Tazaki M, Inoue T, Shimono M. Scanning And Transmission Electron Microscopic Observation Of Changes In Cylindrical Cytoplasmic Processes Of Isolated Single Merkel Cell. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2011;52(2):69–76.
202. Haeberle H, Bryan LA, Vadakkan TJ, Dickinson ME, Lumpkin EA. Swelling-Activated Ca²⁺ Channels Trigger Ca²⁺ Signals In Merkel Cells. *PLoS One*. 2008;3(3):e1750.
203. Cha M, Ling J, Xu G, Gu JG, Cha M, Ling J, et al. Shear Mechanical Force Induces An Increase Of Intracellular Ca²⁺ In Cultured Merkel Cells Prepared From Rat Vibrissal Hair Follicles Shear Mechanical Force Induces An Increase Of Intracellular Ca²⁺ In Cultured Merkel Cells Prepared From Rat Vibrissal . *J Neurophysiol*. 2011;106:460–9.
204. Nakatani M, Maksimovic S, Baba Y, Lumpkin E. Mechanotransduction In Epidermal Merkel Cells. *Pflügers Arch*. 2015;467(1):101–8.
205. Kücken M, Champod C. Merkel Cells And The Individuality Of Friction Ridge Skin. *J Theor Biol*. 2013;317:229–37.
206. Irmak MK. Multifunctional Merkel Cells: Their Roles In Electromagnetic Reception, Finger-Print Formation, Reiki, Epigenetic Inheritance And Hair Form. *Med Hypotheses*. 2010;75(2):162–8.
207. Ramírez GA, Rodríguez F, Herráez P, Castro-Alonso A, Andrada M, Espinosa-de-los-Monteros A. Ultrastructural Characterization Of Normal Merkel Cells In The Dog. *Vet Dermatol*. 2015;26(5):328-e69.
208. Merot Y, Mooy A. Merkel Cell Hyperplasia In Hypertrophic Varieties Of Actinic Keratoses. *Dermatologica*. 1989;178(4):189–93.
209. Regazzini R, De Filippi C. Merkel Cell Hyperplasia In Circumscribed Neurodermatitis: A

- Quantitative Study. *Eur J Dermatol*. 1995;5:326–9.
210. Nahass GT, Penneys NS. Merkel Cells And Prurigo Nodularis. *J Am Acad Dermatol*. 1994;31(1):86–8.
 211. Hartschuh W, Schulz T. Merkel Cell Hyperplasia In Chronic Radiation-Damaged Skin: Its Possible Relationship To Fibroepithelioma Of Pinkus. *J Cutan Pathol*. 1997;24(8):477–83.
 212. Schulz T, Hartschuh W. Merkel Cells In Nevus Sebaceus. An Immunohistochemical Study. *Am J Dermatopathol*. 1995;17(6):570–9.
 213. Schulz T, Hartschuh W. Merkel Cells Are Absent In Basal Cell Carcinomas But Frequently Found In Trichoblastomas. An Immunohistochemical Study. *J Cutan Pathol*. 1997;24(1):14–24.
 214. Moll R, Osborn M, Hartschuh W, Moll I, Mahrle G, Weber K. Variability Of Expression And Arrangement Of Cytokeratin And Neurofilaments In Cutaneous Neuroendocrine Carcinomas (Merkel Cell Tumors): Immunocytochemical And Biochemical Analysis Of Twelve Cases. *Ultrastruct Pathol*. 1986;10(6):473–95.
 215. Hartschuh W. Merkel Cells Are Integral Constituents Of Desmoplastic Trichoepithelioma: An Immunohistochemical And Electron Microscopic Study. *J Cutan Pathol*. 1995;22(5):413–21.
 216. Mérot Y, Didierjean L, Faucher F, Chavaz P, Saurat J-H. Antibodies To Merkel Cells In Human Sera: Incidence And Significance. *J Am Acad Dermatol*. 1984;11(4):568–75.
 217. Kanitakis J, Bouchany D, Faure M, Claudy A. Merkel Cells In Hyperplastic And Neoplastic Lesions Of The Skin. An Immunohistochemical Study Using An Antibody To Keratin 20. *Dermatology*. 1998;196(2):208–12.
 218. Clark DA, Keil A, Chen Z, Markert U, Manuel J, Gorczynski RM. Placental Trophoblast From Successful Human Pregnancies Expresses The Tolerance Signaling Molecule, CD200 (OX-2). *Am J Reprod Immunol*. 2003;50(3):187–95.
 219. Barclay AN, Wright GJ, Brooke G, Brown MH. CD200 And Membrane Protein Interactions In The Control Of Myeloid Cells. *Trends Immunol*. 2002;23(6):285–90.
 220. Barclay AN, Clark MJ, McCaughan GW. Neuronal/Lymphoid Membrane Glycoprotein MRC OX-2 Is A Member Of The Immunoglobulin Superfamily With A Light-Chain-Like Structure. *Biochem Soc Symp*. 1986;51:149–57.
 221. Rosenblum MD, Yancey KB, Olasz EB, Truitt RL. CD200, A “No Danger” Signal For Hair Follicles. *J Dermatol Sci*. 2006;41(3):165–74.
 222. Zhang S, Cherwinski H, Sedgwick JD, Phillips JH. Molecular Mechanisms Of CD200

- Inhibition Of Mast Cell Activation. *J Immunol* . 2004;173(11):6786–93.
223. Gorczynski RM, Yu K, Clark D. Receptor Engagement On Cells Expressing A Ligand For The Tolerance-Inducing Molecule OX2 Induces An Immunoregulatory Population That Inhibits Alloreactivity In Vitro And In Vivo. *J Immunol*. 2000;165(9):4854–60.
 224. Hoek RM, Ruuls SR, Murphy CA, Wright GJ, Goddard R, Zurawski SM, et al. Down-regulation Of The Macrophage Lineage Through Interaction With OX2 (CD200). *Science*. 2000;290(5497):1768–71.
 225. Cameron CM, Barrett JW, Liu L, Lucas AR, McFadden G. Myxoma Virus M141R Expresses A Viral CD200 (Vox-2) That Is Responsible For Down-Regulation Of Macrophage And T-Cell Activation In Vivo. *J Virol*. 2005;79(10):6052–67.
 226. Gorczynski RM. Transplant Tolerance Modifying Antibody To CD200 Receptor, But Not CD200, Alters Cytokine Production Profile From Stimulated Macrophages. *Eur J Immunol*. 2001;31(8):2331–7.
 227. Fallarino F, Asselin-Paturel C, Vacca C, Bianchi R, Gizzi S, Fioretti MC, et al. Murine Plasmacytoid Dendritic Cells Initiate The Immunosuppressive Pathway Of Tryptophan Catabolism In Response To CD200 Receptor Engagement. *J Immunol*. 2004;173(6):3748–54.
 228. Takashima A. UVB-Dependent Modulation Of Epidermal Cytokine Network: Roles In UVB-Induced Depletion Of Langerhans Cells And Dendritic Epidermal T Cells. *J Dermatol*. 1995;22(11):876–87.
 229. Rosenblum MD, Olsaz E, Woodliff JE, Johnson BD, Konkol MC, Gerber KA, et al. CD200 Is A Novel P53-Target Gene Involved In Apoptosis-Associated Immune Tolerance. *Blood*. 2004;103(7):2691–8.
 230. Rosenblum MD, Olsaz EB, Yancey KB, Woodliff JE, Lazarova Z, Gerber KA, et al. Expression Of CD200 On Epithelial Cells Of The Murine Hair Follicle: A Role In Tissue-Specific Immune Tolerance? *J Invest Dermatol*. 2004;123(5):880–7.
 231. Tumber T, Guasch G, Greco V, Blanpain C, Lowry WE, Rendl M, et al. Defining The Epithelial Stem Cell Niche In Skin. *Science*. 2004;303(5656):359–63.
 232. Paus R, Nickoloff BJ, Ito T. A “Hairy” Privilege. *Trends Immunol*. 2005;26(1):32–40.
 233. Matzinger P. The Danger Model: A Renewed Sense Of Self. *Science*. 2002;296(5566):301–5.
 234. Colmont CS, Benketah A, Reed SH, Hawk N V, Telford WG, Ohshima M, et al. CD200-Expressing Human Basal Cell Carcinoma Cells Initiate Tumor Growth. *Proc Natl Acad Sci*

- USA. 2013;110(4):1434–9.
235. Belkin DA, Mitsui H, Wang CQ, Gonzalez J, Zhang S, Shah KR, et al. CD200 Upregulation In Vascular Endothelium Surrounding Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *JAMA Dermatol.* 2013;149(2):178.
 236. Yalcin AD, Genc GE, Celik B, Gumuslu S. Anti-IgE Monoclonal Antibody (Omalizumab) Is Effective In Treating Bullous Pemphigoid And Its Effects On Soluble CD200. *Clin Lab.* 2014;60(3):523–4.
 237. Akman-Karakaş A, Yalcin AD, Koç S, Gumuslu S, Ergun E, Genc GE, et al. Serum Soluble CD200 Level Was Higher In Patients With Bullous Pemphigoid During The Active Phase Of The Disease Than For Healthy Individuals. *Clin Lab.* 2014;60(7):1237–40.
 238. Alpsoy E. There Might Be A Role For CD200 In The Pathogenesis Of Autoimmune And Inflammatory Skin Disorders. *Med Sci Monit.* 2013;19:888–91.
 239. Kouno M, Lin C, Schechter NM, Siegel D, Yang X, Seykora JT, et al. Targeted Delivery Of Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand To Keratinocytes With A Pemphigus mAb. *J Invest Dermatol.* 2013;133(9):2212–20.
 240. Harries MJ, Meyer K, Chaudhry I, E Kloepper J, Poblet E, Griffiths CEM, et al. Lichen Planopilaris Is Characterized By Immune Privilege Collapse Of The Hair Follicle's Epithelial Stem Cell Niche. *J Pathol.* 2013;231(2):236–47.
 241. Sellheyer K. Spiradenoma And Cylindroma Originate From The Hair Follicle Bulge And Not From The Eccrine Sweat Gland: An Immunohistochemical Study With CD200 And Other Stem Cell Markers. *J Cutan Pathol.* 2015;42(2):90–101.
 242. Talebian F, Liu J-Q, Liu Z, Khattabi M, He Y, Ganju R, et al. Melanoma Cell Expression Of CD200 Inhibits Tumor Formation And Lung Metastasis Via Inhibition Of Myeloid Cell Functions. *PLoS One.* 2012;7(2):e31442.
 243. Yalcin AD, Karakas AA, Soykam G, Gorczynski RM, Sezer CEM, Bisgin A, et al. A Case Of Toxic Epidermal Necrolysis With Diverse Etiologies: Successful Treatment With Intravenous Immunoglobulin And Pulse Prednisolone And Effects On sTRAIL And SCD200 Levels. *Clin Lab.* 2013;59(5–6):681–5.
 244. Garza LA, Yang C, Zhao T, Blatt HB, Lee M, He H, et al. Bald Scalp In Men With Androgenetic Alopecia Retains Hair Follicle Stem Cells But Lacks CD200-Rich And CD34-Positive Hair Follicle Progenitor Cells. *J Clin Invest.* 2011;121(2):613–22.
 245. Chumlea WC, Rhodes T, Girman CJ, Johnson-Levonas A, Lilly FRW, Wu R, et al. Family History And Risk Of Hair Loss. *Dermatology.* 2004;209(1):33–9.

- 246. Severi G, Sinclair R, Hopper JL, English DR, McCredie MRE, Boyle P, et al. Epidemiology And Health Services Research Androgenetic Alopecia In Men Aged 40-69 Years: Prevalence And Risk Factors. *Br J Dermatol*. 2003;149(6):1207–13.
- 247. Ramos PM, Miot HA. Female Pattern Hair Loss: A Clinical And Pathophysiological review. *An Bras Dermatol*. 2015;90(4):529–43.
- 248. Fradette J, Larouche D, Fugère C, Guignard R, Beauparlant A, Couture V, et al. Normal Human Merkel Cells Are Present In Epidermal Cell Populations Isolated And Cultured From Glabrous And Hairy Skin Sites. *J Invest Dermatol*. 2003;120(2):313–7.



EKLER

EK 1. CK20 Antikoruna Ait Özellikler

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Cytokeratin 20

Product Code: NCL-L-CK20-561

Intended Use

For in vitro diagnostic use.

NCL-L-CK20-561 is intended for the qualitative identification by light microscopy of Cytokeratin 20 molecules in paraffin sections. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Principle of Procedure

Immunohistochemical (IHC) staining techniques allow for the visualization of antigens via the sequential application of a specific antibody to the antigen (primary antibody), a secondary antibody to the primary antibody and an enzyme complex with a chromogenic substrate with interposed washing steps. The enzymatic activation of the chromogen results in a visible reaction product at the antigen site. The specimen may then be counterstained and coverslipped. Results are interpreted using a light microscope and aid in the differential diagnosis of pathophysiological processes, which may or may not be associated with a particular antigen.

Clone

PW31

Immunogen

Prokaryotic recombinant protein corresponding to a 70 amino acid component of the N-terminal region of the cytokeratin 20 intermediate filament protein.

Specificity

Human cytokeratin 20 intermediate filament protein.

Reagent Composition

NCL-L-CK20-561 is a liquid tissue culture supernatant containing 15 mM sodium azide as a preservative.

Ig Class

IgG1

Total Protein Concentration Total Protein

1.0–8.0 g/L. Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

Antibody Concentration

Greater than or equal to 37 mg/L as determined by ELISA. Refer to vial label for batch specific Ig concentration.

Recommendations On Use

Immunohistochemistry (see D. Methodology) on paraffin sections. Suggested dilution: 1:100 for 30 minutes at 25 °C. Heat induced epitope retrieval using Epitope Retrieval Solutions RE7113, RE7114 or RE7115. This is provided as a guide and users should determine their own optimal working dilutions.

Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not freeze. Return to 2–8 °C immediately after use. Do not use after expiration date indicated on the vial label. Storage conditions other than those specified above must be verified by the user.

Specimen Preparation

The recommended fixative is 10% neutral-buffered formalin for paraffin-embedded tissue sections.

Warnings and Precautions

This reagent has been prepared from the supernatant of cell culture. As it is a biological product, reasonable care should be taken when handling it.

The molarity of sodium azide in this reagent is 15 mM. A Material Safety Data Sheet (MSDS) is available upon request for sodium azide. Consult federal, state or local regulations for disposal of any potentially toxic components.

Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions.¹ Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents and specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.

Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.

Incubation times or temperatures, other than those specified, may give erroneous results. Any such changes must be validated by the user.

Quality Control

Differences in tissue processing and technical procedures in the user's laboratory may produce significant variability in results, necessitating regular performance of in-house controls in addition to the following procedures.

Controls should be fresh autopsy/biopsy/surgical specimens, formalin-fixed, processed and paraffin wax-embedded as soon as possible in the same manner as the patient sample(s).

Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques.

One positive tissue control should be included for each set of test conditions in each staining run.

A tissue with weak positive staining is more suitable than a tissue with strong positive staining for optimal quality control and to detect minor levels of reagent degradation.²

Recommended positive control tissue is small intestine.

If the positive tissue control fails to demonstrate positive staining, results with the test specimens should be considered invalid.

Negative Tissue Control

Should be examined after the positive tissue control to verify the specificity of the labeling of the target antigen by the primary antibody. Recommended negative control tissue is cerebellum.

Alternatively, the variety of different cell types present in most tissue sections frequently offers negative control sites, but this should be verified by the user.

Non-specific staining, if present, usually has a diffuse appearance. Sporadic staining of connective tissue may also be observed in sections from excessively formalin-fixed tissues. Use intact cells for interpretation of staining results. Necrotic or degenerated cells often stain non-specifically.³ False-positive results may be seen due to non-immunological binding of proteins or substrate reaction products. They may also be caused by endogenous enzymes such as pseudoperoxidase (erythrocytes), endogenous peroxidase (cytochrome C), or endogenous biotin (eg. liver, breast, brain, kidney) depending on the type of immunostain used. To differentiate endogenous enzyme activity or non-specific binding of enzymes from specific immunoreactivity, additional patient tissues may be stained exclusively with substrate chromogen or enzyme complexes (avidin-biotin, streptavidin, labeled polymer) and substrate-chromogen, respectively. If specific staining occurs in the negative tissue control, results with the patient specimens should be considered invalid.

Negative Reagent Control

Use a non-specific negative reagent control in place of the primary antibody with a section of each patient specimen to evaluate non-specific staining and allow better interpretation of specific staining at the antigen site.

Patient Tissue

Examine patient specimens stained with NCL-L-CK20-561 last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any non-specific background staining of the negative reagent control. As with any immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions.

Results Expected

Normal Tissues

Clone PW31 detects cytokeratin 20 in the cytoplasm of normal gastric, small and large bowel epithelium, urothelium and Merkel cells of the skin (n=100).

Abnormal Tissues

Clone PW31 stained carcinomas of the colon (60/65) and bladder (1/2) and a Merkel cell tumor. Focal immunostaining was seen in lung squamous cell carcinomas (3/7). It did not stain a range of other tumors (n=99), including breast carcinomas, renal clear cell carcinoma, prostate adenocarcinomas, pancreatic adenocarcinoma, endometrial carcinoma, thyroid carcinomas, lung small cell carcinomas and adenocarcinomas, melanomas and sarcomas.

NCL-L-CK20-561 is recommended for use as part of an antibody panel in the characterization of tumors originating from urothelium, intestinal epithelium and Merkel cells.

General Limitations

Immunohistochemistry is a multistep diagnostic process that consists of specialized training in the selection of the appropriate reagents; tissue selection, fixation, and processing; preparation of the IHC slide; and interpretation of the staining results.

Tissue staining is dependent on the handling and processing of the tissue prior to staining. Improper fixation, freezing, thawing, washing, drying, heating, sectioning or contamination with other tissues or fluids may produce artifacts, antibody trapping, or false negative results. Inconsistent results may be due to variations in fixation and embedding methods, or to inherent irregularities within the tissue.⁴ Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Antibodies from Leica Biosystems Newcastle Ltd are for use, as indicated, on either frozen or paraffin-embedded sections with specific fixation requirements. Unexpected antigen expression may occur, especially in neoplasms. The clinical interpretation of any stained tissue section must include morphological analysis and the evaluation of appropriate controls.

Bibliography - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Campbell F and Herrington CS. Application of cytokeratin 7 and 20 immunohistochemistry to diagnostic pathology. Current Diagnostic Pathology. 2001; 7:113-122.
6. Leech SN, Kolar AJO, Barrett PD, et al. Merkel cell carcinoma can be distinguished from metastatic small cell carcinoma using antibodies to cytokeratin 20 and thyroid transcription factor 1. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:727-729.

EK 2. CD200 Antikoru Ait Özellikler



Product datasheet

Anti-CD200 / OX2 antibody ab203887

2 Images

Overview

Product name	Anti-CD200 / OX2 antibody
Description	Rabbit polyclonal to CD200 / OX2
Tested applications	Suitable for: IHC-P, WB Unsuitable for: Flow Cyt
Species reactivity	Reacts with: Mouse, Rat, Human
Immunogen	Synthetic peptide within Human CD200/ OX2 aa 45-95 conjugated to Keyhole Limpet Haemocyanin (KLH). The exact sequence is proprietary. Sequence: TPASLKCSLQNAQEALIVTWQKKKAVSPENMVTFSENHGVVIQPAYKDKI N Database link: P41217
	Run BLAST with Run BLAST with
Positive control	Human lung carcinoma tissue; Human colon carcinoma tissue.

Properties

Form	Liquid
Storage instructions	Shipped at 4°C. Store at +4°C short term (1-2 weeks). Upon delivery aliquot. Store at -20°C long term. Avoid freeze / thaw cycle.
Storage buffer	Preservative: 0.09% Sodium azide Constituents: 50% Glycerol, 0.01% BSA
Purity	Protein A purified
Clonality	Polyclonal
Isotype	IgG

Applications

Our [Abpromise guarantee](#) covers the use of **ab203887** in the following tested applications.

The application notes include recommended starting dilutions; optimal dilutions/concentrations should be determined by the end user.

IHC-P	1/100 - 1/500. When using a fluorescent probe the recommended dilution is 1/50-1/200.
-------	--

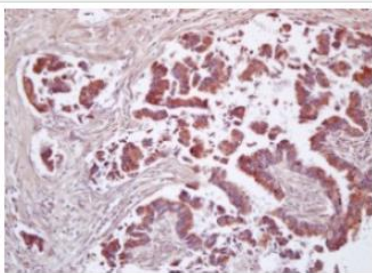
WB	1/100 - 1/1000. Predicted molecular weight: 31 kDa.
----	---

Application notes	Is unsuitable for Flow Cyt.
-------------------	-----------------------------

Target

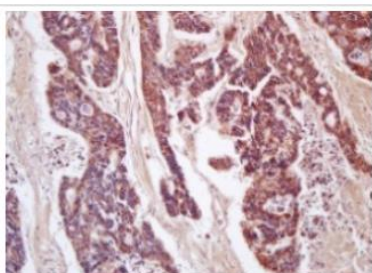
Function	Costimulates T-cell proliferation. May regulate myeloid cell activity in a variety of tissues.
Sequence similarities	Contains 1 Ig-like C2-type (immunoglobulin-like) domain. Contains 1 Ig-like V-type (immunoglobulin-like) domain.
Cellular localization	Cell membrane.

Anti-CD200 / OX2 antibody images



Immunohistochemistry analysis of Formalin-fixed, paraffin-embedded Human lung carcinoma tissue labeling CD200 / OX2 with ab203887 at 1/200 dilution.

Immunohistochemistry (Formalin/PFA-fixed paraffin-embedded sections) - Anti-CD200 / OX2 antibody (ab203887)



Immunohistochemistry analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded Human colon carcinoma tissue labeling CD200 / OX2 with ab203887 at 1/200 dilution.

Immunohistochemistry (Formalin/PFA-fixed paraffin-embedded sections) - Anti-CD200 / OX2 antibody (ab203887)

Please note: All products are "FOR RESEARCH USE ONLY AND ARE NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USE"

- Replacement or refund for products not performing as stated on the datasheet
- Valid for 12 months from date of delivery
- Response to your inquiry within 24 hours
- We provide support in Chinese, English, French, German, Japanese and Spanish
- Extensive multi-media technical resources to help you
- We investigate all quality concerns to ensure our products perform to the highest standards

If the product does not perform as described on this datasheet, we will offer a refund or replacement. For full details of the Abpromise, please visit <http://www.abcam.com/abpromise> or contact our technical team.

Terms and conditions

- Guarantee only valid for products bought direct from Abcam or one of our authorized distributors



EK 3. Etik Kurul Onay



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557-1235

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 20 ARALIK 2016 SALI
Toplantı No : 2016/25
Proje No : GO 16/813 (Değerlendirme Tarihi : 20.12.2016)
Karar No : GO 16/813- 25

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Sibel Ersoy EVANS' ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Mutlu HAYRAN, Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ ile birlikte çalışacakları ve Dr. Hamidullah KHURAMİ' nin uzmanlık tezi olan, GO 16/813 kayıt numaralı ve "*Alopesi Areata ve Vitiligo Hastalarında Merkel Hücre Sayısı ile Derideki Dağılımının ve CD200 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi*" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- | | |
|--|--|
| 1. Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU (Başkan) | 10 Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Nurten AKARSU (Üye) | KATILMADI |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARA (Üye) | 11 Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ (Üye) |
| 4. Prof. Dr. Necdet SAGLAM (Üye) | 12. Doç. Dr. Gözde GİRGİN (Üye) |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye) | 13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye) |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye) | 14. Yrd. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye) | 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL (Üye) |
| 8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALÇIN (Üye) | 16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR (Üye) |
| 9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye) | 17. Öğr. Gör. Meltem ŞENGEL (Üye) |
| | 18. Av. Meltem ONURLU (Üye) |



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 – 873

Konu :

13/06/2017

Prof. Dr. Sibel Ersoy EVANS
Tıp Fakültesi
Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Sayın Prof. Dr. EVANS,

Kurulumuzun 20.12.2016 tarihli toplantısında Etik Kurul onayı almış olan GO 16/813 kayıt numaralı *“Alopesi Areata ve Vitiligo Hastalarında Merkel Hücre Sayısı ile Derideki Dağılımının ve CD200 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi”* başlıklı proje için vermiş olduğunuz 12.06.2017 tarihli dilekçeniz Kurulumuzun 13.06.2017 tarihli toplantısında değerlendirilmiş olup çalışma materyalindeki değişiklik önerisi **uygun bulunmuş** ve kayıtlarımıza eklenmiştir.

Bilgilerinize rica ederim

Prof. Dr. Nurten AKARSU
Başkan

EK _____ :
Toplantı Katılım Tutanağı



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 726

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 03 MAYIS 2018 PERŞEMBE
Toplantı No : 2018/12
Proje No : GO 16/813 (Değerlendirme Tarihi: 31.01.2017)
Karar No : GO 16/813- 04

Kurulumuzun 20.12.2016 tarihli toplantısında GO 16/813 kayıt numarası ile onaylanmış olan Üniversitemiz Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Sibel Ersoy EVANS' ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Mutlu HAYRAN, Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ ile birlikte çalışacakları ve Dr. Hamidullah KHURAMİ' nin uzmanlık tezi olan, *"Alopesi Areata ve Vitiligo Hastalarında Merkel Hücre Sayısı ile Derideki Dağılımının ve CD200 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi"* başlıklı proje için vermiş olduğunuz 17.04.2018 tarihli başlık değişikliği dilekçeniz **uygun bulunmuştur**. Vitiligo hastalarının çalışmaya eklenememiş olması nedeni çalışmanın başlığı *"Alopesi Areata Hastalarında Merkel Hücre Sayısı ile Derideki Dağılımının ve CD200 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi"* olarak değiştirilmiş ve kayıtlarımıza eklenmiştir.

- | | | | |
|-----------------------------------|----------|---------------------------------|-------|
| 1. Prof. Dr. Nurten AKARSU | (Başkan) | 10 Doç. Dr. Gözde GİRGİN | (Üye) |
| | | İZİNLİ | |
| 2. Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU | (Üye) | 11 Doç. Dr. Fatma Visal OKUR | (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARA | (Üye) | 12. Doç. Dr. Can Ebru KURT | (Üye) |
| İZİNLİ | | İZİNLİ | |
| 4. Prof. Dr. Necdet SAĞLAM | (Üye) | 13. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL | (Üye) |
| | | KATILMADI | |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU | (Üye) | 14. Dr. Öğr. Üyesi Özay GÖKÖZ | (Üye) |
| İZİNLİ | | İZİNLİ | |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL | (Üye) | 15. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR | (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN | (Üye) | 16. Öğr.Gör.Dr. Meltem ŞENGELN | (Üye) |
| 8. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL | (Üye) | 17. Av. Meltem ONURLU | (Üye) |
| 9. Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU | (Üye) | | |

EK 4. ÖZGEÇMİŞ

1. KİŞİSEL BİLGİLER

ADI, SOYADI:	HAMİDULLAH KHURAMİ
DOĞUM TARİHİ ve YERİ:	06.02.1987/AFGANİSTAN
HALEN GÖREVİ: Araştırma Görevlisi	
YAZIŞMA ADRESİ: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar AD, 06100, Ankara	
TELEFON: 0312 3051706	
E-MAIL: dnasequence@hotmail.com	

2. EĞİTİM

YILI	DERECESİ	ÜNİVERSİTE	ÖĞRENİM ALANI
2013	Lisans	Hacettepe	Tıp Fakültesi

3. AKADEMİK DENEYİM

GÖREV DÖNEMİ	ÜNVAN	BÖLÜM	ÜNİVERSİTE
2014-halen	Araştırma Görevlisi	Deri ve Zührevi Hastalıkları	Hacettepe Üniversitesi

4. SON BEŞ YILDAKİ ÖNEMLİ YAYINLAR

1- S Doğan, N Atakan, H Khurami, O Gökoç, O Bitik. Subungual blue naevus presenting with elkonyxis. Hong Kong J. Dermatol. Venereol. (2016) 24, 87-91